

Acción de la estimulación noradrenérgica en el infarto agudo experimental

MERCURI J. A. (*);
MERCURI M. O. C. (**)
FRANCO R. (*)

INTRODUCCIÓN

En un trabajo anterior (1) comprobamos que la administración de noradrenalina en dosis terapéuticas pero repetidas y sin sensibilizantes previos, producía en los animales alteraciones miocárdicas, que se evidenciaban tanto en el examen anatomopatológico macro y microscópico, como igualmente en los registros electrocardiográficos (arritmias, cambios de la onda T., etc.).

Otros autores, Mezzano y Peluffo (2), administrando dosis masivas de noradrenalina en corazones de conejo, han descripto cambios histológicos similares a los que se observan en la isquemia miocárdica.

Maling y colaboradores (3) estudiaron en perros anestesiados con la técnica de ligadura de Harris (4) un grupo de drogas simpaticomiméticas, noradrenalina, adrenalina, isoproterenol, etc., observando que la noradrenalina administrada en grandes dosis (90 µg por Kg. de peso) causaba mayor actividad extrasistólica que la adrenalina, mientras que las demás drogas no la producían.

El objeto del presente trabajo es estudiar la acción de la noradrenalina administrada en casos de infarto agudo, experimental, tanto desde el punto de

vista de la evolución clínica y electrocardiográfica, como desde el punto de vista histoquímico.

Para ello hemos efectuado:

I — Estudio del registro electrocardiográfico obtenido en el infarto experimental, con y sin la administración de la droga y su evolución.

II — Determinaciones histoquímicas de algunas sustancias relacionadas con el metabolismo energético de la célula cardíaca (adenosintrisfosfatasa y polisacáridos).

Material y métodos

Se utilizaron perros mestizos entre 12 y 14 Kgs. de peso. Se los anestesió con Pentobarbital sódico a razón de 35 mgrs. por Kg. de peso, administrado por vía intraperitoneal.

Se efectuó la ligadura de la arteria coronaria anterior, a medio cm. de su emergencia. Previamente se infiltró la vaina perivascular con solución fisiológica, para separar las venas de la arteria y se pasó con aguja atraumática.

(*) Dep. de Ciencias Fisiológicas: Sección Farmacología.

(**) Dep. de Ciencias Morfológicas: Sección Histología. Facultad de Medicina U. Salvador. Callao 542 - Bs. As.

tica una ligadura por debajo de la arteria, se efectuó la ligadura parcial con nudo doble, sin ocluir completamente la arteria y se cerró el tórax pasando los cabos del hilo por los hojales. Se efectuaron registros electrocardiográficos: a) Antes de la toracotomía; b) Con tórax abierto; c) Con pericardiotomía; d) Con infiltración; e) Pasando el hilo sin ligadura; f) Luego de la ligadura, con intervalos de 1 a 5 minutos hasta la aparición de la fibrilación terminal. En los casos en que la sobrevida se prolongó más de 180 minutos los registros se fueron espaciando y se anotó el momento de la muerte y la causa de la misma.

Se controló la presión arterial media con manómetro de mercurio conectado a un catéter plástico introducido en la arteria femoral. Los animales con infarto de miocardio experimental se dividieron en dos lotes: en el primero de ellos (21 animales) se efectuó la técnica descrita y no se administró ninguna clase de medicación previa ni durante el desarrollo del experimento.

El segundo grupo (16 animales), además de ser sometidos al procedimiento de ligadura coronaria, fueron perfundidos en forma continua por vía

endovenosa con una solución de noradrenalina en solución de dextrosa al 5 % a razón de 0,4 a 0,8 microgramos por minutos y por Kg. de peso del animal, manteniéndose el goteo de la solución durante todo el procedimiento hasta la muerte del animal.

Además se efectuó en un grupo de 9 animales de control, sin infarto del miocardio experimental y sin administración de noradrenalina, biopsia de miocardio para el estudio de la distribución del glucógeno y de la adenosin-trifosfatasa.

Inmediatamente después de terminar las experiencias de los otros dos grupos, se efectuó apertura del tórax y se obtuvo material para biopsia de las zonas anóxicas y de las normales.

Para el estudio histológico de este material se utilizaron los siguientes métodos:

Fijación en formol y coloración con la técnica común de Hematoxilina-Eosina para estudio de la morfología general.

Fijación en Carnoy y coloración con el método de PAS para polisacáridos.

Fijación en formol neutro al 10 % y 4°C y técnica de Wachstein-Meislen para ATPasa.

