

CRONODINAMIA DEL INFARTO DE MIOCARDIO EN EL CONEJO

CELINA MORALES, MANUEL RODRIGUEZ, GERMAN E. GONZALEZ*, MIRIAN MATOSO¹,
CARLOS A. BERTOLASI, RICARDO J. GELPI**

Laboratorio de Fisiopatología Cardiovascular y ¹Centro de Patología Experimental, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

Resumen Se estudió la evolución histopatológica del infarto de miocardio y de zonas alejadas al mismo (septum y ventrículo derecho) en conejos. Se ligó la arteria coronaria izquierda en 55 conejos, que fueron sacrificados a los 2, 4, 6, 8, 12, 14, 16, 18, 26, 35 y 56 días post-ligadura (n=5 en cada grupo). Se utilizaron 6 conejos como control: 2 normales y 4 con operación simulada. Los corazones fueron cortados y coloreados con hematoxilina-eosina, tricrómico de Masson y Picrosirius red. La evaluación histológica fue semicuantitativa (escala: 0 a +++). A los dos días post-infarto los neutrófilos fueron de +++, desapareciendo al 6º día. La proliferación de fibroblastos aumentó desde el 4º al 14º día post-oclusión. La necrosis de coagulación en el miocardio medial fue de +++ durante la primera semana. La miocitólisis subendocárdica fue evidente desde el día 2 al 56 post-infarto. En la segunda semana se observó proliferación de linfocitos y macrófagos (++), formación de tejido de granulación (+++) y signos incipientes de fibrosis, que fue máxima a los 35 días. La cicatrización se completó a los 56 días (+++). En zonas normales alejadas al infarto se observó proliferación de fibroblastos a los 2 días, y fibrosis perivascular, intersticial y endocárdica a los 16 días. Conclusión: si bien la cronodinamia en el conejo mantiene las características generales de los seres humanos, presenta algunas diferencias: 1) presencia precoz de fibroblastos y fibrosis subendocárdica; 2) incremento precoz y rápida desaparición de neutrófilos. Un hallazgo interesante fue la proliferación precoz de fibroblastos en zonas normales alejadas del infarto.

Palabras claves: infarto de miocardio, corazón de conejo, histopatología

Abstract *Time course of myocardial infarction in the rabbit.* The histopathologic evolution of myocardial infarct and of areas distant from infarct in rabbit hearts was studied. The left coronary artery of 55 rabbits was ligated, and rabbits were sacrificed at 2, 4, 6, 8, 12, 14, 16, 18, 26, 35 and 56 days post-ligature (n=5 per group). Two rabbits were used as control and two were sham operated. The hearts were excised, cut in slices and stained with hematoxylin-eosin, Masson's trichrome and picrosirius red. Histological evaluation was semi-quantitative (scale: 0 to +++). At day 2, presence of neutrophils was +++, disappearing completely at day 6. Fibroblast proliferation increased from day 4 to day 14 post-occlusion. Coagulation necrosis in medial myocardium during the first week was +++. Subendocardic myocytolysis was evident from day 2 up to day 56 post-infarction. During the second week, proliferation of lymphocytes and macrophages (+++), granulation tissue formation (+++), and incipient traces of fibrosis that peaked at day 35 were observed. Cicatrization was complete at day 56 (+++). In areas far from infarction (right ventricle and septum), proliferation of fibroblasts was observed at day 2, and perivascular, interstitial and endocardic fibrosis at day 16. In conclusion, myocardial infarction in rabbits, unlike myocardial infarction in human beings, is characterized by early presence of fibroblasts and subendocardic fibrosis, and quick increase and precocious disappearance of neutrophils. An interesting finding was the early proliferation of fibroblasts in normal areas far from infarct.

Key words: myocardial infarct, rabbit heart, hystopathology

El corazón de conejo es muy utilizado en laboratorios de investigación para el estudio de las enfermedades

cardíacas en general y de la isquemia miocárdica en particular¹. La razón para esta elección radica en que el corazón de conejo es muy similar en ciertos aspectos al corazón humano, ya que presenta escasa circulación coronaria colateral en condiciones fisiológicas², y bajos niveles de xantino oxidasa³. Por tal motivo, se ha sugerido que el conejo, al igual que otras especies como el cerdo, el baboon y el hurón, que tienen bajo flujo colateral², es un buen modelo experimental para el estudio del infarto "sin tiempo", es decir el infarto no precedido por angina previa⁴. Pese a lo anteriormente expuesto es in-

Recibido: 8-X-1999

Aceptado: 1-VIII-2001

* Becario de la Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires (Beca Peruih).

