

Nuevas técnicas histológicas en el infarto de miocardio y en la isquemia

Dres. José Milei Rodolfo Núñez
Prof. Mauricio Rapaport Mario R. Fortunato

RESUMEN

Actualmente interesa conocer la extensión en cm² de las áreas de infarto, los volúmenes cavitarios y las zonas isquémicas adyacentes o lejanas al infarto, a fin de aclarar sus roles en la dinámica ventricular y poder correlacionarlos con los métodos de estudios cruentos e incruentos.

Por tal motivo se ensayaron técnicas histológicas aptas para tal fin, estudiándose dos tipos de materiales: a) 20 infartos humanos

con componentes isquémicos importantes, y b) lesiones "como infarto", en 20 ratas inyectadas con isoproterenol. La Técnica de Barbeito-López, fue útil y barata no sólo para realizar planimetrías histológicas, sino que junto con las Técnicas de "isquemia", imprescindibles en todo estudio rutinario del

Sección Cardiopatología
Hospital Municipal Juan A. Fernández
Cerviño 3356 - Buenos Aires

corazón. La Técnica del Nitroblue de Tetrazolium de gran valor, debido a su elevado costo y a resultados falsos positivos queda reservado para estudios de investigación y casos especiales.

Modernamente el clínico se ve abocado a los problemas del tratamiento de las diversas complicaciones del infarto de miocardio (arritmias, insuficiencia cardíaca, shock cardiogénico, disfunción del músculo papilar, ruptura valvular, ruptura cardíaca, etc.) que hacen que se ensayen nuevas técnicas terapéuticas previo estudio de los mecanismos fisiopatogenéticos puestos en marcha, en la producción de dicha lesión. En cardiopatología relacionado con este tema interesa saber (1):

1º) Extensión del infarto en cm^2 o mejor en cm^3 (2) a fin de correlacionarlo con: el E.C.G., curvas de presiones ventriculares, presiones capilares pulmonares, cateterismo, cineangiografías y técnicas incruentas tales como la fonomecanocardiografía y poder valorar adecuadamente la "falla de bomba ventricular" (3, 4, 5, 6, 7, 8, 8, 9, 10).

2º) Volúmenes ventriculares en el período post-mortem inmediato (1), y

3º) Valoración y cuantificación en cm^2 o en cm^3 de las áreas adyacentes o lejanas al infarto, a fin de aclarar su rol en la dinámica ventricular, es decir músculo isquémico, en vías de necrosis y no recuperable, músculo isquémico con posibilidad de recuperación, músculo isquémico y no recuperable, etc. y en la génesis de arritmias (correlación con la electro y vectocardiografía) (11-12).

Para estos fines se utilizan desde hace años la denominada "Planimetría de las superficies lesionales" (2) en secciones transversales, que si bien aportan datos de interés no son lo suficientemente exactos como para poder efectuar correlaciones de tipo estadístico precisas con los que aportan los métodos de estudios clínicos cruentos e incruentos.

Realizando estudios comparativos entre planimetrías macro y microscópicas hemos encontrado diferencias significativas, por lo que nos abocamos a la búsqueda de una técnica histológica barata y pasible de ser realizada rutinariamente.



Fig. 1. — Infarto miocárdico humano. Viraje del color normal verde (más oscuro en la foto) al amarillo oro (grisado). Mitocondrias evidentes (ángulo superior izquierdo). Técnica de Barbeito López.

MATERIAL Y METODOS

Se realizó un estudio microscópico seriado en dos tipos de materiales:

a) Infartos miocárdicos humanos, con componentes isquémicos importantes y de diferentes días de evolución (en número de 20), y

b) Lesiones "como infarto", con focos de necrosis e isquemia acompañantes en el miocardio de ratas Wistar de 200 gr. de peso cada una, producidas por la inyección de 20 mg/Kg/peso de sulfato de isoproterenol por vía intraperitoneal y sacrificio a las 24 horas (13, 14, 15, 16, 17, 18, 19).

