

Sessió científica extraordinària del dia 19 d'abril del 1934

PRESIDENCIA DEL DR. PI SUNYER

Estudis actuals sobre fisiologia del nervi

pel Prof. A. V. HILL

L'hospitalitat cordial dels catalans, que he experimentat en els últims dies, em fa encara més dolorós aparèixer novament davant vostre per a donar una lliçó en llengua estrangera. La primera de les meves excuses, és de pensar que molts de vosaltres m'entendreu en la meua llengua, i els altres, sempre entendran alguna cosa, i amb això potser es desvetllarà en algú l'afició de venir a Anglaterra a treballar amb mi. I podeu tenir la seguretat que allí sereu molt ben rebuts. La traducció que del que jo digui aniran fent els meus col·legues Carrasco, J. Pi Sunyer i Ochoa, afegirà també vida a la meua lliçó, que, d'altra manera, podria fer-se una mica pesada.

Els experiments que descriuré es refereixen a la producció de calor en el nervi, al seu metabolisme i als diversos fenòmens elèctrics que ocorren en l'excitació i la conducció. No tinc pas la pretensió d'esgotar ni una fracció d'un camp tan ample. Provaré només d'indicar alguns dels fenòmens més interessants.

La producció de calor pel nervi és molt escassa. Durant molt de temps hom havia cregut que el nervi no produïa calor i les teories sobre l'activitat nerviosa s'havien bastit partint de la idea que en la conducció es transmetia una ona d'algun tipus físic que no representava degradació energètica. Deixant de banda l'inconvenient de l'escàs valor quantitatiu de llur producció de calor, els nervis constitueixen un material amb el qual és fàcil treballar, i avui dia mesurem la producció calòrica amb força exactitud.

La sensibilitat requerida per aquestes mesures, és alta, però no difícil d'obtenir. Una termopila amb 150 parells i un galvanòmetre sensible a $10/10$ amp., donen una sensibilitat de 500 metres (no mil·límetres!), per grau. Per una producció constant de calor, en repòs, o durant una

estimulació contínua i constant, 1 mm. de l'escala representa 1×10^{-8} calories per gram i segon.

Arribar a aquesta sensibilitat, no és pas gaire difícil. La principal dificultat consisteix a evitar les perturbacions que es produeixen en el curs de l'experiment. Per exemple, els canvis petitíssims en la pressió que causen una compressió i expansió adiabàtica del gas en la cambra que envolta la termopila, poden produir diferències de temperatura tan grans que la lectura es faci impossible. Els contactes elèctrics s'han d'evitar per un isolament acuradíssim; el termostat en el qual es manté l'aparell, ha d'ésser mantingut a una temperatura absolutament constant. Aquestes dificultats, evidentment es poden superar totes, i el mètode neuro-tèrmic és ara capaç de donar resultats suficientment exactes per a portar una llum considerable en els processos del nervi estimulat.

La producció de calor en el nervi, es divideix en dues fases: la inicial, que probablement dura només poques mil·lèsimes de segon, mentre passa l'impuls i immediatament després del seu pas, i la fase de restabliment, que pot arribar a durar fins a 30 minuts, a una temperatura de 20° C., i representa quantitativament de deu a trenta vegades el calor inicial. Durant el temps d'una estimulació constant es produeix també una situació constant en la producció de calor, especialment quan s'obté l'equilibri entre les reaccions destructives i el calor de restabliment.

La intensitat màxima a què es produeix el calor inicial durant una estimulació màxima és al voltant de 8×10^{-6} cal. per gram de nervi i segon. El calor inicial per impuls a baixa freqüència és de l'ordre de 10^{-7} cal. per g.; a alta freqüència, molt menys; de l'ordre de 10^{-8} cal. per gram. Si es tradueixen aquestes quantitats en termes de reaccions químiques, per exemple, formació d'àcid làctic a partir d'hidrats de carbó (calculem 300 cal. per gram de substància en reacció), s'obtenen quantitats tan minúscules que es faria impossible, o almenys molt difícil, una mesura directa. És per aquesta raó que els mètodes químics aplicats al nervi ens han donat fins ara una informació tan escassa sobre els processos, i àdhuc les mesures d'oxigen gastat, mètode força sensitiu, ens diu també ben poc. Són, per exemple, absolutament impossibles de diferenciar per mètodes químics les dues fases de l'activitat nerviosa, inicial i de restabliment, i fins avui aquestes coses només són estudiades per les tècniques calorimètriques.