TABLA N° 1
ANIMALES CON INFARTO EXPERIMENTAL SIN MEDICACION

N°	Ligadura en	Muerte por	Tiempo minutos
1	Coronaria ant.	Fibrilación vent.	85
2	" "	" "	75
3	" "	" "	90
4	" "	" "	75
5	" "	" "	90
6	" "	Sobrevida	mayor 180
7	" "	Fibrilación vent.	90
8	" "	" "	30
9	" "	" "	45
10	" "	" "	180
11	" "	" "	35
12	" "	Sobrevida	mayor 180
13	" "	"	mayor 180
14	" "	Paro cardíaco	100
15	" "	Fibrilación vent.	110
16	" "	" "	90
17	" "	" "	95
18	" "	" "	105
19	" "	" "	110
20	" "	" "	110
21	" "	Paro cardíaco	115

El cuadro N° 1 muestra el primer grupo de 21 animales con infarto de miocardio agudo experimental, sin administración de ninguna droga previa ni durante el desarrollo de la experiencia.

TABLA Nº 2

ANIMALES CON INFARTO EXPERIMENTAL Y PERFUSION CONTINUA DE SOLUCION DE NORADRENALINA

Nº	Ligadura en	Muerte por	Tiempo
22	Coronaria anterior	Fibrilación vent.	18 min.
23	" "	" "	21 min.
24	" "	" "	35 min.
25	" "	Paro cardíaco	32 min.
26	" "	Fibrilación vent.	60 min.
27	" "	" "	15 min.
28	" "	" "	65 min.
29	" "	" "	25 min.
30	" "	" "	23 min.
31	" "	Paro cardíaco	28 min.
32	" "	" "	20 min.
33	" "	Fibrilación vent.	22 min.
34	" "	" "	10 min.
35	" "	" "	65 min.
36	" "	Paro cardíaco	17 min.
37	" "	Fibrilación vent.	30 min.

El cuadro Nº 2 indica el segundo grupo de 16 animales con infarto agudo realizado con la misma técnica experimental del primer grupo; realizándose además la perfusión continua de noradrenalina a razón de 0,4 a 0,8 microgramos por minuto y por kilogramo de peso del animal.

RESULTADOS

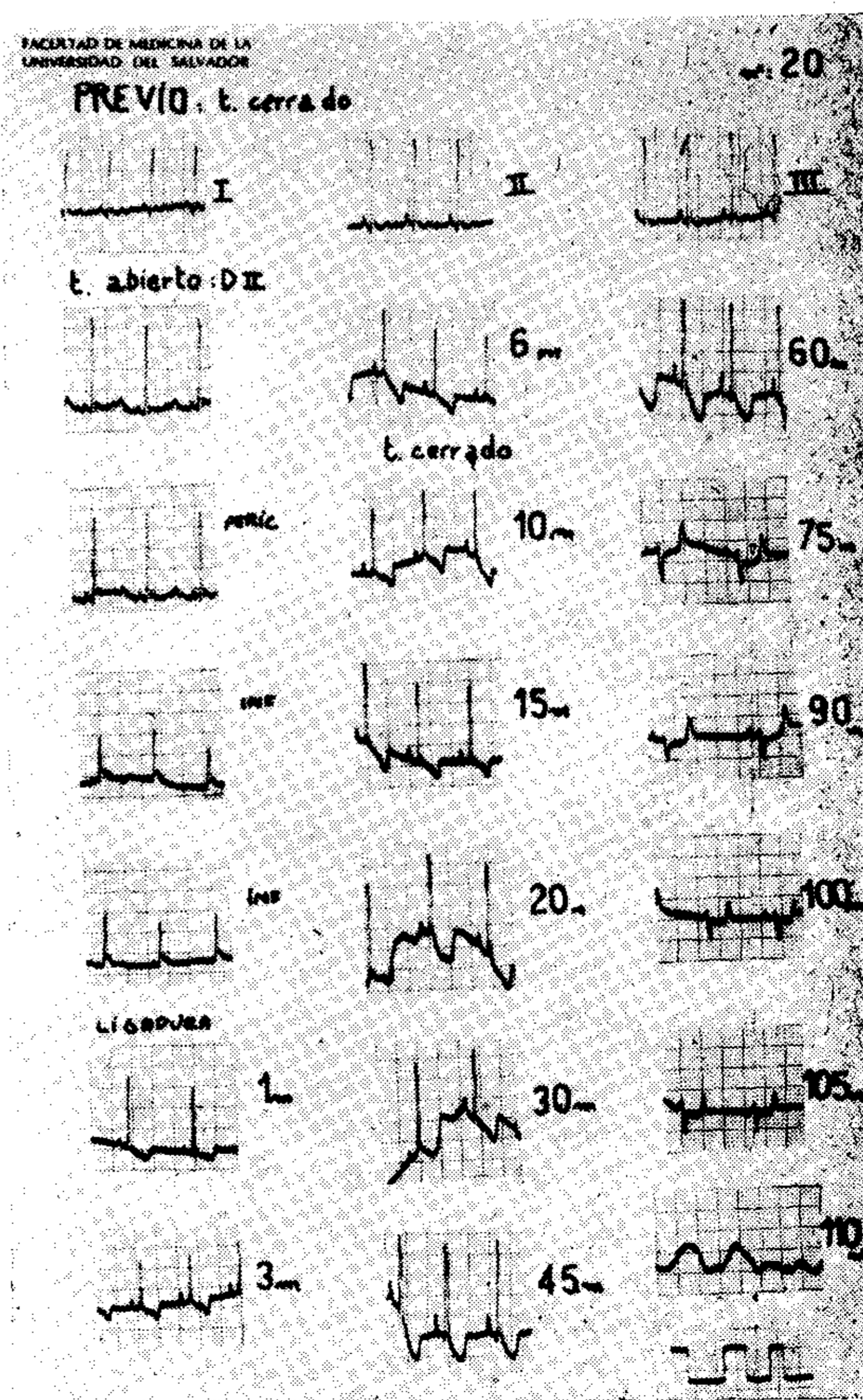
En el primer grupo de animales con ligadura de la arteria coronaria sin administrar ninguna droga (Tabla Nº 1) se observó que la mayoría de los mismos (16 animales), murieron por fibrilación ventricular entre los 75 y 180 minutos, por paro cardíaco 2 animales entre los 100 y 115 minutos, observándose en los animales Nº 6, 12 y 15 que después de los 180 minutos continuaban viviendo, habiéndose prolongado en ellos la supervivencia más de 6 horas, por lo cual fueron sacrificados por razones técnicas.