Todo este material fue fijado en formol neutro al 10 %, e incluido en parafina, efectuándose las siguientes tinciones: H y E. tricrómicos de Gomori y de Barbeito López (20) (solución acetofucsínica —Acido molíbdico— Azul de Anilina-Amarillo de Metilo). coloración de P.A.S., técnica para "isquemia" de la Fucsina básica, hematoxilina y ácido pícrico (11-12) y Técnica del Nitro-Blue de Tetrazolium (21-22). (Las técnicas citadas son extensamente descritas en la bibliografía correspondiente).

RESULTADOS

El Tricrómico de Barbeito-López (20) fue sensible para las alteraciones de las fibras miocárdicas correspondientes a la necrosis y a la isquemia (viraje del color normal verde al amarillo oro), de las mitocondrias (Fig. 1) (puntillado negro) y de la carga de ADN nuclear (variaciones en el espectro rojo).

La técnica del Nitro-Blue de Tetrazolium fue adecuada para indicar necrosis antiguas y recientes e isquemias recientes (Fig. 2), mientras que las llamadas Técnicas de Isquemia fueron altamente positivas para las mismas (Fig. 3), siendo de color rojizo (fucsina básica no removida por el ácido pícrico) y aunque su fundamento no se conoce, parecen estar vinculadas a alteraciones proteicas.

COMENTARIO

Los resultados obtenidos hacen al Tricrómico de Barbeito-López apto para la realización de planimetrías histológicas, permitiendo a la vez constatar y valorar la alteración del componente glucoproteico, acidez ci-

