

11262



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO**

Facultad de Medicina

División de Estudios de Postgrado

Maestría en Ciencias Médicas

Sede Centro

Hospital de Cardiología

Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS

valoración del efecto de una solución hipertónica-  
hiperoncótica en la respuesta a la reperfusión después  
de isquemia global en corazón aislado de conejo adulto.

T E S I S  
Que presenta:  
**GUILLERMO CAREAGA REYNA**  
para obtener el Grado de:  
MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS



IMSS

Asesor: Dr. Rubén Argüero Sánchez

México, D. F.

1994

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



## **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 está 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.

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACION

U N A M

MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS

SEDE CENTRO

TESIS DE MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS

VALORACION DEL EFECTO DE UNA SOLUCION HIPERTONICA-  
HIPERONCOTICA EN LA RESPUESTA A LA REPERFUSION DESPUES DE  
ISQUEMIA GLOBAL EN CORAZON AISLADO DE CONEJO ADULTO.

ALUMNO: GUILLERMO CAREAGA REYNA

ASESOR: DR. RUBEN ARGÜERO SANCHEZ.

CO-ASESORES:: DR. ADOLFO CHAVEZ-NEGRETE.

MVZ ELISEO PORTILLA DE BUEN.

HOSPITAL DE CARDIOLOGIA

CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI, IMSS

## **INDICE**

<b>Agradecimientos</b>	<b>I</b>
<b>Resumen</b>	<b>III</b>
<b>Antecedentes</b>	<b>1</b>
<b>Justificación</b>	<b>7</b>
<b>Planteamiento del Problema</b>	<b>8</b>
<b>Hipótesis</b>	<b>10</b>
<b>Objetivo</b>	<b>11</b>
<b>Material y Métodos</b>	<b>13</b>
<b>Resultados</b>	<b>32</b>
<b>Discusión</b>	<b>43</b>
<b>Conclusión</b>	<b>50</b>
<b>Referencias</b>	<b>51</b>

## AGRADECIMIENTOS:

Deseo expresar mi agradecimiento por su valiosa colaboración para el desarrollo de este proyecto a:

BIOTERIO DEL CENTRO DE INVESTIGACION BIOMEDICA DEL DISTRITO FEDERAL, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI, I.M.S.S.:

MVZ. Sergio Rosas Macedo.

MVZ. Joel Pedroza Sandoval.

MVZ. Sergio Pratz Güitrado.

Enf. Irma Cortés Mejía.

DEPARTAMENTO DE ANATOMIA PATOLOGICA DEL HOSPITAL DE CARDIOLOGIA DEL CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI, I.M.S.S.:

Dr. Guillermo Valero Elizondo.

Histotecnóloga. María del Carmen Beltrán de la Garza.

Tec. en Microscopia Electrónica. Patricia Aley M.

LABORATORIO CLINICO DEL HOSPITAL DE CARDIOLOGIA DEL CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI, I.M.S.S.

Dr. Dionisio Félix.

Dra. Rosa María García Escamilla.

Dra. Lorena Mendoza V.

R2PC Luis Angulo R.

R2PC Yolanda Miranda C.

**HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO "FEDERICO GOMEZ", por el apoyo en  
microscopía electrónica.**

## RESUMEN

Se ha demostrado que el choque hipovolémico y la lesión por isquemia reperfundida en miocardio tienen semejanzas. La solución hipertónica-hiperoncótica se ha utilizado con éxito en el tratamiento del choque hipovolémico por su efecto en la tensión arterial y en la corrección de lesiones ocasionadas por el choque. Con la finalidad de evaluar el efecto sobre la lesión por isquemia reperfundida en el miocardio de la solución hipertónica-hiperoncótica se aislaron en preparación de Langendorff 14 corazones de conejo distribuidos aleatoriamente en 2 grupos sometidos a 30 minutos de isquemia y 60 de reperfundida. El grupo I se reperfundida con solución de Krebs-Henseleit con sodio al 7.5% y dextrán 60 al 6% con una concentración de sodio de 150 mEq/l. El grupo II fue control y solo se reperfundida con solución de Krebs-Henseleit.

Se evaluó la incidencia de arritmias, los niveles de la isoenzima MB de la creatin cinasa (CK-MB), contenido de agua miocárdica, flujo coronario y lesión estructural con microscopía electrónica.