Los animales Nº 8, 9 y 11 se fibrilaron a los 30, 35 y 45 minutos, siendo los que menos sobrevivieron a la oclusión coronaria en este grupo.

El promedio de tiempo de supervivencia de los animales que murieron por la oclusión, excluyendo los que sobrevivieron, fue de 90,5 minutos siendo en este grupo ocasional la aparición de extrasístoles (Fig. 1).

En el segundo grupo de 16 animales con ligadura de la arteria coronaria y perfusión de noradrenalina (Tabla Nº 2), se observó que las arritmias tanto

Fig. 1 — Trazados electrocardiográficos de un animal (Nº 20), del grupo sometido a ligadura coronaria sin perfusión de drogas. Después de la ligadura la onda T se hace francamente negativa permaneciendo un ritmo sinusal regular. A los setenta y cinco minutos se produce un cambio marcado en la morfología del QRS y del ST-T correspondiendo a la lesión miocárdica hasta que se produce fibrilación ventricular a los ciento diez minutos.



supraventriculares como ventriculares fueron más numerosas y frecuentes, predominando las arritmias bajas (extrasístoles y taquicardia ventricular) (Fig. 2).

La muerte se produjo en 12 de ellos por fibrilación ventricular, entre los 10 y 65 minutos, y en los 4 restantes por paro cardíaco entre los 17 y 32 minutos. El promedio de supervivencia en los animales de este grupo fue de 30,3 minutos.

