

15
24.



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**" EVALUACION DEL DAÑO AL MIOCARDIO
INFARTADO EN RATAS WISTAR: ESTUDIO A NIVEL
DE MICROSCOPIA ELECTRONICA "**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A N :**

**JOSE JUAN ESCOBAR CHAVEZ
GABRIELA GOMEZ LOPEZ**

**DIRECTOR: M. EN C. SOFIA GONZALEZ GALLARDO
COASESOR: PHD ELISEO HERNANDEZ BAUMGARTEN**

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLÁN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

"Evaluación del daño al microbio producido en ratas Wistar:
Estudio a nivel de Microscopía Electrónica".

que presenta el pasante: José Juan Escobar Chávez
con número de cuenta: 9155082-7 para obtener el TÍTULO de:
Químico Farmacéutico Biólogo ; en colaboración con :
Gabriela Gómez López

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXÁMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"

Cuatitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 7 de Enero de 199 7

PRESIDENTE	<u>Q.F.B. Gabriel Rodríguez Ceballos</u>	<i>Rafael Rodríguez Ceballos</i>
VOCAL	<u>Q.F.B. Ma. Eugenia R. Domínguez</u>	<i>Eugenia R. Domínguez</i>
SECRETARIO	<u>Q.F.B. Ma. Esther Revuelta Alfaro</u>	<i>Esther Revuelta Alfaro</i>
PRIMER SUPLENTE	<u>Q.F.B. Ma. Esther Revuelta Alfaro</u>	<i>Esther Revuelta Alfaro</i>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>Q.F.B. Guadalupe Kozumi Castro</u>	<i>Guadalupe Kozumi Castro</i>



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

UNIVERSIDAD NACIONAL
 AUTONOMA DE MEXICO

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
 DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
 P R E S E N T E .

ATN: Ing. Rafael Rodriguez Ceballos
 Jefe del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, le permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

"Evaluación del nivel de las personas egresadas en ramas Wistar:
Estudio a nivel de Microscopía Electrónica".

que presenta la pasante: Gabriela Gómez López
 con número de cuenta: 8841450-4 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga ; en colaboración con:
José Juan Kocobor Chávez

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios, puede ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E -
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
 Cuautitlan Izcalli, Edo. de Mex., a 7 de Enero de 1977

PRESIDENTE	<u>J. E. B. Marcelino José Martínez</u>	<i>[Signature]</i>
VOCAL	<u>J. E. B. Ma. Encarnación R. Patricia Talavera</u>	<i>[Signature]</i>
SECRETARIO	<u>J. E. B. Ma. Esther Rev. Alma Miranda</u>	<i>[Signature]</i>
PRIMER SUPLENTE	<u>J. E. B. Ma. Esther Rev. Alma Miranda</u>	<i>[Signature]</i>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>J. E. B. Guadalupe Rojas</u>	<i>[Signature]</i>

**Este trabajo fué realizado en la sección de Microscopía Electrónica
de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.**

AGRADECIMIENTOS

**A la M en C. Sofía González Gallardo
por su continuo apoyo y comprensión.
Por brindarnos sus conocimientos y
experiencias incondicionalmente,
que hicieron posible la realización de este
proyecto.**

**Al PhD Eliseo Hernández Baumgarten por el
apoyo brindado durante nuestra estancia en
el laboratorio de Microscopía Electrónica.**

**Al técnico académico Rodolfo Robles Gómez
por la ayuda brindada para la culminación
de este proyecto.**

**A TODOS ELLOS NUESTRO MAS SINCERO AGRADECIMIENTO.
JUAN Y GABRIELA.**

DEDICATORIAS

A Dios por permitirme alcanzar una de mis metas.

**A mis padres José Jorge Gómez Yerena
y Ma. Martha López Martínez por la
comprensión, amor, cariño y apoyo que
me han brindado en mi vida.**

**A mis hermanos Jorge, Martha y Ricardo Gómez
López por que hemos estado juntos en los
momentos alegres y tristes de la vida.**

**A A. Iván Flores Hildaigo por su apoyo
incondicional.**

**A José Juan Escobar Chávez por ser un gran
amigo.**

**Les agradezco sinceramente todo el apoyo moral que me brindaron durante mi carrera y que
hicieron posible la realización de este trabajo.**

Gabriela

DEDICATORIAS

A Dios por permitirme lograr alcanzar uno de los muchos objetivos que me he planteado . Y por que se que el siempre esta conmigo.

A mis padres:

Agustín Escobar Reyes

Sofía Chávez Martínez

A mis hermanos'

Ma. De los Angeles Escobar Chávez

Agustín Escobar Chávez

y a mis sobrinos:

Omar Rodrigo y Diego Alfonso

Porque siempre han creído en mí y se que tendre su apoyo incondicional en cualquier situación de mi vida. Los quiero mucho.

Gracias a la persona que ha venido a cambiar mi vida y que día a día me impulsa a ser mejor.

Biólogo Víctor Raúl Gómez Román

Finalmente gracias a **Gaby** por su amistad, apoyo y comprensión .

A todos ustedes millones de gracias

José Juan Escobar Ch.

INDICE GENERAL

Resumen	1
1. Introducción	3
2. Generalidades.	
2.1 El corazón	4
2.2 Músculo cardíaco	7
2.3 Mitocondria	10
2.4 Proceso de contracción	13
2.5 ¿Qué es un infarto al miocardio?	14
2.6 Factores de riesgo	15
2.7 Patología del Infarto al Miocardio	
2.7.1. Causas	20
2.7.2. Síntomas, signos y diagnóstico	21
2.8 Tratamiento durante el Infarto al Miocardio	
2.8.1 Clasificación de fármacos útiles al infarto	25
3. Objetivos	27

4. Desarrollo Experimental	
4.1 Material y Reactivos	28
4.2 Diseño Experimental	30
4.3 Metodología	30
5. Resultados	
5.1 Resultados cualitativos	42
5.2 Resultados cuantitativos	54
6. Discusión	60
7. Conclusiones	64
8. Referencias	65

Resumen

El objetivo de este estudio fué realizar el análisis del daño sufrido en el músculo cardíaco a nivel ultraestructural provocado por la oclusión de la arteria coronaria descendente anterior izquierda a diferentes tiempos de oclusión (15 minutos, 2 hrs y 4 hrs), utilizando técnicas convencionales para Microscopía Electrónica.

Para cumplir esta finalidad se utilizaron ratas Wistar macho de 200-300 g de peso, distribuidas de la siguiente manera: controles sanos, SHAM (simulacro de oclusión) y ocluidos a los diferentes tiempos. Los resultados fueron determinados por las diferencias encontradas en relación con el control de tejido sano. Obteniendose que las alteraciones más frecuentes provocados por la oclusión de la arteria coronaria descendente anterior izquierda son el daño a nivel de mitocondrias, núcleos y sarcómeros, que se incrementan al aumentar el tiempo postoclusión.

Los parámetros evaluados cuantitativamente fueron: diámetro mitocondrial, número de mitocondrias por unidad de área en 100 micras cuadradas y porciento de daño mitocondrial. Mientras que los evaluados cualitativamente fueron: condensación de cromatina en la periferia intema del núcleo y organización del sarcómero; además de los anteriores daños mencionados.

Al comparar los resultados obtenidos del diámetro mitocondrial de los grupos Control sano, SHAM y ocluidos solo se encontró diferencia significativa ($p= 0.05$) utilizando la prueba estadística de comparación de medias por t de student entre los grupos : Control sano y SHAM, control sano y ocluidos y entre el grupo SHAM y el grupo ocluido.

INTRODUCCION

El infarto al miocardio es una enfermedad multifactorial que puede ser desencadenada por factores tales como: el consumo excesivo de alcohol, tabaco, niveles elevado de colesterol, etc (1,2,3,4,5) Además de factores biológicos que le son característicos a cada individuo como edad, raza, sexo, factores genéticos, etc. (6,7,8). Por ello, el infarto al miocardio es la mayor causa de muerte en países desarrollados (9). En un estudio hecho en Holanda de 349 casos de defunción 214 fueron causadas por infarto al miocardio lo que representa el 61.3% del total de muertes por afecciones cardiacas (10). Por otra parte, en Suecia de un total de 34.937 varones con incidentes de infarto al miocardio, 26,847 habían sufrido un primer infarto al miocardio (11). Otro ejemplo es Estados Unidos donde una de cada tres muertes se deben a padecimientos coronarios, principalmente el infarto agudo al miocardio (12). En México, a pesar de no ser un país desarrollado el riesgo ha sufrir un infarto al miocardio se ha visto incrementado debido al estilo de vida que predomina en sus habitantes. De ahí la importancia de elegir este tema como proyecto de tesis.

En este proyecto de tesis se provoco la oclusión de la arteria coronaria descendente anterior izquierda para estudiar el infarto al miocardio a diferentes tiempos, centrandose el estudio en el miocito ya que éste sufre cambios estructurales importantes. Esto pudo ser realizado con el apoyo de técnicas convencionales de corte fino para Microscopía Electrónica de Transmisión.

2. GENERALIDADES

2.1 EL CORAZÓN.

Es un órgano muscular hueco con cuatro cavidades, situado entre los pulmones. Aproximadamente dos tercios de su masa están hacia la izquierda de la línea media. Es casi del tamaño del puño humano. El corazón tiene forma parecida a un cono invertido, con su vértice señalando hacia abajo (ver fig. 1).

Internamente consta de cuatro compartimientos llamados cavidades, siendo dos cámaras receptoras superiores llamadas aurículas, que funciona como depósito de sangre entre una y otra contracción así como de dos impulsoras inferiores llamadas ventrículos, cuyas paredes son más gruesas y resistentes. (13)

Las estructuras del corazón incluyen el pericardio, la pared que encierra las cámaras; válvulas y arterias que proporcionan el riego sanguíneo al músculo cardíaco.

El pericardio es un saco invaginado que se compone de dos capas, una fibrosa externa y una serosa interna. La pared del corazón consta de tres capas distintas: el epicardio (capa externa), el miocardio (capa media) y el endocardio (capa interna).

Hay dos tipos de válvulas localizadas en el corazón: las válvulas auriculoventriculares, (tricúspide del lado derecho; bicúspide o mitral del lado izquierdo), y las válvulas semilunares (pulmonar y aórtica) (ver fig. 2).

El corazón posee un sistema vascular propio: las arterias coronarias izquierda y derecha, que salen de la aorta e irrigan mediante ramificaciones a través de las paredes musculares.