La fig. 1 mostra una de les més recents i significatives anàlisis del calor inicial i del calor de restabliment a 16° en un nervi de granota. L'estimulació dura 9 segons i l'anàlisi es fa per unitats de 0,75 seg. La producció inicial de calor ve representada per un descens sobtat en acabar-se l'estimulació. Immediatament comença el calor de restabliment i tot el que hi ha a l'esquerra de la fi de l'estímul és calor de restabliment, que de vegades dura fins a 20 o 30 minuts. Es produeix en dues fases, anàlogues a les del múscul. Hi ha, com pel múscul, un calor retardat anaerobi, que es produeix ràpidament, i després, superposat a aquest, en presència d'oxigen, es produeix el calor d'origen oxidatiu, per un temps molt més prolongat.

La fig. 2 mostra el curs del calor de restabliment en tres experiments; la línia basal és la trobada per observació, abans i després de l'es-

timulació. La propietat més curiosa i característica del calor de restabliment és que, a diferència del que s'esdevé en el múscul, no s'aboleix quan no hi ha oxigen en contacte amb el nervi. No hi ha cap dubte sobre el fet que el nervi despèn oxigen, i aquesta despesa augmenta per l'estimulació, i per tant, que el calor produït pel nervi és d'origen oxidatiu; quan el nervi roman en un medi sense oxigen durant dues hores, perd l'excitabilitat i no desprèn calor. Mentre respon a l'estimulació donant calor, aquest consta de les dues fases: inicial i de restabliment. El temps durant el qual es manté l'excitabilitat és tan llarg, i la despesa d'oxigen en repòs prou intensa perquè en atmosfera de nitrogen no quedi la més petita quantitat d'oxigen a l'interior del nervi mentre encara conserva excitabilitat. Sembla deduir-se d'això que el nervi conté alguna reserva

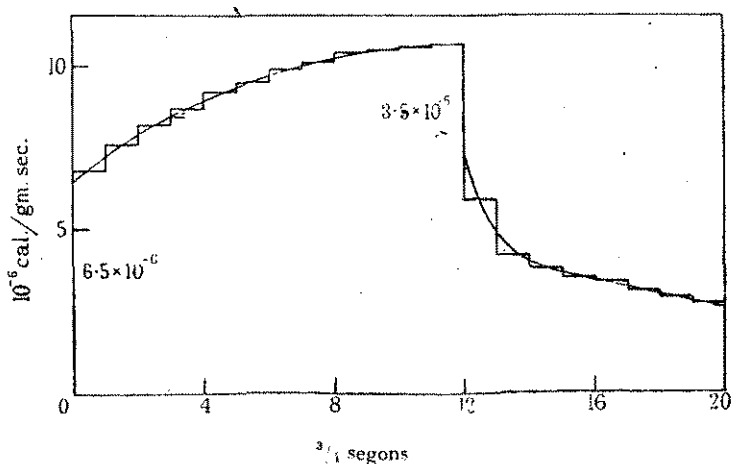


Fig. 1. — Anàlisi de la producció de calor durant una estimulació de 9 segons, i després de l'estimulació, en nervi de granota a 15.7° C. Temps en unitats de $3/4$ de segon.

d'oxigen, no pas necessàriament en forma molecular, sinó alguna substància química capaç de transformar-se donant oxigen, o algun equivalent, per l'oxidació de les substàncies alliberades durant l'activitat.

Aquesta reserva d'oxigen que manté el nervi excitable i capaç de funcionar normalment per períodes relativament llargs, àdhuc en absència completa d'oxigen molecular, és fins ara un misteri. Una de les majors dificultats pel seu estudi és que, si bé la seva existència se'ns presenta evident estudiant els fenòmens amb les tècniques neurotèrmiques, la quantitat absoluta és tan petita, que els estudis químics fins ara no poden revelar-la, ni donar-nos cap llum sobre la seva constitució i naturalesa. L'existència ha estat també confirmada pels experiments de Gerard, el qual ha demostrat que el nervi estimulat, en absència total d'oxigen, pot formar — no solament alliberar! — anhídrid carbònic. És a dir, un nervi

sense oxigen que adquireix un deute d'oxigen. Part de l'oxigen absorbit pels nervis després de l'activitat s'utilitza sense cap mena de dubte en el restabliment del *status quo ante*, com en el múscul, però una altra part segurament restableix la reserva d'oxigen buidada durant l'activitat anaeròbia. Un dels problemes més importants de la química de l'activitat