** Miembro de la Carrera del Investigador del CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas).

Dirección Postal: Dra. Celina Morales, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Uriburu 950, 1114 Buenos Aires, Argentina
Fax: (54-11) 4962-4945 e-mail: mmorales@fmed.uba.ar

interesante observar que, por lo menos en nuestro conocimiento, no se encuentran en la literatura trabajos que describan la evolución temporal del infarto experimental de conejo desde la etapa temprana del proceso inflamatorio hasta la etapa tardía de la cicatrización, encontrándose solamente descripciones temporales parciales⁵⁻⁷.

Por estas razones, el objetivo de nuestro trabajo fue estudiar la evolución temporal de los hallazgos histopatológicos en el infarto de miocardio de conejo sin reperfusión, considerando diferencias regionales entre el subendocardio, el miocardio medial y el subepicardio. Dado que otro elemento importante a considerar en la cronodinamia del infarto es la aparición de alteraciones funcionales y/o estructurales en zonas alejadas del infarto⁸⁻¹⁰, un objetivo adicional fue evaluar los hallazgos histopatológicos en zonas normales alejadas del área de infarto, y su evolución temporal.

Material y métodos

Modelo Experimental

Se estudiaron 55 conejos hembras Neozelandesas de 1.8 – 2.0 kg de peso. A los mismos se los anestesió con ketamina (75mg/kg) y xylazina (0.75 mg/kg), administradas por vía subcutánea. Mediante un tubo endotraqueal fueron ventilados mecánicamente con aire ambiental, utilizando un respirador Harvard (volumen corriente: 25 ml, frecuencia respiratoria: 35 ciclos/min). Se infundió solución de dextrosa al 5% (3 ml/min) mediante la colocación de una vía en la vena marginal de una oreja. Utilizando dicha vía venosa se realizó el mantenimiento de la anestesia mediante dosis adicionales de ketamina y tiopental sódico, según los requerimientos del acto quirúrgico. Luego de realizar toracotomía lateral izquierda y pericardiectomía, se ligó una rama prominente de la arteria coronaria izquierda utilizando aguja curva e hilo de seda 6-0. La isquemia miocárdica se confirmó mediante la palidez regional de la superficie cardíaca. Se realizó el cierre de la toracotomía respetando los distintos planos anatómicos y se administró antibioticoterapia en forma profiláctica. Los animales permanecieron bajo control especial durante las primeras 24 horas; pasado dicho lapso fueron ubicados en jaulas individuales hasta cumplir el tiempo del respectivo protocolo.

Los animales fueron sacrificados con una sobredosis de tiopental sódico (35mg/kg), a los 2, 4, 6, 8, 12, 14, 16, 18, 26, 35 y 56 días post-infarto (n=5 en cada grupo). Se estudiaron 6 conejos como controles, de los cuales 2 fueron animales normales y 4 fueron sometidos a una operación simulada, en la cual se realizó toracotomía, pericardiectomía y, una vez ubicada la arteria, se pasó el hilo de sutura a su alrededor pero sin efectuar la ligadura (operación simulada). Los mismos fueron sacrificados a los 16 y 35 días post-cirugía (n=2 y n=2, respectivamente).

Procesamiento histopatológico

Una vez finalizado el tiempo estipulado en el protocolo, los animales fueron sacrificados y el corazón fue removido, pesado y fijado con formol al 10%. Posteriormente fue cortado en forma transversal, de punta a base, en cortes de 3-4 mm de espesor. Todos los cortes se incluyeron en su totalidad en parafina y se tiñeron con hematoxilina-eosina, tricrómico de

Masson y Picrosirius red (técnica específica para fibras colágenas)¹¹. La inmunomarcación para la confirmación de fibroblastos fue realizada con vimentina peroxidasa (M725, Dako Corp.), en material embebido en parafina.

La evolución histopatológica del infarto fue evaluada en todos los cortes, considerando los tres sectores del miocardio: subendocardio (Endo), miocardio medial (Medio) y subepicardio (Epi). En ellos se evaluaron los siguientes hallazgos histopatológicos: necrosis de coagulación; miocitólisis; acúmulos celulares de neutrófilos, linfocitos, fibroblastos y macrófagos; tejido de granulación; fibrosis y cicatriz¹².

La evaluación histopatológica se realizó en las áreas infartadas y en zonas normales alejadas del infarto (ventrículo derecho y septum).

Los hallazgos histopatológicos fueron evaluados por dos observadores y graduados semicuantitativamente de la siguiente forma: 0, ausente; (+) leve; (++) moderado y (+++) intenso^{13, 15}.

Determinación cuantitativa del infarto de miocardio

Luego de establecer el diagnóstico histopatológico de la zona de infarto de miocardio, se midieron por separado las áreas de tejido infartado y no infartado. Estas determinaciones se realizaron en cada corte teñido con tricrómico de Masson utilizando un analizador digital de imágenes (ImagePro[®]Plus 3.0). Con los valores obtenidos de cada zona normal y de cada zona infartada se calculó el tamaño de infarto en cada corazón, expresado como porcentaje de área infartada en relación con la masa ventricular normal¹⁶.