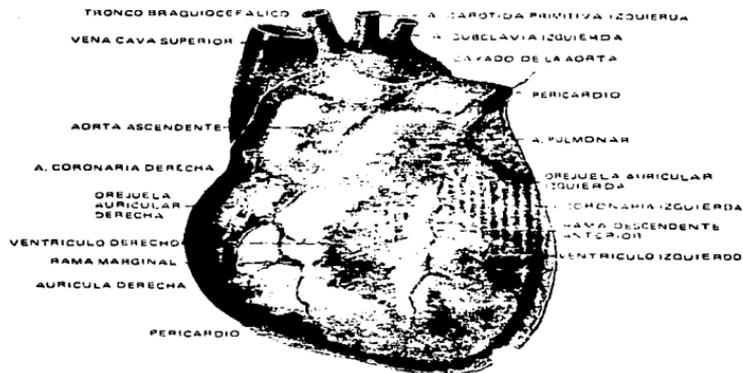
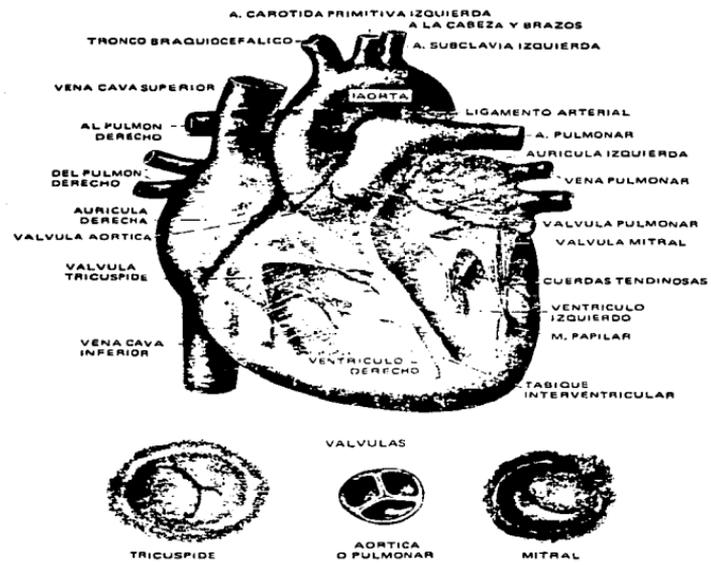


Figura 1 Morfología del corazón. Vista anterior.

Figura 2. Dibujo esquemático del corazón en el que se aprecian las diferentes válvulas cardíacas.



2.2 MUSCULO CARDIACO

La característica más impresionante del tejido muscular es la capacidad de contraerse como respuesta a una excitación y de poder desarrollar una tensión. Gran parte de su volumen esta comprendido por elementos contráctiles, las miofibrillas. Cada miofibrilla contiene multitud de miofilamentos y esta rodeada a su vez por un sistema tubular (reticulo sarcoplásmico) y mitocondrias. (Ver fig. 3)

Como se ha mencionado anteriormente el aparato contráctil de la célula muscular cardiaca consta de miofibrillas. Cada miofibrilla consta de dos miofilamentos, la actina o filamentos delgados y la miosina o filamentos gruesos. Estos se encuentran ordenados paralelamente y son interrumpidos a espacios regulares por las llamadas bandas Z. La distancia entre dos bandas Z sucesivas, es la unidad estructural de la miofibrilla o el llamado sarcómero. Dentro de cada sarcómero se producen los procesos elementales de la contracción muscular (55).

Cada fibra del miocardio esta cubierta por una membrana llamada sarcolema. Los túbulos T son invaginaciones estrechas del sarcolema en forma tubular que penetra perpendicularmente al eje de las fibras profundamente en el interior de la célula miocárdica o de las células musculares esqueléticas avanzando y formando un sistema tubular transversal (Sistema T) que comunica con el espacio extracelular.

El sistema de túbulos T es completado estructuralmente y funcionalmente por un gran sistema intercelular de membranas tubulares, llamado retículo sarcoplásmico, que ayuda a fenómenos de acoplamiento, excitación-contracción y relajación mecánica. El retículo sarcoplásmico se encuentra en el interior de las células, y su orientación general es perpendicular al Sistema T. De esta manera la función del retículo sarcoplásmico es el transportar y almacenar el calcio citoplasmático durante el proceso de relajación y de liberarlo previamente al proceso de contracción muscular.

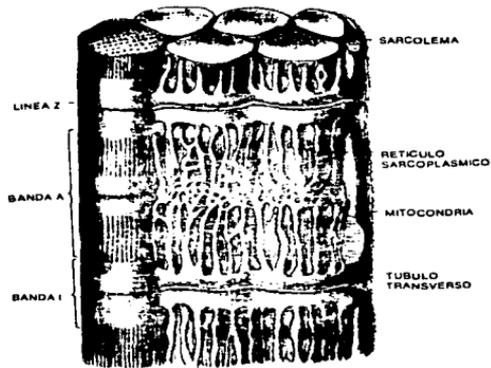


Figura 3. Representación esquemática del retículo sarcoplásmico rodeado de miofibrillas y de túbulos transversos.

2.3 MITOCONDRIA.

Las mitocondrias se encuentran en gran número en las células miocárdicas. En ellas se produce la fosforilización oxidativa en la que, los radicales fosfatos ricos en energía, esenciales para el mecanismo de contracción, principalmente el trifosfato de adenosina, son sintetizados de nuevo con la utilización de oxígeno.

En su interior se reconocen múltiples crestas muy cercanas entre sí en las que ocurren importantes procesos metabólicos (respiración celular, ciclo del ácido cítrico). En los alrededores de las mitocondrias se encuentran grandes cantidades de gránulo beta-glucógeno que, (junto a ácidos libres, ácido láctico y glucosa), sirven de sustrato de alimentación al metabolismo oxidativo.

En condiciones de reposo el miocardio consume principalmente ácidos grasos libres, mientras que en sobrecarga corporal intensa, por el contrario, utiliza primordialmente ácido láctico para obtener energía.

Las mitocondrias sirven como depósito de calcio, ya que puede almacenarlo con consumo de ATP. Cuando las mitocondrias contienen demasiado calcio se calcifican y pierden irreversiblemente la capacidad de síntesis de ATP - su más importante función -.

La toma de calcio mitocondrial dependera de la concentración de iones calcio presentes en el citosol. Las fibras miocárdicas dañadas de esta forma se necrosan rapidamente ya que la producción de ATP en el citoplasma por la segunda vía de fosforilización del sustrato según el esquema de Embden-Meyerohof es cuantitativamente insuficiente. Como los procesos oxidativos resintetizan de nuevo el ATP, apartir de ADP, corresponde el nivel de consumo miocárdico de oxígeno a la disgregación de ATP dependiente del calcio. En caso de supresión absoluta de calcio, aún puede excitarse la célula miocárdica, pero pierde contractilidad calcio-dependiente, de modo que el consumo de ATP y la necesidad de oxígeno en estimulación eléctrica apenas suben por encima del nivel en reposo. Por el contrario un aumento por encima del normal de calcio eleva el desarrollo mecánico de la tensión y con ello el consumo de oxígeno debido a la elevada necesidad de ATP (Ver fig. 4). (55).

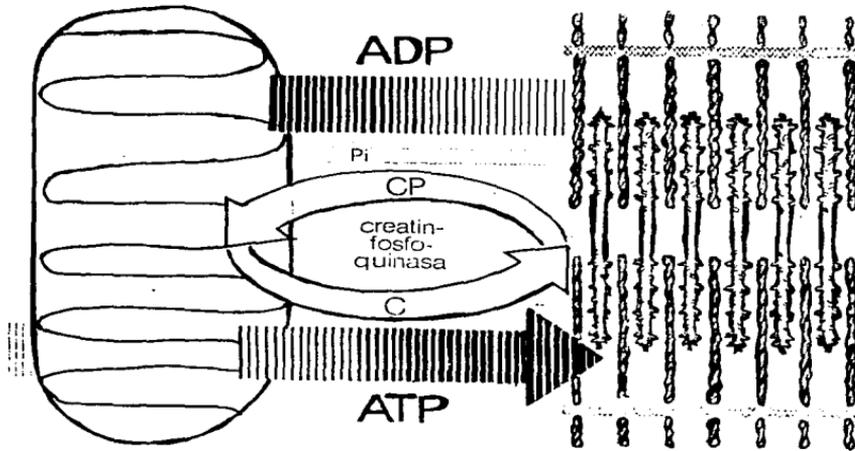


Figura 4. Representación esquemática de la liberación de energía de la mitocondria necesaria para el proceso de contracción.

2.4 PROCESO DE CONTRACCION.

El ciclo de contracción del miocardio ocurre de la siguiente manera:

Pausa Diastólica:

Un complejo troponina-tropomiosina con unión a la actina impide la interacción entre los filamentos actínicos y miosínicos.

Sístole:

Bajo la influencia de la excitación de la membrana se produce la entrada de iones calcio a través de la membrana celular así como su liberación simultánea del retículo sarcoplásmico, y con ellos el aumento de la concentración de calcio en el citoplasma de la célula miocárdica. El calcio se une a las zonas de unión de la troponina. El complejo troponina-tropomiosina varía en posición de modo que la miosina interactúa con utilización energética del ATP. Los finos filamentos actínicos son introducidos en dirección al centro del sarcómero, entre los gruesos filamentos de miosina. Con ello se acorta la longitud del sarcómero (contracción).

Relajación diastólica:

El calcio es bombeado de nuevo a los depósitos del sistema longitudinal y a través de la membrana celular hacia el exterior. Ahora puede el complejo troponina-tropomiosina reaccionar de nuevo con la actina, con lo que se evita la unión de los puentes transversos. Las cabecitas se aplastan materialmente en el filamento de la miosina, así ambos tipos de filamentos pueden deslizarse ligeramente unos contra otros - el músculo se relaja. (55).

2.5 ¿ QUE ES UN INFARTO AL MIOCARDIO ?.

El infarto al miocardio es la necrosis de una parte del músculo cardíaco por interrupción o disminución muy importante de su riego sanguíneo. Aunque suele originarse por oclusión coronaria aguda (14).