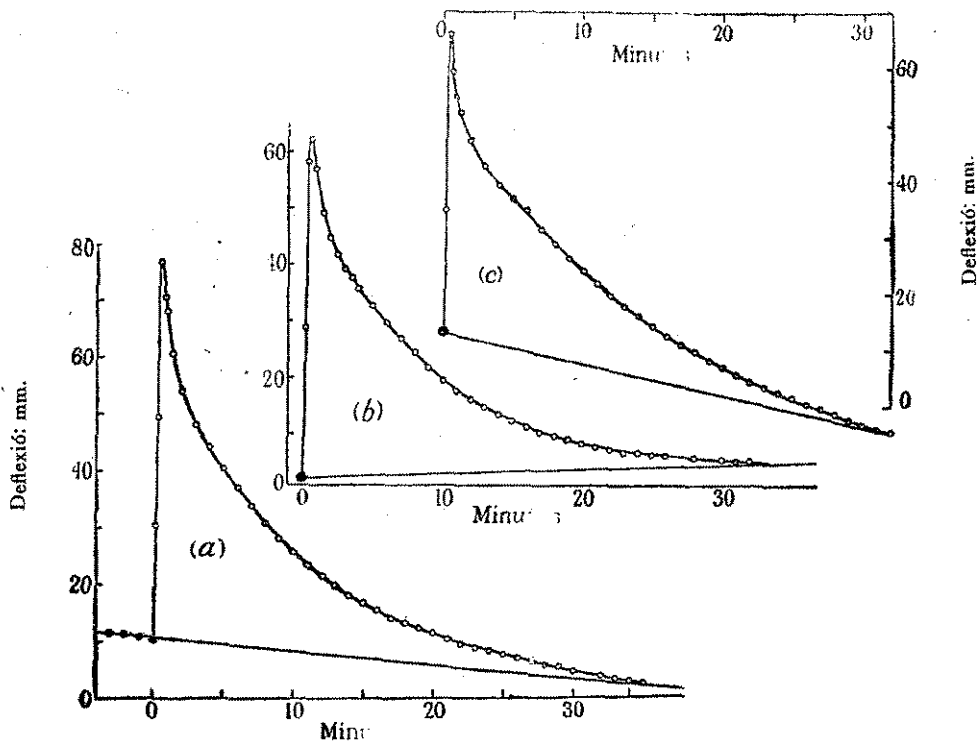


Fig. 2. — Deflexió del galvanòmetre en mil·límetres, registrant la producció total de calor durant un breu estímul, aplicat sobre un nervi en repòs i la producció després de l'estímul. El calor total el dona l'àrea de la curva, per sobre la línia basal interpolada. a) 15 de febrer, a 18.6° C. Estímul de 32 segons. b) 5 de jener, a 19.2° C. Estímul de 32 segons. c) 6 de Febrer, a 19.2° C. Estímul de 24 segons. Observis que el restabliment no s'acaba fins després de 30-35 minuts.

nerviosa és el d'aquest dipòsit d'oxigen pel qual es manté l'activitat del nervi durant un temps considerable en medi no oxigenat.

Tots els experiments són fets en tronc nerviosos medullats, excepte el que citarem aviat com a fet en un tronc no medullat. Una gran part del sistema nerviós central està format també per fibres nervioses i és versemblant de pensar que els fenòmens descrits en el nervi perifèric, res-

pecte al restabliment i despesa d'oxigen, són igualment aplicables als centres. Els fets descrits poden tenir una gran importància i aplicacions de valor pels elements nerviosos centrals.

