

Este informe recoge la opinión colectiva de un grupo internacional de especialistas y no representa necesariamente el criterio ni la política de la Organización Mundial de la Salud.

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD
SERIE DE INFORMES TECNICOS

Nº 441

**DIAGNOSTICO
ANATOMOPATOLOGICO
E HISTOQUIMICO
DE LA CARDIOPATIA
ISQUEMICA AGUDA**

**Informe de un Grupo Científico
de la OMS**

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

GINEBRA

1970

© Organización Mundial de la Salud 1970

Las publicaciones de la Organización Mundial de la Salud están acogidas a la protección prevista por las disposiciones sobre reproducción de originales del Protocolo 2 de la Convención Universal sobre Derecho de Autor. Ello no obstante, los organismos gubernamentales, las sociedades culturales y científicas y las asociaciones profesionales pueden reproducir ilustraciones, datos o extractos de esas publicaciones sin necesidad de pedir autorización a la Organización Mundial de la Salud.

Las entidades interesadas en reproducir o traducir íntegramente alguna publicación de la OMS deberán solicitar la oportuna autorización de la Oficina de Publicaciones y Traducción, Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza. La Organización Mundial de la Salud dará a esas solicitudes consideración muy favorable.

Las denominaciones empleadas en esta publicación y la forma en que se presentan los datos que contiene no implican, por parte del Director General de la Organización Mundial de la Salud, juicio alguno sobre la condición jurídica de ninguno de los países o territorios citados o de sus autoridades, ni respecto de la delimitación de sus fronteras.

La mención de determinadas sociedades mercantiles o del nombre comercial de ciertos productos no implica que la OMS los apruebe o recomiende con preferencia a otros análogos. Salvo error u omisión, las marcas registradas de artículos o productos de esta naturaleza se distinguen en las publicaciones de la OMS por una letra inicial mayúscula.

PRINTED IN FRANCE

INDICE

	Página
1. Introducción	5
2. La cardiopatía isquémica aguda como problema de salud pública	5
3. Diagnóstico anatomopatológico de la cardiopatía isquémica aguda	7
3.1 Diagnóstico macroscópico	7
3.2 Diagnóstico histológico	10
3.3 Examen con microscopio electrónico	12
3.4 Histoquímica	13
4. Estudios futuros	16
4.1 Estudios comparativos y experimentales en modelos animales	16
4.2 Investigaciones comparativas	17
4.3 Estudios en corazones humanos	17
5. Recomendaciones	18
Anexo 1. Método recomendado para examinar el corazón	19
Anexo 2. Posibilidades de empleo de la escintilografía cardiaca en el diagnóstico de infarto del miocardio	22
Anexo 3. Métodos para demostrar la presencia de la lactato deshidrogenasa, la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) y la « deshidrogenasa sin sustrato » en medios de gelatina gelificados	25
Referencias	27

**GRUPO CIENTIFICO DE LA OMS
SOBRE EL DIAGNOSTICO ANATOMOPATOLOGICO
E HISTOQUIMICO DE LA CARDIOPATIA ISQUEMICA AGUDA**

Ginebra, 24-29 de marzo de 1969

Miembros:

- Dr. G. Baroldi, Profesor asociado de anatomía patológica, Universidad de Milán, Italia (*Relator*)
- Dr. P. Y. Hatt, Professeur d'anatomie pathologique, Directeur scientifique de l'Unité de Recherches de Pathologie cardio-vasculaire de l'INSERM, Hôpital Léon-Bernard, Limeil Brévannes, Seine-et-Oise, Francia (*Vicepresidente*)
- Dr. P. Málek, Profesor de cirugía, Instituto de Cirugía Clínica y Experimental, Prague-Krč, Checoslovaquia
- Dr. J. Milam, Department of Pathology, St. Luke's Episcopal Hospital, Texas Medical Center, Houston, Tex., Estados Unidos de América
- Dr. S. J. Paulin, Departamento de Radiología, Hospital Sahlgrenska, Universidad de Goteborg, Suecia
- Dr. A. G. E. Pearse, Professor of Histochemistry, Royal Postgraduate Medical School, Hammersmith Hospital, Londres, Inglaterra
- Dr. M. E. Rajska, Instituto de Cardiología Myasnikov, Academia de Ciencias Médicas de la URSS, Moscú, URSS
- Dr. R. L. Ringler, Deputy Director, National Heart Institute, Bethesda, Md., Estados Unidos de América
- Dr. D. Spiro, Professor and Chairman, Department of Pathology, New York Medical College, Estados Unidos de América
- Dr. R. D. Teare, Professor of Forensic Medicine, Consultant Pathologist, St. George's Hospital, Londres, Inglaterra (*Presidente*)
- Dr. J. G. Thomson, Professor of Pathology, Medical School, University of Cape Town, Unión Sudafricana

Representantes de otras organizaciones:

Sociedad Internacional de Cardiología:

- Dr. M. Vastesaegeer, Hôpital d'Ixelles, Bruselas, Bélgica

Consejo Internacional de Sociedades de Anatomía Patológica:

- Dr. Ch. Rouiller, Professeur d'anatomo-pathologie, Institut d'Histologie et d'Embryologie, Ginebra, Suiza

Secretaría:

- Dr. Z. Fejfar, Jefe del Servicio de Enfermedades Cardiovasculares, OMS (*Cosecretario*)
- Dr. H. A. Heggteit, Associate Professor of Pathology, Department of Pathology, University of Ottawa, Ontario, Canadá (*Consultor*)
- Dr. Z. Lojda, Profesor asociado de anatomía patológica, Facultad de Medicina, Universidad Carolina, Praga, Checoslovaquia (*Consultor*)
- Dr. H. Torloni, Servicio de Cáncer, OMS (*Cosecretario*)

DIAGNOSTICO ANATOMOPATOLOGICO E HISTOQUIMICO DE LA CARDIOPATIA ISQUEMICA AGUDA

Informe de un Grupo Científico de la OMS

1. INTRODUCCION

El Grupo Científico de la OMS sobre el Diagnóstico Anatomopatológico e Histoquímico de la Cardiopatía Isquémica Aguda se reunió en Ginebra del 24 al 29 de marzo de 1969. Al inaugurar la reunión el Dr. J. Karefa-Smart, Subdirector General, después de dar la bienvenida a los participantes, puso de relieve que la identificación de las alteraciones isquémicas iniciales en el miocardio podría muy bien conducir a mejores métodos para prevenir y combatir cardiopatía isquémica. Se confió al Grupo la tarea de revisar los métodos actuales, evaluar su utilidad y, de ser posible, recomendar métodos de investigación que pudiesen proporcionar técnicas internacionalmente aceptables.

Para los fines de la presente reunión, el Grupo definió la cardiopatía isquémica como «una disfunción, aguda o crónica, provocada por una reducción relativa o absoluta del suministro de sangre arterial al miocardio». Esa disfunción se asocia con gran frecuencia, aunque no necesariamente, a procesos patológicos de la circulación coronaria.

2. LA CARDIOPATIA ISQUEMICA AGUDA COMO PROBLEMA DE SALUD PUBLICA

La cardiopatía isquémica aguda, que se registra en todo el mundo, es un grave problema de salud pública en los países industrializados y urbanizados, donde es responsable de los dos tercios, aproximadamente, del total de la mortalidad por enfermedades cardiovasculares en el grupo de 45 a 64 años de edad.¹ Está comprobado que en esos países va en aumento dicha enfermedad, especialmente en los varones más jóvenes (de 40 a 49 años), pero además puede esperarse que su frecuencia aumen-

¹ Entre los hombres de este grupo de edad, aproximadamente 3 de cada 10 del total de defunciones se deben a la cardiopatía isquémica.

tará de igual manera en los países en vías de desarrollo a medida que progresen su urbanización e industrialización.

