

# Daño miocárdico reversible en el "Macaca mulatta" producido por el isoproterenol

POR LOS DRES. MANUEL R. MALINOW, GEORGE W. KITTINGER, CESAR A. MARUFFO Y CHARLES W. DE LANNOY

El Isoproterenol produce en ratas (Chappel y colab., 1959, Rona y colab. 1959 y Wexler y Kittinger, 1963) y en hamsters (Handforth, 1962) lesiones semejantes al infarto de miocardio.

En este trabajo comunicamos las modificaciones hemodinámicas y electrocardiográficas, así como los cambios anatómicos observados en monos después de la inyección de esta droga.

## MATERIAL Y METODOS

Dieciséis *Macaca mulatta*, machos y hembras, aparentemente sanos, que pesaban entre 3,6 y 6,5 kg. recibieron 100 mg/kg. de Isoproterenol (ISP) en 4 ml. de .051 M Na citrato, pH 7.4 subcutáneo; 2 ml. fueron inyectados en cada pierna casi simultáneamente para asegurar una rápida absorción. Esta fue la mínima dosis cierta que produjo los efectos deseados en forma cierta; se arribó a ella por un aumento paulatino, empezando con 1 mg/kg. en pruebas preliminares en tres animales, que no han sido incluidos en este trabajo. Los monos fueron sujetos en "sillas" y los electrodos fueron cosidos a su piel para que éstos condujeran las observaciones sin molestar a los animales. Se obtuvieron electrocardiogramas antes de inyectarlos y luego cada 5 minutos durante la primera hora; subsi-

guientemente los electrocardiogramas fueron obtenidos generalmente cada hora durante el primer día, y luego dos veces por día durante los días subsiguientes del experimento. En algunos casos, catéteres arteriales y venosos fueron introducidos, bajo anestesia, en la aorta abdominal, o en la parte derecha del corazón a través de la arteria o vena femoral respectivamente.

Los experimentos comenzaron una vez que los animales se hubieran recuperado (generalmente 1-2 días). La presión arterial fue registrada con un Stathan Strain Gauge modelo P23 en un Sanborn modelo 358 - 1100 MV. El volumen minuto fue determinado por el método de dilución con Indocyanine Green; la sangre arterial fue extraída a un ritmo de 10 ml/minuto hacia un GME Dye Tracer modelo DTL y la curva registrada en un polígrafo GME modelo M5P (Gilson Medical Electronics, Middleton, Wisconsin). El volumen de sangre, desde el sitio de muestreo a la cámara óptica del colorante fue aproximadamente de 1.0 ml. La transaminasa glutámico-oxalacética fue determinada de acuerdo a Wroblewski y colab., (1956). Al final de los experimentos se realizaron las autopsias completas. Fue retirado el corazón y se lo dispuso en formol, y el miocardio fue cortado en 6 u 8 secciones transversales paralelas al surco aurículo-ventricular. Los tejidos fueron embebidos en parafina y teñidos con H y E, y con ácido peryódico Schiff (PAS). En ciertos casos, secciones congeladas se tiñeron con Sudan IV y hematoxilina.

Oregon Regional Primate Research Center.  
505 N. W. 185th. Avenue. Beaverton, Oregon  
97005.

Departamentos de Fisiología, Bioquímica, Patología y Cirugía Cardiovascular.

Publicación Nº 262 del Oregon Regional Primate Research Center. Subvención Nº FR00163 de National Institutes of Health.

## RESULTADOS

### Observaciones generales y cambios hemodinámicos.

No se observaron reacciones pseudoafectivas. Minutos después de la inyección, apareció enrojecimiento en la cara que duró menos de media hora. Ocasionalmente se observaron vómitos en las primeras horas.

Los cambios hemodinámicos y los niveles de SGOT son mostrados en las Figuras 1 y 2 respectivamente.