L'activitat del nervi en el cos és tot sovint contínua i mantinguda per períodes llargs, i per aquest motiu és interessant d'estudiar què passa durant els períodes d'activitat constant d'un nervi. Si s'estimula a un ritme constant lent, després de 30 minuts s'estableix un estat d'equilibri en el qual les reaccions de restabliment igualen les de destrucció. Per una orientació exacta en el problema, és necessari saber que, àdhuc durant una resposta màxima a una estimulació mantinguda un període llarg, la despesa energètica deguda a l'activitat és encara una fracció de la despesa que es manté en els processos en repòs. En el múscul, l'activitat requereix una despesa energètica moltes vegades més gran que la despesa en repòs. En el nervi, els processos pels quals vida i irritabilitat es mantenen, en absència completa d'estimulació, representen el factor major de les despeses metabòliques. La despesa energètica en el nervi, com a resultat de l'estimulació no té importància en si mateixa, sinó com a reacció dels processos que intervenen en el mecanisme de l'excitació.

Em referiré ara a experiments fets en els últims anys en nervis no medullats de la pota de crustacis. Vosaltres que teniu la sort, segons he pogut comprovar invitat a les vostres taules generoses, de tenir abundant un animal del qual tan bon ús podríeu fer en els laboratoris com en els menús, la llagosta, probablement trobaríeu en ella nervis tan útils i apreciables com els que donen els crustacis dels nostres aquàriums de Plymouth. El nervi no medullat és un tipus de teixit conductor molt més simple que el nervi medullat, i presenta el problema de la conducció de l'impuls nerviós en una forma més fàcil d'investigar. La vostra llagosta probablement permetria de treballar a temperatures més altes que els nostres crancs i per aquestes condicions teniu una especial oportunitat, que jo espero que aprofitareu, de repetir en aquest animal molts dels experiments clàssics realitzats en fibres medullades, i trobar resultats més clars i concloents. Observaríeu alguns fenòmens que difereixen considerablement dels descrits; per exemple, els nervis no medullats són molt fàcilment fatigables, molt susceptibles a les accions de les drogues (per exemple, veratrina). L'estudi de les propietats de les fibres no medullades té importància, perquè permet d'examinar experimentalment un tipus de teixit conductor que es troba en el nostre sistema nerviós central, però que és molt difícil d'estudiar directament en els vertebrats.

La producció inicial de calor és molt més gran que en el nervi medullat, tot i que els constituents sòlids del nervi del cranc són quantitativament només la meitat del nervi medullat. La producció de calor de restabliment és també molt més gran, i no es produeix en dues fases, sinó en una. Els fenòmens elèctrics són així mateix diferents. Quan aquests nervis s'estimulen, els corrents de demarcació disminueixen; el nervi és, si es pot parlar així, despolaritzat, i només recupera la polarització en la superfície després d'un llarg període de restabliment en oxigen. Més tard em referiré novament a aquests fenòmens elèctrics.

He parlat de l'acció de la veratrina sobre el nervi no medullat. Tots vosaltres coneixeu l'acció de la veratrina sobre el múscul, allargant ex-

traordinàriament la durada de les contraccions. Sobre el nervi medullat, la veratrina exerceix només un efecte molt petit, si s'aplica per les tècniques ordinàries; però si després d'intoxicar el nervi, hom el posa un parell o tres d'hores en un medi sense oxigen, i després hom el deixa restablir de l'asfíxia per una oxigenació tardana, l'efecte de la veratrina és clar i durador. La fig. 3 demostra la producció de calor en el nervi medullat intoxicat amb veratrina i tractat per aquest procediment, no en el cas de tètanus, sinó per una excitació simple. La producció de calor en el nervi, en la resposta a un sol estímul, és normalment petitíssima. Només pot obtenir-se una xifra apreciable aplicant estímuls seguits i dividint el calor total pel número d'estímuls. Intoxicant el nervi pel procediment descrit, és suficient un estímul senzill o un tètanus molt curt per obtenir el resultat intens que es veu a la fig. 3.

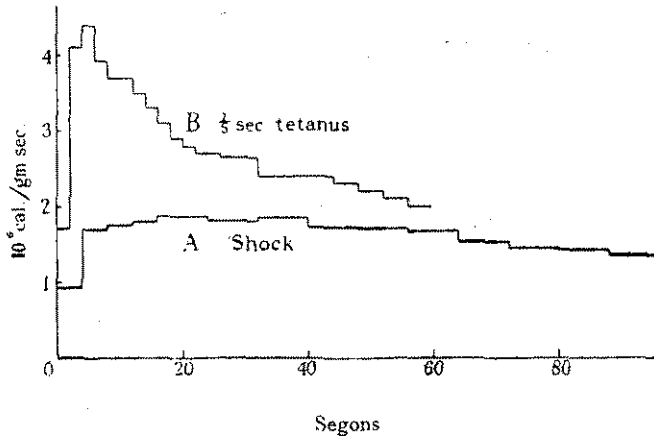


Fig. 3. — Anàlisi en unitats de 4 i 2 segons, de la producció de calor en un nervi intoxicat amb veratrina. A; estímuls aïllats, després d'un llarg repòs. B; tètanus de 1/5 de segon, a 28 estímuls por segón, després de 43 minuts de repòs.