Análisis estadístico

Los resultados fueron expresados como la media \pm error standard ($\bar{X} \pm ES$). Las comparaciones entre grupos se realizaron utilizando la prueba de Kruskal – Wallis. Para las comparaciones a posteriori entre pares de medias se utilizó la prueba de suma de rangos de Willcoxon^{14, 17}. Se consideró una diferencia significativa cuando el valor de $p < 0.05$.

Resultados

Cuando se analizaron los corazones de los animales normales, no se observaron lesiones histopatológicas, mientras que en el grupo con operación simulada sacrificados a los 16 y 35 días post-cirugía se comprobó una reacción fibrogénica en el subepicardio, debido posiblemente a la pericardiectomía. En los animales con oclusión coronaria el tamaño de infarto en relación con el total de masa ventricular fue de $22.4 \pm 3.1\%$.

En la Fig. 1 se grafican los hallazgos de necrosis de coagulación (panel superior) y de miocitólisis (panel inferior). Se observó que la necrosis de coagulación tuvo su mayor expresión en la zona media del miocardio (+++), durante la primera semana post-infarto; si bien se mantuvo durante la segunda semana, su severidad disminuyó, para desaparecer casi por completo al comienzo de la tercer semana. La miocitólisis sólo fue evidente en el subendocardio y permaneció estable durante los 56 días de evolución del infarto.

El proceso inflamatorio agudo y crónico quedan reflejado en la Fig. 2. El infiltrado inflamatorio agudo, a

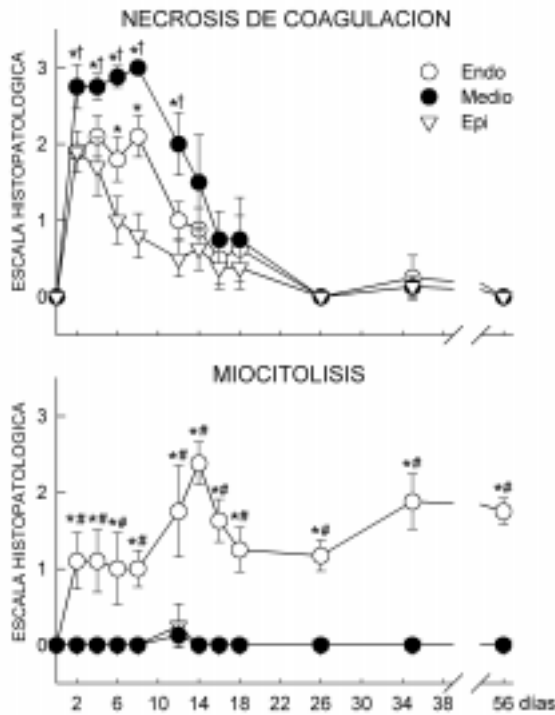


Fig. 1.— Evolución temporal y regional de la necrosis de coagulación (panel superior) y de la miocitólisis (panel inferior) post-infarto. En la ordenada figura la escala histopatológica semicuantitativa de 0 a 3 (+). Se observa la mayor área de necrosis en el miocardio medial en los primeros días del infarto, y la presencia de miocitólisis solamente en el subendocardio, que se mantiene hasta los estadios crónicos del infarto. (†: $p < 0.05$ vs Endo; *: $p < 0.05$ vs Epi, #: $p < 0.05$ vs Medio).

expensas de neutrófilos, ascendió hasta +++ en el subendocardio, miocardio medial y subepicardio en las primeras 48 horas, para luego descender bruscamente en todo el espesor de la pared. Por otro lado, los linfocitos se elevaron lentamente hasta llegar a su máximo en la segunda semana; permaneciendo estables en + hasta los 35 días post-infarto, y no encontrándose presentes a los 56 días. Los macrófagos se incrementaron ++ en los primeros seis días, manteniéndose estables hasta el final de la segunda semana, en donde comenzaron lentamente a disminuir. Una evolución similar se observó con los fibroblastos, que se elevaron precozmente dentro de la primera semana (Fig. 3). A diferencia de los macrófagos, los fibroblastos se mantuvieron elevados aún a los 35 días post-infarto, estando ausentes a los 56 días.

En la Fig. 4 hemos representado la evolución del tejido reparativo post-necrosis. En el panel superior se puede observar un incremento paulatino del tejido de granulación hacia el fin de la primera semana post-oclusión, alcanzando su mayor expresión durante la segunda se-

mana, para desaparecer por completo en el transcurso de la cuarta semana. Al mismo tiempo que el tejido de granulación comienza a descender, la fibrosis se eleva progresivamente hasta los 35 días post-infarto, desapareciendo totalmente a los 56 días. Las zonas cicatrizales comenzaron a ser notables a partir del día 18, en forma de "parches", llegando al reemplazo total del tejido infartado a los 56 días.