La cantidad de tejido miocárdico infartado depende básicamente de la arteria ocluida, de tal manera que si se ocluye la arteria coronaria descendente anterior izquierda, el área afectada ocupará la pared anterior del ventrículo izquierdo cerca de la punta y dos tercios anteriores del tabique intraventricular. Si la arteria ocluida es la coronaria derecha, la zona afectada comprenderá la pared posterior del ventrículo izquierdo y el tercio posterior del tabique intraventricular .

2.6 FACTORES DE RIESGO

Se ha demostrado que el infarto al miocardio es una enfermedad multifactorial que puede ser desencadenado por los siguientes factores:

- a) Alcoholismo
- b) Tabaquismo
- c) Niveles elevado de Colesterol

Además de características biológicas que le son propias a cada individuo como :

- d) Edad
- e) Sexo
- f) Factores genéticos
- g) Raza, etc.

y otros como:

- h) Ocupación
- i) Estado civil
- j) Estatus socioeconómico (10)

Numerosos estudios han mostrado que el consumo excesivo de alcohol produce anomalías electrocardiográficas, arritmias y depresión contráctil (15,16,17). Investigaciones clínicas han podido comprobar que los alcohólicos crónicos que cursan asintóticamente una enfermedad cardíaca muestran claramente depresión en el flujo y bombeo sanguíneo (18, 19, 20).

El alcohol puede facilitar la inducción de taquiarritmias en alcohólicos crónicos (21,22,23). Las personas que consumen más de seis bebidas alcohólicas al día tienen un elevado riesgo de sufrir arritmias ventriculares. más que los riesgos ocasionados por otros factores como edad, sexo, raza, tabaquismo, etc. pero que consumen menos de una bebida alcohólica al día (21,23).

El tabaquismo es considerado como el factor de riesgo modificable más importante en la prevención de enfermedades coronarias.

Generalmente el tabaco incide en forma directa sobre el daño cardiovascular, lo que a su vez favorece la mortalidad que ocasiona de dos y medio a tres millones de muertes al año en el mundo (24,25).

La prevalencia del tabaquismo en mayores de veinte años en los Estados Unidos es del 25%. En México de acuerdo con la Encuesta Nacional de Adicciones es del 25.5% que según encuestas más recientes ha aumentado, fundamentalmente a expensas del número de mujeres fumadoras, ya que entre los varones no se ha observado incremento (24, 26).

El tabaco ocasiona mayor agregación plaquetaria y vasoconstricción, que se traduce en disminución del flujo al miocardio.

El tabaco por sí solo incide sobre los otros factores, por ejemplo el sujeto fumador tiene mayores cifras de colesterol que aquel que no lo consume (27).

Por lo tanto aunque el tabaco es el factor de riesgo de mayor peso para el desarrollo de infarto al miocardio en el sujeto joven y su asociación potencia otros factores.

Expertos en Cardiología, Lipidología y Epidemiología sugieren que el colesterol es un factor importante de riesgo en pacientes con enfermedad coronaria . Como evidencia se tiene que los niveles de proteínas de alta y baja densidad pueden ser útiles para predecir el riesgo de que ocurra una enfermedad coronaria (28,29). Por lo que las lipoproteínas de baja densidad y los triglicéridos están asociados con infarto al miocardio (30, 31, 32, 33). Sin embargo, las lipoproteínas de alta densidad tienen una relación inversa al riesgo de enfermedades coronarias (34).

La edad es un factor que predispone al desarrollo de isquemias, infarto agudo al miocardio, arritmias, y a cambios cardiovasculares que incrementan la mortalidad (35,36,37).

La mayor incidencia de infarto agudo al miocardio aparece en personas que se hallan entre los 40 y 70 años de edad (14).

La susceptibilidad hereditaria constituye un factor de riesgo para la aparición de aterosclerosis y oclusión coronaria (37). La Clínica de Investigación Genética Cardiovascular ha demostrado que los individuos con antecedentes familiares de enfermedades cardiovasculares pueden incrementar el riesgo de desarrollar enfermedades ateroscleróticas antes de los 55 años de edad (38). Además, las enfermedades de arterias coronarias como la isquemia miocárdica y el infarto al miocardio están asociados a la diabetes mellitus, ya que los individuos que sufren esta enfermedad presentan arterias cada vez más estrechas (46,47,48).

Generalmente las personas casadas padecen menores desórdenes físicos y mentales a comparación de aquellas que no lo están (10,39,40).

Así también al enviudar se incrementa considerablemente el riesgo de muertes por enfermedades coronarias (41,42).

Finalmente el divorcio incrementa el riesgo de mortalidad causado por enfermedades cardíacas (39,40,43).

Regularmente los más altos funcionarios de una compañía muestran ser un grupo de elevado riesgo de muchas enfermedades cardíacas (11).

Goldman y Cook estimaron que los factores de estilo de vida como dejar de fumar, disminución del consumo de grasas saturadas, alimentación sana y aumento en la actividad física han ayudado a disminuir en un 50% los padecimientos por enfermedades cardiovasculares (44).

Estudios actualizados nos dicen que el incremento en la incidencia en enfermedades cardiovasculares esta relacionados con cambios en el estilo de vida (45).

2.7 PATOLOGIA DEL INFARTO AL MIOCARDIO.

Los cambios que se han detectado mediante estudios de Microscopía Electrónica son: forma amorfa y destrucción de la mitocondria, edema intracelular, vacuolas subsarcolémicas, ondulación y adelgazamiento de las fibras sarcoméricas (49).

2.7.1 Causas

El infarto al miocardio tiene como causas principales:

La oclusión de una arteria coronaria por trombo o hemorragia en el sitio de estrechamiento ateromatoso. El sitio más frecuente de trombosis es la rama descendente anterior de la coronaria izquierda.

Los procesos ateroscleróticos que son una de las causas de mayor importancia ya que se caracterizan por un engrosamiento acompañado por un endurecimiento de la pared arterial.

Ambas causas generan la disminución de aporte de oxígeno al miocardio (50,51,52).

3.7.2 Síntomas, signos y diagnóstico.

Los síntomas principales en un infarto agudo al miocardio son:

1) Dolor Premonitorio.

Caracterizado por una sensación de malestar en el tórax semejante a la indigestión, además de arritmias, insuficiencia cardíaca e hipotensión.

2) Dolor del Infarto.

Es un dolor intenso y prolongado en la región precordial ó abdominal alta. El paciente es atacado bruscamente en reposo, dormido, despierto ó mientras trabaja. Pueden acompañar al cuadro mareos, vómitos, respiración silibante, síncope, disnea, etc.

3) Infarto sin dolor.

Generalmente se caracteriza por la brusca aparición de edema pulmonar, insuficiencia cardíaca congestiva, síncope, trombosis cerebral, choque o debilidad. Se presenta sin dolor o con una intensidad mínima.

Los signos en un infarto agudo al miocardio son los siguientes:

1) Choque.

Se presenta como un cuadro con presión arterial sistólica menor de 80 milímetros de mercurio, confusión mental piel fría, cianosis periférica, disminución del gasto urinario, pulso débil y taquicardia.

2) Efectos cardiacos.

Hay ritmo de galope. ingurgitación yugular y estertores basales. Las manifestaciones más aparentes son: edema pulmonar agudo o la insuficiencia cardíaca congestiva.

3) Fiebre.

Generalmente se eleva en un intervalo que puede ir de 37.8 a 39.4°C y rara vez alcanza los 40.6°C. y tiene una duración de 3 a 7 días (52).

Pruebas que sostienen el diagnóstico clínico en un infarto de miocardio.

Las enzimas normalmente presentes en el músculo cardíaco son liberadas a la circulación después del infarto de miocardio. Las estimaciones más comúnmente usadas incluyen:

Aspartato aminotransferasa sérica: Los niveles séricos comienzan a elevarse 6 a 8 hrs, después del daño miocárdico con un pico a las 24 hrs y disminución posterior, lo que hace poco confiable el diagnóstico de esta condición clínica después del 4o día

Creatin fosfoquinasa sérica: Los niveles séricos comienzan a elevarse 3 a 6 hrs después del infarto y alcanzan el pico a las 24 hrs, con un retorno promedio, a los valores normales de alrededor de 3 días.

Dehidrogenasa láctica sérica: Los niveles séricos muestran aumento unas 12 hrs después de la lesión, con pico a las 48 hrs y vuelta a los valores normales a los 11 días como promedio.

Otras enzimas muestran patrones similares, con ascenso después de las 6 hrs, pico entre las 24 y 48 hrs y retorno a los valores normales en 24 y 48 hrs: dehidrogenasa málica sérica, fosfohexosaisomerasa sérica, aldolasa sérica, 6-fosfoglucosa dehidrogenasa sérica.

El fibrinógeno plasmático aumenta en las primeras 48 hrs del infarto de miocardio, volviendo a sus valores normales en 2 a 3 semanas si no hay complicaciones infecciosas u otro infarto.

La respuesta inflamatoria se pone de manifiesto por: Recuento leucocitario incrementado con neutrofilia, eosinopenia y trombocitosis, aumento de las globulinas séricas alfa-1 y alfa-2.

Después del infarto de miocardio el colesterol sérico y los lípidos totales del suero disminuyen al final de la primera semana, comenzando a elevarse nuevamente entre el 9o y el 12o día, para alcanzar los niveles anteriores al infarto entre 3 y 8 semanas más tarde. (53).

2.8 TRATAMIENTO DURANTE EL INFARTO AL MIOCARDIO.

2 8 1 Clasificación de Farmacos útiles al infarto.

Existen una gran variedad de farmacos que son utilizados ampliamente para el tratamiento del infarto al miocardio como se muestra a continuación: (54)

- | | |
|---------------------------------------|---|
| A) Bloqueadores B-adrenérgicos: | Propranolol.
Metoprolol.
Practolol. |
| B) Bloqueadores del canal del calcio: | Verapamil.
Nifedipina. |
| C) Nitratos: | Nitroglicerina.
Nitroprusiato de sodio. |
| D) Antiinflamatorios no esteroideos: | Aspirina.
Ibuprofeno.
Indometacina.
Piroxicam. |
| E) Agentes trombolíticos. | Estreptoquinasa.
Uroquinasa. |

Los estudios han demostrado que:

- 1) Mejoran la relación entre el aporte y demanda de oxígeno por incremento en el aporte de este, por la reducción de la demanda o bien por ambos.**
- 2) Mejoran la distribución de sustratos en células isquémicas.**
- 3) Estabilizan y previenen alteraciones en la permeabilidad del sarcolema.**
- 4) Inhiben la respuesta inflamatoria que contribuye a la muerte celular.**
- 5) Previenen la inflamación celular.**
- 6) Inhiben la entrada de calcio.**

3. OBJETIVOS

1. Evaluar el daño a nivel de miocito provocado por la oclusión de la arteria coronaria anterior izquierda en el corazón de ratas macho Wistar.