Los resultados mostraron que el grupo I no tuvo arritmias ( $p= 0.034$ ), sus niveles de CK-MB fueron menores ( $p=0.035$ ), el contenido de agua miocárdica fue menor ( $p= 0.047$ ), el flujo coronario fue mejor ( $p= 0.035$ ) y la lesión observada en microscopía electrónica fue menor ( $p= 0.018$ ).

Se concluye que la reperfundida con solución hipertónica-hiperoncótica después de isquemia es buena opción para el tratamiento de la lesión por isquemia reperfundida del miocardio en modelos similares al utilizado en este estudio.

## ANTECEDENTES:

La isquemia miocárdica se acompaña de pérdida de la viabilidad de las células cardíacas y dependiendo de la duración puede llegar a la necrosis, por lo que la detección oportuna es crucial para salvar el tejido y en muchas ocasiones la vida del paciente (1).

El rápido desarrollo de la cirugía cardiovascular ha permitido una comprensión más completa de la fisiología del miocardio y el papel esencial de las maniobras diagnóstico-terapéuticas para preservarla de manera óptima (2).

A lo largo del tiempo se han desarrollado diversos procedimientos para proteger al miocardio durante intervenciones a corazón abierto (3-5), pues para realizar cualquier procedimiento de este tipo es necesario interrumpir el flujo coronario, suspender la actividad cardíaca y suplir su función con los sistemas de derivación cardiopulmonar (6), así el corazón es sometido a isquemia.

Las maniobras utilizadas para proteger al miocardio básicamente han sido la hipotermia (7), periodos breves de isquemia (8-11) y el paro cardioplégico (12). Dichas acciones solo protegen al corazón durante el periodo isquémico, suponiendo que al reiniciarse el flujo coronario -reperusión-, se restablecerá y mantendrá adecuadamente la función cardíaca (13).

Con lo anterior podemos deducir que la reperusión a las coronarias es el medio para rescatar el miocardio que se encuentre reversiblemente lesionado, aunque la misma reperusión puede ocasionar disfunción ventricular con caída del gasto cardíaco (miocardio "aturdido"), fenómeno

de "no reflujo", edema celular e infarto hemorrágico de miocardio entre otros (14-18). Además de que se ha demostrado la pérdida de la viabilidad celular asociada a la reintroducción de oxígeno a la zona isquémica, ocasionando muerte celular, lo que ha cuestionado seriamente el beneficio real de la reperfusión (19-20).

Por todo ello, el estudio de la reperfusión y los eventos que ella condiciona, tiene grandes implicaciones clínicas al relacionarse directamente con la preservación cardíaca y trasplante, cirugía con paro cardioplégico prolongado, terapia trombolítica, angioplastia coronaria de emergencia y revascularización miocárdica (21-22).

Por definición la lesión por reperfusión es daño miocárdico agregado al provocado por la isquemia misma, implicándose como mediadores de esta lesión a los radicales libres de oxígeno (22-25), aunque dicha evidencia es indirecta y controversial, probablemente debido a la diferencia de protocolos y fármacos empleados (26). Sin embargo es evidente que la reperfusión puede traer consigo graves consecuencias que pueden ir desde el desarrollo de arritmias malignas como fibrilación ventricular hasta en un 40% de los casos desencadenadas por mecanismos aún no determinados (1, 27-29), hasta la falla miocárdica de duración y severidad variables por bajo flujo o agravamiento de la isquemia (25, 30, 31).

Las alteraciones estructurales observadas en la lesión por reperfusión son cambios caracterizados por el acúmulo en grado variable de agua y calcio intracelular, infiltrado de granulocitos en la zona, lesión de diversa magnitud a nivel mitocondrial, contractura de miofibrillas, disrupción del sarcolema, hemorragia intersticial con extensión de la necrosis (15, 32),

y en el endotelio con reperfusión después de 40 minutos de isquemia edema celular y procesos citoplásmicos intraluminales que pueden impedir el flujo coronario a nivel de la microcirculación, particularmente en el subendocardio (32), además de la agregación plaquetaria y el factor de agregación plaquetario que además estimula el incremento en la agregación de leucocitos y la liberación de radicales libres por ellos mismos, así como otros quimiotácticos como ácidos hidroxieicosatetranoicos y la liberación de ácido araquidónico de los fosfolípidos de la membrana que se transforma a tromboxano A<sub>2</sub>, acentuando el obstáculo a la circulación, lo que constituye el fenómeno de "no reflujo" (33-37).