En un estudio de autopsias realizado en grupos de población (Cuadro 1) se atribuyó la defunción a la cardiopatía isquémica en el 77 % de los hombres y en el 50 % de las mujeres del grupo de 40 a 59 años de edad que habían fallecido en el curso de las seis horas siguientes a la aparición de los síntomas. Se observó infarto reciente del miocardio en el 28 % de los hombres y en el 13 % de las mujeres. No se conoce exactamente la razón por la cual se hallaron manifestaciones anatomopatológicas de infarto reciente del miocardio en un número tan alto de casos, a pesar del breve lapso transcurrido; tal vez el ataque se inició silenciosamente antes que aparecieran los síntomas.

CUADRO 1. LESIONES ANATOMOPATOLOGICAS OBSERVADAS EN HOMBRES Y MUJERES DE 40 A 59 AÑOS DE EDAD, MUERTOS REPENTINAMENTE *

	Hombres		Mujeres	
	Nº total	%	Nº total	%
Muertes repentinas ^a	404	100	145	100
Muertes repentinas con infarto reciente del miocardio	112	27,7	19	13,1
Muertes repentinas con oclusión coronaria con infarto reciente del miocardio	78	19,3	13	9,0
Muertes repentinas con oclusión coronaria sin infarto reciente del miocardio	27	6,7	3	2,1
Muertes repentinas con CI ^b	312	77,2	72	49,6

* Resultados de estudios de autopsias realizados por la OMS en grupos de población en Malmoe, Praga 2 y Yalta.

^a Para los fines del presente estudio, se define la muerte repentina como una defunción no violenta que se registra inesperadamente en el curso de las 6 horas siguientes a la aparición de los síntomas en una persona aparentemente sana o en una persona enferma cuya afección se halla estacionaria o en vías de mejorar.

^b CI = Cardiopatía isquémica (infarto reciente del miocardio, o cicatrices u oclusiones de una arteria coronaria).

Una revisión de la literatura pertinente mostró que la mortalidad por cardiopatía isquémica aguda es más alta durante las 24 primeras horas después de la aparición de los síntomas y que más de un tercio de las defunciones ocurre en la primera hora. En el Cuadro 2 aparece la distribución de las defunciones durante 24 horas en un estudio llevado a cabo en Belfast.

El Grupo no ha tratado de definir la muerte repentina pues considera que, previamente, es indispensable establecer una correlación entre los resultados de los exámenes anatomopatológicos y los datos clínicos obtenidos durante la vida. Será entonces también posible iniciar la clasificación de las causas de muerte repentina.

CUADRO 2. DISTRIBUCION DE DEFUNCIONES POR ENFERMEDAD CORONARIA EN RELACION CON EL TIEMPO TRANSCURRIDO DESDE EL PRINCIPIO HASTA EL ULTIMO ATAQUE *

Tiempo transcurrido (en horas)	Defunciones en el intervalo indicado en porcentaje del total anual de defunciones
1/4	22
1/2	28
1	33
2	38
12	53
24	58

* Según McNeilly y Pemberton, 1968.

Por la importancia que tiene para la salud pública la cardiopatía isquémica aguda, se le ha asignado una categoría aparte de tres dígitos (410) al infarto agudo del miocardio¹ en la revisión de 1965 de la *Clasificación Internacional de Enfermedades*.²

3. DIAGNOSTICO ANATOMOPATOLOGICO DE LA CARDIOPATIA ISQUEMICA AGUDA

3.1 Diagnóstico macroscópico

El diagnóstico del infarto antiguo del miocardio suele ser fácil; en cambio, la identificación de las lesiones iniciales de la cardiopatía isquémica aguda puede ofrecer alguna dificultad cuando ha transcurrido un periodo demasiado breve para que se hayan desarrollado las lesiones clásicas.

3.1.1 Observaciones a simple vista

El elemento diagnóstico más importante es la identificación de un trombo reciente en una rama de las arterias coronarias. Aun en ausencia de ese trombo, es posible sospechar un infarto reciente (con dimensiones, por ejemplo, de 3 cm × 1 cm) por su consistencia blanda, palidez y edema, fácilmente apreciables en un paciente que ha sobrevivido más de 15 horas después de iniciados los síntomas. Esas alteraciones se observan mejor en cortes transversales del miocardio y son menos manifiestas o no pueden

¹ Esta categoría comprende estados patológicos con duración de 8 semanas o menos.

² Organización Mundial de la Salud (1968) *Manual de la Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades, Traumatismos y Causas de Defunción*, revisión de 1965, Ginebra.

apreciarse cuando hay notable autólisis postmórtem (véase el método propuesto para examinar el corazón, que se describe en el Anexo 1).

3.1.2 *Técnicas de inyección de las arterias coronarias*

Como la cardiopatía isquémica se acompaña muy frecuentemente de lesiones obstructivas de los vasos coronarios, el estudio necrópsico debe comprender una evaluación satisfactoria del árbol coronario.

Se considera que no basta para este propósito el método habitual, fundado en la disección de las principales ramas coronarias subepicárdicas únicamente. En cambio, puede alcanzarse un alto grado de precisión si se combina ese método con una técnica de inyección. Existen varios procedimientos, entre los cuales se elige el mejor adoptado al objetivo fundamental del examen. Cuando se desea una evaluación tanto vascular como miocárdica, es preferible la angiografía con un material opaco a los rayos X.

El material inyectado debe ser de consistencia tal que llene las arterias sin entrar en el lecho capilar; la inyección debe aplicarse bajo control a una presión que permita el llenado adecuado sin producción de artefactos.

Se han empleado dos métodos de inyección: el cateterismo directo y la inyección intraórtica tras obturación del orificio aórtico. Se recomienda este último porque pone de manifiesto los orificios coronarios y las arterias coronarias suplementarias que eventualmente pueda haber.

Las radiografías del corazón intacto en múltiples proyecciones diferentes permiten evaluar debidamente el árbol coronario y no entorpecen el examen subsiguiente del órgano, examen al que pueden dar una valiosa orientación.

La técnica de inyección-corrosión con materiales plásticos, acompañada de tomas de muestras del miocardio, puede emplearse cuando hay que investigar algunos problemas particulares (como la evaluación tridimensional de los vasos intramurales o de las anastomosis).

3.1.3 *Reacciones de las deshidrogenasas*

El miocardio vivo contiene coenzimas y deshidrogenasas que reducen una solución tope de azul de tetrazolio nitrado (Nitro-BT)¹ dando una reacción coloreada. Las células necrosadas no contienen esas sustancias y no dan esa coloración; por tanto, la reacción de la deshidrogenasa puede ser útil para la identificación macroscópica de zonas lesionadas por la isquemia.

Los mejores resultados se obtienen ejecutando el procedimiento en cortes transversales del corazón preparados con la técnica de Šikl (1942) según los métodos descritos por Nachlas y Shnitka (1963) y empleados

¹ Cloruro de 2,2'-di-*p*-nitrofenil-5,5'-fenil-3,3'-(3,3'-dimetoxi-4,4'-bifenileno) ditetrazolio.

también por Ramkinson (1966) y por Brody y col. (1967). La solución de incubación se compone de una solución tope de fosfato 0,1 M de Sørensen con un pH de 7,4 y de 0,5 mg/ml de Nitro-BT. Se incuban los cortes a 37° C. El miocardio humano normal (durante las seis horas que siguen a la muerte) se tiñe de azul en 15 minutos, mientras que las zonas necróticas se tiñen débilmente o quedan por completo sin coloración. Si después de la muerte ha transcurrido un lapso de más de 6 a 12 horas, no aparece el color y debe añadirse succinato de sodio para llegar a una concentración final de 0,1 M. El método permite por lo menos obtener una delimitación precisa de las zonas necróticas después de 8 horas de isquemia (según Nachlas y Shnitka, 1963) y de elegir partes para el examen histológico.