La Fig. 5 muestra los hallazgos de acúmulos de fibroblastos y fibrosis en las zonas normales alejadas al infarto en función del tiempo. Es de notar, en el panel superior, la temprana aparición de acúmulos de fibroblastos, tanto en la pared libre del ventrículo derecho como en el sector derecho del septum. Estos acúmulos desaparecieron totalmente al final de la segunda semana. Simultáneamente con el descenso de los fibroblastos se observó la aparición de fibrosis endocárdica focal en el septum derecho (Fig. 6), permaneciendo elevada hasta los 56 días de evolución. Con respecto a la fibrosis intersticial y perivascular, tanto en septum como en pared libre del ventrículo derecho ascendió lentamente a partir del cuarto día post-infarto, para alcanzar su expresión más elevada durante la tercera semana y mantenerse en valores semejantes a los 56 días.

Discusión

En el presente estudio hemos mostrado evidencia que la cronodinamia del infarto de miocardio experimental, sin reperfusión, en el conejo, es similar en muchos de sus aspectos al de otras especies, incluido el ser humano. No obstante, hemos observado algunas diferencias: un incremento precoz de los neutrófilos a los 2 días post-oclusión con rápida desaparición de los mismos en las tres capas de la pared ventricular; y temprana aparición de fibroblastos en el subendocardio. Al mismo tiempo, un hallazgo interesante fue la presencia precoz de fibroblastos (a los 2 días post-oclusión) en zonas normales alejadas al infarto (pared libre del ventrículo derecho y septum).

Existen varias e importantes diferencias entre estudios previos y el presente. En primer lugar, ninguno de los estudios previos, por lo menos en nuestro conocimiento, ha evaluado la cronodinamia del infarto en el corazón de conejo con esta secuencia de días. En nuestro estudio se sacrificaron animales cada dos días (con excepción del día 10) hasta el día 18 y después se estudiaron a los 26, 35, y 56 días post-infarto. Esta secuencia de días prevista en el protocolo experimental permitió observar en detalle la secuencia en las alteraciones celulares y tisulares en los corazones infartados, desde la fase inflamatoria precoz hasta la cicatrización tardía.

Una segunda diferencia radica en que se estudió dicha evolución histopatológica considerando los cambios

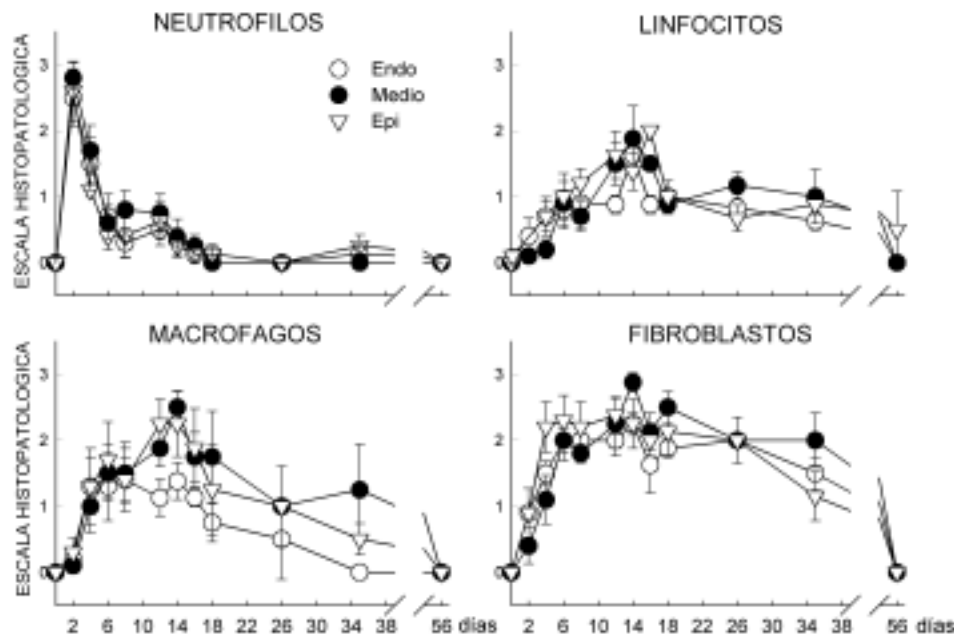


Fig. 2.— Evolución temporal de la respuesta inflamatoria celular aguda y crónica durante la evolución del infarto. En la ordenada se describe la escala histopatológica semicuantitativa de 0 a 3 (+). Se observa la rápida disminución de los neutrófilos y el rápido ascenso de los fibroblastos en los primeros días del infarto.