Metabólicamente hay depleción de fosfatos de alta energía y falla en su regeneración, a lo que se atribuye parte de la génesis y desarrollo de la contractura isquémica, aunado a la depleción de glucógeno (16). La oxidación de los ácidos grasos constituyentes de las membranas celulares inicia una cadena de lesiones de dichas estructuras con la consecuente pérdida de la homeostasis celular coincidiendo con la afección a sistemas enzimáticos y salida de estas enzimas a la circulación (19, 37, 38) e inclusive lesión estructural al DNA (38, 39).

Es oportuno señalar las fuentes principales de radicales libres de oxígeno conocidas: catabolismo de ATP con la participación de xantina oxidasa, activación de neutrófilos, intermediarios del metabolismo del ácido araquidónico, autooxidación de catecolaminas y producción mitocondrial (19, 20, 22, 40). En base al supuesto de que los radicales libres de oxígeno participan en forma importante en la lesión de reperfusión (19), se han ensayado diversos métodos de prevención y/o tratamiento con

barredores de radicales libres como la superóxido dismutasa, inhibidores de la xantina oxidasa (alopurinol), filtros de leucocitos (evitando su acúmulo en la zona reperfundida), así como otros métodos diseñados para proteger al miocardio isquémico durante la reperfusión como beta-bloqueadores, antagonistas del calcio, estabilizadores de membrana, soluciones de glucosa-insulina, ribosa, manitol, etc, pero ninguno ha mostrado protección efectiva en modelo animal tanto en corazón aislado como "in vivo", y así, algunas evitan el edema pero no las arritmias, otras modifican las curvas enzimáticas pero no mejoran la disfunción ventricular, etc (29, 31, 41-47).

La protección miocárdica en humanos durante la reperfusión es muy escasa o nula. Chávez-Negrete y cols (49), demostraron que hay disminución de los niveles de la creatin cinasa total y su isoenzima MB utilizada para la evaluación del daño celular cardíaco (47, 50) en pacientes sometidos a trombolisis, a quienes se administró una solución hipertónica-hiperoncótica constituida por cloruro de sodio al 7.5% en dextrán 60 al 6%, lo que además disminuyó la incidencia de arritmias "de reperfusión". La aplicación de dicha solución se hizo por la similitud en los cambios isquémicos observados en el miocardio por obstrucción coronaria y los conocidos a nivel sistémico en el estado de choque como son el edema endotelial, con disminución del diámetro de la luz capilar aproximadamente en 25%, la agregación de leucocitos y eritrocitos, el aumento de la resistencia hidráulica con flujo lento e irregular y aporte de oxígeno insuficiente a los tejidos (22, 51), con el supuesto de que si esa solución era efectiva en el músculo esquelético en el tratamiento del

estado de choque (51), también pudiera serlo en el tratamiento de la lesión de isquemia-reperusión a nivel cardíaco, aunque la única evidencia fue un incremento menor en los niveles enzimáticos sin evaluar otras variables que dieran solidez a esa observación como el daño estructural, el flujo coronario, etc (15, 32, 46).

La solución hipertónica-hiperoncótica se ha empleado en el tratamiento del choque hemorrágico, obteniendo mejoría en la presión arterial con un aporte menor de líquidos, además de que se ha observado que hay modificación de las lesiones a nivel capilar y redistribución del líquido intracelular disminuyendo el edema del citosol (51-54).

En cirugía cardíaca se ha utilizado solución hipertónica-hiperoncótica como parte del perfusato empleado en la derivación cardiopulmonar en el momento en que el paciente está en este sistema en estado de choque hipovolémico. Los resultados en todo el organismo son: mejoría funcional sistémica con el desplazamiento de líquido tisular al compartimiento vascular, reducción de la capacitancia venosa. Sin embargo a nivel cardíaco no tuvo evaluación adecuada, pues no debemos olvidar que el corazón se somete a isquemia global por suspensión total del flujo coronario durante el procedimiento a corazón abierto, y además el uso sistémico indiscriminado puede ocasionar hipernatremia extrema e hiperosmolaridad tal que puede llevar a disfunción cerebral con desorientación, confusión y estructuralmente a ese nivel disrupción de la barrera hematoencefálica (55).

Hay por otro lado y solo en corazón aislado no isquémico, estudios que demuestran mejoría particular del flujo coronario con la infusión de

solución hipertónica-hiperoncótica (56), y también en músculo papilar aislado se observó una contracción mejor (57), usando para este y otros estudios, el modelo de corazón aislado descrito por Langendorff en 1895 y que es vigente hasta la actualidad (57-63).