3.1.4 Otros métodos

Al parecer, debe hacerse un estudio más amplio de los métodos de investigación siguientes :

a) *Determinación del potasio*

Unos minutos después de iniciada la isquemia se produce pérdida de iones potasio y afluencia de iones sodio. Chait (1964, 1968) y Zugibe y col. (1966), fundándose en estudios de Iseri y col. (1952), Jennings y col. (1957, 1965) y Herles y Daum (1957) sobre los cambios electrolíticos en la isquemia aguda del miocardio, emplearon la determinación del potasio para el diagnóstico de las lesiones isquémicas iniciales en el corazón humano. La determinación del potasio se practica mediante fotometría de llama sobre homogenatos de muestras del ventrículo izquierdo y del séptum exentas de lesiones antiguas. Cuando no es posible la determinación inmediata, deben conservarse las muestras a -20°C o, después de desecarlas, a la temperatura ambiente. Se considera que los resultados son independientes de las alteraciones autolíticas que se registran entre el fallecimiento y la autopsia (Chait, 1964, 1968; Zugibe y col., 1966). Para mejorar la comparabilidad de los resultados obtenidos en diversos laboratorios, debe calcularse la relación K/Na . Los valores encontrados son superiores a 3,0 en las zonas normales del corazón e inferiores a 2,5 en las zonas isquémicas.

b) *Determinación del magnesio*

Como los iones magnesio abandonan rápidamente las células hipóxicas, puede ser útil la determinación del magnesio tisular como índice de la isquemia miocárdica precoz. Por otra parte, como los iones calcio entran simultáneamente en las células lesionadas, las alteraciones de la relación Mg/Ca de diferentes partes del corazón podrían permitir la localización de una zona isquémica antes de producirse modificaciones histológicas manifiestas. Se escogen las muestras de tejido de manera

análoga a la del método de determinación del potasio. Los mejores resultados se obtienen analizando con el espectrómetro de absorción atómica. Como en el caso del potasio, pueden conservarse las muestras congeladas y los resultados no parecen alterarse por la autólisis, aunque pueden variar con la duración de la agonía. Se necesita más información antes de recomendar este método.

c) Métodos de fluorescencia

Pueden utilizarse análogos de la tetraciclina para descubrir focos de lesiones incipientes en cortes de tejido o después de la inyección de derivados de la tetraciclina en las arterias coronarias (Málek y col., 1963). Hay necesidad de contar con más datos para evaluar la utilidad de esta técnica o de métodos que utilizan el naranja de acridina (Korb y col., 1965) en materiales humanos.

3.2 Diagnóstico histológico

3.2.1 Microscopía óptica

El valor de los signos histológicos de infarto depende del intervalo transcurrido entre la defunción y la autopsia, así como de otros factores que favorecen las alteraciones autolíticas postmórtem (por ejemplo, temperatura ambiente, adiposidad). Los primeros cambios se observan en los límites del tejido infartado con el no infartado, y esa zona debe incluirse en la muestra seleccionada para examen al microscopio óptico, empleando de preferencia hematoxilina y eosina, que deben estar bien diferenciadas.

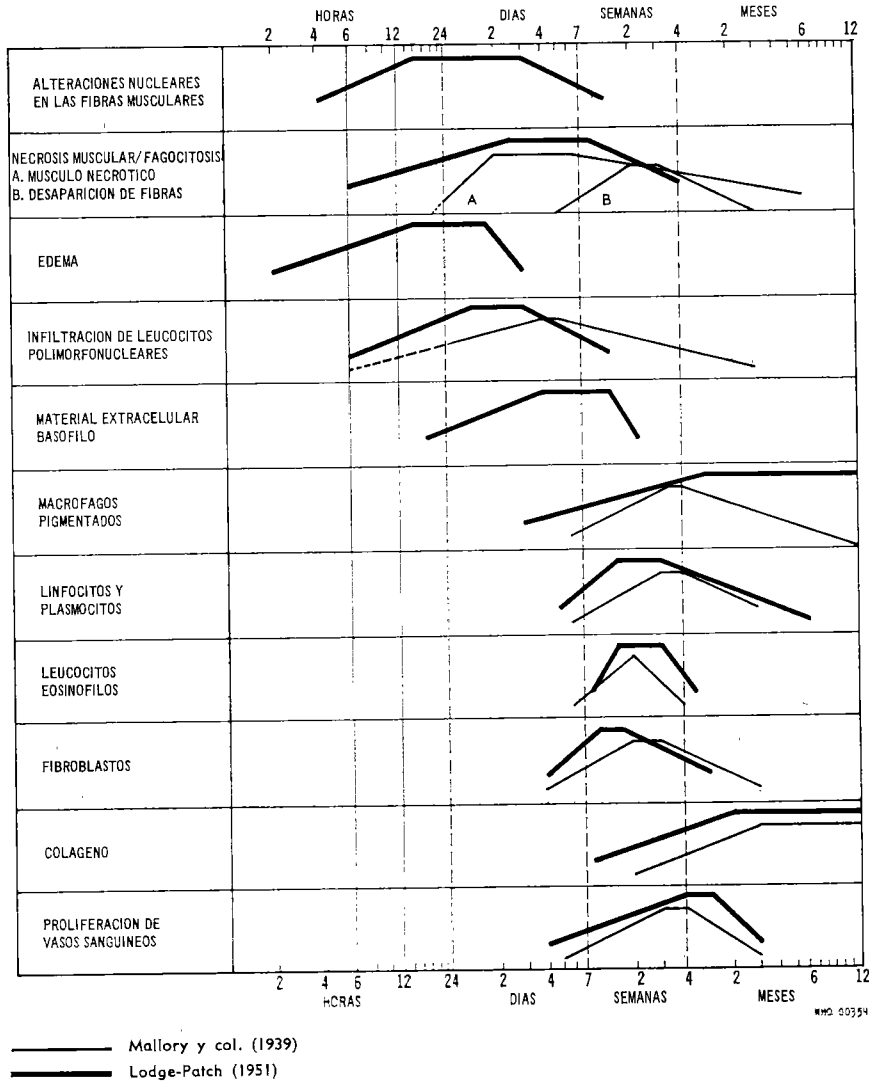
Los signos histológicos que indican la muerte de las células musculares, como picnosis, cariólisis, eosinofilia, contracción, presencia de granulaciones y pérdida de estriación, no se presentan en el mismo momento en todos los infartos. Evidentemente el factor fundamental es el tamaño del infarto, y esos fenómenos se observan en primer lugar y más notablemente en los bordes de la lesión.

La evaluación de los cambios de color en el citoplasma de las células miocárdicas y de las primeras modificaciones nucleares es fundamentalmente subjetiva y puede dificultarse por una diferenciación insuficiente de la eosina; pero no puede pasar inadvertida ni interpretarse erróneamente la infiltración de células polimorfonucleares, inclusive en presencia de alteraciones autolíticas. A las 24 horas esas células se encuentran en cantidad considerable en los bordes del infarto; antes, es muy difícil determinar el momento exacto de su aparición. Naturalmente, se las observa primero alrededor de los vasos sanguíneos y en los espacios intersticiales conforme van emigrando a la zona infartada. La infiltración inicial de leucocitos a partir de los vasos sanguíneos es un fenómeno que debieran estudiar muy detenidamente los anatomopatólogos interesados en el estudio de

los infartos recientes. Otros fenómenos inflamatorios, como el edema y la congestión, se identifican menos fácilmente. En esta etapa, la hemorragia no es un elemento característico.

Los conocimientos actuales sobre el orden cronológico que siguen las alteraciones tisulares en el infarto del miocardio en el hombre (véase la figura 1) se fundan casi únicamente en dos trabajos (Mallory y col.,

FIG. 1. CRONOLOGIA DE LAS ALTERACIONES MICROSCOPICAS EN EL INFARTO AGUDO DEL MIOCARDIO



1939, y Lodge-Patch, 1951). Por tanto, es indispensable obtener más información mediante los métodos histológicos clásicos, especialmente sobre los cambios que se registran en las 24 primeras horas después de iniciada la lesión.