Aquest curiós mecanisme necessari per a produir la intoxicació veratrínica (impregnació - asfíxia - restabliment), suggereix la hipòtesi que la permeabilitat a la droga d'alguna superfície o membrana és influenciada per la carència d'oxigen, i per això la droga normalment no pot penetrar, però sota la influència d'aquesta manca d'oxigen, la impermeabilitat desapareix, la droga entra i quan el nervi es restableix, col·locant-lo novament en un medi oxigenat, la droga pot fer el seu efecte. En veure aquests resultats, va semblar interessant estudiar la intoxicació veratrínica en el nervi no medullat, sense coberta de mielina; l'experimentació ha demostrat que aquests nervis no necessiten ésser asfixiats per a observar l'efecte de la veratrina, i que la millèsima de la dosi necessària per a la intoxicació d'un nervi medullat és suficient per a obtenir bons resultats. El cor-

rent d'acció es prolonga extraordinàriament i la seva magnitud total pot ésser 200 vegades la normal del nervi no medullat. Sembla que la beina de mielina sigui la frontera impenetrable en condicions normals i la que es modifica per la carència d'oxigen.

Afegiré aquí que el curare i les bases quaternàries d'amoni que normalment en el nervi no medullat actuen sobre la unió neuro-muscular suprimint la conducció de l'impuls, augmenten considerablement llurs

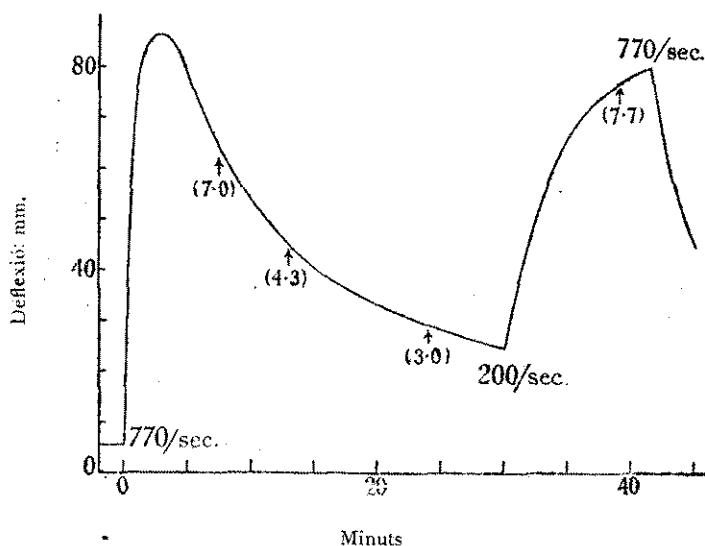


Fig. 4. — Experiment del 15 de febrer de 1933. 18.6° C. Vegis el ràpid augment de la "fatiga" durant l'estimulació del nervi a alta freqüència (770/seg.) i l'inmediat "restabliment" al canviar a baixa freqüència causa una disminució de la resposta. Abscisa, temps; ordenada, reflexió del galvanòmetre, indicant la producció de calor. En estat constant, un mil·límetre de desviació representa 15.8×10^{-8} cal./gm.seg. Estímul: descarregues de condensador 14 v.o.2. F., temps de mitja descàrrega, 0.12. Els números entre parèntesi representen la resposta negativa en mil·límetres, per l'emoació de l'estímul durant 16 segons.

efectes si, després de l'aplicació de la droga, el nervi s'asfixia i es deixa restablir en medi oxigenat. Aquest cas és, almenys aparentment, semblant a l'estudiat amb la veratrina.