### Cambios electrocardiográficos. (Ver fig. 3).

Los cambios electrocardiográficos no fueron uniformes en todos los casos. Pa-

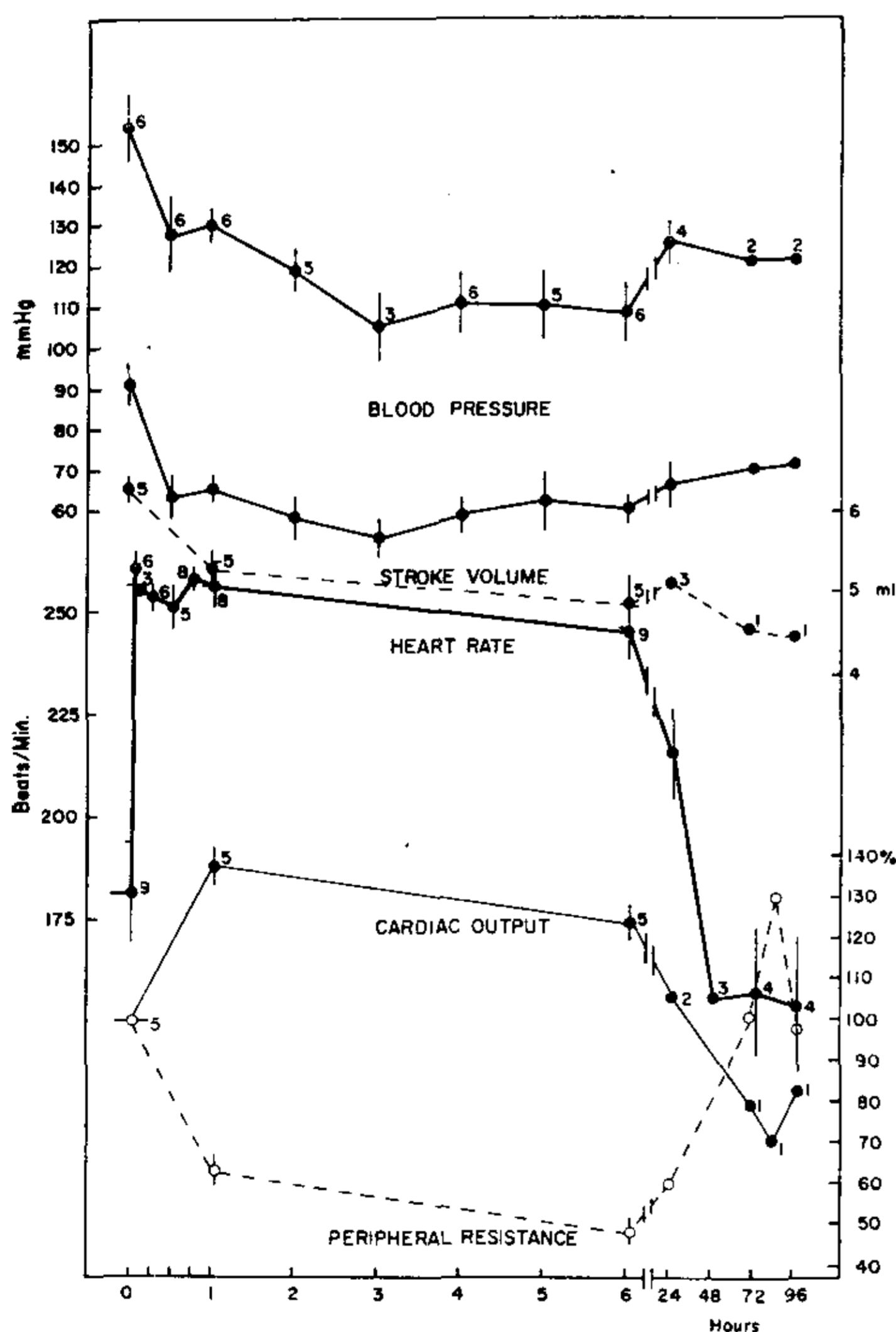


Fig. 1. — Cambios posteriores a la inyección de Isoproterenol; 100 mg/kg. dados a la 0 hora. El valor de los controles es el promedio de tres determinaciones. La droga produjo una disminución de la presión arterial, que se mantuvo por encima del nivel de shock, una ligera disminución en el volumen sistólico, un aumento en la frecuencia cardíaca en las primeras 24 horas y un moderado aumento en el volumen minuto cardíaco, con una dilatación periférica durante las primeras 6 horas. Control volumen minuto: 885 (límite 580-1065) ml/min. Número de animales, indicados en el gráfico; se muestra el promedio - SEM.

ra informar con claridad, son descriptos separadamente.