2. Determinar los cambios que se presentan en el sarcómero, núcleo y mitocondrias a nivel ultraestructural.

3. Evaluar el daño ocasionado en la mitocondria a nivel ultraestructural al comparar el número de mitocondrias por área de tejido; así como también medir el efecto del diámetro mitocondrial en tejido normal e infartado a los diferentes tiempos trabajados experimentalmente (15 minutos, 2 hrs y 4 hrs).

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

4.1 MATERIAL Y REACTIVOS.

-Material biológico.

Ratas Wistar macho de 250-300g de peso de 8 semanas de edad.

-Reactivos y soluciones.

Buffer de fosfatos 0.2M pH 7.2

Glutaraldehído al 2%

Tetróxido de osmio al 1%

Soluciones de Alcohol (30,40,50,60,70,80,90,95 y 100 %)

Oxido de propileno

Azul de toluidina

Propilenglicol

Epon (resina para inclusión)

Reactivo de Watson (Acetato de uranilo)

Reactivo de Reynolds (Citrato de plomo)

Éter etílico

Agua destilada

Agua desionizada.

-Aparatos y equipo**Estuche quirúrgico****Ultramicrotomo Reicher - Jung Ultracut E****Ultramicrotomo Ultrame III 8800 LKB Bromma****Microscopio óptico Zeiss****Microscopio Electrónico de Transmisión Joel JEM 100s****Parrilla eléctrica****Horno de polimerización Reichert - Jung KT100****Corta cuchillas****Rejillas de cobre****Material de vidriería****-Material para cuarto oscuro.****Amplificador fotográfico****Secador eléctrico de fotografías****Papel fotográfico****Película.**

4.2 DISEÑO EXPERIMENTAL.

Se trabajaron 3 lotes diferentes, cada uno con 12 ratas de las cuales se emplearon 4 ratas para cada tiempo de estudio, como se muestra a continuación en la siguiente tabla:

Lote	Tamaño de Lote (No. de ratas)	Condiciones	Tiempos
1) Control sano	12	Sin oclusión	15min, 2hrs y 4hrs
2) SHAM (Simulacro de oclusión)	12	No se liga la arteria coronaria.	15min, 2hrs y 4hrs.
3) Oclusión	12	Se ocluye la arteria coronaria mediante ligadura.	15min, 2hrs y 4hrs.

4.3 METODOLOGÍA.

Se anestesiaron las ratas en forma individual con éter etílico, posteriormente se hizo una incisión en el costado izquierdo a nivel torácico entre la cuarta y quinta costilla, se extrajo el corazón con la finalidad de ligar la arteria coronaria

descendente anterior izquierda, utilizando para ello hilo seda de cuatro ceros, se regresó el corazón a la cavidad y se suturó la incisión. Se insuflaron los pulmones con una bombilla para restaurar la presión negativa intratorácica. Los animales fueron colocados en sus jaulas, teniendo una constante observación de la recuperación de sus signos vitales. Una vez transcurrido el tiempo de oclusión experimental de cada lote de animales, éstos fueron sacrificados con la finalidad de extraer el corazón de cada rata.

A) Tratamiento de los corazones:

Una vez extraídos los corazones se lavaron con solución buffer de fosfatos a un pH 7.2 y fueron cortados en rebanadas transversales. A cada rebanada se le asignó un número en orden ascendente comenzado por el ápice (figura 5). Posteriormente se cortó la parte superior del ventrículo izquierdo en trozos de 3 mm² de cada rebanada, estos trozos fueron colocados en frascos biales que contenían glutaraldehído al 2% durante 2 horas (que es un dialdehído de penetración rápida que fija estructuras proteicas), se realizaron tres lavados con solución buffer pH=7.2 durante 10 minutos cada uno, se continuó con una postfijación con tetróxido de osmio al 1% durante 2 horas (que tiene la finalidad de fijar estructuras lipídicas de las membranas, dándole además al tejido una coloración negra) y nuevamente se lavaron las muestras tres veces con solución buffer durante 10 minutos cada uno.

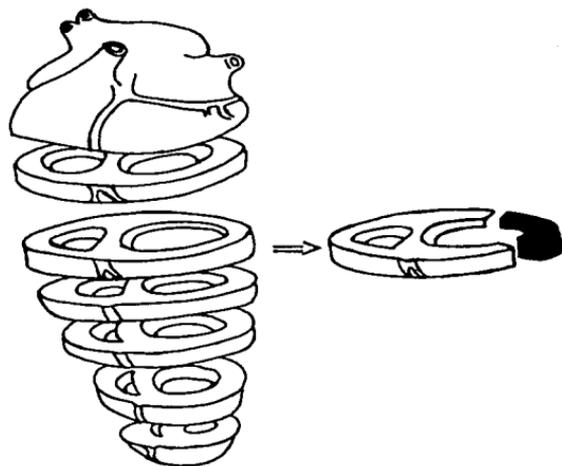


Fig. 5. Cortes transversales del corazón de ratas Wistar. La rebanada 5 (R-5) fué procesada para MET, siendo la zona sombreada el área usada para éste estudio.

B) Deshidratación .

Una vez realizado lo anterior, los trozos de 3 mm² de diámetro fueron sumergidos en soluciones de concentración creciente de alcohol (30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95 y 100 %) con periodos de incubación de 10 minutos hasta llegar a la solución al 90% y tres cambios de 15 minutos cada uno con las soluciones de 95% y tres cambios con alcohol al 100 %. La deshidratación se realiza con muestras que contienen líquidos, con el objeto de extraer los líquidos de la muestra; pues el alto vacío y la gran cantidad de energía electrónica del haz del microscopio electrónico, al incidir sobre la muestra destruiría el tejido. Es por esto, que la deshidratación es una condición importante para todas las muestras vistas al microscopio electrónico.

C) Infiltración.

Se realizaron dos cambios con oxido de propileno (que es un solvente de viscosidad intermedia entre el alcohol y la resina Epon con la finalidad de preparar al tejido para facilitar la penetración de la resina) con una duración de 10 minutos cada uno.

D) Inclusión.

Después de la infiltración de las muestras se procedió a la inclusión con resina de la siguiente manera:

OXIDO DE PROPILENO (ml)	RESINA (ml)	TIEMPO (min.)
2	1	60
1	2	60
0	2	720

Una vez terminado el último paso, las muestras se colocaron en moldes y se rellenaron con resina procurando evitar la formación de burbujas de aire, los moldes se colocaron en el horno de polimerización a 35°C el primer día, a 45°C el segundo día, a 50°C el tercer día y finalmente a 60° C hasta su completa polimerización

E) Preparación de bloques para corte fino.

Ya que polimerizó la resina se obtuvo el bloque, al que se le realizó la cara de pirámide necesaria para la obtención de cortes finos.

La primera manipulación consistió en rebajar el exceso de resina, y la segunda es realizar el tallado del bloque formando una pequeña pirámide truncada que contenga en su vértice solamente la muestra de estudio (figura 6).

F) Corte de fase.

Los cortes gruesos cortados en el ultramicrotomo (que son de color azul y de un grosor de 1500 a 1900 Angstroms). Los cuales se colocaron en un portaobjetos, para ser fijados mediante calor y para su posterior tinción con azul de toluidina, se secaron a temperatura ambiente y fueron observados en el microscopio óptico. La finalidad de este corte es elegir la zona adecuada para obtener el corte fino (1500 Angstroms o menos), así como también tener una perspectiva panorámica de observación del tejido.

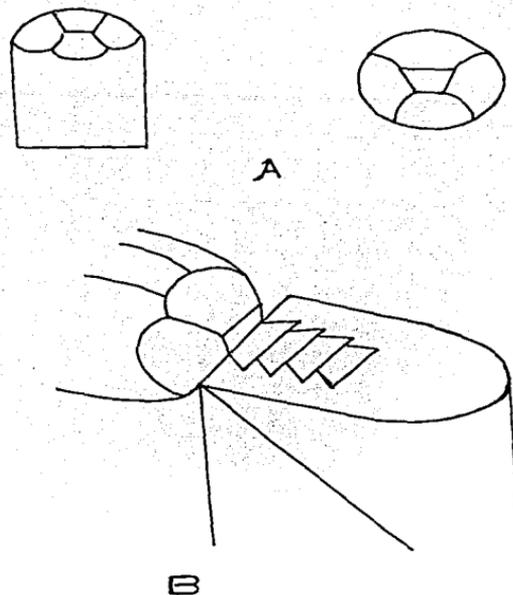


Fig. 6. En la figura 6a muestra la formación de pirámides truncadas, en la figura 6b muestra la orientación correcta del bloque con el filo de la cuchilla para corte fino.

G) Corte y tinción .

Los espesores de los cortes finos (150 a 250 Angstroms) pueden ser evaluados mediante un método indirecto de apreciación de grosor a través de los colores de interferencia de la luz al refractarse sobre el corte de tejido en el espejo de agua contenida en la cuchilla.

A continuación se muestra una escala general que ha sido dada por Peachey para uso de los ultramicrotomistas, en donde se relaciona el grosor en Angstroms de los cortes con su coloración

COLOR	GROSOR (Angstroms)
Gris	600 o menos.
Plata	600 a 900.
Oro	900 a 1500.
Azul	1500 a 1900.
Verde	2400 a 2800.
Amarillo	2800 a 3200.

Los cortes de color gris son los óptimos para utilizarse en microscopía electrónica, pero debido a la fragilidad del corte al haz de electrones los más usados son los cortes de color plateado y dorados. La razón de necesitar cortes ultrafinos para el MET radica en que tienen que ser transparentes, para permitir el paso del haz de electrones. Los cortes finos de color dorado-plateados que están en el agua son tomados en rejillas para MET ayudados con pinzas y la luz incidente sobre estos cortes.