En la meua conferència anterior vaig parlar de la relació entre calor total i calor inicial en el múscul, que no és constant, sinó que varia amb la durada de l'estímul aplicat. En el nervi, aquestes diferències són molt més grans. Durant un breu estímul d'un nervi completament en repòs, el calor total és unes 30 vegades l'inicial, però durant un estat constant

d'estimulació, només és deu vegades l'inicial. Això sembla suggerir que en el nervi, com en el múscul, el restabliment no és una sèrie invariable de reaccions químiques determinada per la hidròlisi prèvia.

Es diu contínuament que el nervi medullat és incapaç de fatiga, però això no sembla ésser estrictament cert, com ho demostra la fig. 4, en la qual un nervi estimulat a alta freqüència (770 per segon) dóna inicialment una gran resposta (producció calòrica), que va disminuint, i al cap d'una hora desapareix. Si durant aquest estat de fatiga aparent, s'aplica un estímul de menor freqüència, la resposta s'incrementa novament, demostrant que el nervi, en realitat, no està fatigat i és capaç de respondre, i que deixa només de fer-ho als estímuls molt freqüents. En un nervi estimulat per una sèrie de descàrregues, si la freqüència és prou alta, tan alta que algun dels estímuls caigui en la fase refractària absoluta, pot allar-

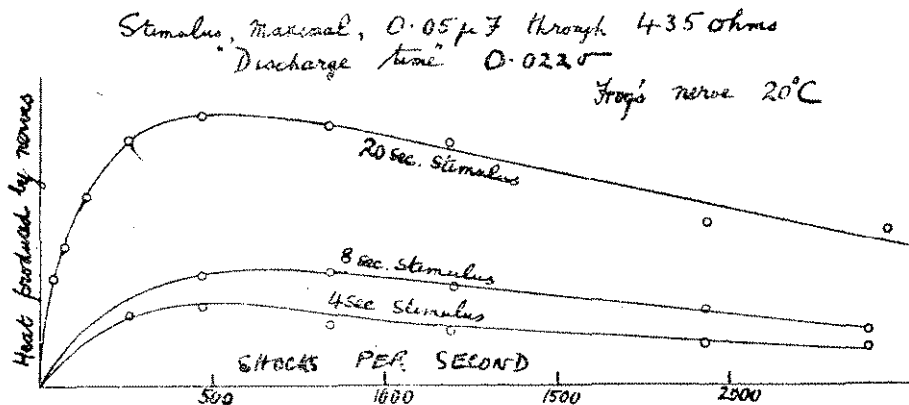


Fig. 5. — Estímul màxim, 0,05 m. F, a través de 435 ohms. Temps de descàrrega 0,022. Nervi de granota, a 20° C.

gar la duració d'aquesta fase d'inexcitabilitat i fer el nervi, per una successió d'aquest fet, inexcitable de manera més o menys permanent. Això no ocorre en un nervi fresc, que no ha estat estimulat encara, però durant l'estimulació es produeix ràpidament un estat en el qual s'observa aquest tipus d'inhibició total o parcial. Probablement es tracta d'un fenomen semblant a la inhibició de Wedenski, que ha preocupat els fisiòlegs durant molts anys. Un altre aspecte del mateix fenomen es veu en la fig. 5, en la qual el calor produït per un estímul de duració constant s'expressa en funció de la freqüència. La resposta màxima s'obté a una freqüència de 500 per segon; amb freqüències més altes, disminueix la resposta. Aparentment, els estímuls afegits per sobre d'aquesta freqüència no solament no produeixen cap efecte — com s'hauria de deduir aplicant rigorosament la teoria del període refractari — sinó que disminueixen la resposta corresponent als estímuls que segueixen als que cauen en el pe-