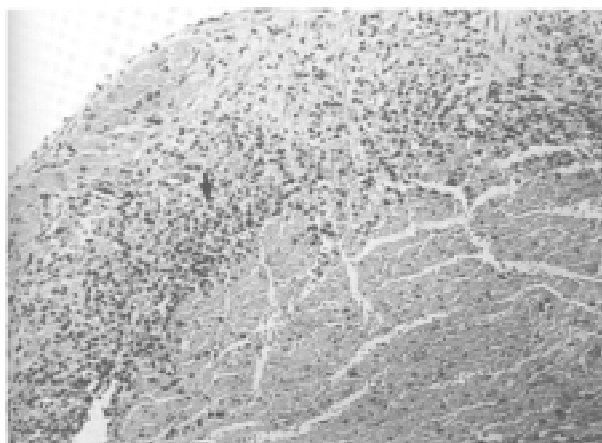


Fig. 3.— Proliferación de fibroblastos (flecha) a nivel subendocárdico, luego de 6 días post-infarto de miocardio. Hematoxilina-eosina, X160.

regionales entre subendocardio, miocardio medial y subepicardio. El hecho que en ciertas patologías como la insuficiencia cardíaca¹⁸ la disfunción del ventrículo se inicie en las capas subendocárdicas, marca la importancia de estudiar la cronodinamia del infarto desde el punto de vista regional.

Una tercera diferencia es haber evaluado la cronodinamia en corazones sin reperfusión. En aquellos

estudios donde, aunque fuera parcialmente, se describió la cronodinamia del infarto de conejo, se utilizaron corazones con infarto que habían sido reperfundidos. Si bien en los últimos años, debido al avance en la práctica cardiológica de diferentes técnicas de reperfusión, tales como angioplastia y trombolíticos, aumentó el porcentaje de infartos reperfundidos¹⁹, todavía existe un número muy elevado de pacientes con infarto agudo de miocardio que, debido a su mecanismo fisiopatológico o a limitaciones tecnológicas y/o económico-sociales, no pueden ser reperfundidos. De allí la importancia de conocer la cronodinamia del infarto en un corazón que no ha sido reperfundido. En otras especies animales, incluido el hombre, se han descrito importantes diferencias en la cronodinamia del infarto con y sin reperfusión. Dos alteraciones bien estudiadas en el infarto con reperfusión son la hemorragia masiva intramiocárdica y la presencia de bandas de contracción²⁰. En nuestros corazones, si bien encontramos focos de hemorragia intramiocárdica, no fueron de la magnitud de los que se observan en el infarto con reperfusión. Por otro lado, no detectamos la presencia de bandas de contracción.

Otra diferencia importante entre estudios previos y el nuestro fue el hallazgo precoz (2 días post-oclusión) de fibroblastos [vimentina (+)] en zonas normales del ventrículo derecho y septum. También observamos, en las mismas áreas aunque más tardíamente, la presen-

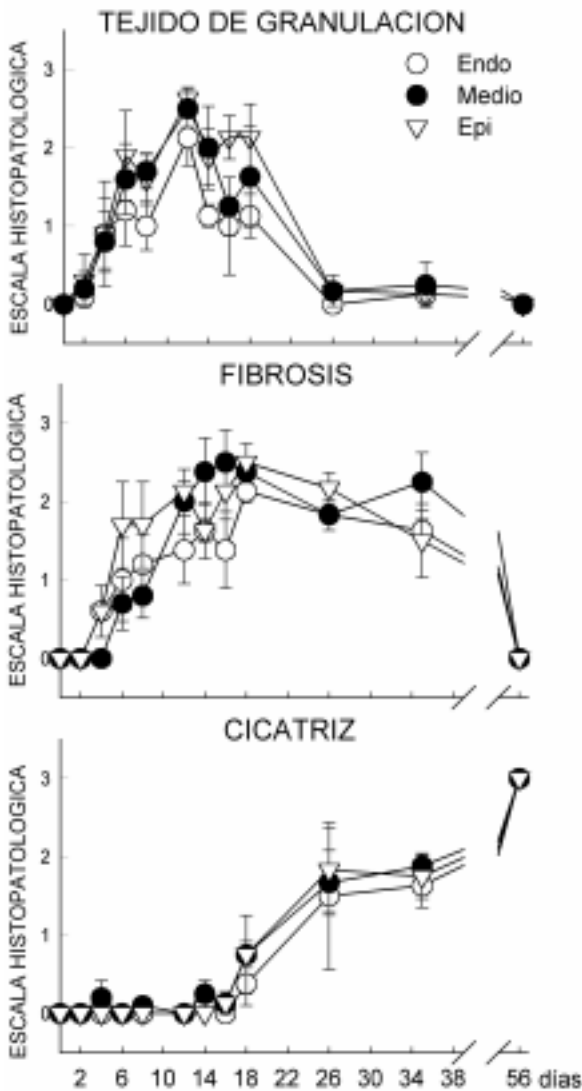


Fig. 4.- Evolución temporal y regional del tejido de reparación post-infarto. En la ordenada se describe la escala histopatológica semicuantitativa de 0 a 3 (+).