## JUSTIFICACION

La lesión por reperfusión del miocardio puede ser causa de falla ventricular severa, y arritmias de difícil o nulo control que pueden llevar a la muerte a un paciente sometido a cirugía cardíaca con paro cardioplégico o que sea sujeto a procedimientos para reperfusión de tipo farmacológico (trombolisis), instrumental (angioplastia) o revascularización miocárdica (1,20, 22, 28, 29).

El miocardio salvado con cualquiera de las maniobras anotadas es mayor si se agrega algún procedimiento cardioprotector contra los eventos lesivos que acompañan a la reperfusión (64).

El beneficio de las diferentes opciones terapéuticas en la protección contra los efectos lesivos de la reperfusión es limitada. Debido a ello se hace necesario establecer un modelo experimental que demuestre "in vitro", el efecto protector con solución hipertónica-hiperoncótica, que no ha sido demostrado en corazón con isquemia global, siendo solo observado su efecto en isquemia regional, sin clara explicación fisiopatológica que justifique un uso generalizado de esta alternativa de protección cardíaca.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### PROBLEMA GENERAL:

¿Es útil la administración de la solución hipertónica-hiperoncótica en el momento de la reperfusión, para disminuir los efectos lesivos de este evento sobre el corazón aislado de conejo adulto después de un periodo de isquemia normotérmica global?

### PROBLEMAS ESPECIFICOS:

1. ¿La solución hipertónica-hiperoncótica administrada al miocardio de conejo durante la reperfusión, después de un periodo de isquemia global normotérmica disminuye el edema?
2. ¿La administración de solución hipertónica-hiperoncótica en la reperfusión del miocardio de conejo después de un periodo de isquemia global normotérmica disminuye la frecuencia de arritmias?
3. La administración de solución hipertónica-hiperoncótica durante la reperfusión del miocardio de conejo después de un periodo de isquemia global normotérmica disminuye los niveles de la isoenzima MB de la creatín cinasa presentes en el líquido efluente?
4. ¿La administración de solución hipertónica-hiperoncótica durante la reperfusión del miocardio de conejo, después de un periodo de isquemia global normotérmica disminuye las alteraciones histopatológicas ocasionadas por la reperfusión?

5. ¿La administración de solución hipertónica-hiperoncótica en la reperfusión miocárdica después de un periodo de isquemia global normotérmica mejora el flujo coronario?

## HIPOTESIS

### HIPOTESIS GENERAL:

La administración de solución hipertónica-hiperoncótica en el momento de la reperfusión miocárdica después de un periodo de isquemia global normotérmica, de corazón aislado de conejo adulto, reduce las alteraciones producidas por la reperfusión.

### HIPOTESIS ESPECIFICAS:

1. La administración de solución hipertónica-hiperoncótica en la reperfusión miocárdica después de un periodo de isquemia global normotérmica de corazón aislado de conejo adulto reduce el edema.
2. La administración de solución hipertónica-hiperoncótica en la reperfusión después de un periodo de isquemia global normotérmica de corazón aislado de conejo adulto disminuye la frecuencia de arritmias.
3. La administración de solución hipertónica-hiperoncótica en la reperfusión miocárdica después de un periodo de isquemia normotérmica global en corazón aislado de conejo adulto disminuye los niveles de la isoenzima MB de la creatin cinasa obtenidos del líquido efluente.
4. La administración de solución hipertónica-hiperoncótica en la reperfusión después de un periodo de isquemia global normotérmica en corazón aislado de conejo adulto disminuye las alteraciones histopatológicas ocasionadas por la reperfusión.
5. La administración de solución hipertónica-hiperoncótica en la reperfusión después de un periodo de isquemia normotérmica global de corazón aislado de conejo adulto, mejora el flujo coronario.

## OBJETIVO

### OBJETIVO GENERAL:

Medir las alteraciones post-reperfusión al usar solución hipertónica-hiperoncótica en corazón aislado de conejo adulto en un modelo de Langendorff, después de un periodo de isquemia global normotérmica y compararlas con las presentadas en un grupo control.