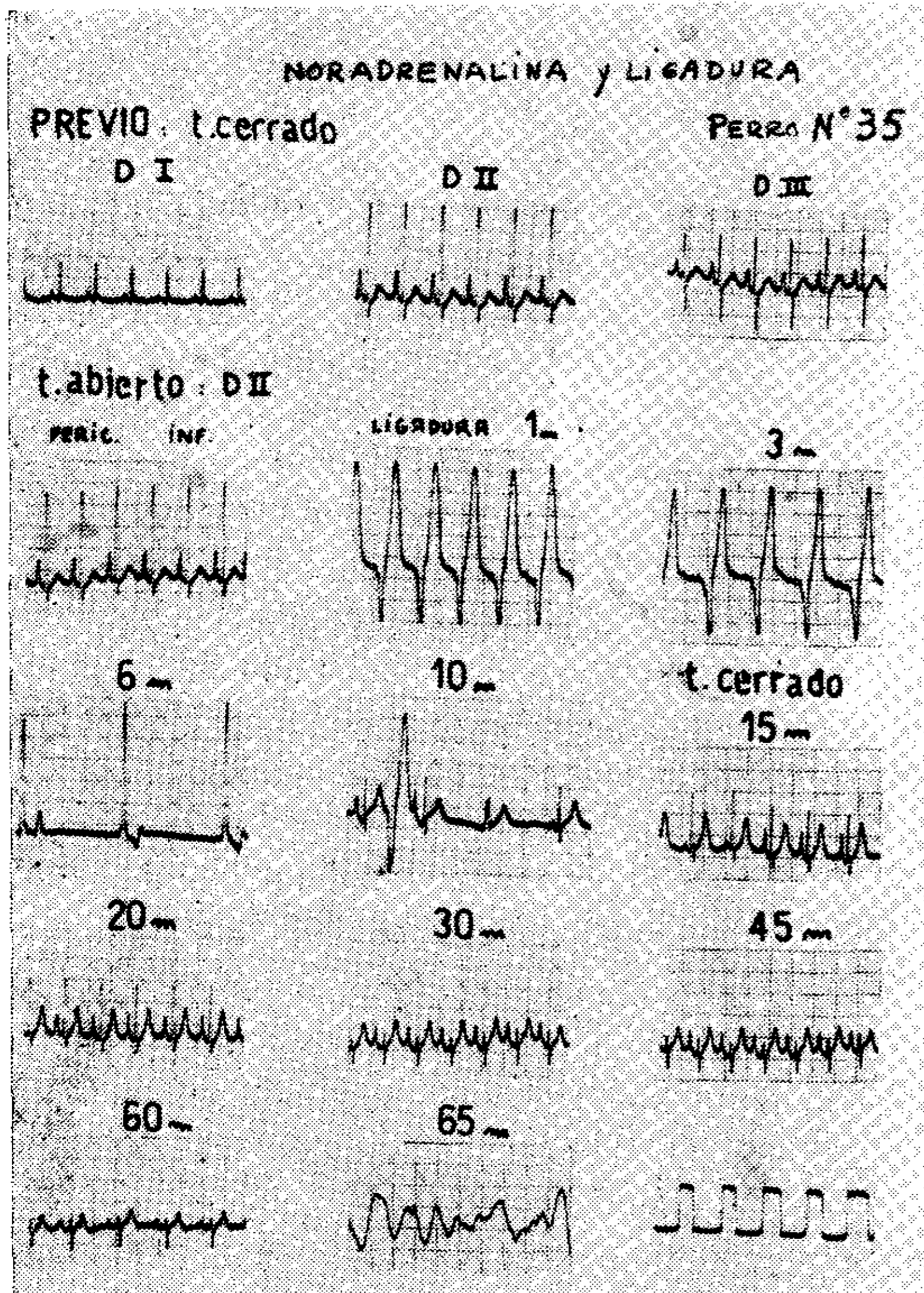


Fig. 2 — Trazado electrocardiográfico en un animal (Nº 35) del grupo sometido a perfusión de noradrenalina y ligadura coronaria. Se observa al minuto de la ligadura taquicardia ventricular, a los seis minutos ritmo nodal lento, a los diez minutos extrasístoles ventriculares y nodales, y después de los quince minutos taquicardia sinusal hasta que a los sesenta y cinco minutos se produce fibrilación ventricular terminal.

RESULTADOS HISTOQUÍMICOS

La observación de los preparados histológicos mostró diferencias entre los tres grupos (grupo control, con infarto del miocardio y con infarto del miocardio y noradrenalina).

En el grupo control, se observó en el miocardio reacción ATPasa positiva intensa y también reacción PAS positiva intensa en todos los animales. (Fig. 3, A y Fig. 4, A).

En el segundo grupo, animales sometidos a infarto agudo solamente, en nueve de ellos las reacciones, aunque positivas, eran de menor intensidad en las zonas de lesión miocárdica. En un animal de este grupo la reacción de la ATPasa y del PAS eran negativas. (Fig. 3, B y Fig. 4, B).

En el tercer grupo, animales sometidos a infarto agudo y perfusión de noradrenalina, se observó en los animales que sobrevivieron reacciones positivas de menor intensidad en las zonas de lesión miocárdica. En un animal de este grupo la reacción de la ATPasa y del PAS eran negativas. (Fig. 3, C y Fig. 4, C).

Estos cambios no se observaron en las zonas del miocardio que no presentaban isquemia. La zona límite entre el infarto y las regiones adyacentes de tejido prácticamente normal, presentaban distintos grados de positividad a estas reacciones, pero esta positividad siempre fue menor que en el tejido normal.