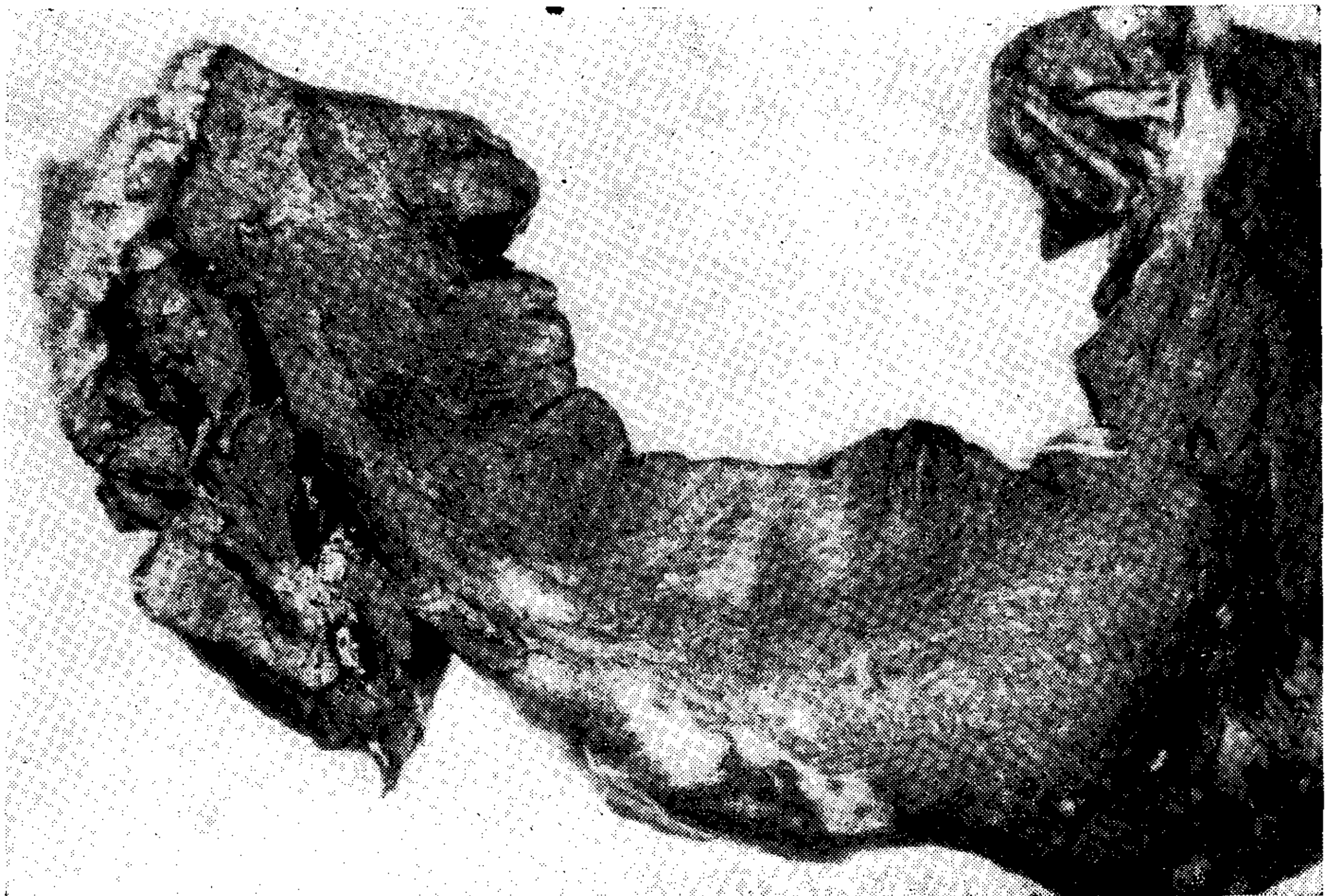


Fig. 2. — Corte transversal de miocardio humano, pared anterior de ventriculo izquierdo. Zonas sin colorearse de necrosis recientes (subendocárdicas) y antigua (flecha única), el resto presenta coloración azulada oscura (subepicárdicas). Técnica del Nitro-Blue de Tetrazolium.

