

Métodos de estudios anatomopatológicos de la cardiopatía isquémica

Dres. JOSE MILEI (1), RODOLFO NUÑEZ (2) y LUIS M. BEGU (3)

RESUMEN

Pocos órganos pueden aportar datos a la clínica como el corazón en la cardiopatía isquémica. La patología clínica se ha visto enriquecida por diversos métodos que permiten una mejor correlación con las técnicas cruentas e incruentas de la moderna cardiología. 1) Planimetría de las áreas lesionadas en macrocortes transversales; 2) Volumetría; 3) Estudio preciso de las áreas de necrosis e isquemia y del árbol coronario y 4) La detección de lesiones agudas y crónicas del haz de conducción en cortes seriados.

Los macrocortes seriados de ambos ventrículos y su estudio histológico con técnicas para necrosis-isquemia, permiten además, descubrir fácilmente las "fibras onduladas", sugestivas del IAM de menos de un día de evolución.

El adecuado cumplimiento de las técnicas descritas en este trabajo promete acercarnos al conocimiento de la enfermedad y mejorar la terapéutica.

Desde que Rokitansky comenzó con la disección rutinaria del corazón "in situ" (1), muchos métodos se agregaron al estudio cardiopatológico. Pocos órganos pueden aportar tantos datos a la clínica como el corazón en la cardiopatía isquémica.

En el siguiente cuadro se resumen los métodos de estudio y su correlación con la

(1) Prof. Auxiliar de Medicina. Encargado Cardiopatología. Div. Cardiología y Patología. Polic. Municipal Juan A. Fernández y Dpto. Doc. e Invest. Fundación Favalaro, Buenos Aires.

(2) Jefe de Residentes de Patología. Polic. Munic. Juan A. Fernández.

(3) Jefe de la Div. Patología. Polic. Munic. de Niños, Buenos Aires.

clínica. En él se señalan las técnicas utilizadas para mejorar el conocimiento de los mecanismos puestos en juego en pacientes muertos por cardiopatía isquémica.

PLANIMETRIA

Se efectúan cortes transversales paralelos a los anillos auriculo ventriculares, de punta a base de ambos ventrículos, cada 1 cm, o bien cada tantos cm. como resulte de dividir la distancia cruz-apex por seis. (2-3). cada corte transversal se dispone ordenadamente, de vértice a base, se numeran en igual sentido y se fotografían (fig. 1) sus caras superiores. Se calcan los accidentes anatómicos de cada corte, las cicatrices de infarto y las zonas de IAM y todo otro dato de interés. Las áreas necróticas se evalúan por planimetría y se calculan los porcentajes con respecto a las masas ventriculares totales.

Si el tiempo transcurrido entre la muerte y el estudio lo permite (menos de 12 horas), se efectúan coloraciones macroscópicas con N-B de Tetrazolium (ver más adelante) (fig. 2). Las caras superiores de cada uno de los cortes transversales se incluyen en parafina, se cortan en macromicrotomo lo más fino posible y se colorean con H-E, PAS hematoxilina, técnica de isquemia (hematoxilina, fucsina básica y ácido pícrico) (4), Tricrómico de Barbeito-López (5) y N-B de Tetrazolium (6) (fig. 3).

Se correlacionan las áreas estudiadas macroscópica y microscópicamente. El estudio

CUADRO I

METODO	TECNICA	DATOS OBTENIDOS	CORRELACION
Peso del corazón y fotografías externas		Capacidad aproximada de "bomba". Configuración del corazón. Enfermedad pericárdica.	ECG Pres. Cap. Pulm. Cineangiografía. Gammagrafía.
Planimetría	Macroscópica	Búsqueda de zonas de cicatrices, IAM macroscópicamente no evidenciable, áreas de isquemia,	Ecocardiograma. Enzimología. Curvas de presión y volumen dP/dt.
	Microscópica	enfermedad de arterias coronarias intramiocárdicas	
Volumetría	Silastic	Volúmenes ventriculares en condiciones standard	Cineangiografía. Ecocardiograma. Curvas de volumen y presión
	Parafina		
Areas de Necrosis e isquemia	Hem-fucs - A. Picr. Tric. Barb-López N. B. de Tetrazol. Técnica de las Tetraciclinas. Succinicodehidr. Radioautografía Microsc. Electron.	Area de necrosis e isquemia	ECG Vectocardiograma. Prueba Ergom.
Arbol Coronario (Arterial y venoso)	Coronariografía post-mortem. Técnicas de desenrollamiento. Moldes plásticos. Cortes transversales seriados.	Zonas de estenosis. Estudio de la circulación colateral.	ECG Coronariografía Flujo coronario por radioisótopos
Haz de conducción	Técnica para áreas de necrosis e infarto en cortes seriados.	Lesión aguda o crónica del H. de conducción	ECG Electrograma del Haz° de His. Vectocardiograma.
Radiografía Cardíaca	Corazón intacto con rayos blandos	Calcificación valvular o coronaria.	Coronariografía. Flujo coronario por radioisótopos.
	Bloques con rayos	Interrupciones de pequeñas arterias.	