En el grupo con infarto del miocardio y perfusión de noradrenalina (Fig. 3, C

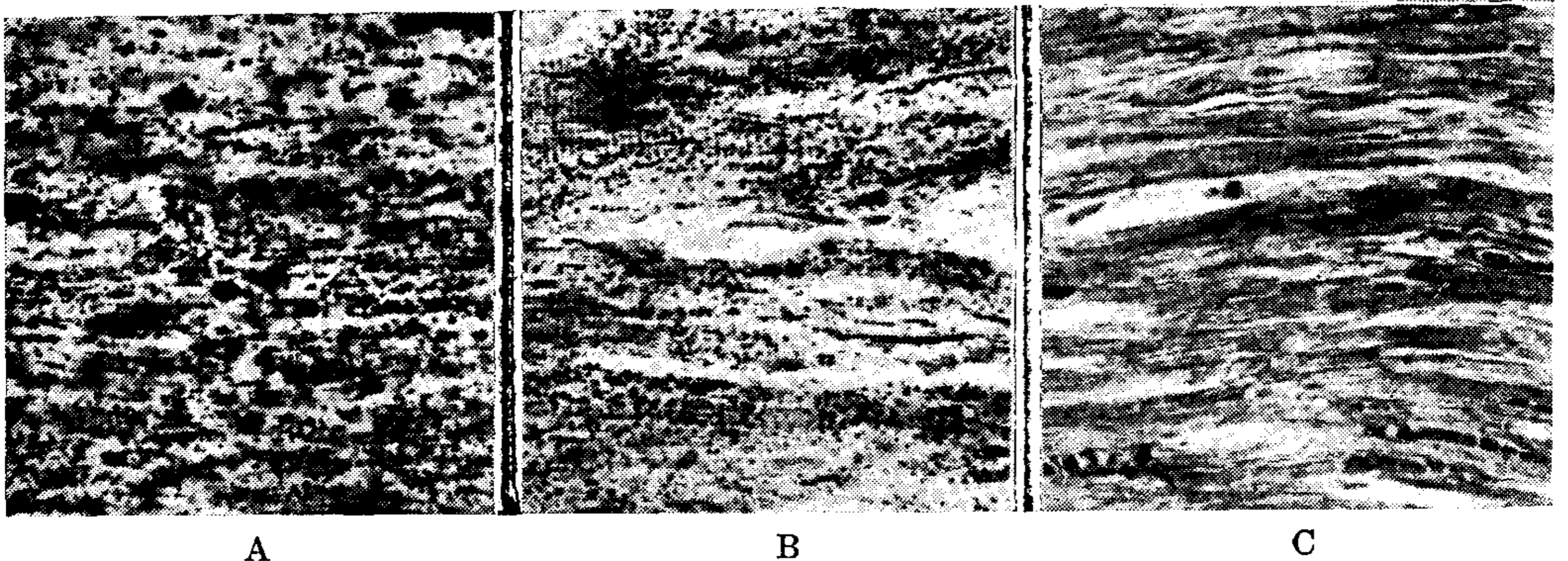


Fig. 3 — A. Microfotografía de un miocardio del grupo control con abundantes gránulos negros en el citoplasma de las células miocárdicas, indicando la existencia de ATPasa. B. Microfotografía de un miocardio del segundo grupo, con reacción también positiva pero de menor intensidad. C. Microfotografía de un miocardio del tercer grupo sin reacción ATPasa positiva.