1. - *Cambios inmediatos*: De uno a tres minutos después del ISP, fueron observados taquicardia y un aumento en la magnitud de la onda T en las derivaciones 2,3 y V4.

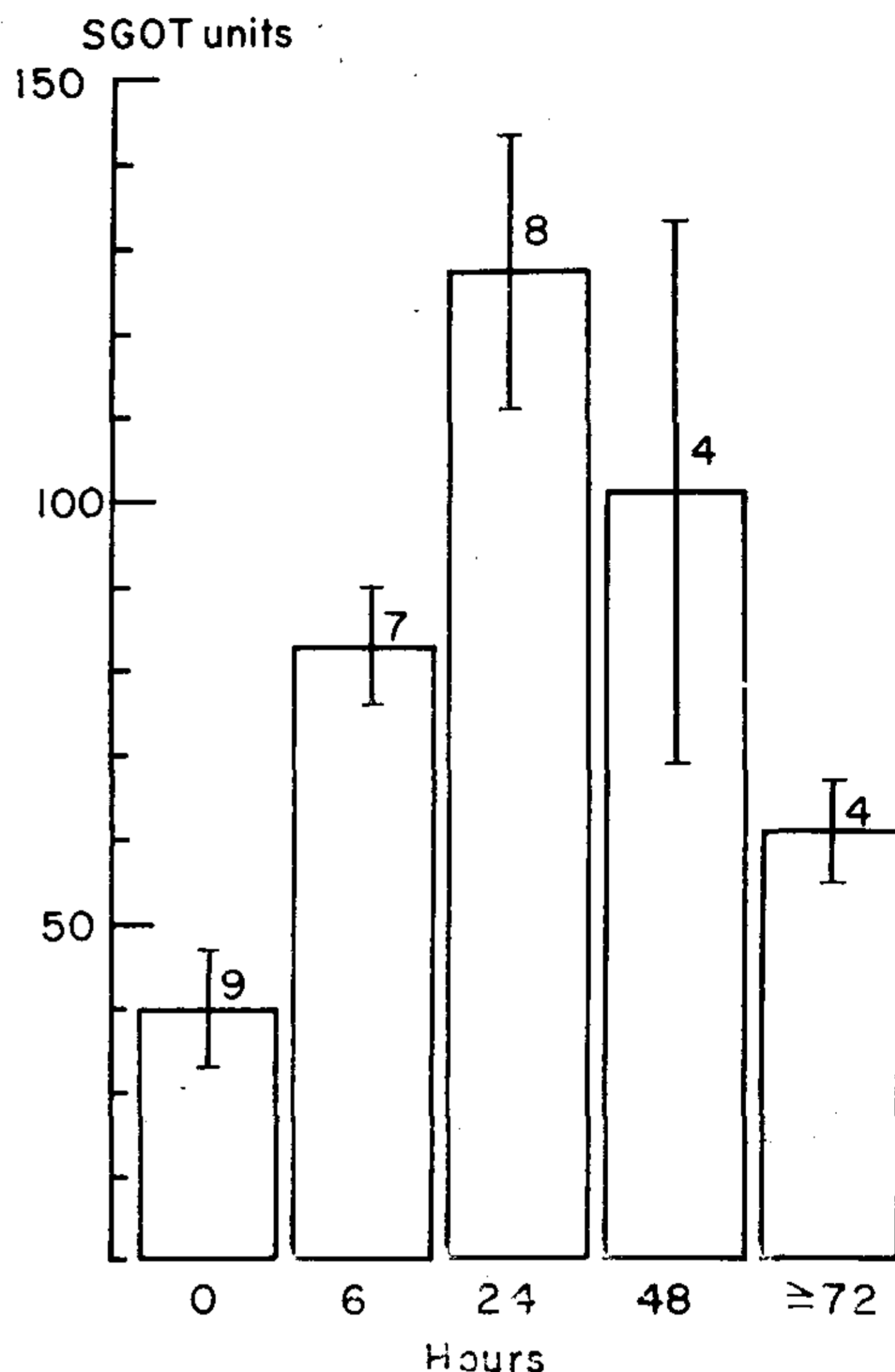


Fig. 2. — Variaciones en la transaminasa glutámico-oxalacética posterior a la inyección de Isoproterenol. Se observó un ascenso con un máximo a las 24 horas, y un retorno gradual hacia los valores control a los 3 días. Número de animales, indicados en el gráfico. Se muestra - SEM.

2. - *Cambios precoces*: En los 5 primeros minutos después de la inyección, el ST se elevó en las derivaciones 2,3, a VF y V4 en 15 de los 16 animales; en el mono restante el segmento ST se deprimió en estas derivaciones. Más tarde en unos pocos animales se observaron las curvas monofásicas. Frecuentemente se observaron modificaciones en el QRS. La R decreció en altura en las derivaciones 2,3, aVF y V4 en casi todas las pruebas. En la mitad de los animales aproximadamente, apareció en estas derivaciones una onda Q anormal.

3. - *Cambios tardíos*: La elevación del ST, generalmente desapareció en 24 horas. En la mitad de los animales aproximadamente, la T se invirtió en las deri-