Figura 1. — Cortes transversales semiseriados de ambos ventrículos. IAM reciente de cara anterior y septum, con marcado componente hemorrágico en los cortes cercanos al apex.

sistemático de macrocortes por métodos histológicos debe realizarse rutinariamente y permite: a) estudiar todo el miocardio de ambos ventrículos en una sola sección; b) valorar histológicamente todos los pilares cardíacos; c) estudiar en forma conjunta y con poco gasto la sección transversal de todos los vasos del corte (ambas arterias descendentes, las arterias de los bordes, las diagonales y las ramas intramiocárdicas; d) visualizar la topografía y magnitud de la circulación colateral, e) descubrir fácilmente

te las llamadas "fibras onduladas", aptas para el diagnóstico de los IAM tempranos (de menos de 1 día), y f) tener una idea del quantum de miocitosis como lesión acompañante del IAM.

VOLUMETRIA

El volumen ventricular se mide llenando cada ventrículo con parafina o Silastic (502 RTV Silicone Rubber), dejando endurecer durante varias horas. Cuando se corta transversalmente el corazón para efectuar la

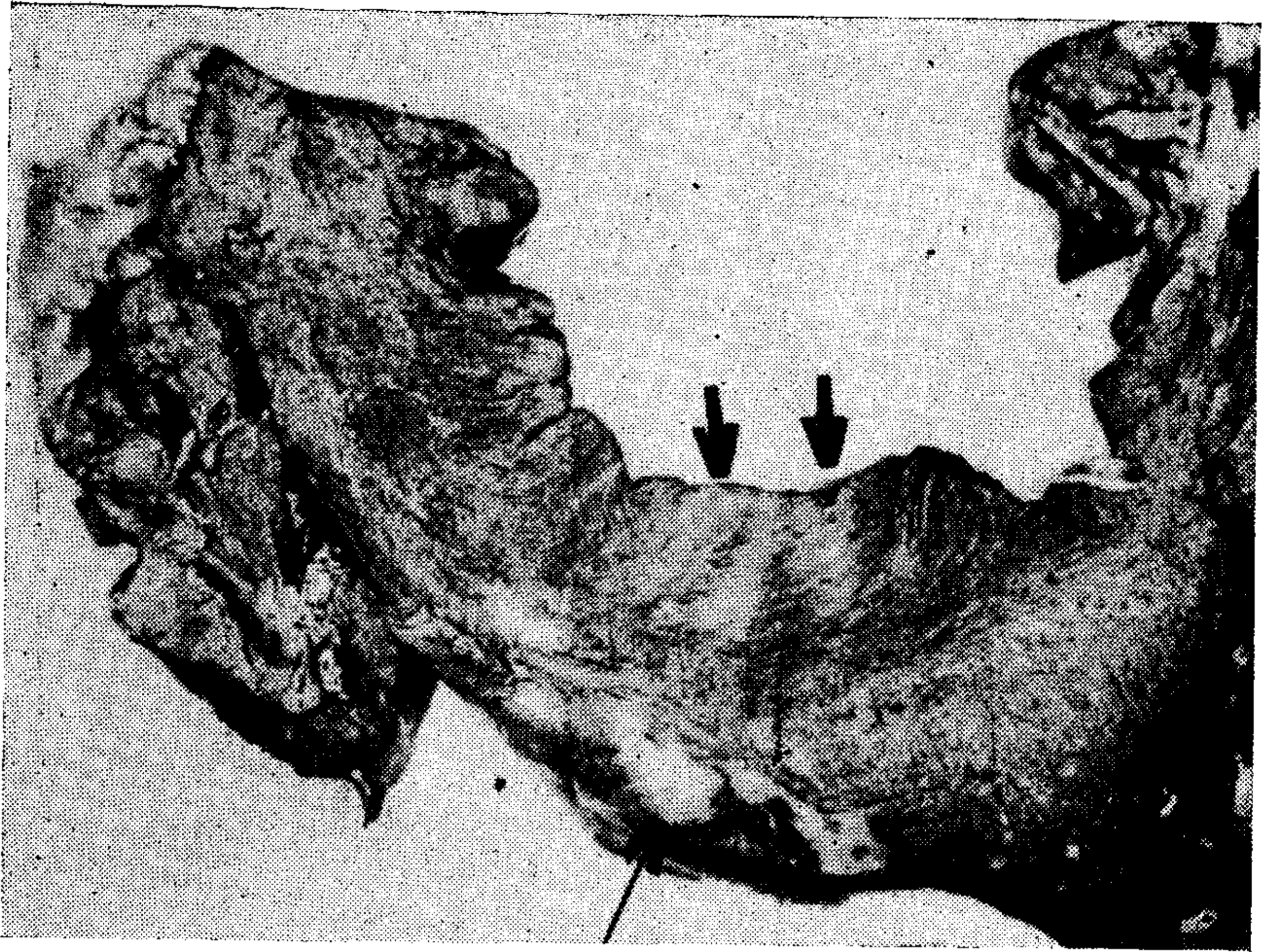


Figura 2. — Corte transversal de V.I. con la técnica del N.B.T. Las flechas gruesas señalan isquemia-necrosis recientes, la delgada, una cicatriz antigua.