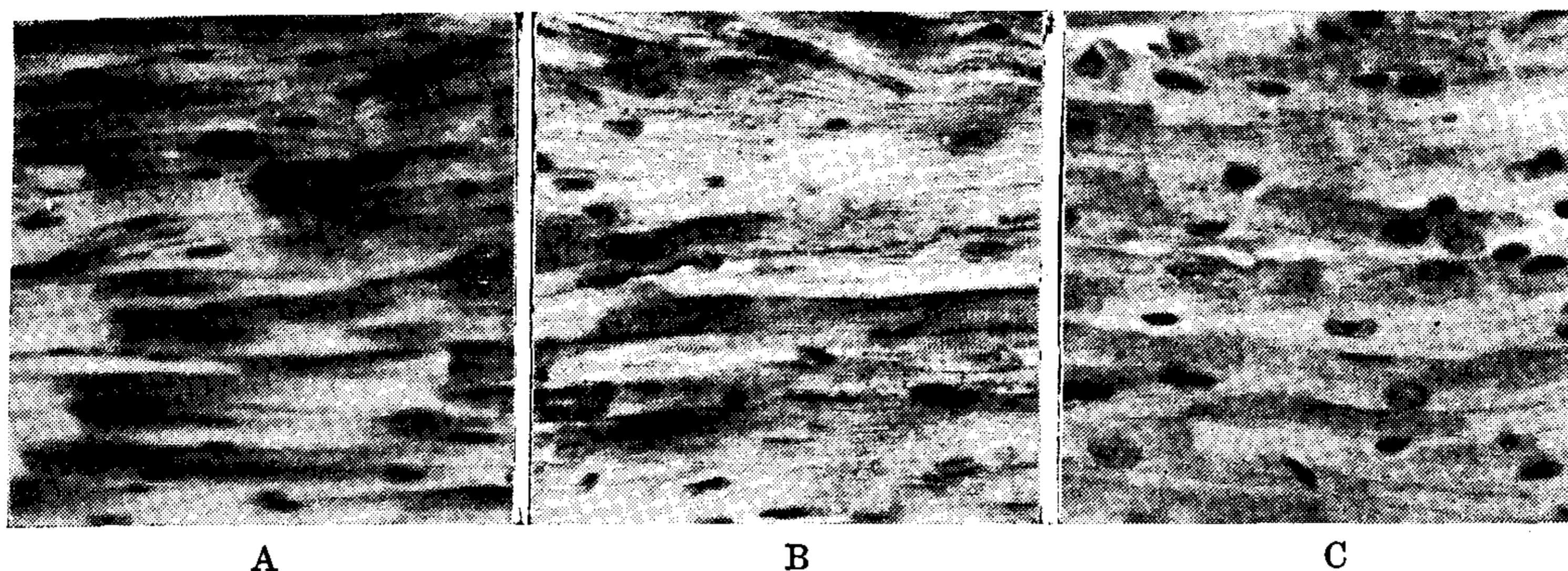


Fig. 4—A. Microfotografía de un miocardio del grupo control, mostrando intensa reacción PAS positiva. Las zonas oscuras aparecen en los extremos de las células, pues el material se encuentra polarizado como ocurre habitualmente luego de la fijación. B. Microfotografía de un miocardio del grupo con infarto del miocardio. Se observa también material PAS positivo pero en menor cantidad que en el grupo control. C. Microfotografía de un miocardio del grupo sometido a infarto del miocardio y con administración de noradrenalina. No se observa reacción PAS positiva.

y Fig. 4, C) las áreas de lesión aparecieron sin coloración o muy ligeramente teñidas (reacción negativa) tanto para la reacción de PAS (10 animales) como para la ATPasa (8 animales), estando muy disminuida la ATPasa (débil-

mente positiva) en los otros 2 animales de este grupo (Tabla N° 3). En las demás porciones del miocardio, por fuera de la región isquemiada, las reacciones eran prácticamente similares a las del grupo control.

TABLA N° 3

MOSTRANDO EL RESUMEN DE LOS RESULTADOS HISTOQUIMICOS EN MIOCARDIO EN LOS TRES LOTES DESCRIPTOS

Lote	Cantidad	Distribución * y Concentración	
		A T P a s a	G l u c ó g e n o
CONTROL	9	NORMAL = reacción ATPasa intensa Todos los animales	NORMAL = reacción PAS intensa Todos los animales
GRUPO 1	10	DISMINUIDA: en 9 animales AUSENTE: en 1 animal **	DISMINUIDA: en 9 animales AUSENTE: en 1 animal **
GRUPO 2	10	MUY DISMINUIDA: en 2 animales (vestigios) AUSENTE: en 8 animales	AUSENTE: en todos los animales

* Distribución medida cualitativamente mediante la técnica histoquímica desarrollada.

** Animal que tuvo excitación previa a la anestesia.

DISCUSIÓN

La frecuente aparición de arritmias severas y de fibrilación ventricular siguiendo a la oclusión coronaria experimental, llevó a buscar modificaciones técnicas para prevenirlas. Harris y colaboradores (4) trabajando en perros, realizaron un método de oclusión arterial en dos etapas, colocando una primera ligadura parcial y efectuando la definitiva 30 minutos después, lo que en la mayoría de los casos evitó la apa-

rición de arritmias graves dentro de las primeras horas. Los autores atribuyeron estas arritmias a estímulos simpático-adrenales, liberación de histamina, potenciales de injuria y otros productos irritativos liberados por el miocardio lesionado. Maling y colaboradores (3) observaron que la administración de algunas drogas simpaticomiméticas (noradrenalina, adrenalina), durante el infarto del miocardio experimental, producían frecuentes extrasístoles. Mezzano y Peluffo (2), administrando dosis ma-

sivas de noradrenalina en corazón de conejo, comprobaron lesiones y degeneración celular de las miofibrillas; atribuyeron a la noradrenalina una acción tóxica especialmente sobre el miocardio, debido a que las catecolaminas interfieren en el metabolismo cardíaco elevando el consumo de oxígeno y la degradación de glúcidos, aumentando el acúmulo de ácido láctico y provocando una marcada disminución de ATP y de fosfocreatina. En un trabajo anterior (5) nosotros observamos que en el infarto experimental, la administración de noradrenalina en dosis terapéuticas disminuía el tiempo de supervivencia de los animales por la aparición de arritmias graves y frecuentes.

Estos hechos parecen indicar que la estimulación noradrenérgica actuaría sobre la membrana celular ya alterada previamente por la hipoxia, favoreciendo la aparición de ritmos ectópicos.

En experimentos sobre corazón anóxico en perros, Michal y colaboradores (6) han encontrado que el ATP del miocardio muestra un rápido descenso que se produce antes de la disminución del consumo de oxígeno, con un ascenso inicial en la concentración del ADP y del AMP, declinando estos últimos con la prolongación de la hipoxia. El aumento del fosfato inorgánico encontrado en el corazón anóxico es probablemente debido en gran parte a la completa interrupción de la formación de ATP.