Los cortes finos fueron teñidos por la técnica de tinción doble electroconductiva que consistió en colocar las rejillas en una caja Petri en la que se depositó una gota de colorante de Watson (solución de acetato de uranilo) sobre papel parafilm durante 30 minutos, se hicieron 3 lavados diferentes de agua destilada y con movimientos en línea recta de 5 minutos para cada lavado y posteriormente se colocaron por el mismo intervalo de tiempo en el colorante de Reynolds (solución de citrato de plomo) en otra caja Petri que contenía además de la gota del colorante, hojuelas de hidróxido de sodio con el fin de eliminar el bórax de carbono presente evitando así la precipitación del plomo (carbonato de plomo) del colorante. Finalmente se realizaron 3 lavados con agua destilada hervida con movimientos en línea recta de 5 minutos en cada lavado, se dejaron secar a temperatura ambiente o durante media hora a 37°C en la estufa que fueron observadas en el Microscopio Electrónico de Transmisión.

El colorante de Watson fue preparado de la siguiente manera:

Se disolvieron 8 g de acetato de uranilo en 100 ml de agua destilada, se agitó vigorosamente durante 30 minutos. Se guardó la solución de acetato de uranilo en un frasco ámbar (debido a que la solución es fotolábil) se mantuvo en refrigeración para su uso posterior.

Preparación de la solución de Reynolds:

Se utilizó agua destilada hervida con la finalidad de eliminar el bióxido de carbono disuelta en el agua para evitar la precipitación de las sales de plomo que se forman en la solución.

Se pesó 2.66 g de nitrato de plomo y 3.52 g de citrato de sodio, se agregaron 60 ml de agua hervida, se agitó vigorosamente durante 30 minutos hasta que se obtuvo una solución lechosa. Agregar 16 ml de hidróxido de sodio 1 N lentamente y con agitación constante. La solución se torno transparente y se aforó a 100 ml con agua destilada hervida. La solución se guardó en un frasco de plástico ya que esta solución al ser alcalina (pH 12) ataca al vidrio.

H) Fotografiado de las muestras de interés.

A las muestras observadas en el microscopio electrónico se les tomaron fotografías a 6000, 8000 y 10000 aumentos, se revelaron e imprimieron para su posterior análisis

I) Revelado e impresión de los rollos.

Se colocaron los rollos en los portarrollos y se les adicionó el revelador HC-110 a 20° C durante 10 minutos, se decantó y posteriormente se enjuagaron con solución stop bath de kodak durante 30 segundos con agitación, se decantó y posteriormente se adicionó el fijador Kodak F5 durante 8 minutos con agitación constante. Se lavaron los rollos con agua corriente durante 5 minutos. El rollo de la película se paso sobre fotoflow y se colgaron hasta su completo secado. Se dejó secar en un lugar libre de humedad y polvo.

Para la impresión en papel se puso el rollo revelado en la amplificadora y se enfocó la imagen para posteriormente hacer la impresión en papel F2 y F3 brillante de kodak para obtener una buena fotografía. Una vez que se realizó la impresión sobre el papel, se colocó en la solución reveladora por un tiempo de 1 minuto aproximadamente hasta la observación de la imagen en el papel, se paso la fotografía a la solución stop bath dejandose en la solución por 30 segundos.

Por último se paso a la solución fijadora por 5 minutos para finalmente enjuagarse con agua corriente y se obtuvo la fotografía impresa, se secaron y posteriormente se estudiaron y analizaron las fotos.

5. RESULTADOS

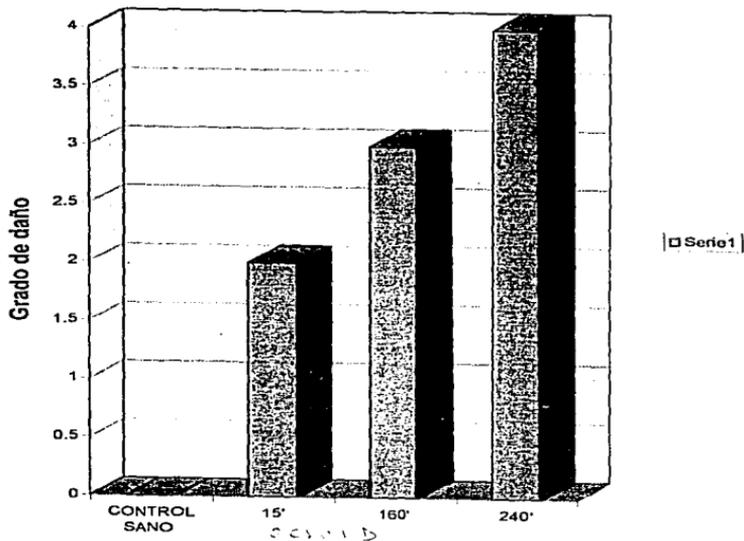
5.1 ASPECTOS CUALITATIVOS.

Fueron observados varios cambios en la estructura celular del miocito en los grupos experimentales con oclusión coronaria a los tiempos de 15 minutos, 2 hrs y 4 hrs. Comparandose cualitativamente las características celulares con los grupos control a los cuales no se les realizó ningún tratamiento, encontrandose claras diferencias entre los grupos ocluidos con respecto a los grupos controles y SHAM. (tabla 5.1); de igual manera, se puede observar que conforme se incrementa el tiempo de oclusión, aumenta el daño al miocardio (gráfica 5.1).

Tabla 5.1. Características cualitativas a nivel ultraestructural de los diferentes grupos experimentales.

GRUPO	MITOCONDRIA	NÚCLEO	SARCÓMERO
Control sano y SHAM (15', 2 hrs y 4 hrs)	Crestas compactas, membrana mitocondrial delimitada.	Cromatina dispersa	Estructura sarcomérica delineada con miofibrillas ordenadas paralelamente.
Oclusión 15 minutos.	Hinchamiento, separación de crestas, pérdida de la densidad de la matz.	Condensación ligera de la cromatina en la parte interna del núcleo, acompañado de cromatina dispersa	Adelgazamiento de sarcómeros.
Oclusión 2 horas.	Hinchamiento, separación, ruptura de crestas y lisis de membrana.	Cromatina condensada distribuida en la periferia de la membrana.	Pérdida de la organización del sarcómero, adelgazamiento y ruptura de miofibrillas y bandas Z.
Oclusión 4 horas.	Hinchamiento, separación de crestas y abundante lisis de la membrana y crestas mitocondriales.	Condensación marcada de cromatina acumulada en la periferia de la membrana.	Daño severo del sarcómero; ondulamiento, adelgazamiento, desorden y ruptura de miofibrillas.

Grafico 1. Comparación del grado de daño de los grupos ocluidos a los diferentes tiempos con respecto al control sano.



El gráfico 5.1 muestra el grado de daño que sufre el miocito a nivel ultraestructural provocado por la arteria coronaria descendente anterior izquierda clasificándose el grado de daño de la siguiente manera

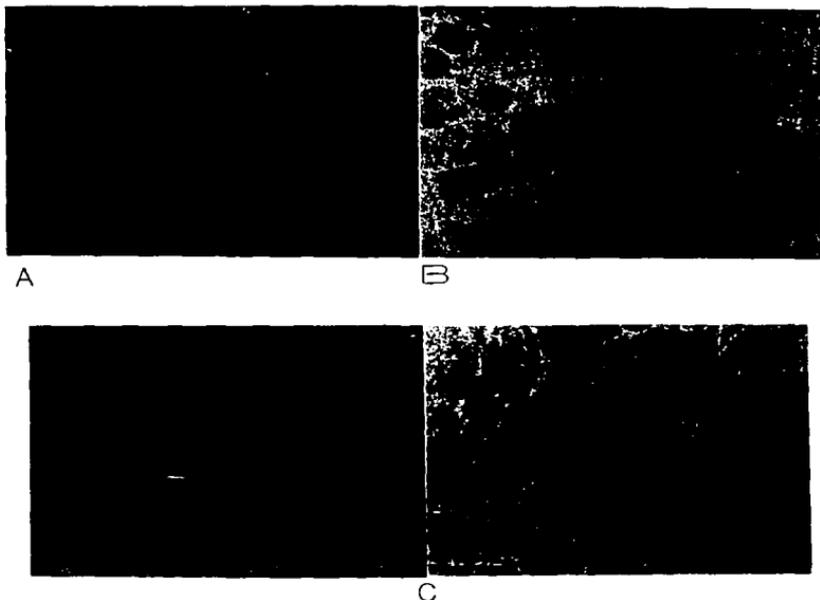
Grado 0 . Cromatina dispersa en el núcleo, membrana mitocondrial delimitada, crestas compactas, matriz mitocondrial densa y sarcómeros con miofibrillas ordenadas paralelamente.

Grado 1 . Condensación mínima de cromatina en el núcleo y cambios mínimos en mitocondria y sarcómero.

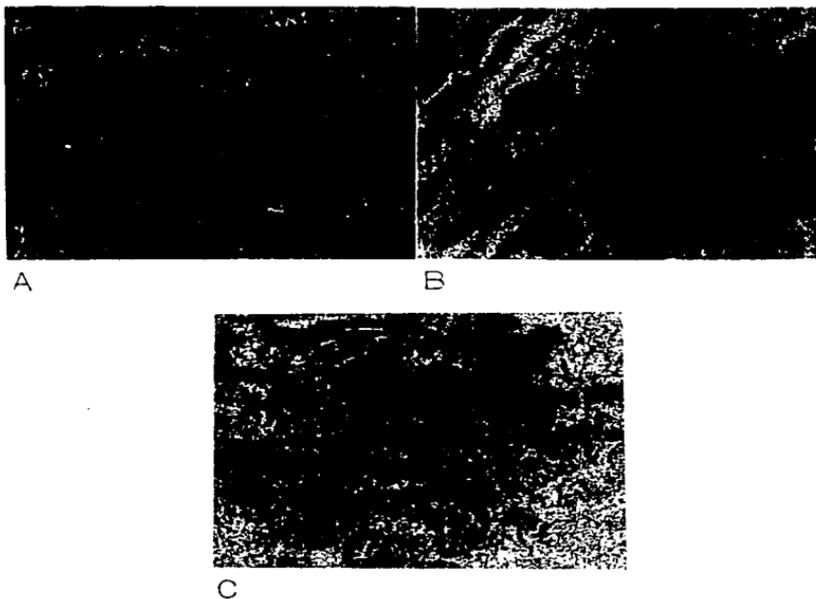
Grado 2 . Condensación moderada de cromatina en la perifería del núcleo, adelgazamiento y ondulamiento de miofibrillas, hinchamiento moderado de mitocondrias, separación de crestas mitocondriales y pérdida de la densidad de la matriz mitcondrial.

Grado 3 . Condensación marcada de cromatina en la perifería del núcleo, marcado hinchamiento mitocondrial, ruptura de crestas y membrana mitocondrial, desarreglo y ruptura del sarcómero.