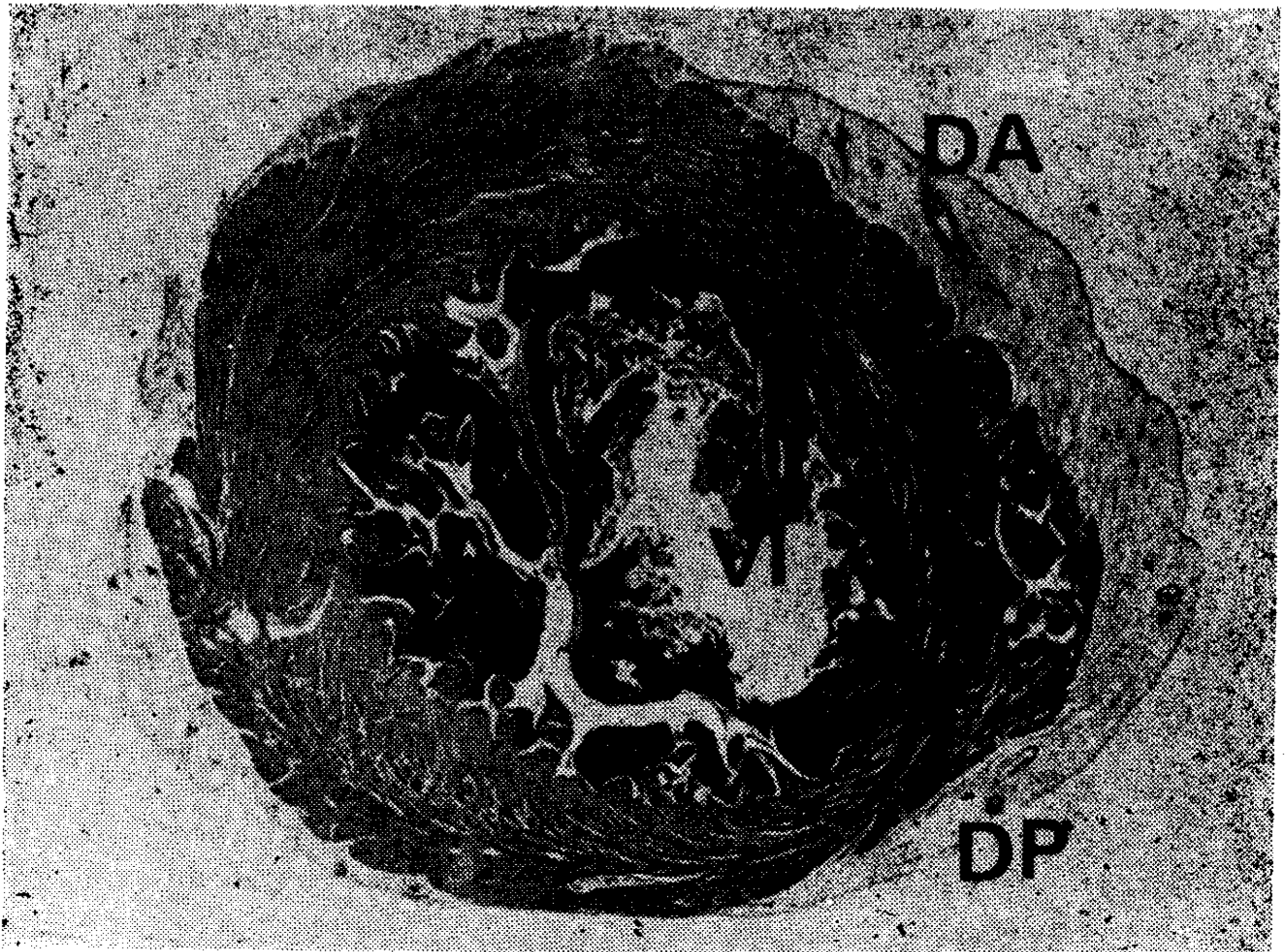


Figura 3. — Macrosección transversal, coloración H. y E. DA: descendente anterior; DP: descendente posterior. La flecha señala el comienzo dorsal de un IAM septal anterior.

planimetría macroscópica, el material utilizado se retira con cuidado de cada ventrículo y se determina su volumen por el método de Arquímedes, lo que permite tener una idea aproximada del volumen diastólico ventricular (7). De más está decir que esta técnica debe ser efectuada en corazones en fresco, lo más cercano a la hora de muerte. En caso de existir ventriculografía previa, el volumen intraventricular puede calcularse en vida con bastante exactitud (8), y su precisión es mayor que la volumetría post-mortem.

AREAS DE NECROSIS E ISQUEMIA

Se utilizan diversos métodos que no son excluyentes entre sí, sino que por el contrario se complementan.

La técnica del Nitro-Blue de Tetrazolium es adecuada para detectar necrosis antiguas y recientes e isquemias recientes, puede ser usada aunque en forma temprana debido a su pérdida de especificidad, con el correr de las horas, teniendo en su contra la manipulación especializada y resultados falsos positivos (9, 10) (Fig. 2).