3.2.2 *Evaluación de algunas técnicas histológicas perfeccionadas*

a) Los cortes « gruesos » tras inclusión en resina, teñidos con azul de toluidina y examinados con los aumentos mayores del microscopio óptico, pueden proporcionar más datos. Los adelantos actuales de la microtomía permiten considerar el empleo de esta técnica cuantas veces sea posible.

b) Debe interpretarse con cautela la fluorescencia verde de las células del miocardio humano, observada en cortes de piezas congeladas y no fijadas, tras la aplicación de naranja de acridina (1 : 10 000 en amortiguador de barbital de Michaelis, a un pH de 6,7), descrita por Hecht y col. (1961), Korb y Knorr (1962) y Korb y Totovic (1963).

c) No se recomienda la demostración de la presencia de fucsínofilia (Selye, 1958; Poley y col., 1964; Lie, 1968) porque es una técnica que carece de uniformidad.

d) Las técnicas del verde de metilo/pironina y la de Feulgen con tanino azoico oxidado (Malinin y col., 1968) no son más sensibles que las de hematoxilina y eosina.

3.3 **Examen con microscopio electrónico**

Los estudios con microscopio electrónico de modelos experimentales de isquemia miocárdica han proporcionado muchos datos fundamentales sobre la patogenia de las lesiones hipóxicas del corazón. La correlación entre las alteraciones ultraestructurales y los datos bioquímicos confirma la importancia de la liberación de catecolaminas y la de las transferencias iónicas (pérdida de magnesio, potasio y fosfatos; afluencia de calcio, sodio y agua) durante el comienzo de la isquemia. Esta altera el metabolismo celular, que se manifiesta por descenso rápido del glicógeno, seguido inmediatamente por alteraciones del núcleo, las mitocondrias y el sistema sarcotubular.

La miofibrilla es el organoide más resistente a la hipoxia. La gravedad y la velocidad de presentación de los fenómenos hipóxicos dependen del modo de inducción y varían con la especie de animal utilizado.¹

La autólisis postmórtem es muy semejante a las alteraciones isquémicas iniciales y, de hecho, probablemente tiene una base hipóxica. Durante la agonía pueden comenzar algunos cambios hipoxicoautolíticos consi-

¹ Para mayores detalles, véase Heggveit (1969).

derables. La cronología de las tomas de tejido y las técnicas de su conservación son en gran parte determinantes de la cantidad de artefactos formados. En la actualidad, resulta utópico esperar que se obtenga un miocardio humano con isquemia aguda suficientemente reciente después de la defunción para poder calcular la magnitud o la duración de la isquemia mediante el examen con el microscopio electrónico. La autólisis evoluciona rápidamente y resta mucho valor al estudio morfológico de las manifestaciones ultraestructurales de la hipoxia.

Mientras llegan a perfeccionarse los métodos de fijación e inclusión que permitirán evaluar mejor el material humano, puede establecerse una relación entre los segmentos sarcomerales y algunos parámetros mecánicos, como la presión de llenado en el corazón postmórtem. Además, conviene proseguir los estudios de la isquemia miocárdica experimental con el microscopio electrónico, especialmente asociándolos a otras técnicas (por ejemplo, la citoquímica y la autorradiografía).

3.4 Histoquímica

La histoquímica puede llenar hasta cierto punto la brecha que separa la morfología (conforme a los datos obtenidos por la microscopía óptica o electrónica) de la bioquímica. Para comprender e interpretar debidamente los datos histoquímicos se necesita tener en cuenta las observaciones realizadas con el microscopio electrónico y los resultados del análisis bioquímico.

Al microscopio electrónico se observan principalmente una disminución de la cantidad de partículas de glicógeno y una turgencia de las mitocondrias y del retículo sarcoplásmico que pueden encontrarse pocos minutos después de iniciada la isquemia.

Las principales modificaciones de tipo bioquímico que se hallan en las zonas isquémicas después de 15 minutos son la aceleración de la glicólisis anaeróbica y perturbaciones del metabolismo aeróbico con interrupción de la fosforilación oxidativa. Poco tiempo después se inicia un éxodo de iones Mg^{2+} y K^{+} y una afluencia de iones Ca^{2+} y Na^{+} . Luego se produce una disminución de la tasa de la mayoría de las deshidrogenasas, con excepción de la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G6PD), que aumenta. Muchas de estas modificaciones pueden demostrarse por medios histoquímicos, pero sólo algunos de los métodos disponibles proporcionan resultados fidedignos.

Los estudios experimentales indican que estos métodos son útiles para descubrir la isquemia miocárdica incipiente en animales de experimentación. Si se emplean para localizar estas lesiones en el miocardio humano, deben tomarse en consideración dos circunstancias :

a) No se conoce bien la evolución natural de las lesiones en el miocardio humano ni puede fijarse con exactitud el comienzo de la isquemia.

Como no siempre es posible considerar la aparición de los síntomas clínicos como punto de partida de la isquemia, probablemente son imprecisas muchas evaluaciones cronológicas que se han publicado.

b) La autólisis postmórtem afecta la naturaleza y la cronología de las alteraciones isquémicas originales.

3.4.1 *Resumen de las técnicas histoquímicas¹ de utilidad demostrada en isquemias miocárdicas experimentales y que pueden aplicarse al miocardio humano*

1) *Métodos no enzimáticos*

a) Demostración de la seudofosforilasa (dependiente de la presencia de glicógeno endógeno).

b) Demostración del glicógeno.

La concentración de las dos sustancias disminuye en una hora a 37° C.²

2) *Métodos enzimáticos*

a) Determinación de las deshidrogenasas (succinato, β -hidroxiburato e isocitrato) (medio acuoso, Nitro-BT).

i) Cambio de aspecto de la reacción del formazán (con puntos más gruesos) con o sin aumento de la intensidad de la coloración (en tres horas).²

ii) Disminución de la tasa (en seis horas).²

b) Reacción endógena de la «deshidrogenasa sin sustrato» y el Nitro-BT (medios gelificados)³ (disminución en dos horas).²

3) *Componentes estables (que no disminuyen notablemente en 8 horas a 37° C)*

a) Citocromo oxidasa.

b) Succinato deshidrogenasa.

c) Hidrolasas.

3.4.2 *Resumen de técnicas eventualmente aplicables al miocardio humano*

1) *Métodos no enzimáticos*

a) Determinación del potasio (en cortes liofilizados) por el boro tetrafenilo (Collenwijn, 1963).

¹ Salvo cuando se indique lo contrario, todos estos métodos se aplican a cortes congelados y no fijados; para más detalles, véase Pearse (1960, 1968).

² El tiempo indicado se refiere a material animal.

³ En el Anexo 3 se describe la preparación de un medio gelificado.

b) Determinación de los lípidos por fluorescencia (Fosfina 3R).

2) *Métodos enzimáticos*

a) Relación inversa entre la tasa de la lactato deshidrogenasa y la de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (medios gelificados;¹ variaciones esperadas en 2 horas).

b) Tasa de la ATPasa² (método del calcio-cobalto a un pH de 7,5; aumento esperado en 2 horas).

El tiempo transcurrido después de la defunción influye considerablemente sobre el cuadro histoquímico y debe conocerse de manera precisa.

3.4.3. *Grados de alteración histoquímica*

Sólo debe emplearse material reciente, tomado durante los 30 minutos siguientes al fallecimiento, para clasificar las lesiones isquémicas. Se proponen los cuatro grados siguientes :

- Grado I : Únicamente disminución de la fosforilasa o del glicógeno (en el curso de las 2 horas siguientes al principio de la isquemia).
- Grado II : Cambios en el tipo de la reacción del formazán (de « puntos finos » a « puntos gruesos ») con irregularidades en la intensidad de la reacción de la succinato deshidrogenasa y disminución de la reducción endógena en la misma zona donde se encuentra disminución de la fosforilasa o del glicógeno (en las 3 horas siguientes al principio de la isquemia).
- Grado III : Diferencias notables de intensidad en la reacción de la β -hidroxiburato deshidrogenasa o en la reacción de la lactato deshidrogenasa en la misma zona donde se observa una pérdida de fosforilasa o de glicógeno (en las 8 horas que siguen al principio de la isquemia).
- Grado IV : Modificaciones histológicas de las células del miocardio (por lo menos 12 horas después del comienzo de la isquemia).