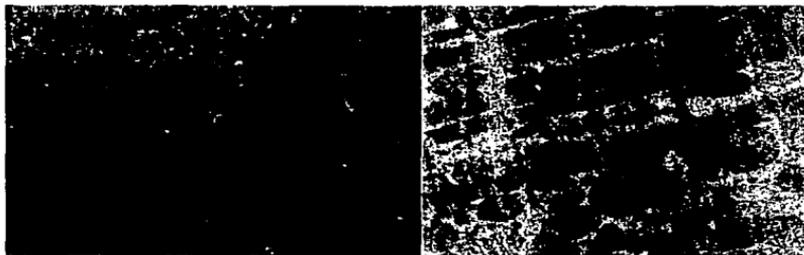
Grado 4 . Condensación total de cromatina en la periferia del núcleo, daño sarcolémico total, rompimiento y discontinuidad de miofibrillas del sarcómero, hinchamiento total de la mitocondria, ruptura de crestas y lisis de la membrana mitocondrial.



Micrografía 1. Músculo cardiaco de rata Wistar. Mitocondrias y sarcómeros a 5000 aumentos a los 15 minutos. A) Mitocondrias y sarcómeros del grupo control, B) Mitocondria y sarcómeros del grupo SHAM y C) Mitocondrias y sarcómeros del grupo ocluido. Se muestra la presencia de crestas compactas y matriz mitocondrial densa, así también la presencia de sarcómero ordenado para el caso del grupo control y SHAM. En el grupo ocluido se observa hinchamiento mitocondrial y separación de crestas mitocondriales.



Micrografia 2. Músculo cardiaco de rata Wistar. Mitochondrias y sarcómeros a 6000 aumentos a las 2 hrs. A) Mitochondrias y sarcómeros del grupo control B) Mitochondrias y sarcómeros del grupo SHAM y C) Mitochondrias y sarcómeros del grupo ocluido. En el inciso A y B, hay presencia de crestas compactas y matriz mitocondrial densa, así como la presencia de sarcómeros con miofibrillas ordenadas paralelamente. En el caso del grupo ocluido se observa hinchamiento y lisis mitocondrial marcada, separación de crestas mitocondriales.



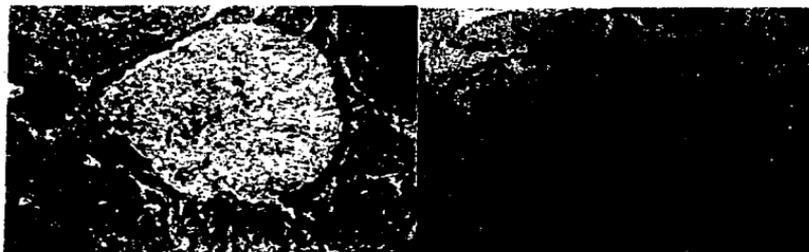
A

B



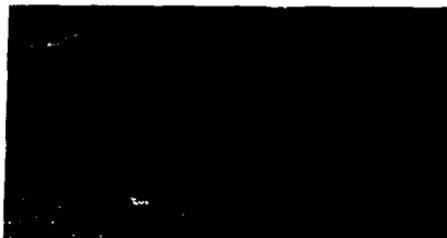
C

Micrografía 3. Músculo cardíaco de rata Wistar. Mitochondrias y sarcómeros. 5000 aumentos a las 4 hrs. A) Mitochondrial y sarcómeros del grupo control. B) Mitochondria y sarcómeros del grupo SHAM y C) Mitochondrias y sarcómeros del grupo ocluido. En el inciso A y B muestra mitochondrias y sarcómeros normales. En el inciso C, se observa la presencia de hinchamiento total de mitochondrias y separación de crestas mitocondriales, además de lisis mitocondrial.



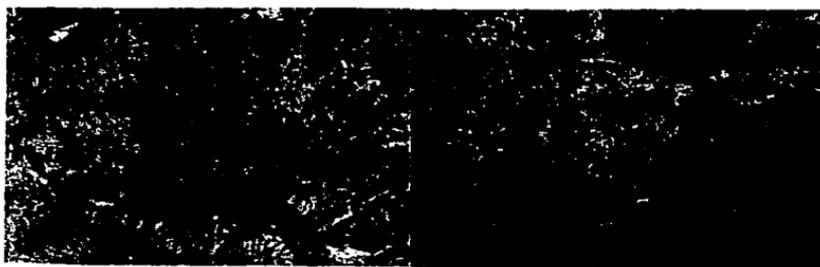
A

B



C

Micrografía 4. Músculo cardiaco de rata Wistar. Núcleos 6000 aumentos a los 15 minutos. A) Núcleo control sano; B) Núcleo del grupo SHAM y C) Núcleo ocluido. En los primeros incisos se observa nucleos con cromalina dispersa característicos de células normales. Para el caso del núcleo ocluido se observa una ligera migración y aglomeración de cromatina hacia la periferia interna del núcleo.



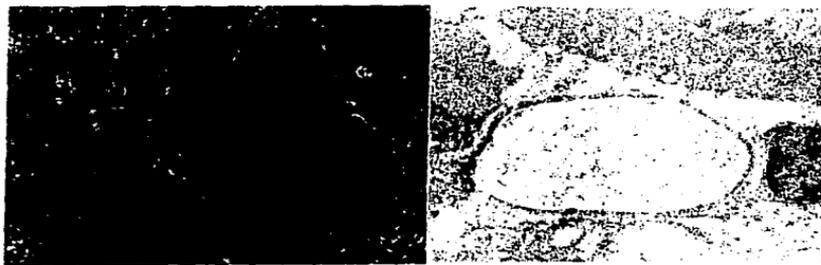
A

B



C

Micrografía 5. Micrografía del músculo cardíaco de rata Wistar. Núcleos a 6000 aumentos a las 2 hrs. A) Núcleo sano; B) Núcleo del grupo GHAM y C) Núcleo ocluido. Se observan núcleos con cromatina dispersa característico de células normales para los primeros dos incisos. En el núcleo ocluido se observa una marcada aglomeración de la cromatina en la periferia interna del núcleo



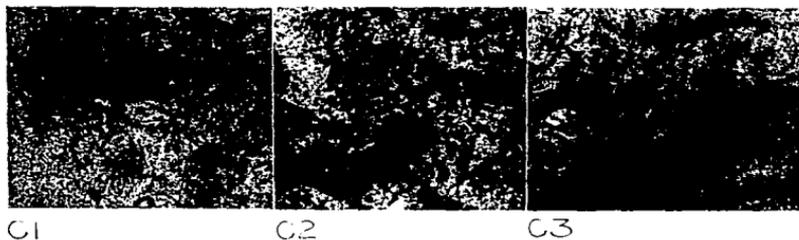
A

B



C

Micrografía 6. Músculo cardíaco de rata Wistar. Núcleo a 6000 aumentos a las 4 hrs. A) Núcleo normal; B) Núcleo de grupo SHAM y C) Núcleo ocluido. Para los incisos A y B se observa cromatina dispersa en el núcleo. En el inciso C se observa la migración y aglomeración de la cromatina hacia la periferia interna del núcleo.



Micrografía 7 Músculo cardíaco de rata Wistar. Mitochondrias a 10,000 aumentos. A) Mitochondria normal. B) Mitochondria del grupo SHAM. C1) Mitochondria del grupo ocluido a los 15 min. C2) Mitochondria del grupo con oclusión a las 2 hrs y C3) Mitochondria del grupo ocluido a las 4 hrs. En los incisos A y B se puede observar la presencia de crestas mitocondriales compactas y matriz mitocondrial densa. En los tres últimos incisos se observa el daño progresivo de la mitocondria que va desde el hinchamiento mitocondrial, separación de crestas y finalmente la lisis de la membrana mitocondrial.

Las observaciones cualitativas generadas a partir de los cortes gruesos (1500-1900 Angstroms) por microscopía óptica, muestran de manera global el daño sufrido en el músculo cardíaco provocado por la oclusión de la arteria coronaria descendente anterior izquierda comparado con tejido sano. Encontrándose que las alteraciones más frecuentes son: adelgazamiento, ondulamiento de fibras miocárdicas y edema intermiofibrilar, observándose que conforme se incrementó el tiempo el daño fue mayor..

Para el caso de los grupos control sano y SHAM se observó la presencia de fibras alargadas con un arreglo uniforme de miofibrillas característico de células miocárdicas normales.

Este proceso fue un paso previo para la obtención de cortes finos, que nos permitio tener un panorama general del daño provocado a nivel tisular en el músculo cardíaco; para de éste modo continuar con el estudio ultraestructural de la célula miocárdica por Microscopía Electrónica de Transmisión.

5.2 ASPECTOS CUANTITATIVOS.

En base a los estudios realizados por Fishbein, et al (1981), mencionan que el daño mitocondrial en el infarto al miocardio es uno de los parámetros más importantes a evaluar, ya que es uno de los organelos que sufre mayores alteraciones al ocluir la arteria coronaria descendente anterior izquierda.

En el presente estudio se cuantificó el número de mitocondrias en 100 micras cuadradas, diámetro mitocondrial y grado de daño mitocondrial provocado por la oclusión de la arteria coronaria descendente anterior izquierda.

Tabla 5.2. Datos promedio de los parámetros evaluados a nivel ultraestructural.

GRUPO	NÚMERO DE MITOCONDRIAS (100 MICRAS CUADRADAS)	DIÁMETRO MITOCONDRIAL (MICRAS)	GRADO DE DAÑO MITOCONDRIAL (%)
Control sano			
15'	44	1.017+/- 0.1540	0
2 hrs.	43	1.002+/- 0.1206	0
4 hrs.	46	0.999+/- 0.1218	0
SHAM			
15'	42	1.0289+/- 0.1249	2.39
2 hrs.	44	1.0025+/- 0.1354	2.27
4 hrs.	45	1.0349+/- 0.2470	2.22
Oclusión			
15'	44	1.2567+/- 0.1835	77.27
2 hrs.	20	1.7177+/- 0.3452	90.00
4 hrs.	18	2.009+/- 0.6675	94.5

En la tabla 5.2 se muestran los parámetros medidos a nivel mitocondrial como es el número de mitocondrias en una área de 100 micras², el cual, al realizar el análisis estadístico por la t de student ($p= 0.05$) encontramos que entre los grupos control y SHAM no existe diferencia significativa entre ambos grupos en relación con el número de mitocondrias medidas en 100 micras cuadradas (42 a 46 mitocondrias), sin embargo, para el grupo con oclusión a los diferentes tiempos con respecto al control sano y SHAM si existe diferencia estadística significativa ($p=0.05$).