Sin embargo es llamativa su alta especificidad ya que está basada en rápidas alteraciones enzimáticas producidas en la isquemia y en la necrosis. Las mitocondrias del miocardio sano contienen enzimas que

en presencia de NAD y sustratos adecuados pueden reducir la sal de Tetrazolium transformándola en un colorante formazan insoluble de color azul oscuro, cosa que no hacen las zonas necróticas o isquémicas deplecionadas de dehidrogenasa, por lo que permanecen incoloras. Se utiliza en cortes transversales de miocardio fresco sin fijar o bien perfundiendo por vía coronaria la mezcla, seguida por perfusión con formol (11). Luego se pueden obtener cortes histológicos e identificarse los granos de formazón en el interior de las fibras indemnes (12).

Las llamadas Técnicas de Isquemia son altamente positivas para las provocadas por catecolaminas, siendo menos específicas en los infartos humanos (13, 14), su fundamento no se conoce, parecen estar vinculadas a alteraciones proteicas y revelan cambios recientes de tipo isquémico no evidenciables con las técnicas corrientes. En realidad en el interior de las fibras isquémicas la fucsina básica no es removida por el ácido pícrico y da una coloración rojiza a la célula, en cambio el miocardio no isquémico presenta el color amarillo del ácido pícrico.

En cuanto al Tricrómico de Barbeito-López (15) es sensible (Tablas I y II) para las alteraciones de las fibras miocárdicas correspondientes a la necrosis y a la isquemia, en forma paralela a las otras tinciones

TABLA I

HALLAZGOS HISTOLOGICOS CON EL TRICROMICO DE BARBEITO-LOPEZ EN EL INFARTO Y EN LA ISQUEMIA

	H y E	Tricrómico de Barbeito-López	Técnica de Isquemia	Succínico Dehidrogenasa	Fosfatasa ácida
NECROSIS	Acidofilia homogeneización. Lisis Nuclear	Color amarillo oro en citoplasma	—	Disminución	Disminución
MIOCITOLISIS	Bandas de contractura o Estructuras sarcotubular vacías.	Bandas de contractura o Estructuras sarcotubular vacías.	—	Ausencia	Ausencia
ISQUEMIA	—	Color verde "sucio" alternado con amarillo pálido. Núcleos con color rojizo variable	Viraje del amarillo al rojo	Disminución	Disminución

TABLA II

TINCIONES EN MIOCARDIO HUMANO. INFARTOS DE 1 A 30 DIAS DE EVOLUCION

	Hematoxilina Eosina	Tricómico Barbeito-López	Técnica de Isquemia	Técnica del Nitroblue de Tetrazolium
NECROSIS DE COAGULACION	Acidofilia.. Pérdida de estriaciones transversales. Homogeneización. Lisis nuclear.	Color amarillo oro o naranja. Lisis nuclear.	—	Zonas Acrómicas
ZONAS DE ISQUEMIA	—	Color amarillo y verde "sucio" variaciones en el rojo nuclear.	Color Rojo	Zonas Acrómicas
MIOCITOLISIS	Estructuras sarcotubulares vacías. Macrófagos pigmentados	Estructuras sarcotubulares vacías. Macrófagos pigmentados	—	—
BANDAS DE CONTRACTURA	+	+	—	—

TABLA III

TINCIONES EN MIOCARDIO DE RATAS "WISTAR"
ISOPROTERENOL 10 mg/Kg/peso, INTRAPERITONEAL

	Miocardio normal	Miocardio isquémico	Miocardio necrótico
NUCLEO	Rojo violeta	Variaciones en el espectro del rojo (más claro)	Variaciones en el espectro del rojo más claro)
CITOPLASMA	Verde a celeste	Verde "sucio" alternando con amarillo pálido en el interior de una misma fibra.	Amarillo oro o amarillo naranja. Puntillado negro correspondiente a organelas alteradas.
TEJIDO CONECTIVO	Azul intenso	Azul intenso	Azul intenso



Figura 4. — Pilar cardíaco con gran miocitolisis e isquemia (flecha) revelada por el viraje al amarillo oro del tricrómico de Barbeito López x 200.

específicas. Las variantes halladas están señaladas en la Tabla III.

Estas tablas se confeccionaron de acuerdo a un trabajo nuestro (15), en el que se utilizaron las tinciones citadas en dos tipos de materiales: a) lesiones "símil-infarto" provocadas por el isoproterenol en el miocardio de ratas y b) I.A.M. humanos con importantes componentes de necrosis-isquemia.

El Tricrómico de Barbeito-López es sensible para las alteraciones de las fibras miocárdicas a la necrosis y a la isquemia (viraje del color normal verde al amarillo oro), de las organelas, de los niveles cualitativos del ADN nuclear (variaciones en el espectro rojo) de la alteración del componente glucoproteico y de la acidez citoplasmática.

Los resultados obtenidos hacen al Tricrómico de Barbeito-López apto para la realización de planimetrías histológicas, siendo una técnica barata y de fácil realización (Fig. 4).