cia de fibrosis reactiva perivascular e intersticial y fibrosis endocárdica focal. Estos hallazgos son diferentes de los depósitos de colágeno que conforman una fibrosis reparativa o de reemplazo en la zona de infarto^{21, 22}. Es de hacer notar que, en ratas, el incremento del colágeno en zonas normales alejadas del infarto de miocardio se hace evidente a partir de los 7 días post-oclusión, manteniéndose elevado en forma sostenida hasta los 35 días^{9, 23}. De esta manera, los trabajos que han descrito algún tipo de actividad en zonas alejadas al infarto lo han hecho señalando un incremento anormal del colágeno intersticial (fibrosis) pero no encontraron una

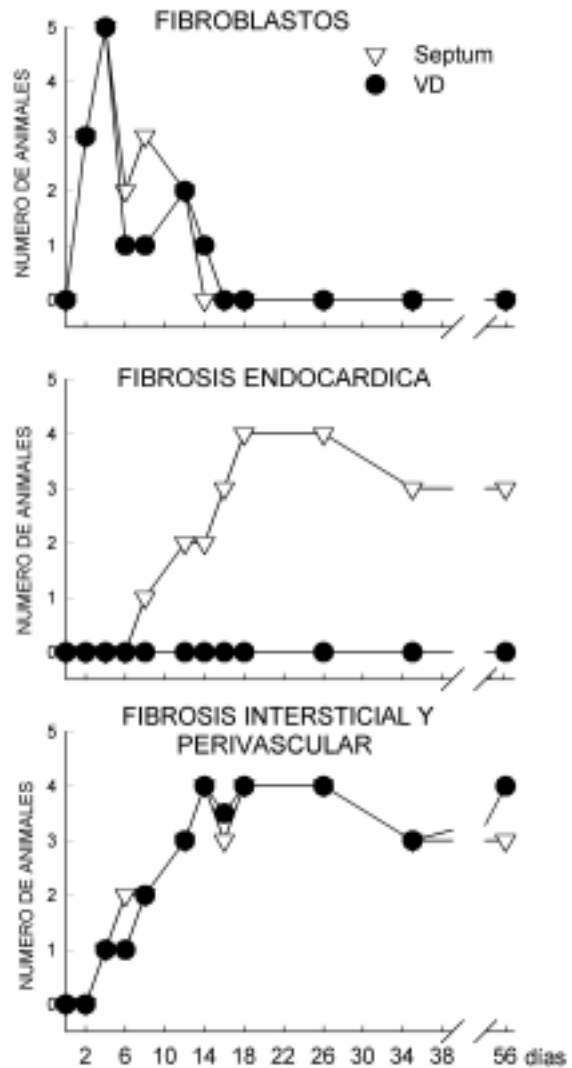


Fig. 5.- Evolución temporal y regional de los fibroblastos (panel superior) y de la fibrosis endocárdica (panel medio), intersticial y perivascular (panel inferior) en zonas normales alejadas al infarto. Se observa la presencia precoz de fibroblastos a los 2 y 4 días post-infarto en septum y ventrículo derecho (VD), como así también la presencia creciente de fibrosis reactiva en las mismas áreas normales del miocardio.

proliferación precoz de fibroblastos a los 4 días post-oclusión. Dado que dichos trabajos utilizaron ratas como modelo experimental de infarto de miocardio cabe la posibilidad que el hallazgo precoz de fibroblastos sea una característica propia de la especie utilizada en nuestro trabajo.

La necrosis de coagulación presente en nuestros animales tuvo su mayor expresión en la capa media del miocardio durante la primera semana post-infarto. Este