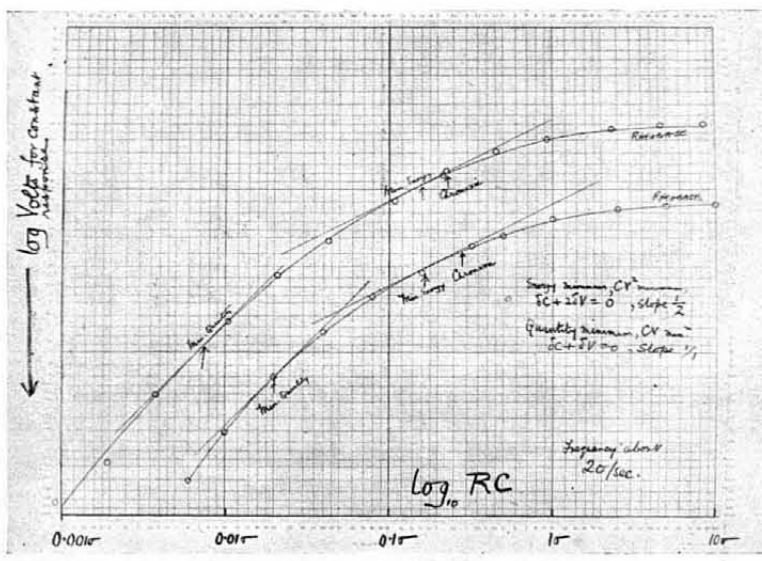
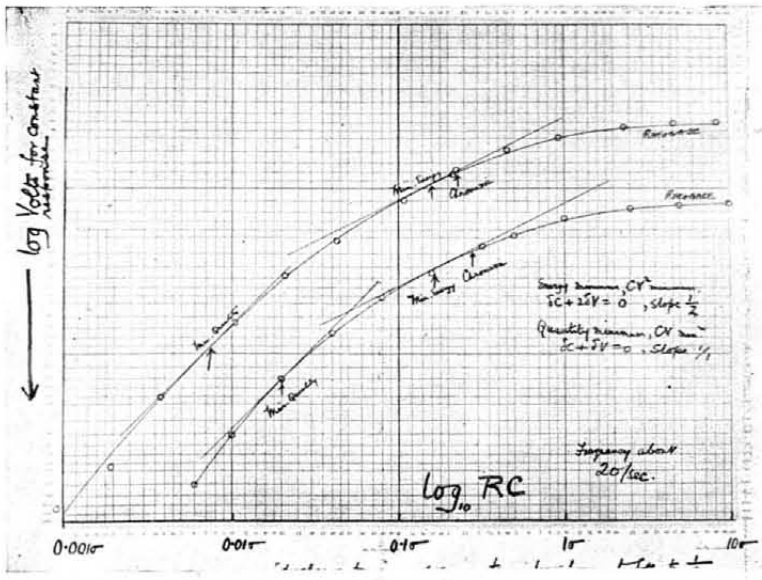


Fig. 7. — No hi ha peu.

ríode refractari. Aquest fenomen no es pot interpretar encara amb claredat, però no és atrevit afirmar que del seu estudi poden sortir-ne fets interessants per arribar a conèixer la naturalesa de la inhibició.