Otras técnicas utilizadas en otros centros son las tinciones mitocondriales y los métodos fluorescentes (amarillo de acridina) (16) que no han sido particularmente útiles en materiales humanos. También se ha utilizado la fluorescencia visible con lámpara

de Wood que producen las tetraciclinas administradas pre-óbito para delinear los IAM (17).

Otro método es la determinación de la relación K/Na (18) (normal 1.5 a 2.5) que disminuye alrededor de 1.0 en el tejido necrótico; sin embargo esta técnica tiene la desventaja de su alto costo y manejo especializado.

A nuestro juicio, la combinación del Tricrómico de Barbeito-López, la Tinción del NBT, y la clásica PAS-hematoxilina asegura un buen estudio de las lesiones de isquemia-necrosis.

AREOL CORONARIO

Se comienza por la coronariografía post-mortem (19-20). En caso de que exista un estudio contrastado cercano a la muerte del paciente aquella resulta superflua, pues los datos sobre morfología y funcionalidad son más reales en condiciones fisiológicas. Por el contrario, la ocurrencia de lesiones agudas post coronariografía deben ser estudiadas por cortes transversales seriados, más útiles para descubrir lesiones agudas. Las posibilidades de error de la coronariografía en vida es mostrar una luz "en hen-

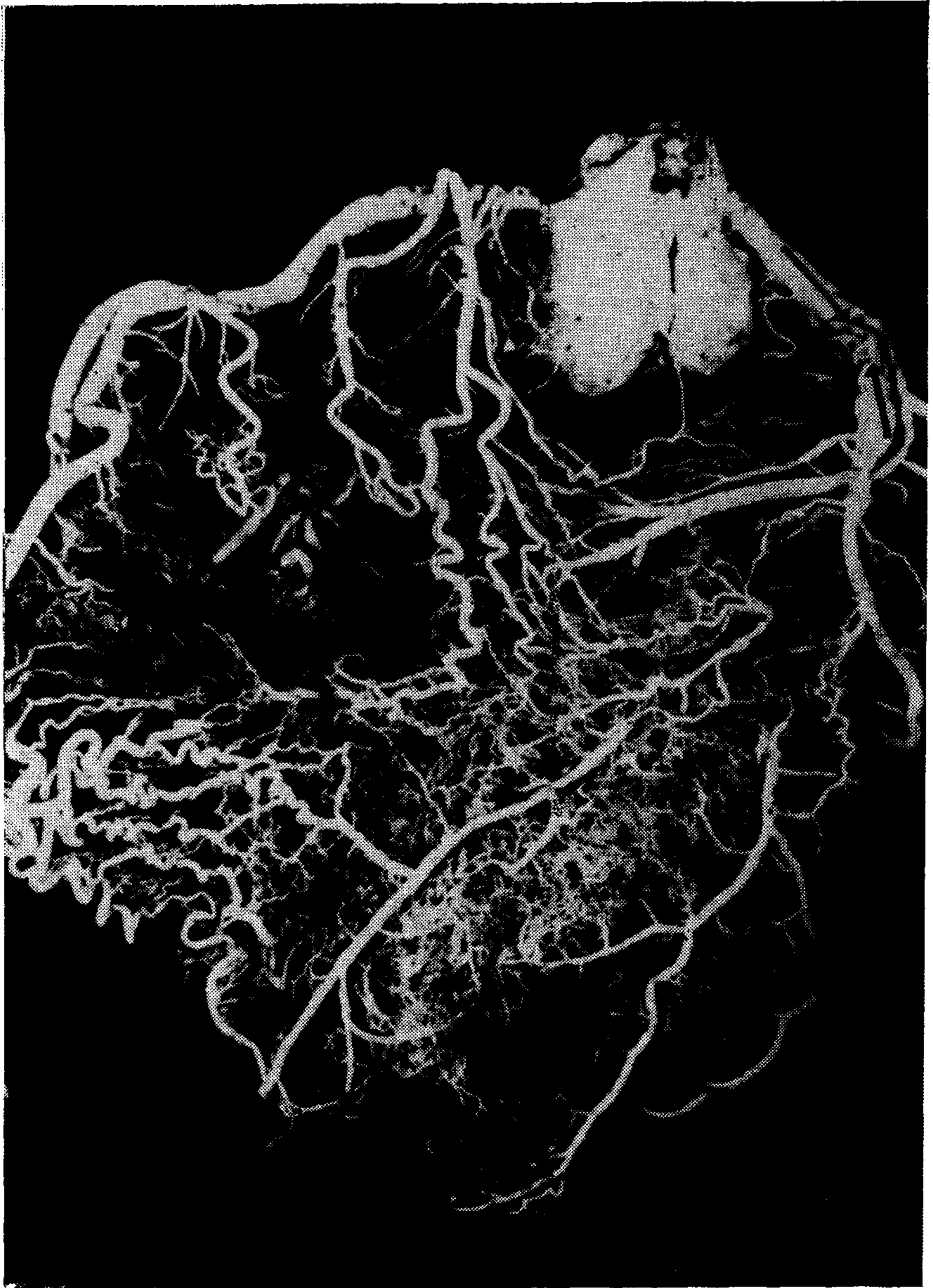


Figura 5. — Molde en plástico del árbol coronario. Las flechas señalan una gran destrucción de la D.A. Cortesía del Prof. G. Baroldi. (Pisa, Italia).

didura" de frente, con lo que un pasaje filiforme puede ser interpretada como normal (21).