### OBJETIVOS ESPECIFICOS:

1. Comparar el grado de edema post-reperfusión después de un periodo de isquemia normotérmica global de corazón aislado de conejo adulto en un grupo tratado con solución hipertónica-hiperoncótica y un grupo control.
2. Comparar la frecuencia de arritmias en el periodo de reperfusión después de un lapso de isquemia normotérmica global de corazón aislado de conejo adulto en un grupo tratado con solución hipertónica-hiperoncótica y un grupo control.
3. Comparar los niveles de la isoenzima MB de la creatín cinasa en el líquido efluente durante la reperfusión después de un periodo de isquemia global normotérmica de corazón aislado de conejo adulto en un grupo tratado con solución hipertónica-hiperoncótica y un grupo control.
4. Comparar el tipo y grado de alteraciones histopatológicas post-reperfusión después de un periodo de isquemia global de corazón aislado de conejo adulto en un grupo tratado con solución hipertónica-hiperoncótica y un grupo control.

5. Comparar el flujo coronario durante la reperfusión después de un periodo de isquemia global normotérmica de corazón aislado de conejo adulto en un grupo tratado con solución hipertónica-hiperoncótica y un grupo control.

## MATERIAL Y METODOS.

TIPO DE ESTUDIO: Experimental.

VARIABLE INDEPENDIENTE: Solución hipertónica-hiperoncótica.

VARIABLES DEPENDIENTES: Edema, Flujo coronario, arritmias, concentración de la isoenzima MB de la creatín cinasa en líquido efluente y alteraciones histopatológicas de las células del miocardio.

### DEFINICION OPERACIONAL DE LAS VARIABLES.

1. SOLUCION HIPERTONICA-HIPERONCOTICA: Cloruro de sodio al 7.5% y dextrán 60 (1,6 alfa poliglicano con peso molecular de 60,000 daltons) al 6% (Schiwa GmbH, Postfach 1180 D-4519, Glandorf), que al combinarse con la solución de reperfusión dará una concentración de sodio de 150 mEq/l.

2. EDEMA: Aumento de la cantidad de agua retenida por el miocardio determinada por el contenido de agua miocárdica expresada en porcentaje del peso del corazón y la observación en el estudio histopatológico (42, 65).

FLUJO CORONARIO: Cantidad de líquido obtenido del seno coronario (efluente) a través de un catéter colocado en la aurícula derecha, medido en ml/min.

ARRITMIAS: Alteraciones en la regularidad de la frecuencia cardíaca o en el origen del estímulo contráctil, determinadas por electrocardiograma y consistentes en extrasístoles, taquicardia o fibrilación ventriculares.

**NIVELES DE LA ISOENZIMA MB DE LA CREATIN CINASA:** Concentración de dicha isoenzima presente en el líquido efluente expresada en ng/ml.

**ALTERACIONES HISTOPATOLOGICAS DE LAS CELULAS CARDIACAS:** Modificaciones en la morfología normal de las células miocárdicas y endoteliales, observadas en estudio histopatológico con microscopía de luz y microscopía electrónica, cuya magnitud y variedad se calificará de acuerdo a los esquemas propuestos por Kloner y cols (32), Ambrosio y cols (66) y Forman y cols (67), que se presentan en el cuadro I.

#### **CRITERIOS DE INCLUSION:**

Se utilizaron conejos Nueva Zelanda Blancos tratados de acuerdo a los preceptos establecidos en la Ley General de Salud y en la Guía para el Cuidado y Utilización de Animales de Laboratorio del Departamento de Salud y Servicios al Hombre, del Servicio de Salud Pública y los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de América, con las siguientes características:

1. Ambos sexos.
2. Adultos.
3. Peso entre 3.000 y 4.000 kg.
4. Clínicamente sanos.

#### **CRITERIOS DE NO INCLUSION:**

1. Gestación.
2. Patología presente al momento de la selección.

**CRITERIOS DE EXCLUSION:**

1. Muestras procesadas inadecuadamente.
2. Paro cardíaco en periodo transanestésico antes de efectuar la cardiectomía.
3. Presencia de defectos septales auriculares o ventriculares al momento de la sección del corazón para su estudio.