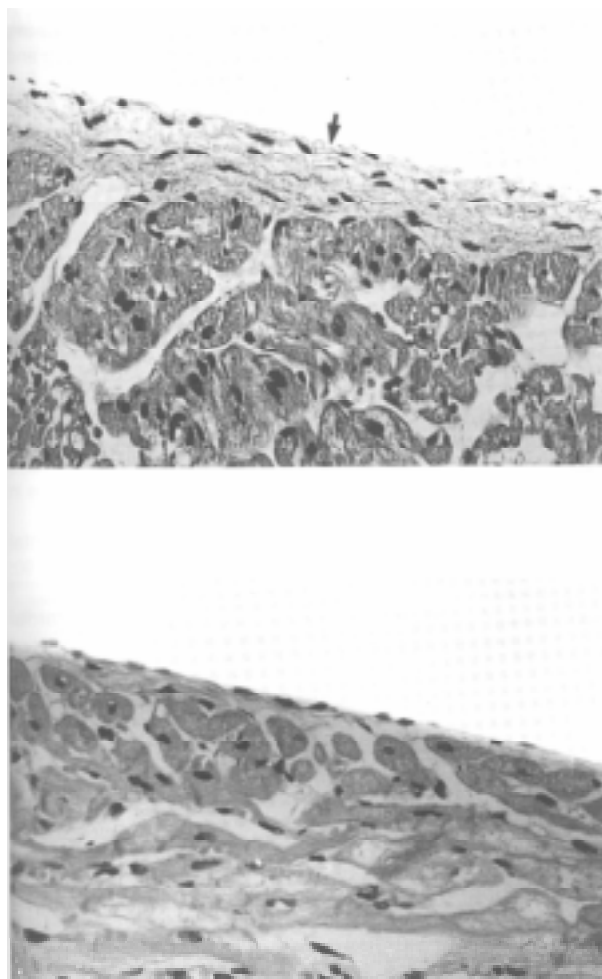


Fig. 6.— Endocardio septal derecho focalmente engrosado a expensas de tejido fibroso (foto A, flecha) en una zona alejada del área de infarto de miocardio, luego de 16 días de evolución. Endocardio ventricular derecho sin fibrosis en el mismo corazón (foto B). Hematoxilina-eosina, X400.

tipo de necrosis fue menor en el subendocardio, donde la miocitólisis fue evidente a partir de las 48 horas y permaneció estable hasta los 56 días post-infarto. Este hallazgo es similar al encontrado en pacientes en los cuales se detectó miocitólisis a las 24 horas de iniciado el infarto y se mantuvo hasta etapas más tardías¹³. En nuestro conocimiento, la miocitólisis no fue reportada en ratas²⁴ ni en perros²⁵ sometidos a protocolos similares de isquemia.

En nuestro estudio, la respuesta inflamatoria aguda resultó de menor duración que en la especie humana²⁶, mientras que el infiltrado inflamatorio crónico fue similar. Tanto los linfocitos como los macrófagos presentaron sus niveles más altos a las dos semanas, al igual que lo que ocurre en el hombre¹³. Después de la etapa inflamatoria previamente descrita, las áreas infartadas fueron paulatinamente reemplazadas por tejido de granula-

ción. Es importante mencionar que en nuestro modelo experimental la inducción de infarto por ligadura de un vaso coronario implica realizar una pericardiectomía. El hecho de dejar el pericardio abierto, como en la cirugía cardíaca a “cielo abierto”, representa un estímulo fibrogénico mayor para el área subepicárdica. Este tipo de fibrosis precede a la que se observa en el subendocardio y en el miocardio medial⁸.

En nuestro modelo experimental, a los 35 días post-infarto se pueden ver zonas que aún permanecen en vías de cicatrización, con presencia de fibroblastos, mientras que el reemplazo total por cicatriz fue observado en conejos sacrificados a los 56 días.

En conclusión, el estudio histopatológico de la evolución del infarto de miocardio experimental sin reperfusión en el conejo permitió observar su similitud con la del humano, aunque con algunas diferencias. Este seguimiento detallado de la cronodinamia del infarto convierte al modelo en una referencia para estudios posteriores vinculados a la isquemia y al infarto de miocardio.

Agradecimiento: Se agradece la desinteresada colaboración del Médico Martín Donato de la Universidad de Buenos Aires, y del Dr. Rubén P. Laguens y del Médico Carlos Vigliano de la Fundación Favalaro, por la realización del análisis estadístico.

Bibliografía

1. Verdouw PD, van den Doel MA, Zeeuw S, Duncker DJ. Animal models in the study of myocardial ischaemia and ischaemic syndromes. *Cardiovasc Res* 1998; 39: 121-35.
2. Maxwell MP, Hearse DJ, Yellon DM. Species variation in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischaemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent of myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 1987; 21: 737-46.
3. Downey JM, Miura T, Eddy LJ, et al. Xanthine oxidase is not a source of free radicals in the ischemic rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 1987; 19: 1053-60.
4. Riccitelli MA, Nul DR, Sarubbi AL, Ramos A, Bertolasi CA. The clinical presentation of acute myocardial infarction predicts the severity of the lesion in the infarct-related artery. *Eur Heart J* 1991; 12: 210-13.
5. Connelly C, Vogel WM, Hernandez YM, Apstein CS. Movement of necrotic wavefront after coronary artery occlusion in rabbit. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 1982; 243: H682-H90.
6. Miura T, Downey JM, Ooiwa H, et al. Progression of myocardial infarction in a collateral flow deficient species. *Jpn Heart J* 1989; 30: 695-708.
7. Takemura G, Ohno M, Hayakawa Y, et al. Role of apoptosis in the disappearance of infiltrated and proliferated interstitial cells after myocardial infarction. *Circ Res* 1998; 82: 1130-38.
8. Weber KT, Sun Y, Katwa LC. Wound healing following myocardial infarction. *Clin Cardiol* 1996; 19: 447-55.
9. Van Krimpen C, Smits JFM, Cleutjens JPM, et al. DNA synthesis in the non-infarcted cardiac interstitium after left coronary artery ligation in the rat: effects of captopril. *J Mol Cell Cardiol* 1991; 23: 1245-53.