Para el estudio postmortem las mezclas de gelatina de Sulfato de Bario (22-23) es el material más barato y de más fácil manejo, por lo que también son las más usadas.

Ferrer-Brown (24), también estudia el árbol venoso coronario así como el arterial

por inyección de un medio de contraste (Chromopaque) (en el caso de las venas la inyección se realiza en forma retrógrada al curso de la sangre a través del seno coronario). Luego se efectúan cortes transversales en ambos ventrículos cada 5 mm. y se obtienen radiografías de los cortes. Este autor demostró (25) que en los corazones normales, grandes venas de drenaje se originan en el endocardio y transcurren hacia

el epicardio manteniendo un calibre considerable. Las pequeñas venas intramiocárdicas se incorporan a las anteriores sin que existan vasos de tamaño intermedio entre ambas. En los corazones con fibrosis miocárdica por enfermedad arterial coronaria observó interrupción de las venas de drenaje principales y desaparición de la conformación venosa habitual, en uno de estos casos halló un plexo venoso en la pared interna ventricular, con una disposición circunferencial en cada uno de sus componentes.

Las técnicas de desenrollamiento del corazón se usan para demostrar el árbol arterial coronario en un solo plano (26, '27, 28). Mediante una serie de cortes las paredes cardíacas de ambos ventrículos se pueden aplastar y desplegar en un solo plano. La desventaja de este método es que los corazones quedan tan mutilados que son útiles sólo para demostrar la enfermedad arterial coronaria.

Igual reserva existe para utilizar las técnicas de moldes plásticos. Esta técnica fue magníficamente desarrollada por Baroldi (29) usando Geon latex 576 y Neopreno 842 A. (Fig. 5). Los moldes llegan a mostrar vasos del tamaño precapilar. Luego de inyectado el plástico vinílico se deja el corazón una hora en agua fría y la masa inyectada se solidifica. El corazón se fija en formal durante 18

horas y luego el miocardio es sometido a corrosión por el ácido clorhídrico por 48 horas.

Sin embargo, la técnica preferida por nosotros es la realización de cortes seriados transversales cada 2 mm de todas las grandes ramas y estudio histológico posterior (Fig. 6). La realización de macrocortes transversales ya descrita, permite la visualización de vasos colaterales y su distribución topográfica especialmente cuando se ha hecho una inyección previa en el árbol coronario.

El estudio de las arterias, arteriolas y capilares de ambos ventrículos ha sido desarrollado por Farrer-Brown (30) mediante un medio radio-opaco (Chromopaque). Las microcardiografías de cortes transversales de ambos ventrículos permite estudiar los más finos detalles de la microvasculatura ventricular.

OTROS METODOS

Otros métodos incluyen el estudio del Haz de Conducción con las técnicas de cortes seriados. Preferimos la Técnica de Lev (31), conocida desde hace muchos años, ligeramente modificada por nosotros sobre todo en lo que respecta a las tinciones efectuadas. Utilizamos las mismas tinciones para "áreas de necrosis e isquemia" que hemos