Tan pronto como puede disponerse de datos suficientes, a fin de facilitar la clasificación de las lesiones isquémicas, es posible recurrir al método del calcio-cobalto para determinar la actividad de ATPasa en un pH de 7,5, al método fundado en la relación inversa entre la lactato deshidrogenasa y la actividad de la G6PD, y a otros métodos.

Si no se dispone de material fresco, sólo pueden aplicarse ciertos métodos (véase el Cuadro 3). La determinación de la succinato deshidro-

¹ En el Anexo 3 se describe la preparación de un medio gelificado.

² ATPasa = adenosina trifosfatasa.

CUADRO 3. METODOS QUE PUEDEN ELEGIRSE SEGUN EL TIEMPO TRANSCURRIDO POSTMORTEM

Tiempo postmórtem	Métodos aplicables
Menos de 1/2 hora 1/2 a 12 horas	Todos los métodos G6PD, lactato deshidrogenasa, succinato deshidrogenasa, citocromo oxidasa, NADH ₂ : TR
Más de 12 horas	Lactato deshidrogenasa, succinato deshidrogenasa, citocromo oxidasa, NADH ₂ : TR

genasa, de la citocromo oxidasa o de la NADH₂: TR¹ (las enzimas más resistentes a la autólisis) puede ayudar a descubrir modificaciones isquémicas, pero únicamente las diferencias considerables deben considerarse como pruebas positivas de la isquemia.

3.4.5 Preparación de muestras de miocardio para el examen histoquímico

a) Muestras voluminosas, hasta 4 x 2 cm, que deberán tomarse del mayor número posible de zonas, elegidas al azar y registradas minuciosamente. Deben fijarse en soportes para tejido congelado y enfriarse inmediatamente a -70° C con hielo seco. Si es necesario, pueden conservarse durante uno o dos meses a -70° C en recipientes o envolturas herméticamente cerrados.

b) Deben hacerse cortes del material congelado (20-30 μ) y montarse en laminillas. Estas preparaciones deben utilizarse en el curso de las 48 horas siguientes. Si es necesario, pueden conservarse a la temperatura ambiente.

4. ESTUDIOS FUTUROS

4.1 Estudios comparativos y experimentales en modelos animales

4.1.1 Isquemia espontánea del miocardio

La cardiopatía isquémica, como consecuencia de la oclusión espontánea de la arteria coronaria extramural, es extremadamente rara en los animales. Sin embargo, en muchas especies se encuentra cierto grado de necrosis del miocardio asociada a la enfermedad de las pequeñas ramas intramurales. Este tipo de lesión miocárdica se observa a menudo en el cerdo (especialmente de la raza Pietrin) y en rumiantes pequeños, especies que podrían ser útiles para el estudio de la cardiopatía isquémica.

¹ NADH₂: TR = Nicotinamida-adenina dinucleótido (forma reducida): tetrazolio reductasa.

4.1.2 *Isquemia experimental del miocardio*

El perro y el cerdo son animales de experimentación propios para estudiar los aspectos fisiopatológicos de la circulación coronaria y especialmente el desarrollo de colaterales. Por el contrario, el carnero tiene un potencial muy bajo de circulación anastomótica.

Para la cirugía experimental en la arteria coronaria ateromatosa, los animales comunes de laboratorio (gato, conejo, perro) tienen escasa utilidad; algunas especies de primates podrían servir mejor a este propósito.

Los modelos experimentales de isquemia aguda del miocardio pueden obtenerse reduciendo la circulación coronaria en animales intactos mediante constricción extraluminal de la arteria coronaria, por hipoxia generalizada o con la administración de sustancias como las catecolaminas. En esas condiciones se puede estudiar sistemáticamente el proceso de la isquemia aguda del miocardio empleando métodos bioquímicos, histoquímicos, morfológicos, farmacológicos y fisiológicos. Esos estudios pueden aclarar aspectos de procesos similares que se desarrollan en el hombre, cuyo examen se complica por la autólisis postmórtem.

Aunque no existe un modelo animal enteramente satisfactorio para estudiar el problema de la cardiopatía isquémica en su conjunto, ciertas especies pueden ser útiles para determinados tipos de investigación.

4.2 **Investigaciones comparativas**

Se consideró que era conveniente profundizar los estudios e investigaciones comparativas de los aspectos siguientes :

- 1) Análisis de electrolitos, especialmente del potasio, el sodio, el magnesio y el calcio, mediante diferentes técnicas.
- 2) Exploración cardiaca mediante fluorescencia y escintilografía con isótopos.
- 3) Métodos histoquímicos.
- 4) Examen de cortes gruesos tras inclusión en resina.

4.3 **Estudios en corazones humanos**

Es indispensable conocer las primeras etapas del infarto agudo del miocardio para poder diferenciar este síndrome de otras causas miocárdicas de muerte repentina. No se dispone actualmente de la información fundamental necesaria a este fin, pero pueden obtenerse datos suficientes y provechosos estudiando *in vitro* el corazón humano cuando todavía es capaz de latir. Naturalmente, ese método supone un perfec-

cionamiento previo de las técnicas de experimentación en animales grandes, sobre todo los primates.

En principio, los corazones extirpados de receptores de injertos no serían adecuados para investigar los signos iniciales de infarto del miocardio. Los enfermos se encuentran en las fases terminales de su afección, con lesiones extensas del miocardio; incluso las partes no fibrosas de éste no son adecuadas como material de prueba, pues presentan alteraciones morfológicas asociadas a la insuficiencia cardiaca grave y prolongada. El corazón extirpado ha perdido su nodo sinoauricular y dos tercios de las aurículas, por lo que es dudoso que se le pueda hacer latir de forma fisiológica satisfactoria durante el tiempo necesario para el experimento. Sin embargo, las partes no lesionadas del miocardio pueden ser materiales útiles para algunos estudios bioquímicos, histoquímicos, morfológicos, farmacológicos y fisiológicos si se mantienen en condiciones artificiales de « supervivencia ».

El Grupo ha puesto de relieve que las sugerencias anteriores se refieren únicamente a la viabilidad técnica y a la posible utilidad de los experimentos realizados con un corazón humano extirpado cuando aún late, sin que por ello se pronuncie respecto a los problemas éticos y jurídicos que puedan plantear esos estudios.

5. RECOMENDACIONES

1. Como es muy poco lo que se sabe sobre la histopatología de las modificaciones miocárdicas iniciales y como la autólisis postmórtem dificulta el estudio de éstas mediante el microscopio electrónico, la histoquímica y otras técnicas refinadas, el Grupo considera que conviene realizar un estudio anatomopatológico prospectivo. Por tanto, recomienda que tan pronto como sea posible se emprenda un estudio piloto, basado en el método indicado en el Anexo 1 para examinar el corazón.

2. Las láminas histológicas (teñidas o no), procedentes de casos interesantes y enviadas por centros que emplean el método normalizado propuesto en el Anexo 1, deben enviarse para su evaluación a un grupo de anatomopatólogos independientes.

3. Los estudios macroscópicos y microscópicos deben ejecutarse de manera coordinada, tal vez con ayuda de la OMS.

4. A fin de establecer una correlación entre los datos clínicos y los anatomopatológicos, los centros de estudios clínicos deben contar con anatomopatólogos bien preparados y con experiencia en el estudio detallado del corazón.