En el presente trabajo se estudia la existencia y distribución de la adenosintrifosfatasa y del glucógeno en el tejido miocárdico sometido a la hipoxia aguda por oclusión coronaria y con estimulación noradrenérgica, con el objeto de correlacionar los hallazgos histoquímicos con la aparición de arritmias severas y menor supervivencia de los animales así tratados.

En una revisión de la literatura no encontramos estudios histoquímicos definitivos sobre adenosintrifosfatasa en el infarto del miocardio experimental, y ninguno con el agregado de estimulación noradrenérgica, pero en la actualidad existen nuevas técnicas que permiten una localización más exacta de la enzima mencionada (7, 8), que son las que

hemos utilizado en esta experiencia. Se completó la investigación histoquímica con la determinación de los polisacáridos almacenados en la célula cardíaca.

Conn y colaboradores (9) han estudiado el contenido de glucógeno en el corazón anóxico observando un agotamiento rápido y severo del mismo, mientras el ácido láctico aumentaba progresivamente. Es posible que la anoxia y la falta de glucógeno alteren el metabolismo de las células cardíacas y así se produzcan cambios en la permeabilidad debido a la lesión celular causada por la anoxia (10). La glucogenolisis se acelera por la noradrenalina exógena y las catecolaminas endógenas liberadas por la anoxia en su primera fase. Russel y colaboradores (11) estudiaron el contenido de sodio, potasio, adrenalina y noradrenalina luego del infarto de miocardio experimental en perros y observaron que en la zona de lesión el potasio estaba disminuido y reemplazado por el sodio y que las catecolaminas disminuían progresivamente sus concentraciones en las primeras horas.

La ATPasa, al separar los enlaces de fosfato terminales del ATP, libera considerables cantidades de energía que son en parte aprovechadas por la membrana celular para los intercambios iónicos y la glucogenolisis.

Todos estos hechos permiten suponer que en el tejido miocárdico sometido a la hipoxia por la oclusión coronaria experimental se producen cambios importantes a nivel de las células y de sus membranas, tanto en la zona isquémica como en las regiones perinfarto. Si a las células así alteradas se agrega la perfusión de catecolaminas del tipo de la noradrenalina, los cambios serían mayores por acción de la noradrenalina sobre la glucogenolisis, ocasionándose una disminución mayor del glucógeno ya reducido por la hipoxia. Igualmente la ATPasa, tan importante en la célula normal para la producción de energía, tendría que encontrarse más reducida aún por la alteración de la membrana celular, lo que facilitaría la producción de ritmos ectópicos.

Efectivamente, el resultado de nuestras experiencias demuestra que en el infarto experimental, la aparición de

arritmias es poco frecuente, el tiempo de supervivencia es mayor, y en el estudio histoquímico de la ATPasa y del glucógeno se encontraba disminución evidente de estos elementos en la zona del miocardio lesionado, siendo normal su distribución en el resto del corazón. En las experiencias efectuadas con infarto agudo y administración de noradrenalina, las arritmias fueron severas y frecuentes, y el tiempo de supervivencia de los animales fue mucho menor, encontrándose en el tejido lesionado ausencia total de ATPasa y de glucógeno.

Estos hallazgos parecen demostrar que la estimulación noradrenérgica aumenta la severidad de la hipoxia producida por la oclusión coronaria experimental, alterando en mayor grado a la célula lesionada, lo que llevaría a una mayor perturbación de los intercambios iónicos y de los procesos metabólicos de la misma y favoreciendo, por lo tanto, la aparición de arritmias graves y la muerte en un plazo menor.

RESUMEN

Se estudian las alteraciones electrocardiográficas y citoquímicas que aparecen inmediatamente después de la ligadura de la arteria coronaria anterior, en un lote de perros anestesiados con pentobarbital Sódico (a razón de 35 mg por Kgr de peso administrado por vía intraperitoneal), y se compara este grupo con otro lote en el cual se efectúa la misma técnica y se agrega perfusión continua de noradrenalina en solución de dextrosa al 5 % a razón de 0.4 a 0.8 microgramos por minuto y por Kgr. de peso.

Se observó en el lote perfundido con la droga que las alteraciones del ritmo consecutivas a la ligadura fueron más precoces y de mayor gravedad, siendo el tiempo de supervivencia menor.

En el lote de animales con infarto agudo, sin la droga, las arritmias fueron más tardías y de menor intensidad, y el tiempo de supervivencia fue mayor.

Las observaciones de los preparados citoquímicos mostraron diferencia entre los tres grupos.

En el grupo control se observó reacción PAS positiva intensa y también reacción positiva intensa de la ATPasa.

En los animales sometidos a infarto las reacciones, aunque positivas, eran de menor intensidad, tanto en el caso de los glúcidos como de la ATPasa.

En el grupo sometido al infarto y perfusión de noradrenalina, no se observa presencia de glucógeno, ni de ATPasa.