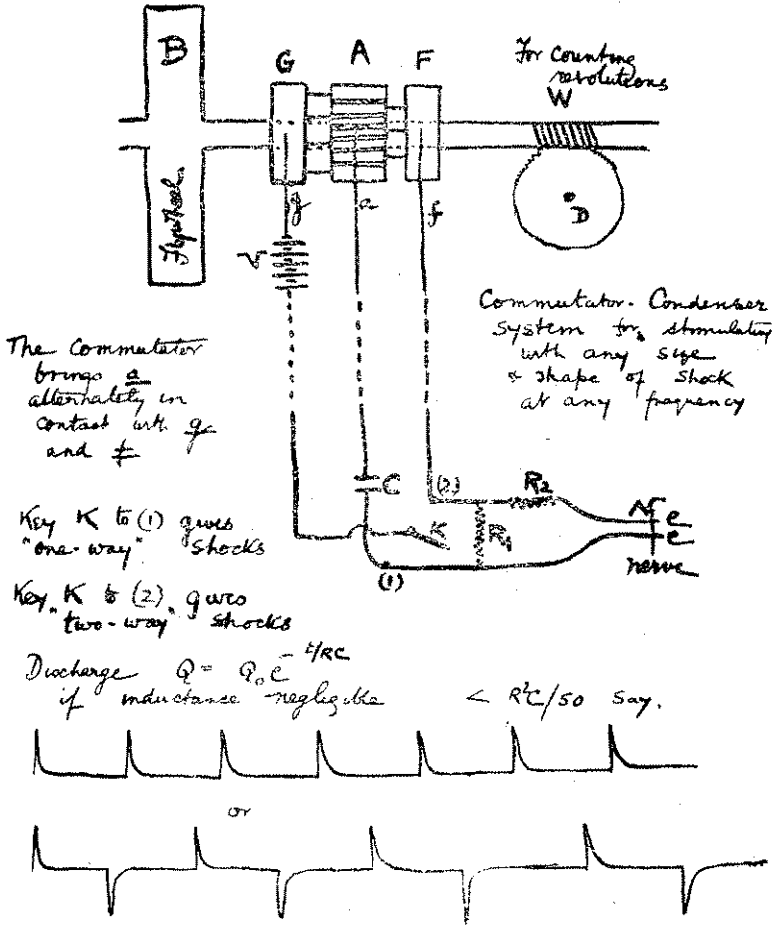


Fig. 6. — Sistema de commutador i condensador per estimular amb totes les intensitats i formes de corrent, a qualsevol faequecia. El commutador posa a alternativament en contacte amb g i f . La clau K, cap a (1), dona chocs en un sentit; cap a (2), en dos sentits.

Es divertit de constatar fins a quin punt les investigacions són dirigitades per l'utilatge tècnic amb què es compta. Per a practicar aquestes mesures de calor produït, vàrem estudiar una forma d'estimulació amb

un commutador, condensador i bateria, segons esquema de la fig. 6; aparell que ens donà resultats excel·lents pel seu propòsit original, però molt millors encara en una nova sèrie de treballs en què estem ocupats jo i els meus colaboradors. Aquest muntatge ens ha fet possible l'estudi de les relacions de temps en l'excitació — la corba d'intensitat - durada —. Mines, Lucas, Lapique, Adrian, Ruhston, s'han ocupat de les relacions entre el temps i el procés d'excitació. La corba normal d'intensitat-durada pel nervi de granota és ben coneguda. De totes maneres, sempre era necessari emprar el múscul com a indicador de la resposta, i això limitava extraordinàriament la tria de nervis. Ara no és necessari aquest reactiu de la resposta muscular, ja que la producció de calor, o millor encara, el corrent d'acció són indicadors perfectes de l'activitat nerviosa. La resposta registrada per l'oscil·lógraf, o en el nostre cas per un galvanòmetre prou sensible, indica el grau d'activitat nerviosa, i si es treballa amb el sistema del condensador i commutador indicat en la fig. 6, podem observar durant una estimulació contínua les relacions entre capacitat i voltatge requerides per a obtenir una resposta constant en el galvanòmetre. L'experiment es fa molt ràpidament, i poden utilitzar-se tots els nervis, perquè, naturalment, tots donen corrents d'acció, que són el nostre indicador.

Si la capacitat del condensador és de C faradais i la resistència del circuit de descàrrega de R ohms, el temps de descàrrega del condensador és RC segons. R es manté constant i C varia, i a mesura que C varia, s'ajusta el voltatge V de manera que la resposta obtinguda en el galvanòmetre sigui sempre igual. El resultat es troba en la fig. 7, amb els números avaluats en les coordinacions logarítmiques. L'estímul d'intensitat mínima ens el dóna, segons les idees de Rushton, el punt en el qual el descens de la corba és $1/2$; el punt de quantitat mínima d'electricitat, quan el descens és $1/1$. No puc descriure els experiments en detall, perquè es troben encara en estat preliminar, però tots tenim l'esperança que poden sortir progressos importants de la continuació d'aquests treballs.

Deixeu-me referir per última vegada, abans d'acabar, novament al nervi no medullat. En els «Proceedings of the Royal Society, B», veureu aviat un treball del meu col·lega Cowan, en el qual s'estudia el potencial en repòs d'aquest tipus de nervis. Aquest potencial de repòs o de lesió és de l'ordre de 30 o 40 milivolts, valor aproximadament igual a $RE \log_e K_i/K_o$, quan K_i i K_o són les concentracions del ion potassi dintre i fora del nervi. El potassi guarda relacions importants amb l'activitat d'aquests nervis i si es canvia la seva concentració en el líquid exterior, el corrent de lesió varia de manera concomitant.

El problema no és pas gaire senzill, perquè el corrent de lesió varia, no sols amb els ions K , sinó amb l'activitat i la necessitat d'oxigen. En presència d'oxigen, el corrent de lesió deprimint per altres causes, es restableix, i és difícil de dir fins a quin punt i per quin mecanisme això guarda relació amb l'efecte dels ions potassi. Els fets són encara poc clars, però una anàlisi més acurada d'aquestes qüestions ens ha de portar, en el futur, noves llums sobre la fisiologia del nervi amielínic.