5. Como muchos casos de muerte repentina por cardiopatía isquémica son objeto de una autopsia medicolegal, es sumamente importante que los anatomopatólogos forenses conozcan bien las técnicas más adecuadas y posean los medios de ponerlas en práctica.

NOTA

El Grupo agradece la valiosa ayuda prestada durante sus deliberaciones por los siguientes funcionarios de la OMS : Dr. A. R. Kagan, Jefe del Servicio de Epidemiología de las Enfermedades no Transmisibles, División de Investigaciones de Epidemiología y Ciencias de la Comunicación; Dr. R. Masironi, Técnico del Servicio de Enfermedades Cardiovasculares; Dr. Z. Pisa, Médico del Servicio de Enfermedades Crónicas, Oficina Regional de la OMS para Europa, y Dr. R. Vaněček, Jefe del Segundo Departamento de Anatomía Patológica, Universidad Carolina, Praga, Checoslovaquia, y Profesor Visitante del Instituto de Anatomía Patológica, Universidad de Ginebra, Suiza (*Consultor*).

Anexo 1

METODO RECOMENDADO PARA EXAMINAR EL CORAZON

Generalmente es fácil el diagnóstico del infarto del miocardio ya establecido; en cambio, suele plantear dificultades la identificación de la cardiopatía isquémica aguda durante las primeras horas que siguen al accidente. Por estas razones se recomienda el siguiente método de examen a simple vista del corazón y, cuando es necesario, con inyección de las arterias coronarias y mediante técnicas histológicas.

1. Extracción del corazón y examen a simple vista

Debe extraerse el corazón tan pronto como sea posible después de la defunción : se separan las arterias pulmonar y aorta a 5 cm del borde libre de las válvulas semilunares, y se cortan las venas unidas a las aurículas de tal manera que éstas queden unidas en su totalidad al corazón. Tras extirparlo, y en condiciones adecuadas de iluminación, se examina el corazón para identificar las zonas sospechosas en que pueda haber un infarto reciente del miocardio, buscando especialmente los signos siguientes : consistencia blanda, palidez, edema, pericarditis fibrinosa, fibrosis epicárdica, hemorragia subepicárdica, aneurisma del ventrículo y ruptura. Sin abrir los vasos coronarios, deben observarse éstos con especial detenimiento y tomar nota de cualquier manifestación anormal que presenten antes de proceder a inyectarlos.

2. Inyección y examen de las arterias coronarias**A. PREPARACIÓN DE UNA SUSTANCIA DE CONTRASTE ¹***Reactivos*

2-Octanol (alcohol *n*-octílico secundario, alcohol caprílico secundario).

Fenol en solución acuosa, USP o calidad equivalente.

Bacto-gelatina (Laboratorios Difco).

Yoduro de potasio cristalizado, USP o calidad equivalente.

Mezcla tope (fosfatos de sodio y potasio, pH 6,2).

Sulfato de bario (son satisfactorias todas las marcas señaladas como medios de contraste por la USP).

Mezclas primarias

Se preparan las cantidades siguientes y se almacenan en frascos o bolsas :

<i>Mezcla A</i>	50,0 ml
2-Octanol	20,0 ml
Fenol	30,0 ml

Se mezcla bien y se guarda en un frasco con cuentagotas calibrado.

<i>Mezcla B</i>	61,0 g
Gelatina	23,5 g
Yoduro de potasio	35,2 g
Mezcla tope	2,3 g

Medio de contraste

Sulfato de bario	100,0 g
------------------------	---------

Preparación de la masa

1. Se vierten 163 ml de agua destilada en una mezcladora Waring.
2. Se añade 1 ml de la mezcla A y se hace girar el aparato durante 30 segundos.
3. Se añaden 61 g de la mezcla B y se hace girar el aparato durante 60 segundos.
4. Se añaden 100 g de sulfato de bario y se hace girar el aparato durante 2 minutos.

¹ Modificación del método de Schlesinger (1967).

Si no va a utilizarse la totalidad de la masa en las dos semanas siguientes a su preparación, consérvese en un refrigerador a 4-6° C. Antes de emplearla, déjese la masa a la temperatura ambiente para descongelarla.

B. INYECCIÓN DE LOS VASOS CORONARIOS

Inyéctense los vasos coronarios a una presión de 130 mm Hg, aproximadamente, siguiendo la técnica descrita por Baroldi y Scomazzoni (1967) (véase la figura 2).

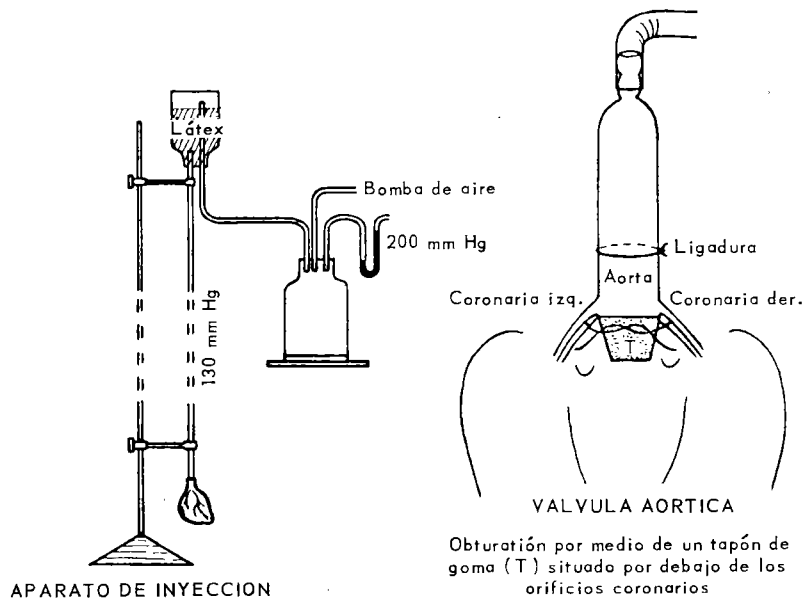
C. EXAMEN RADIOGRÁFICO DE LAS ARTERIAS CORONARIAS

Deben tomarse múltiples radiografías de la pieza para examinar el árbol coronario principal en su totalidad.

3. Secciones del corazón

a) Debe cortarse el corazón en secciones transversales de 1 cm de espesor, desde la punta hasta 1 cm antes de la válvula mitral.

FIG. 2. EQUIPO Y METODO DE INYECCION



b) Se disponen en orden las secciones y después de lavar y eliminar los coágulos, se toman fotografías de ellas en blanco y negro junto a una escala centimétrica. Deben examinarse cuidadosamente las secciones para descubrir variaciones de color o consistencia. Toda modificación observada debe describirse debidamente o fotografiarse en colores. Antes de la fijación, deben examinarse las arterias coronarias tanto en las secciones como en la porción basal restante.

c) A continuación se pesan juntas las secciones y la base del corazón, tras reducir la longitud de las arterias aorta y pulmonar a 2 cm.

d) Debe emplearse el método macroscópico con tetrazolio propuesto por Nachlas y Shnitka (1963) para uno de los lados de cada sección y fotografiar los datos positivos en blanco y negro y en colores.

e) Terminada la reacción al tetrazolio, deben fijarse debidamente todas las secciones en solución de formaldehído.

f) La toma de muestras para examen histológico debe fundarse en los principios siguientes :

i) Si se descubre un infarto por observación a simple vista o mediante la técnica del Nitro-BT, deben tomarse piezas del borde de la zona infartada; esas piezas deben abarcar todo el espesor de la pared.

ii) En ausencia de un infarto evidente, deben tomarse varias piezas del miocardio en las cercanías de todo estrechamiento u oclusión de las arterias coronarias, según lo indique la angiografía coronaria.

iii) En ausencia de alteraciones de las arterias coronarias, deben tomarse muestras al azar del ventrículo izquierdo, el séptum y el ventrículo derecho, registrando cuidadosamente las secciones de donde se tomaron (debe recogerse el mayor número posible de muestras).