Se piensa que la noradrenalina actuaría disminuyendo el umbral de excitabilidad de las células miocárdicas alteradas por la hipoxia y que las alteraciones histoquímicas se podrían interpretar como una consecuencia del trastorno metabólico celular debido a dicha hipoxia.

SUMMARY

A study of the electric and cytochemical alterations which appeared in the cardiac muscle following the administration of 1-norepinephrine was made.

Experiments on mongrel dogs that weighed from 12 to 14 kilos were performed.

Anesthesia was induced by the intravenous injection of 35 mgr/kg body weight of pentobarbital sodium.

The animals were divided in three groups. In the first one the anterior coronary artery was occluded and perfusion was made with 1-norepinephrine (0.4-0.8 micrograms/kg body weight/minute).

In the animals of the second group the lesions were less severe than those of the first group as is shown in the table of results.

We think that 1-norepinephrine may act decreasing the excitatory level of the myocardic cells, altered by the hypoxia.

The study was completed with cytochemical reactions to show glycogen and enzymes; observation of representative sections showed considerable differences in the three groups.

In the control one, intense PAS positive reaction and ATPase reaction was observed.

In the second group, the infarcted areas revealed conspicuous diminution in PAS positive material and ATPase activity.

In the third group perfused with norepinephrine, the sections were un-

stained or lightly stained, revealing absence of glycogen and ATPase.

We found alterations that could be interpreted as a consequence of a cellular metabolic disturbance.

BIBLIOGRAFIA

1. Mercuri, J. A. y Mercuri, M. O. C.: Alteraciones en el músculo cardíaco por acción de la noradrenalina. *Rev. Arg. Cardiología*. 32, 3, 1965.

2. Mezzano M. y Pelufo G.: Adrenergic mechanism in the physiopathology of acute in the previously injured myocardium. *Pathologica*. 52, 378, 1960.

3. Maling, H. M. y Moran N. C.: Ventricular arrhythmias induced by sympathomimetic amines in unanesthetized dogs following coronary artery occlusion. *Circulation Research*, 5:409, 1957.

4. Harris, A. A.: Delayed development of ventricular ectopic rhythms following

experimental coronary occlusion. *Circulation* 1:1318, 1950.

5. Mercuri, J. A. y Franco, R.: Infarto del miocardio experimental. I Acción de la noradrenalina. VI Congreso Argentino de Cardiología. 1965.

6. Michal, G. S. y Col.: Metabolic changes in herat muscle during anoxia. *Am. J. Pysiol.* 197:1147, 1959.

7. Pearse, A. G.: *Histochemistry, theoretical and applied*. 2. R. 870, London, 1962.

8. Spannhof, L.: *Einführung in die praxis der histochemil.* 3. Fischer Jena, 1966.

9. Conn, H. L. y Wood, J. C.: Rate of change in myocardial glycogen and lactic acid following arrest of coronary circulation. *Circulation Res.* 7:721, 1959.

10. Mercuri, J. A. y Mercuri, M. O. C.: 1. Norepinephrine action on acute ischemia of the myocardiac muscle. III International Pharmacological Congress (abstracts) pág. 192-3-1966.

11. Russel, A. R. y Crafoord, J.: Changes in myocardial composition after coronary ligation. *Am. J. Physiol.* 200:995, 1961.

REGLAMENTO DE PUBLICACION

Se ruega a los autores seguir las siguientes instrucciones para preparar originales:

- 1) Escribir en doble espacio, a máquina, con buenos márgenes y en una cara solamente.
- 2) Incluir nombre completo, título de los autores y hospital o lugar donde fue realizado.
- 3) Enviar el original con una copia en carbónico a la siguiente dirección: Dr. Roberto Vedoya, Paraná 489, Piso 9º, Of. 56, Buenos Aires, República Argentina.
- 4) Bibliografía: mencionar las referencias al final del artículo en orden numérico como están referidas en el texto. Cada una debe contener los apellidos e iniciales de los autores, título del artículo, número de la revista, número del volumen, página y año. Las referencias de libros y monografías deben incluir el capítulo específico y número de página, lugar de publicación, año y editor en ese orden.
- 5) Ilustraciones. Deben ser hechas en dibujos con tinta china, sobre cartulina blanca. Las referencias de las figuras deben ser colocadas en el texto en orden numérico. Escriba en el reverso suavemente el número de la figura, el nombre del autor, indicando cuál es la parte superior. La dimensión de los gráficos o fotos deberá ser de tamaño que facilite su publicación.
- 6) Apartados: Los autores que deseen separatas deberán solicitarlas en el momento de presentar el trabajo, las cuales estarán a su cargo. Por cada trabajo publicado la revista entregará, sin cargo, diez ejemplares.
- 7) Todo trabajo deberá ser acompañado de un breve resumen, en español e inglés.
- 8) Los originales no serán devueltos, sean o no publicados.