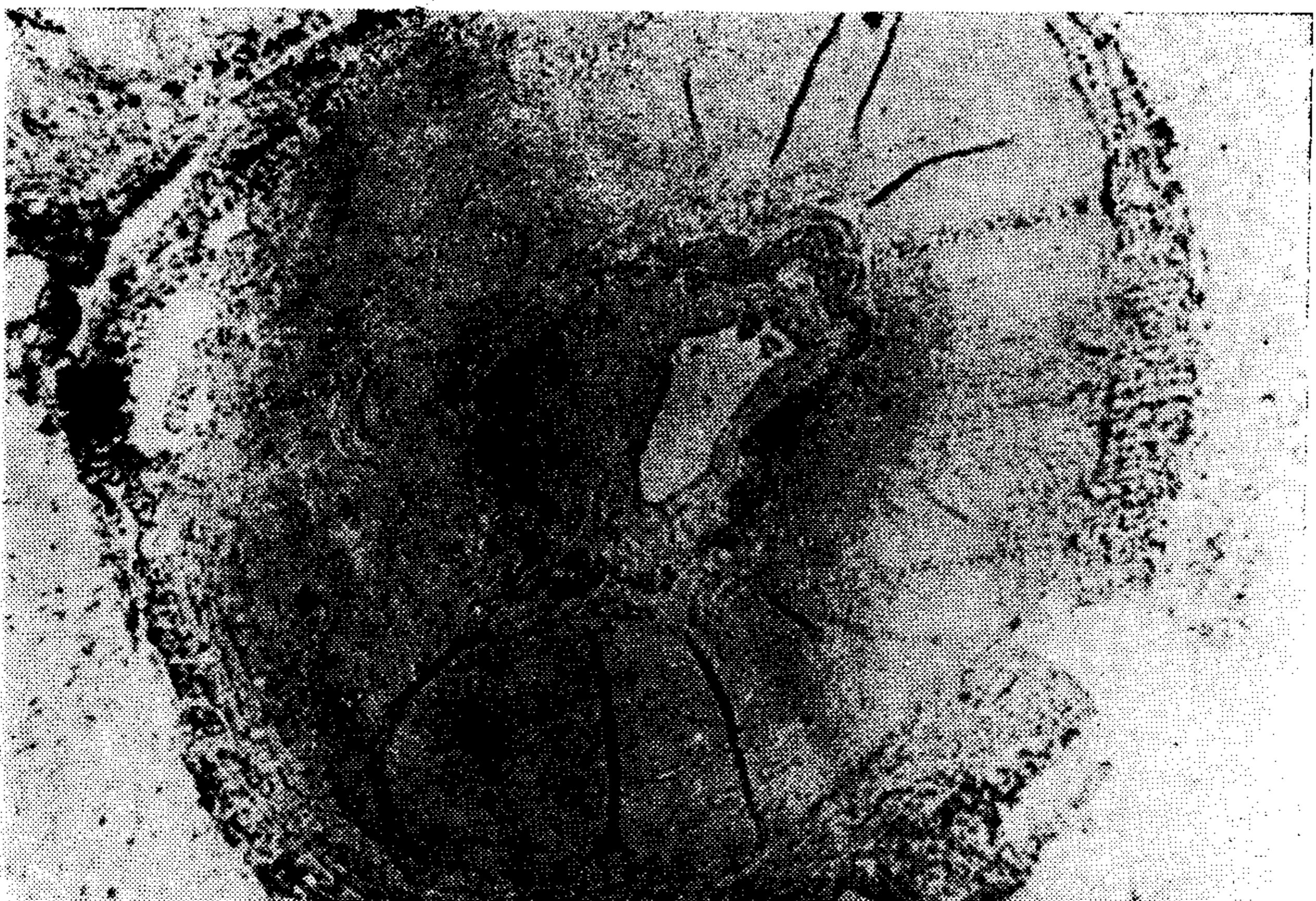


Figura 6. — Estenosis extensa de una arteria coronaria H y E x 100.

comentado en páginas anteriores. El estudio del Haz de Conducción es obligatorio en los trastornos del ritmo y en la muerte súbita (32).

Finalmente, se pueden efectuar radiografías del corazón entero o bloques del mismo a fin de descubrir calcificaciones valvulares, o coronarias e interrupciones de las pequeñas arterias.

La realización de todos estos estudios es indispensable para conocer la historia natural y la fisiopatogenia de la cardiopatía isquémica. Piensese que los primeros eventos que generan el infarto agudo del miocardio son extensamente desconocidos (33) y que la muerte súbita de origen cardíaco no ha sido totalmente aclarada desde que Lancisi publicara en 1707 su célebre monografía "De subitaneis mortis" (34).

El adecuado cumplimiento de la realización de estas técnicas (iniciadas hace tiempo en nuestro país: Policlínico de Niños, Juan A. Fernández y Dpto. de Doc. e Invest. Fundación Favaloro, Buenos Aires) y rutinarias en muchas partes del mundo prometen acercarnos al conocimiento fisiopatogénico de la enfermedad y mejorar la terapéutica. Esperamos que en un futuro inmediato y a través de un Comité de Estudio de la SAC se pueda reunir todo el material necrótico provenientes de los servicios de Cardiología de nuestro país, a fin de sacar conclusiones válidas sobre la cardiopatía Isquémica.

ANATOMOPATHOLOGICAL METHODS OF STUDY IN ISCHEMIC CARDIOPATHY

SUMMARY

The correct pathological study of the heart of patients suffering from ischemic cardiopathy provide many data for further use in clinical practice. Many new methods support this statement: 1) Planimetric study of ischemic and necrotic areas in transverse macrosections. 2) Volumetry of cardiac chambers. 3) Special histologic study of ischemic and necrotic areas and of the coronary tree. 4) Careful searching for acute and chronic lesions of the conducting system, in serial sections.

Macrosections of both ventricles allow the finding of "wavy fibers", useful for the diagnosis of "early infarcts".

The adequate accomplishment of these techniques promise a better understanding of ischemic cardiopathy.