Anexo 2

POSIBILIDADES DE EMPLEO DE LA ESCINTILOGRAFIA CARDIACA EN EL DIAGNOSTICO DE INFARTO DEL MIOCARDIO

Hay dos métodos principales para emplear la escintilografía con isótopos radioactivos en el diagnóstico de un infarto del miocardio :

1. Representar el infarto como zona de emisión débil (« fría ») utilizando sustancias que son absorbidas rápidamente por el mio-

cardio *normal*, como el rubidio-86, el cesio-131 o el ácido oleico yodado (^{131}I).

2. Representar el infarto como zona de emisión fuerte (« caliente ») utilizando sustancias que se localizan selectivamente en el miocardio *lesionado* : neohidrina- ^{203}Hg , derivados yodados (^{131}I) de las tetraciclinas y derivados mercuriales (^{203}Hg) de la fluoresceína.

Se ha empleado la neohidrina- ^{203}Hg un tanto empíricamente por su utilidad comprobada en el diagnóstico de los tumores malignos. El uso de derivados yodados (^{131}I) de análogos de la tetraciclina y de derivados mercuriales (^{203}Hg) de la fluoresceína se funda en estudios de fluorescencia que han demostrado que esos dos grupos de sustancias se acumulan y se fijan en el miocardio lesionado durante un periodo prolongado.

En los dos métodos (zona « fría » y zona « caliente »), se inyectan los compuestos por vía intravenosa para localizar los sectores isquémicos y determinar la extensión y gravedad de la lesión. El segundo método parece ser preferible; es más fácil obtener una imagen « positiva » sobre un fondo « negativo » que una imagen « negativa » sobre un fondo « positivo ». Además, los datos proporcionados por la zona « fría » desaparecen rápidamente. Por último, el método de zonas « calientes » permite una retención prolongada de la sustancia de prueba en los tejidos lesionados, lo que da la posibilidad de repetir la escintilografía y seguir la evolución hacia la curación.

Ninguno de esos métodos puede aún considerarse adecuado para el diagnóstico clínico ordinario, aunque está bien comprobado su valor teórico, especialmente por lo que respecta al método de las zonas « frías ». Las imágenes positivas que se obtienen con la neohidrina han resultado poco satisfactorias, y en cuanto a los ensayos clínicos con los derivados mercuriales de la fluoresceína apenas se han iniciado recientemente.

Los ensayos con un nuevo derivado mercurial de la fluoresceína, el « Mercurascán », han dado resultados sumamente prometedores. Ese derivado se acumula en la zona de isquemia en proporciones muy altas y desaparece rápidamente de la sangre y el miocardio sano. El índice R I (relación entre músculo lesionado y músculo normal) llega a ser hasta de 80-200 (en comparación con 8 para la neohidrina), y el índice R II (relación entre el músculo lesionado y la sangre) es de 90. Como el Mercurascán desaparece también rápidamente de los tejidos y órganos circunvecinos, excepto el hígado, satisface todos los requisitos de un método de imágenes positivas. Empleando esta sustancia fue posible obtener por primera vez una imagen positiva *in vivo* de la isquemia experimental en el corazón del perro.

Los resultados más importantes obtenidos por este método fueron los siguientes:

- 1) La prueba de que es posible obtener una imagen positiva *in vivo* en un animal que respira y cuyo corazón late.

2) La aparición rápida de la imagen positiva después de la administración intravenosa de la sustancia de prueba y después del desarrollo del foco isquémico. En el perro, tras la ligadura temporal de la rama descendente de la arteria coronaria izquierda, aparece una imagen positiva en 1 1/2 a 2 horas, es decir, antes que la lesión se manifieste por un aumento de las concentraciones de enzimas en el suero (creatinina fosfoquinasa, GOT,¹ GPT,² y las isoenzimas de la LDH³). Además, puede obtenerse una prueba positiva inmediatamente en la linfa que escurre de la zona lesionada.

3) En todos los animales con infarto provocado experimentalmente apareció una imagen positiva, inclusive después de ligadura permanente de la arteria coronaria, aunque en estos últimos casos los mejores resultados se obtuvieron 48 horas o más después de la aparición de la isquemia.

4) Se ha observado que el Mercurascán sirve para el estudio dinámico del infarto del miocardio; por ejemplo, ha sido posible seguir la evolución del proceso de curación después de una inyección intravenosa de la sustancia.

5) Los resultados preliminares muestran que la sustancia se acumula en el miocardio tras el trasplante cardiaco.

Al parecer, los resultados obtenidos hasta la fecha con los métodos escintilográficos justifican los estudios ulteriores siguientes :

a) Empleo de las técnicas escintilográficas (inclusive la prueba del Mercurascán) en la isquemia cardiaca experimental.

b) Evaluación de la prueba del Mercurascán para la detección precoz de alteraciones necrobióticas tras el injerto cardiaco.

c) Estudios detallados sobre el mecanismo de acumulación de sustancias en los tejidos lesionados y, en particular, sobre el modo de fijación de los derivados mercuriales de la fluoresceína. Probablemente en este proceso se forma un complejo; se sabe, por ejemplo, que en el miocardio lesionado la tetraciclina se fija primordialmente por la unión de un complejo de tetraciclina y calcio con lípidos hidrolizados. Por otra parte, los derivados mercuriales de la fluoresceína parecen estar ligados directamente a las proteínas de las células miocárdicas lesionadas, tal vez por medio de sus grupos -SH.

d) La mayoría de estos métodos se emplean para el diagnóstico de infarto del miocardio *in vivo* tras la administración intravenosa de una sustancia. Sería interesante establecer una relación entre esas observaciones y el examen de materiales de autopsia, ya fuese tras la perfusión

¹ GOT = Transaminasa glutámico-oxalacética.

² GPT = Transaminasa glutámico-pirúvica.

³ LDH = Lactato deshidrogenasa.

postmórtem del corazón con sustancias de prueba o después de la aplicación directa de esas sustancias a cortes del miocardio.

e) Ensayos clínicos del Mercurascán en comparación con otros métodos de diagnóstico clínico. Las observaciones preliminares indican que el miocardio humano se comporta esencialmente de la misma manera que el de los animales, pero a este respecto aún se necesitan estudios minuciosos. Los servicios de tratamiento de enfermedades de las coronarias están en situación particularmente propicia para efectuar esas investigaciones.

Anexo 3

METODOS PARA DEMOSTRAR LA PRESENCIA DE LA LACTATO DESHIDROGENASA, LA GLUCOSA-6-FOSFATO DESHIDROGENASA (G6PD) Y LA « DESHIDROGENASA SIN SUSTRATO »¹ EN MEDIOS DE GELATINA GELIFICADOS²

I. *Reactivos* (de la mejor calidad posible)

Gelatina
Nitro-BT
Cianuro de potasio
Cloruro o sulfato de magnesio
Fosfato disódico
Fosfato de potasio
Tris-(hidroximetil)-aminometano
NAD (nicotinamida adenina dinucleótido)
NADP (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato)
Metilsulfato de fenazina
Lactato de sodio

¹ «Deshidrogenasa sin sustrato» es un término empleado por primera vez por Racker (1955) para indicar la reducción de NAD y de NADP por fracciones proteínicas de diversos tejidos en ausencia de sustrato. Subsiguientemente introdujeron el término en histoquímica Zimmermann y Pearse (1959) para indicar la reducción de NAD o de NADP por cortes de tejido en ausencia de sustrato, así como la reducción análoga de sales de tetrazolio en formazanes. La reducción se atribuyó inicialmente a los grupos -SH de las proteínas, pero en la actualidad se considera que tiene su origen en los grupos -SH de la alcohol deshidrogenasa.

² Lodja (1968).