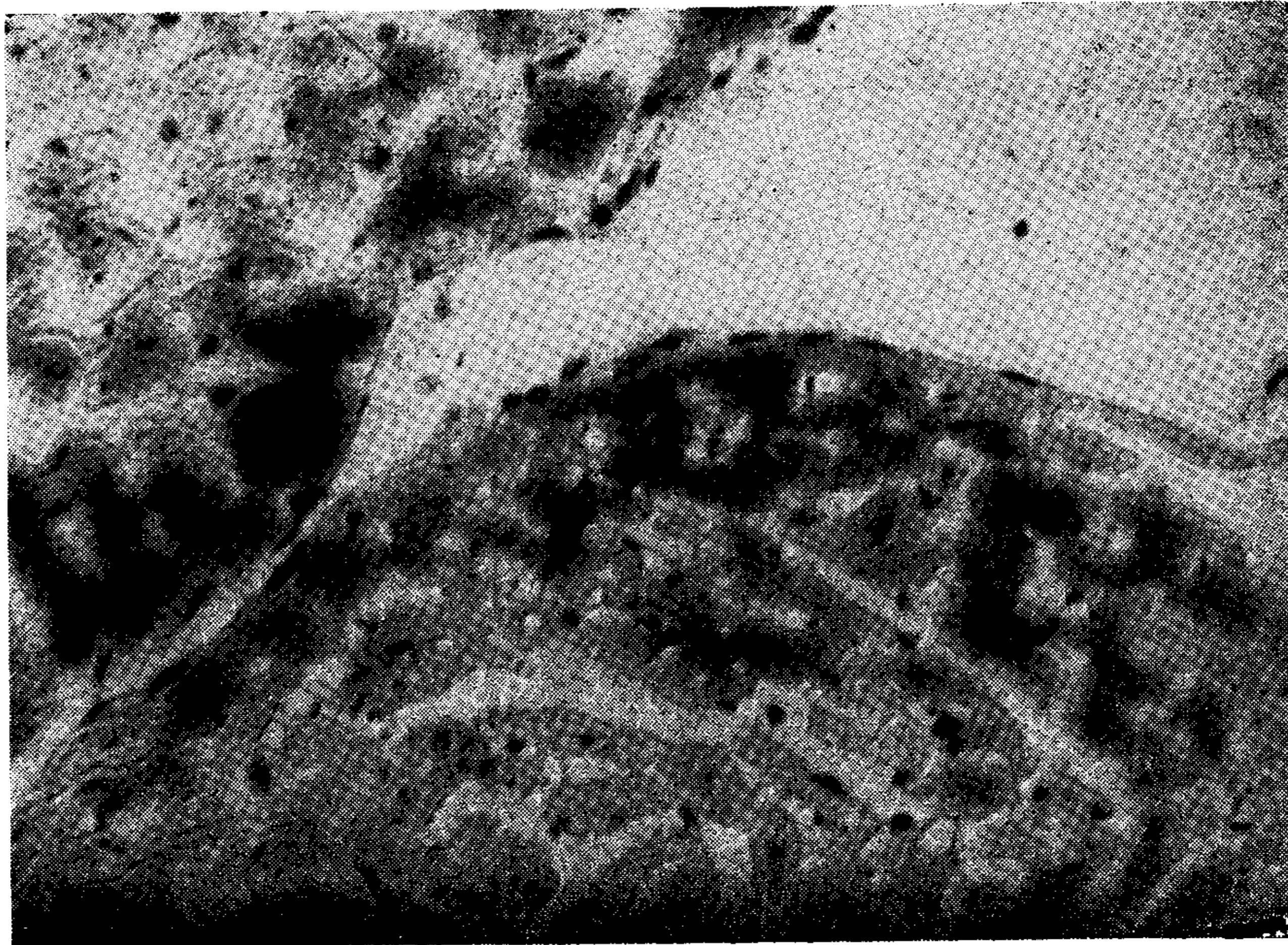


Fig. 3.— Lesiones "como infarto" provocadas por el isoproterenol en el miocardio de ratas. La coloración más oscura intracitoplasmática corresponde a la fucsina básica no removida por el ácido pícrico, denunciando isquemia reciente. Técnica de la fucsina básica, hematoxilina y ácido pícrico.

toplasmática, alteraciones de organelas como las mitocondrias, niveles cualitativos del ADN nuclear, etc. de las fibras miocárdicas.

Esta técnica es a nuestro juicio, junto con las técnicas de isquemia, lo suficientemente útil y barata como para ser realizada de rutina en el estudio de las diversas cardiopatías

La técnica del Nitro-Blue de Tetrazolium, de gran valor puede ser usada aunque no rutinariamente debido a su elevado costo, manipulación especializada y resultados falsos positivos, quedando reservada para estudios de investigación y casos especiales.

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 formazán insoluble de color azul oscuro, cosa que no hacen las zo-

nas necróticas o isquémicas deplecionadas de dehidrogenasas, por lo que permanecen incoloras.

SUMMARY

At present, internists and cardiologists are interested in knowing the extension of the infarcted areas measured in cm^2 , and the closed and distant ischemic areas, with the intention of evaluating its function in the ventricular performance and establishing a relationship with the modern clinical methods. Therefore, histological techniques appropriate for these purposes were used. Two kinds of specimens were studied: a) 20 human infarcts, with important ischemic components and b) lesions "like infarcts" in 20 rats injected with isoproterenol. Barbeito-López Trichome Stain was not only useful and cheap for histological planimetries but also combined with those techniques for ischemia, may be considered, according to this paper, absolutely necessary for the routine study of the heart. Nitro-Blue de Tetrazolium Technique is also useful, but because of its high cost, and false positive results, found in previous serials, should only be applied for research programs and clinical cases.

BIBLIOGRAFIA

1. LICHTIG, Ch., GLAGOV, S., FELDMAN, S. and WISSLER, R.: "Isquemia del miocardio y aterosclerosis coronaria". Clin Méd., 83: 7, 1973.