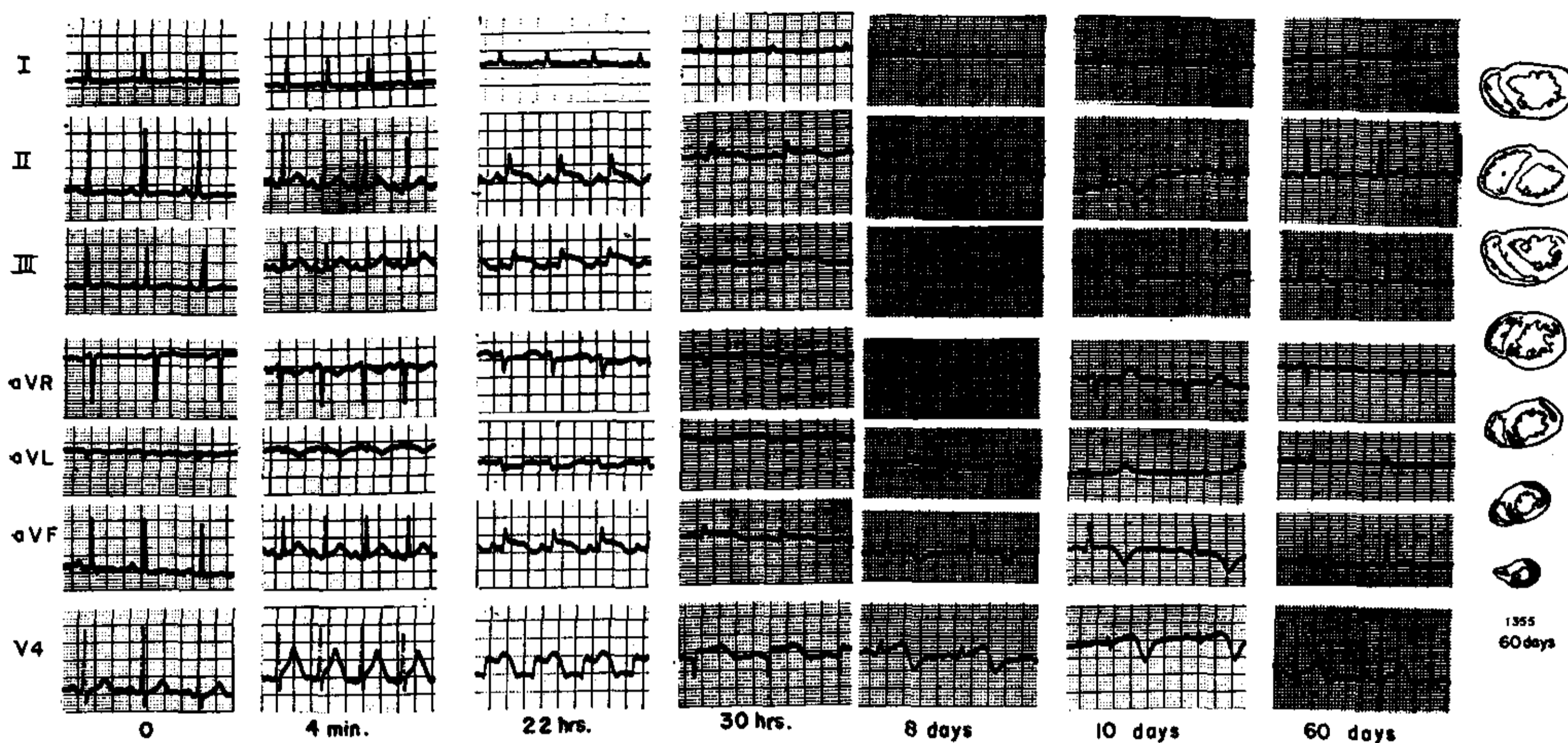


Fig. 3. — Electrocardiogramas de un experimento representativo. El trazado control muestra una onda T invertida en la derivación L1; esto es ocasionalmente observado en Macaca mulatta (Malinow, 1966). A los 4 minutos, el ritmo cardíaco se acelera, la onda T es más alta en las derivaciones L2, 3, aVF y V4 y una pequeña elevación del segmento ST está presente. A las 22 hrs. una onda de injuria monofásica es observada; una onda K es observada en la derivación V4. A las 30 hrs., el ritmo es más lento, la onda Q es más profunda en V4, y el segmento ST está menos desviado. A los 8 y 10 días el ritmo es más lento, la onda Q va desapareciendo, y profundas ondas T invertidas se observan en las derivaciones L2, 3, aVF y V4. A los 60 días el electrocardiograma es prácticamente normal. Las distancias entre las dos líneas gruesas es de Lem.; el standard es de 1mV/cm., velocidad del papel 50 mm/sec. El gráfico muestra la localización del daño del miocardio.



Fig. 4. — Sección del miocardio apical de un mono sacrificado 4 días después de la inyección de Isoproterenol. Claras vacuolas pueden ser observadas en el citoplasma y en el núcleo de las células miocárdicas. En las fibras se presentan falta de estriación y un aspecto hialino. Es evidente una leve marginación cromática. H y E 400.

vaciones 2,3, aVF y V4 dentro de las 48 horas, y esta negatividad pudo ser observada hasta los 10 días posteriores al experimento. La onda Q anormal, desapareció algunas horas después del sexto día subsiguiente a la inyección.

4. - *Arritmias*: Seis animales presentaron extrasistolia ventricular frecuente 30 minutos a 24 hs. después de la inyección de ISP. En un caso se observó ex-

trasistolia auricular. Un mono presentó una taquicardia paroxística, probablemente una taquicardia nodal con conducción aberrante. Otro animal desarrolló un bloqueo de rama izquierda; y en otro se notó una fibrilación ventricular terminal. Un mono fue encontrado muerto tres horas después de la inyección, presumiblemente por fibrilación ventricular.

#### Hallazgos Postmortem

Los animales fueron sacrificados entre 60 días y 10 minutos después de la inyección. Dos monos murieron espontáneamente 1 1/2 y 3 hs. después del ISP, respectivamente.

En un solo caso se observó patología extracardiaca (ulceración aguda de estómago). No hubo patología macroscópica en el corazón. No se observaron cambios microscópicos en los animales que murieron en menos de una hora de colocada la inyección.