BIBLIOGRAFIA

1. Maresch, R.; Chiari, H.: Anleitung zur Vornahme von Leichenöffnungen, Wien, Urban y Schwarzenberg, 1933.
2. Lichtig, Ch.; Glagov, S.; Feldman, S.; Wissler, R.: Isquemia del miocardio y aterosclerosis coronaria. Clín. Méd., 7: 79, 1973.
3. Milei, J.; Núñez, R.; Rapaport, M.; Fortunato, M. R.: Nuevo enfoque en la fisiopatología del Infarto Agudo de Miocardio. X Congreso de la Cardiología Argentina, Mar del Plata, 1975.
4. Lie, I.; Holleg, K.; Kampa, W. y Titus, I.: New histochemical method for morphologic diagnosis of early stages of myocardial ischemia. Mayo Clin. Proc., 46: 319, 1971.
5. Barbeito-López, J.: A new Trichrome Stain. Am. J. Clin. Path. Tech., 16: 53, 1946.
6. Nachlas, M. M. y Shnitke, T. K.: Macroscopic identification of early myocardial infarcted by alterations in dehydrogenase activity. Am. J. Pathol., 42: 379, 1963.
7. Wissler, R. W.; Lichtig, C.; Hughes, R.; Al-Sadir, J. y Glagov, S.: A new method for determination of post mortem left ventricular volume: Clinicopathologic correlation. Amer. Heart J., 89: 625, 1975.
8. Brody, G. L.; Belding, M. R. y Feldman, S. A.: The identification and delineation of myocardial infarcts. Arch. Pathol., 84: 312, 1966.
9. Milei, J.; Núñez, R. y Rapaport, M.: The early Pathological diagnosis of ischemia and acute myocardial infarction. XI Congress of International Academy of Pathology. Washington. Octubre 1976.
10. Milei, J.: Anatomía Patológica de la muerte súbita. Medicina (Bs. As.) (en prensa).
11. Salinas Madrigal: Comunicación personal. Junio del 1976.
12. Baroldi, G.: Comunicación personal. Setiembre 1974.
13. Milei, J. y Núñez, R.: Tipos de Necrosis en el I.A.M. XX Reunión Sociedad Argentina de Investigación Clínica. Diciembre 1975.
14. Milei, J.; Núñez, R. y Rapaport, M.: Nuevas Técnicas histológicas en el I.A.M. y en la isquemia. Rev. Arg. Card., 42: 330, 1974.
15. Knight, B.: The postmortem demonstration of early myocardial infarction. Med. Sci. Law, 5: 31, 1965.
16. Malek, P.; Kolc, J.; Vavreyn, B. y Zástava, U. L.: Fluorescence of tetracycline analogues fixed in myocardial infarction. Cardiología, 42: 303, 1963.
17. McVie, J. G.: Postmortem detection of inapparent myocardial infarction. J. Clin. Pathol., 23: 203, 1970.
18. Robbins, Sh.; Solomon, M. y Bennet, A.: Demonstration of intercoronary anastomoses in human hearts with low viscosity perfusion mass. Circulation, 33: 1566, 1964.
19. Fodríguez, F. L. y Robbins, S. L.: Post-Mortem angiographic studies on the coronary arterial circulation intercoronary arterial anastomosis in adult human hearts. Am. Heart J., 70: 348, 1965.
20. Edwards, J.: Valor y limitaciones de los estudios necróticos en los procesos coronarios. Progresos en las Enfermedades Cardiovasculares, 11: 329, 1971.

22. Kennel, A. J.: Coronary Atherosclerosis, Arrhythmias and Heart Block. Thesis. Graduate School. University of Minnesota, 1970.
23. Kennel, A. J.; Pruitt, R. D.; McCallister, B. D. y Titus, J. L.: Pathologic findings in the conduction system and its vasculature in cardiac arrhythmias (abstract). *Am. J. Cardiol.*, 25: 108, 1970.
24. Ferrer-Brown, G.; Wartman, W. B.: The microvasculature of the cardiac ventricles. *Pathol. Microbiol. (Basel)*, 30: 695, 1967.
25. Farrer-Brown, G. y Rowler, P.: Vascular Supply of interventricular septum of human heart. *Brit. Heart J.*, 31: 727, 1969.
26. Lumb, G. y Hardy, L. B.: Technique for dissection and perfusion of heart. *Arch. Pathol.*, 77: 233, 1974.
27. Rodríguez, F. L. y Reiner, L.: A new method of dissection of the heart. *Arch. Pathol.*, 63: 160, 1957.
28. Schlesinger, M. J.: An injection plus dissection study of coronary artery occlusions and anastomoses. *Am. Heart J.*, 15: 5668, 1938.
29. Baroldi, G. y Scmazzone, G.: Coronary Circulation in the normal and the Pathologic Heart. Washington D.C., V. S. Government Printing Office, 1967.
30. Farrer-Brown, G.: The injection of Capillaries, Arterioles and Arteries in the ventricles of the human heart by a radio-opaque Medium. *Cardiovasc. Res.*, 2: 179, 1968.
31. Lev, M.; Widram, J. y Erickson, E. E.: A method for the histopathologic study of the atrio ventricular node, bundle and branches. *Arch. Pathol.*, 52: 73, 1951.
32. James, T. N.: The coronary circulation and conduction system in acute myocardial infarction. *Pogr. Cardiovasc. Dis.*, 10: 410, 1968.
33. Erhardt, L. R.: The coronary circulation and acute myocardial infarction. *Act Med. Scand.*, 195: 241, 1974.
34. Lancisi, G. M.: *De Subitaneis Mortis, 1707. Classic Description of Disease.* Springfield (Illinois). Charles G. Thomas, 1955.