Por otra parte, el daño mitocondrial en el grupo control sano no presentan daños en su estructura, en el grupo SHAM se encontró que existe un 2.27% de daño mitocondrial en cuanto a la pérdida de la densidad de la matriz mitocondrial. Finalmente, para el grupo con oclusión se observó un 87.22 % de daño caracterizado principalmente por la separación de crestas y lisis mitocondrial a los diferentes tiempos trabajados experimentalmente.

Referente al diámetro mitocondrial se comprobó que no existe diferencia significativa utilizando un análisis estadístico por t de student ($p= 0.05$) entre los grupos control y SHAM; sin embargo existe un marcado aumento en el diámetro mitocondrial en los grupos con oclusión que fue aumentando conforme se

aumentó el tiempo experimental de oclusión dando como resultado una diferencia significativa notable (gráfica 2).

En las gráficas 2, 3 y 4 muestran las diferencias entre los grupos experimentales a los diferentes tiempos trabajados con respecto a los parámetros medidos como son : el número de mitocondrias por 100 micras², el diámetro mitocondrial promedio y el porcentaje de daño mitocondrial presentes en el músculo cardíaco.

Gráfico 2. No. de mitocondrias/100 micras cuadradas para cada grupo experimental



Grafico 3. Diámetro mitocondrial promedio para cada grupo experimental a los diferentes tiempos.

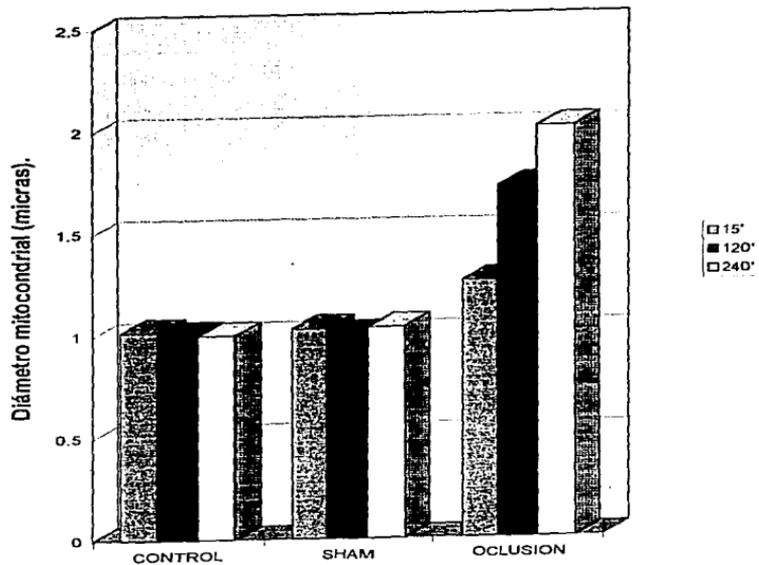
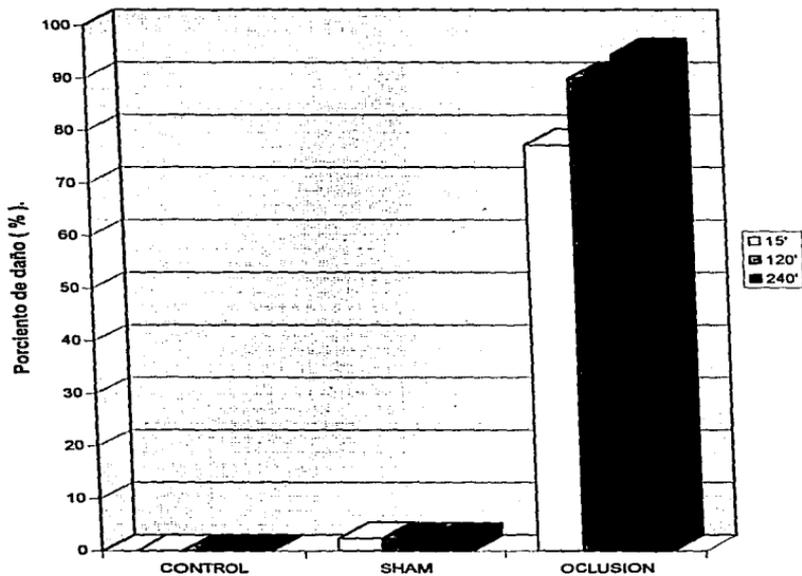


Gráfico 4. Porcentaje de daño mitocondrial para cada grupo experimental a los diferentes tiempos.



6. DISCUSIÓN

En la gran mayoría de los casos una de las causas capaces de provocar insuficiencia cardíaca es la oclusión completa de la arteria coronaria descendente anterior izquierda, generando un infarto al miocardio provocado por la falta de oxígeno en el músculo cardíaco. El infarto al miocardio es una enfermedad multifactorial que puede provocar la muerte.

La aplicación del microscopio electrónico en el estudio del corazón provee información de gran interés en cuanto a la estructura normal y anormal del músculo cardíaco.

A partir de los resultados obtenidos en el estudio a nivel de Microscopía Electrónica se pueden inferir algunos aspectos importantes para evaluar el daño al miocardio infartado.

El músculo cardíaco sometido a una oclusión coronaria sufre alteraciones a nivel ultraestructural tales como pérdida de la densidad de la matriz mitocondrial, edema mitocondrial, destrucción de la membrana mitocondrial, adelgazamiento y ruptura de miofibrillas del sarcómero (49).

Los resultados generados al comparar los corazones ocluidos a los tiempos de 15 minutos, 2 hrs y 4 hrs con el control se observa que uno de los organelos que reciente en mayor medida el efecto que produce la falta de oxígeno durante el infarto es la mitocondria, que van desde el hinchamiento hasta la lisis mitocondrial. Esto se debe a que el aporte de oxígeno es deficiente y por lo tanto la fosforilación oxidativa y por tanto la producción de ATP llevada a cabo por la mitocondria se ve alterada. Lo cual se hace evidente al comparar el diámetro de las mitocondrias en cada grupo experimental que aumenta conforme se incrementó el tiempo de oclusión para cada grupo (tabla 5 2). Existe edema mitocondrial cuando el diámetro promedio mitocondrial en el grupo infartado es mayor al diámetro promedio mitocondrial del grupo control sano (56).

El hinchamiento mitocondrial es una de las primeras manifestaciones provocadas por la oclusión coronaria durante los primeros minutos del infarto (57).

Esa tendencia de aumento en el diámetro mitocondrial puede ser provocado por hipertrofia mitocondrial como respuesta celular ante el infarto (58) Otra explicación es que debido a los cambios bioquímicos que intracelularmente tienen lugar en condiciones de anoxia, la membrana mitocondrial se vuelve permeable y permite la entrada de líquido sarcoplásmico. Una tercera teoría es que

simplemente al estar habiendo despolimerización de las proteínas contráctiles se proporciona un espacio mayor en el que de cierta manera se libera la mitocondria y puede ocupar un espacio mayor.

Comparando el grupo control con respecto al grupo ocluido, se observa una disminución en el número de mitocondrias totales, esto se debe a la falta de oxígeno en el músculo cardiaco, que provoca lisis mitocondrial. Por lo anterior, el número de mitocondrias dañadas en los grupos ocluidos de 4 hrs es mayor en comparación a los grupos ocluidos de 15 minutos y 2 hrs.

Por otra parte, la condensación de la cromatina en la periferia del núcleo pone de manifiesto la disfuncionalidad del núcleo lo cual afirma un grado de afección provocado por la oclusión de la arteria coronaria descendente anterior izquierda (59,60) .

Otra de las alteraciones ultraestructurales en los diferentes periodos de oclusión es el daño a nivel de sarcómero. Para el caso de los 15 minutos es el adelgazamiento y ondulamiento de los sarcómeros. A las dos horas se observa destrucción moderada de sarcómeros y adelgazamiento de fibras, finalmente a las 4 horas se presenta destrucción total y adelgazamiento del sarcómero. Existen diversas teorías que tratan de explicar esta respuesta al daño sufrido en el infarto. Una de ellas, sostiene que la reducción en la contractilidad se debe a la

disminución de los componentes fosfato de alta energía presente en la célula. La segunda se basa en que durante el infarto se reduce la liberación de calcio del retículo sarcoplásmico interfiriendo de esta manera en la interacción entre el calcio y las proteínas contractiles necesarias para que se lleve a cabo el proceso de contracción. La tercera teoría sostiene que la reducción de la contractilidad es provocada por alteraciones estructurales en las proteínas contráctiles, sin embargo, ninguna de estas teorías ha sido totalmente aceptadas (61).

En cuanto a la longitud del sarcómero es un parámetro que se evaluó cualitativamente debido a que no es posible determinar la longitud del sarcómero al periodo de 4 horas lo cual es atribuido al gran desorden de miofibrillas que imposibilitan la medición. Sin embargo, para el caso de los grupos control y SHAM donde si es posible realizar ésta determinación cuantitativa, el valor de la longitud promedio del sarcómero que se obtuvo es de 2.35 micras, el cual se encuentra en el rango de valores reportados .

Finalmente, podemos decir que el grado de alteración a nivel ultraestructural aumenta considerablemente con respecto al tiempo de oclusión debido a la falta de oxígeno provocado por la oclusión en el músculo cardiaco.