Los hallazgos subsiguientes pueden ser discutidos bajo dos aspectos: a) Las lesiones más conspicuas ocurrieron en las secciones más distales, desde la porción media del corazón hacia la punta, es-

pecialmente en el ventrículo izquierdo. Dentro de las áreas afectadas se hallaron islotes de fibras aparentemente normales. En los núcleos de las fibras musculares se observaron cambios muy moderados, 1 1/2 horas después del ISP. Entre las 3 y 24 hs. posteriores las modificaciones en los núcleos consistieron en un aumento en tamaño y una moderada marginación cromática, mientras que las fibras musculares presentaron un aumento de la eosinofilia citoplasmática. Entre las 6 y 24 hs., se observaron dilataciones capilares, edema, y una moderada infiltración de leucocitos polinucleares.

Lesiones más severas fueron halladas entre los 4 y 5 días después de la inyección de ISP (fig. 4). Las fibras musculares sufrieron una degeneración vacuolar extensiva y una pérdida de estriación, mientras que los núcleos eran grandes y pálidos y presentaban una moderada vacuolización.

Las vacuolas no se tiñeron con Sudan IV y reaccionaron negativamente con el PAS. En contraste, gran cantidad de materia PAS positivo fue hallado en los espacios intercelulares. Los cambios en el estroma consistieron en la dilatación capilar y edema intersticial, mientras los leucocitos polinucleares habían desaparecido; no fue observada hiperemia. Las vacuolas persistieron en las células musculares pero eran más pequeñas. De 20 a 60 días después del ISP, las vacuolas se hallaban todavía; aunque no tan marcadamente como en las primeras fases; la infiltración histiocítica fue moderada. En ningún momento se observó desintegración muscular o fibrosis.

b) Hasta 8 días después del ISP se observaron pequeñas áreas de hemorragia intersticial en los animales observados. Estas áreas fueron observadas en los músculos papilares y en el endocardio, especialmente en las porciones más basales, del ventrículo derecho; en este caso nunca fueron vistas más de 1 cm. por debajo del surco aurículoventricular.

#### DISCUSION

Las observaciones previas, en relación con las lesiones de tipo infarto inducidas por el ISP, no habían sido relacionadas con otros efectos cardiovasculares que la patología cardíaca. Desde que los pará-

metros hemodinámicos controles observados en este experimento, son similares a aquellos previamente descritos (Lees y colab., 1965), los cambios encontrados después de la inyección del ISP fueron presumiblemente debidos al efecto vascular (Gooman y Gilman, 1965) y cardiotóxicos combinados (Chappel y colab., 1959; Rona y colab., 1959; Wexler y Kittinger, 1963 y Handforth, 1962).

Las catecolaminas inducen necrosis miocárdica en conejos, gatos, perros y ratas (Rona y colab., 1959), mientras que en el humano, una miocarditis fue relacionada a la administración de norepinefrine (Szakacs y Connon, 1958) y la existencia de feocromocitoma (Kline, 1961). Las dosis usadas en los presentes experimentos, sin embargo, son tan altas con respecto a las usadas en el humano son mucho menores, por lo que cualquier extrapolación de nuestros resultados a situaciones clínicas, no es justificada. Además deben ser tomadas en consideración las diferentes especies. Por ejemplo, la lesión miocárdica de tipo infarto inducida en ratas (Chappel y colab., 1959 y Rona y colab., 1959) por el ISP, en una dosis similar a la empleada en este experimento, difiere aparentemente de aquellas observadas en monos, porque en estos últimos no se observó desintegración de las fibras miocárdicas, ni su reemplazo fibrótico. La elevación del SGOT encontrada en nuestros primates confirma los informes de Wexler y Kittinger sobre ratas. (Wexler y Kittinger, 1963).

Los controles electrocardiográficos, fueron similares a aquellos previamente encontrados en *Macaca mulatta* normales (Malinow, 1966).

Durante el desarrollo del presente método, nosotros observamos que cuando estos primates fueron sujetados en "sillas", o cuando se les administró suero fisiológico o ISP en dosis menores, ellos no sufrieron las modificaciones electrocardiográficas aquí descritas. Los cambios probablemente no se deben a la taquicardia dado que no son observados en los *Macaca mulatta* sujetos, los cuales normalmente muestran una frecuencia de alrededor de 250/minuto. (Malinow, 1966). Esta elevada frecuencia probablemente se deba a la descarga nerviosa autónoma, desde que decreció nota-

blemente cuando los registros fueron tomados sin molestar a los animales (Stahl y Malinow, publicado).