10. Weber KT, Sun Y, Katwa LC, Cleutjens JPM. Connective tissue: a metabolic entity? *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27: 107-20.
11. Junqueira L, Bignolas G, Brentani R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochemical J* 1979; 11: 447-55.
12. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Reparación de los tejidos. En: Cotran RS, Kumar V, Collins T (eds). Robbins. Patología estructural y funcional. 6^{ta} ed. Buenos Aires: MacGraw-Hill-Interamericana, 2000, p 114-6.
13. Fishbein MC, Maclean D, Maroko PR. The histopathologic evolution of myocardial infarction. *Chest* 1978; 73: 843-49.
14. Kamijima T, Isobe M, Suzuki J, et al. Enhanced embryonic nonmuscle myosin heavy chain isoform and matrix metalloproteinase expression in aortic abdominal aneurysm with rapid progression. *Cardiovasc Pathol* 1999; 8: 291-95.
15. Clausell N, Daly PA, Molossi S, et al. Histological and immunohistochemical characteristics of eccentric coronary artery lesions retrieved by atherectomy from cardiac transplant recipients. *Cardiovasc Pathol* 1997; 6: 23-9.
16. Boor P, Reynolds E. A simple planimetric method for determination of left ventricular mass and necrotic myocardial mass in postmortem hearts. *Am J Clin Pathol* 1977; 68: 387-92.
17. Dawson-Saunders B, Trapp RG. En: Dawson-Saunders B., Trapp RG (eds). Bioestadística Médica. 3° ed. México: El Manual Moderno, 1999; p 165-166.
18. Hittinger L, Shannon RP, Bishop SP, Gelpi RJ, Vatner SF. Subendomyocardial exhaustion of blood flow reserve and increased fibrosis in conscious dogs with heart failure. *Circ Res* 1989; 65: 971-80.
19. Díaz R. Tratamiento del infarto agudo de miocardio. En: Bertolasi C, Barrero C, Gimeno G, Liniado G, Mauro V, (eds). Cardiología 2000 (tomo 3), 1° ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2000, p 2269-92.
20. Schaper J, Schaper W. Reperfusion of ischemic myocardium: ultrastructural and histochemical aspects. *J Am Coll Cardiol* 1983; 1: 1037-46.
21. Beltrami CA, Finato N, Rocco M, et al. The cellular basis of dilated cardiomyopathy in humans. *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27: 291-305.
22. Brilla CG, Pick R, Tan LB, Janicki JS, Weber KT. Remodeling of the rat right and left ventricles in experimental hypertension. *Circ Res* 1990; 67: 1355-64.
23. Sun Y, Cleutjens JPM, Diaz-Arias AA, Weber KT. Cardiac angiotensin converting enzyme and myocardial fibrosis in the rat. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 1423-32.
24. Fishbein MC, Maclean D, Maroko PR. Experimental myocardial infarction in the rat. *Am J Pathol* 1978; 90: 57-70.
25. Richard V, Murry CE, Reimer KA. Healing of myocardial infarcts in dogs. Effects of late reperfusion. *Circulation* 1995; 92: 1891-901.
26. Beltrami CA, Finato N, Rocco M, et al. Structural basis of end-stage failure in ischemic cardiomyopathy in humans. *Circulation* 1994; 89: 151-63.

The coordinated physiological processes which maintain most of the steady states in the organism are so complex and so peculiar to living beings -involving as they may, the brain and nerves, the heart, lungs, kidneys and spleen, all working cooperatively- that I have suggested a special designation for these states, "Homeostasis". The word does not imply something set and immobile, a stagnation. It means a condition, a condition which may vary, but which is relatively constant.

Los procesos fisiológicos coordinados que mantienen la estabilidad del organismo son tan complejos y tan peculiares de los organismos vivientes -involucrando, como sucede, al sistema nervioso central y periférico, al corazón, los pulmones, los riñones y al bazo, todos funcionando cooperativamente- que he sugerido una especial designación para estos estados, *Homeostasis*. La palabra no implica algo quieto e inmóvil, un estancamiento. Significa una condición, una condición que puede variar, pero que es relativamente constante.

Walter B. Cannon (1871-1945)

The Wisdom of the body. New York: Norton, 1939