7. CONCLUSIONES.

- 1. Es posible evaluar el daño ultraestructural a nivel de miocito provocado por la oclusión de la arteria coronaria descendente anterior izquierda, utilizando el modelo de ligadura experimental en rata y técnicas convencionales para Microscopía Electrónica de Transmisión.**
- 2. Se encontró que el organelo que sufre mayor daño durante un infarto al miocardio es la mitocondria.**
- 3. El grado de daño a nivel ultraestructural en mitocondrias, núcleos y sarcómeros se incrementa conforme aumenta el tiempo de oclusión de la arteria coronaria descendente anterior izquierda durante el infarto.**
- 4. La condensación de cromatina en la periferia de la membrana nuclear, el desorden de la estructura sarcomérica, edema y lisis mitocondrial son los principales cambios que sufre el miocito en un infarto al miocardio.**

REFERENCIAS

- 1) WITTEMANN SC., (1993). "Cigarette smoking and development and progression of aortic atherosclerosis. A 9 years population-based follow up study in women". *Circulation*; 88: 2156.
- 2) BECKER R., Terry M., Ros R., (1994). "Comparación del pronóstico clínico entre hombres y mujeres después del infarto agudo del miocardio". *Annals of Internal Medicine*; 2 (4) : 177-183.
- 3) ROSSOUW, J.E., (1990). "The value of lowering cholesterol after myocardial infarction". *N. Engl. J. Med.* 323:1112-19.
- 4) SODICK, D. H., (1982) "Preclinical cardiac malfunction in chronic alcoholism. Comparison with matched normal controls and with alcoholic cardiomyopathy". *N. Engl. J. Med.* 287:677-80.
- 5) KAUFMAN, D W (1987) "Cigar and pipe smoking and myocardial infarction in young men". *Br. Med. J.* 294 (6583):1315-16.
- 6) LATTING, C.A (1980). " Acute myocardial infarction in hospitalized patients over age 70". *Am. Heart Journal* 100: 311-18.
- 7) KOSKINEN, T. (1991). " Alcohol consumption of patients with supraventricular tachyarrhythmias other than atrial fibrillation" *Alcohol Alcohol.* 26:199-206.
- 8) THOMAS, G. (1980)."Progression of myocardial abnormalities in experimental alcoholism" *Am. J. Cardiol.* 46:233-241.
- 9) CHIARELLIO M., Brevetti G., Ambroscio G., (1984). "Long term protection of ischemic myocardium by nitroglycerin ointment". *Cardiovasc Res*; 18:321-25.
- 10) MENDES DE LEON C Appels M., (1992) "Risk of mortality and coronary heart disease by marital status in middle-age men in the Netherlands", *International Journal of Epidemiology*; 21 (3) : 460-66.
- 11) ALFREDSSON L., Hammar N., (1993) "Incidence of myocardial infarction and mortality from specific causes among bus drivers in Sweden", *International Journal of Epidemiology*; 22 (1) 57-61.

- 12) OLIVETTI G., Ricci R., (1986). "Response of border zone to myocardial infarction in rats". *American Journal of Pathology*; 125 : 476-83.
- 13) JACOB. (1989)." Anatomía y fisiología humana", 4a edición. Interamericana. México, D.F pp
- 14) FRIEDBERG, C. (1966). "Enfermedades del corazón", 3era edición. Interamericana. México D.F pp 669-705.
- 15) HORTON, Jureta W. (1992) " Cardiac contractile effects of ethanolism and hemorrhagic shock "; *Am. J. Physiol.* 31: H1096-H1103.
- 16) ENGEL, T. R. (1983) " Effect of whiskey on atrial vulnerability an holiday heart ". *Am. J. Coll. Cardiol.* 1: 816-818.
- 17) ZHANG, Xin, A. R. Abdel-Rahman, and W. R. Wooles. (1988) " A differential action for ethanol on baroreceptor reflex control of heart rate and sympathetic efferent discharge in rats " *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 187: 14-21.
- 18) KOSKINEN, Pekka. (1992) " Alcohol and cardiac arrhythmias ", *BMJ.* 304: 1394.
- 19) SCHARF D. (1967) " Ectopic ventricular tachycardia, hypekalemia and convulsions in alcoholics. " *Cardiology.* 50: 129-139.
- 20) ETTINGER, Po. (1978) " Arrhythmia and the ' holiday heart ": alcohol associated cardiac rhythm disorders. " *Am. Heart J.* 95: 555-562.
- 21) CAPASSO , J. (1992) "Myocardial Mechanical, biochemical, and structural alterations induced by chronic ethanol ingestion in rats". *Circulation Research.* 71 (2):346-356.
- 22) CAPASSO, J., Li P. (1991)."Left ventricular dysfunction induced by chronic alcohol ingestion in rats". *Am. M. J. Physiolog.* 261:H212-H219
- 23) CAPASSO, J., Malhotro A. (1986). "Myocardial biochemical, contractil and electrical performance after hypertension in young and old rats". *Circ. Res.* 58.445-460.
- 24) COBO, C (1995) "Asociación del tabaquismo a los demás factores de riesgo coronario". *Revista Mexicana de Cardiología.* 6(1):28-31.

- 25) US Department of health and human services reducing the health consequences of smoking. a report of the Surgeon General DHHS Publication Maryland USA,1989.89:8411.
- 26) KOOL, M. J. (1993) "Short and long effects of smoking on arterial wall properties in habitual smokers" J. Am. Coll. Cardiol. 22:1881
- 27) Tabaco o salud. "Situación en México. Un informe de la Organización Panamericana de la Salud. 1992.
- 28) LAROSA, J (1992). "Cholesterol lowering as a tretment for established coronary heart disease" Circulation 85(3):1229-1234.
- 29) PEKKANEN, J. (1990). "HA: Ten-year mortality from cardiovascular disease inrelation to cholesterol among men with and without preexisting cardiovascular disease". N. Engl. J. Met. 322:1700-1707.
- 30) E. Buring, J (1992). "Decreased HDL₂ and HDL₃ cholesterol, Apo A-I and Apo A-II, and increased risk of myocardial infarction." Circulation. 85(1).22-29.
- 31) STAMLER, J. Wentworth D. (1986). "Is the relationship between serum cholesterol and risk of death from CHD continuous and graded? ". JAMA. 256.2823-2828.
- 32) GORDON T. (1981). "Lipoproteins, cardiovascular disease and death: the Framingham study". Arch. Intern. Met 141:1128-1131.
- 33) AUSTING, M (1989). "Plasma triglyceride as a risk factor for coronary heart disease: The epidemiologic evidence and beyond". Am. J. Epidemiol. 129.249-259.
- 34) GORDON, DJ. (1989). "High-Density lipoprotein: the clinical implication of resend studies". N. Engl. J. Med. 321:1311-16.
- 35) W Rich Michael. (1992) "Is age an independent predictor of early and late mortality in patients with acute myocardial infarction?" Am. J. of Med. 92:7-12.
- 36) GOLDBÉRG, R. J. (1989). "The impact of age on the incidence and prognosis of initial acute myocardial infarction The Worcester Heart attack study". Am. Heart J. 117.543-49.
- 37) MARCUS, Fi. (1990). "Age-related prognosis after acute myocardial infarction" Am. J. Cardiol. 65:559-566.

- 38) SHARP, S. (1992). "Coronary risk factors and the severity of angiographic coronary artery disease in members of high-risk pedigrees". *Am. Heart J.* 123(2):279-285.
- 39) GOVE, W. R. (1973). "Sex, marital status, and mortality". *Am. J. Soc.* 79:45-67.
- 40) SEEMAN, T. E. (1987). "Social network ties and mortality among the elderly in the Alameda County Study." *Am. J. Epidemiol.* 126:714-23.
- 41) STROEBE, W. et al. (1987). "The psychological and physical consequences partner loss." *Cambrish UK: Cambrish University Press.*
- 42) JAGGER, C. (1991). "The after marital bereavement is the risk increased?". *Stat. Met.* 10:395-404.
- 43) HOUSE, S. (1982). "The association of social relationships and activities with mortality." *Am. J. epidemiol.* 116:123-140.
- 44) SYTKOWSKI, P. A. (1990). "Changes in risk factors and the decline in mortality from cardiovascular disease: The Framingham Heart study". *N. Engl. J. Med.* 322(23):1635-1641.
- 45) GOLDMAN, L.; Cook, E. F. (1984). "The decline in ischemic heart disease mortality rates: and analysis of the comparative effects of medical interventions and changes in lifestyle". *Ann Intern Med.* 101: 825-836.
- 46) MOTOJI, N. (1992). "Silent myocardial ischemia in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus as judged by treadmill exercise testing and coronary angiography." *Am. Heart J.* 123(46):46-52.
- 47) CHIARIELLO, M. (1985). "Asymptomatic transient ST changes during ambulatory ECG monitoring in diabetic patients." *Am. Heart J.* 110:529-534.
- 48) ERIKSSON, J. (1983). "False suspicion of coronary heart disease: a 7 year follow-up study of 36 apparently healthy middle-age men". *Circulation* 68:490-497.
- 49) FISHBEIN, M.C. (1981). "Early phase acute myocardial infarct size quantification: Validation of the triphenyltetrazolium chloride tissue enzyme staining technique". *American Heart Journal* 101(5):593-99.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

69

- 50) ANGEL, G. "Interpretación clínica del laboratorio". 3a edición. Médica Panamericana.
- 51) MARCUS. (1985). "Diagnóstico clínico y tratamiento". El Manual Moderno. México, D.F
- 52) KRUPP, A. (1979). "Diagnóstico clínico y tratamiento". 14ava edición . El Manual Moderno. México. D. F. p.p. 230-239.
- 53) EASTHAM R.H. (1978). "Guía de laboratorio para el diagnóstico clínico". Médica Panamericana. Buenos Aires Argentina.pp. 182-83.
- 54) CAMPBELL, C. A. (1986). " Infarct size reduction: a review of the clinical trials ", J. Clin. Pharmacol. 26:317-329.
- 55) LOSSNITZER, K. (1983). "MIOCARDIO VASOS SANGUINEOS CALCIO. Sinápsis en cuadros del principio de acción del calcio antagonismo". Erasmudruck GmbH, Mainz. Ludwingshafen. pp.49-124.
- 56) ANVERSA, P. (1984). " Biology of disease: morphometric analysis of biologic process". 50 (3):250-261.
- 57) GREVE, G. (1990) "Early morphologic changes in cat heart muscle cells after acute coronary artery occlusion ". Am.J.Pat. 136:273-282.
- 58) BACHE,R.J. (1988). " Effects of hypertrophy on the coronary circulation ". Prog. Cardiovasc. Dis. 30:403.
- 59) SPINALE, F.G. (1989). " Demonstration of early ischemic injury in porcine right ventricular myocardium ". Am.J. Pat. 134:693-704.
- 60) CORMAK, H.D. (1988) " Histología de HAM ", 9a. De; Harfa, México D.F. pp. 41-43.
- 61) CHESNIAS, J.M. (1975) " Sensitivity to H Li and Mg ions of the slow inward sodium current in frog atrial fibers ". J. Moll.Cell. Cardiol. 249:465-495.
- 62) MONTGOMERY,D. (1991). " Diseño y análisis de experimentos ", Iberoamericana, USA. Pp. 24,27,540.