Los electrocardiogramas típicos con características de lesión, isquemia y necrosis (Sodi Pallares y Calder, 1956) fueron regularmente observados en los monos después de la inyección del ISP, pero gradualmente desaparecieron entre los 6 y 10 días. En contraste, signos electrocardiográficos de necrosis, rara vez desaparecen en los seres humanos una vez que se han establecido por más de una semana. (Langendorf y Pick, 1938). Los estudios publicados aquí demuestran la gran capacidad del miocardio, para reparar el extenso daño inducido por el ISP en los monos.

### RESUMEN

Isoproterenol (100 mg/kg. en 4 ml. Na citrato, pH 7.4) fue inyectado en dieciséis *Macaca mulatta*, conscientes y parcialmente sujetos. La presión arterial sistémica cayó pero no hubo evidencia alguna de shock. El volumen minuto aumentó y fue asociado con una taquicardia sinusal y con una leve disminución en el volumen sistólico.

Después de pocos días, las imágenes electrocardiográficas de injuria, isquemia y necrosis desaparecieron. Los valores de SGOT mostraron un inmediato aumento para retornar a los valores normales, al tercer día de la inyección.

El microscopio mostró en el miocardio severos cambios degenerativos, aparentemente reversibles.

### SUMMARY

Isoproterenol (100 mg/kg in 4 ml Na citrate, pH 7.4) was injected subcutaneously into 16 conscious, partially restrained *Macaca mulatta*. The systemic blood pressure dropped but there was no evidence of shock. The cardiac output increased and was associated with sinus tachycardia and with a slight decrease in stroke volume. Electrocardiographic pattern of injury, ischemia, and necrosis disappeared after a few

days. SGOT showed an immediate rise and then returned toward normal values by the third post-injection day. Light microscopy demonstrated severe degenerative, apparently reversible, changes in the myocardium.

### BIBLIOGRAFIA

- Chappel, C. I.; Rona, G.; Balazs, T. and Gaudry, R.: Comparison of cardiotoxic actions of certain sympathomimetic amines. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 1959, 37, 35.
- Goodman, L. S. and Gilman, A.: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Macmillan Co., New York, 3rd. edition, 1965.
- Handforth, C. P.: Isoproterenol-induced myocardial infarction in animals. *Arch. Path.*, 1962, 173, 83.
- Kline, I. K.: Myocardial alterations associated with pheochromocytomas. *Am. J. Path.*, 1961, 38, 359.
- Langendorf, R. and Pick, A.: Zur Diagnose des Myokardinfarktes mit Hilfe von Brustwandableitungen. *Acta Medica Scandinavica*, 1938, 96, 80.
- Lees, M.; Malinow, M. R. and Parer, J. T.: Hemodynamic observations in *Macaca mulatta*. Volume dedicated to Prof. Luis Decourt, Sao Paulo, Brazil, *Temas de Medicina*, 1965.
- Malinow, M. R.: An electrocardiographic study of *Macaca mulatta*. *Folia primat.*, 1966, 4, 51.
- 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. *A.M.A. Arch. Path.*, 1959, 67, 443.
- Sodi Pallares, D. and Calder, R. M.: *New Bases of Electrocardiography*, C. V. Mosby, St. Louis, 1956.
- Stahl, W. R. and Malinow, M. R.: A survey of physiological measurements in *Macaca mulatta*. *Folia Primatologia* (en prensa).
- Szakacs, J. E. and Cannon, A.: Norepinephrine myocarditis. *Am. J. Clin Path.*, 1958, 30, 425.
- Wexler, B. C. and Kittinger, C. W.: Myocardial necrosis in rats: serum enzymes, adrenal steroid and histopathological alterations. *Circ. Res.*, 1963, 13, 159.
- Wroblewski, F. and LaDuc, J. S.: Serum glutamic pyruvic transaminase in cardiac hepatic disease. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 1956, 91, 569.