Glucosa-6-fosfato (sal disódica)
Dimetilformamida

II. Soluciones primarias

a) Solución de gelatina al 10 %, regulada a un pH de 7,4 mediante fosfato 0,1M o Tris-HCl (el pH debe verificarse y ajustarse, en caso necesario, añadiendo NaOH 1N o 0,1N).

La solución se prepara en un baño de María a 40° C. Puede conservarse en un frasco cerrado con tapón a 4° C y utilizarse mientras no se advierta ninguna contaminación microbiana. Antes de emplearlo debe recalentarse a 37° C.

b) Mezcla primaria de Nitro-BT :

Tope de fosfato 0,1 M o de Tris-HCl, pH 7,4	5 ml
Solución acuosa de Nitro-BT al 0,2 % ¹	5 ml
Cianuro de potasio 0,1 M (pH ajustado a 7,4 por adición de HCl 1N)	4 ml
Cloruro o sulfato de magnesio 0,05 M	4 ml

Esta mezcla puede conservarse en refrigerador varias semanas.

c) Lactato de sodio 1M.

d) Glucosa-6-fosfato (sal disódica) 1M.

El pH de las soluciones c) y d) debe ajustarse a 7,4 y las dos soluciones han de almacenarse a una temperatura de -10° C o inferior.

III. Demostración de la presencia de lactato deshidrogenasa

Mezcla primaria de Nitro-BT	4,5 ml
Lactato de sodio 1M	1,0 ml
NAD	5-10 mg
(el pH debe ajustarse a 7,4 añadiendo NaOH 1N o 0,1N)	
Metilsulfato de fenazina	0,5-1 mg

Se calienta la solución a 37° C, se mezcla perfectamente con 5,5 ml de solución primaria de gelatina, se vierte en láminas cubreobjetos de dimensiones adecuadas (se necesitan unos 0,3 ml para un cubreobjetos de 24 × 32 mm) y se deja gelificar a una temperatura inferior a 15° C.

Con el lado gelificado hacia abajo, se colocan las láminas cubreobjetos sobre cortes de piezas congeladas, desecadas y montadas en

¹ Se disuelve la cantidad necesaria en unas gotas de dimetilformamida y se añade agua destilada hasta obtener el volumen deseado.

portaobjetos. Se dejan reposar a la temperatura ambiente y en la oscuridad hasta que se obtiene la intensidad necesaria de coloración (durante unos 15 a 30 minutos). Se examinan y se toman microfotografías. Si se necesitan preparaciones permanentes, se desprenden los cubreobjetos en agua caliente. Se procede a la fijación en formaldehído durante 5 minutos. Se montan en jalea glicerinada o en un medio análogo.

IV. Demostración de la presencia de G6PD

Mezcla primaria de Nitro-BT	4,5 ml
Glucosa fosfato (sal disódica) 1M	1 ml
NADP	5-10 mg
(el pH debe ajustarse a 7,4 añadiendo NaOH 1N o 0,1N)	
Metilsulfato de fenazina	0,5-1 mg

El procedimiento es igual al empleado para demostrar la presencia de lactato deshidrogenasa (véase anteriormente), salvo que el periodo de reposo es de unos 30 a 60 minutos.

V. Demostración de la presencia de « deshidrogenasa sin sustrato »

El procedimiento es igual al empleado para demostrar la presencia de lactato deshidrogenasa (véase anteriormente), salvo que la solución de lactato de sodio 1M se sustituye por agua y que el periodo de reposo es de unos 30 a 60 minutos.

REFERENCIAS

- Baroldi, G. y Scomazzoni, G. (1967) *Coronary circulation in the normal and pathologic heart*, Washington, D. C., Armed Forces Institute of Pathology
- Brody, G. L., Belding, W. H., Belding, R. M. y Feldman, S. A. (1967) *Arch. Path.*, **84**, 312
- Chait, M. M. (1964) *Vrac. Delo*, **8**, 57
- Chait, M. M. (1968) *Postmertnaja diagnostika ostroj koronarnoj nedostatočnosti pri vnezapnej smerti s pomošč'ju opredelenija koncentracii kalija i natrija y miokarde metodom plamennoj fotometrii* [Diagnóstico postmórtem de la insuficiencia coronaria aguda en casos de muerte repentina, mediante la determinación de las concentraciones de potasio y de sodio en el miocardio por fotometría de llama]. En : Shvacabaja, I. K. y Rajschina, M. E., ed., *Vnezapnaja smert' pri ostroj koronarnoj nedostatočnosti* [Muerte repentina en casos de insuficiencia coronaria aguda], Moscú, Izdatel'stvo Akademii Medicinskii Nauk
- Collenwijn, H. (1963) *Ionic movements in the cerebral cortex*, Tesis, Amsterdam
- Hecht, A., Korb, G. y David, H. (1961) *Virchows Arch. path. Anat.*, **354**, 267

- Heggtveit, H. A. (1969) *Bull. Wld Hlth Org.*, **41**, 865
- Herles, F. y Daum, S. (1957) *Čas. Lék. čes.*, 1050
- Iseri, L. T., Alexander, L. C., McCaughey, R. S., Boyle, A. J. y Myers, G. B. (1952) *Amer. Heart J.*, **43**, 215
- Jennings, R. B., Crout, J. R. y Smetters, G. W. (1957) *Arch. Path.*, **63**, 586
- Jennings, R. B., Kaltenbach, J. P. y Sommers, H. M. (1965) *Cell death: Electrolyte alterations in injured and dying myocardial cells*. En: Bajusz, E., ed., *Electrolytes and cardiovascular diseases*, Basilea, Karger, vol. 1, págs. 192-203
- Korb, G. y Knorr, G. (1962) *Virchows Arch. path. Anat.*, **335**, 154
- Korb, G. y Totovič, V. (1963) *Virchows Arch. path. Anat.*, **336**, 475
- Korb, G., Krug, A. y Bechtelsheimer, H. (1965) *Beitr. path. Anat.*, **131**, 281
- Lie, J. T. (1968) *Amer. J. clin. Path.*, **50**, 317
- Lodge-Patch, I. (1951) *Brit. Heart J.*, **13**, 37
- Lodja, Z. (1968) *Histochemie enzymu* [Histoquímica de las enzimas], vol. 2, Brno, Lachema
- Málek, P., Kolc, J., Žástava, V., Žák, F. y Peleška, B. (1963) *Cardiologia*, **42**, 303
- Malinin, T. J., Stokes, J. R., Hardy, L. B. y Lumb, G. (1968) *Johns Hopkins med. J.*, **122**, 102
- Mallory, G. K., White, P. D. y Salcedo-Salgar, G. (1939) *Amer. Heart J.*, **18**, 647-671
- McNeilly, R. H. y Pemberton, J. (1968) *Brit. med. J.*, **3**, 139-142
- Nachlas, M. M. y Shnitka, T. H. (1963) *Amer. J. Path.*, **42**, 379
- Pearse, A. G. E. (1960) *Histochemistry, theoretical and applied*, 2ª ed., Londres, Churchill
- Pearse, A. G. E. (1968) *Histochemistry, theoretical and applied*, 3ª ed., Parte 1, Londres, Churchill
- Poley, R. W., Fobes, C. D. y Hall, M. J. (1964) *Arch. Path.*, **77**, 325
- Racker, E. (1955) *Physiol. Rev.*, **35**, 1
- Ramkinson, R. A. (1966) *J. clin. Path.*, **19**, 479
- Schlesinger, M. J. (1967) *Lab. Invest.*, **6**, 1
- Selye, H. (1958) *The chemical prevention of cardiac necrosis*, Nueva York, Ronald Press, p. 43
- Sikl, H. (1942) *Zbl. allg. Path. path. Anat.*, **80**, 409
- Zimmermann, H. y Pearse, A. G. E. (1959) *J. Histochem. Cytochem.*, **7**, 271
- Zugibe, F. T., Bell, F., Conley, T. y Standish, M. L. (1966) *Arch. Path.*, **81**, 409