2. ROCK, W. A., OALMANN, M. C.: "A standardized method evaluating myocardial and coronary lesions". WISSLER, R. W. y GEER, J. C.: "Pathogenesis of atherosclerosis". Baltimore, Maryland. Williams and Wildnis, 1972.
3. BENCHINOL, A., DIMOND, E. G. y SHEN. Y.: "The apex cardiogram in ischemic heart disease the influence of exercise and nitroglicerine on Atrial contraction". Brit heart J., 24: 581, 1962.
4. MASTER, A. M. y FRIEDMAN, R.: "Phonocardiographic study of the heart sounds in acute coronary occlusion. Amer. Heart J., 24: 196, 1942.
5. STOCK, E.: Auscultation and phonocardiography in acute myocardial infarction". Med. J. Aust., 1: 1.060, 1966.
6. TALANO, J. V. y RONAN, J. A.: "The effector rate stress on the systolic time intervals during acute myocardial infarction in man Circulation". Suppl., 3, 42: 203, 1970.
7. WAYNE, H. H.: "Serial apex cardiogram, phonocardiogram and carotid tracing in myocardial infarction Circulation". 38: 203, 1968.
8. HARRIS, W. S. y SCHOENFELD, G. D.: "Systolic time intervals in heart failure in man Circulation. 37: 149, 1968.
9. BENNETT, E. D., SMITHEN, C. S., SOWTONGE: "Systolic time intervals in acute myocardial infarction". (Abstr.). Amer. J. Cardiol., 26: 625, 1970.
10. KARLINER, J. S., ROSS, J. Jr.: "Left ventricular performance after acute myocardial infarction, Progr. Cardiovasc. Dis., 13: 374, 1971.
11. LIE, J. T.: "Detection of early myocardial infarction by the fuchsin staining technique". Amer. J. Clin. Path., 50: 317, 1968.
12. LIE, J. T., HOLLEG, K. E., KAMPA, W. R., TITUS, J. L.: "New histochemical method for morphologic diagnosis of early stages of myocardial ischemia". Mayo Clin. Proc., 46: 319, 1971.
13. CHAPPEL, C. I., RONA, G., BALACZ, T. and GAUDRY, R.: "Comparison of cardiotoxic actions of certain sympathomimetic amines". Canad. J. Biochem. Physiol., 37, 35: 42, 1959.
14. RONA, G., ZOSTER, T., CHAPPEL, C. I. and GAUDRY, R.: "Myocardial lesions, circulatory and electrocardiographic changes produced by isoproterenol in the dog". Rev. Canad. Biol., 18, 83: 94, 1959.
15. RONA, G., CHAPPEL, C. I., BALAZS T. and GAUDRY R.: "An infarct-like myocardial lesion and other toxic manifestations produced by isoproterenol in the rat". Arch. Path. (Chicago), 1959, 67: 443, 445.
16. HANDFORTH, C. P.: "Myocardial infarction in hamsters produced by isoproterenol". Med. Serv. J. Can., 1962, 18, 506.
17. HANDFORTH, C. P.: "Isoproterenol-induced myocardial infarction in animals". Arch. Path. 1962, 73: 161.
18. ROSEMAN, E., GAZENFIELD, E., LAUFER, A. and DAVIES, A. M.: "Isoproterenol induced myocardial lesion in the immunized and non-immunized rat". Path. Microbiol, 1964, 27: 303-309.
19. CHAPPEL, C. I., RONA, G., BALAZS, T. and GAUDRY, R.: "Severe myocardial necrosis produced by isoproterenol on the rat". Arch. int. Pharmacodyn, 1951, 122, 123.
20. BARBEITO-LOPEZ, J.: "A new Tricome Stain". Am. J. Clin. Path. Tech., 16: 53, 1946.
21. NACHLAS, M. M., SHNITKA, T. K.: "Macroscopic identification of early myocardial infarcts by alterations in dehydrogenase activity". Am. J. Pathol., 42: 379, 1963.
22. BRODY, G. L., BELDING, A. W., BELDING, M. R., FELDMAN, S. A.: "The identification and delineation of myocardial infarcts". Arch. Path., 83: 312, 1967.