## **CUADRO I. LESION POR ISQUEMIA-REPERFUSION ESCALA DE EVALUACION DE DAÑO HISTOPATOLOGICO**

### **LESION ISQUEMICA DE MIOCITOS**

- 1• **Aglutinamiento de cromatina leve a moderado, vacuolas ocasionales, bandas I.**
- 2• **Edema intracelular y vacuolas. Cambios nucleares más marcados.**
- 3• **Gran edema intracelular, abundantes vacuolas, edema extracelular.**
- 4• **Edema marcado y desarreglo celular.**

### **LESION ASOCIADA A REPERFUSION**

- 1• **Bandas de contracción confinadas a pocas áreas de miocitos individuales, edema intracelular mínimo.**
- 2• **Hipercontracción más extensa y disrupción de sarcómeras, edema intra y extracelular, vacuolas en sarcolema.**
- 3• **Disrupción severa de la arquitectura celular causada por hipercontracción y ruptura de sarcómeras, disociación de discos intercalares, numerosas rupturas del sarcolema.**

### **LESION ENDOTELIAL**

- 1• **Palidez citoplasmática, pérdida de vesículas pinocíticas aglutinamiento leve de cromatina nuclear.**
- 2• **Cambios nucleares más severos, edema intracelular, depósitos de fibrina intraluminal, disminución de la luz.**
- 3• **Disrupción endotelial y hemorragia.**

**Cuadro I. Se presenta la escala de evaluación utilizada para cuantificar el daño histopatológico en cortes semifinos y microscopía electrónica.**

## DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO:

El procedimiento se efectuó en el Laboratorio de Cirugía Experimental del Bioterio del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social (I.M.S.S.). Se utilizaron 14 conejos que reunieron los criterios de inclusión con peso promedio de 3.22 +/- 0.19 kg.

### 1. CARDIECTOMIA Y PREPARACION DEL MODELO DE LANGENDORFF:

1.1. Instalación de venoclisis en venas de la oreja, con solución mixta para mantener vía permeable.

1.2. Administración de 20 mg/kg de peso de pentobarbital y 2.5 mg/kg de dehidrobenezoperidol, ambos vía intravenosa.

1.3. Tricotomía de pared anterior del tórax, asepsia con solución salina y jabón quirúrgico y antisepsia con merthiolate de cara anterior de cuello y tórax.

1.4. Traqueostomía y ventilación con aire ambiente (FIO<sub>2</sub> de 21%) asistida con bomba de ventilación Palmer (GF Palmer LTD Effm Road London) a frecuencia de 56 por minuto (Figs 1 y 2).

1.5. Toracotomía anterior y esternotomía longitudinal.

1.6. Pericardiotomía, exposición y disección de corazón y grandes vasos (Fig 3).

1.7. Administración intravenosa de 100 ui/kg de heparina.

1.8. Ligadura de vena cava inferior con seda 000, y sección de la misma.

1.9. Sección de vena cava superior a través de la cual se coloca catéter a la luz de la aurícula derecha y de electrodo endocárdico temporal (Medtronic Inc. USA) en la punta del ventrículo derecho, cerrando posteriormente con doble ligadura de seda 000, la vena cava superior.

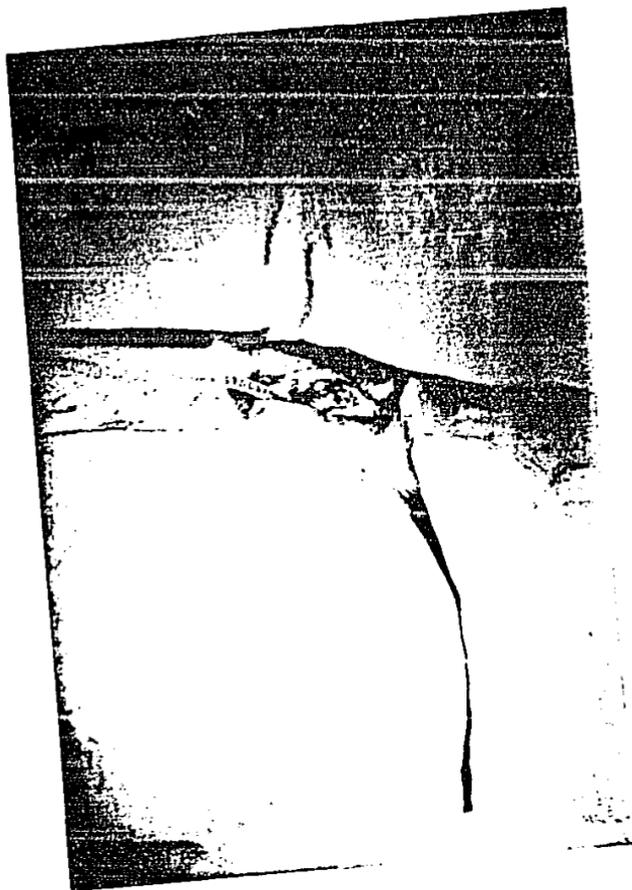
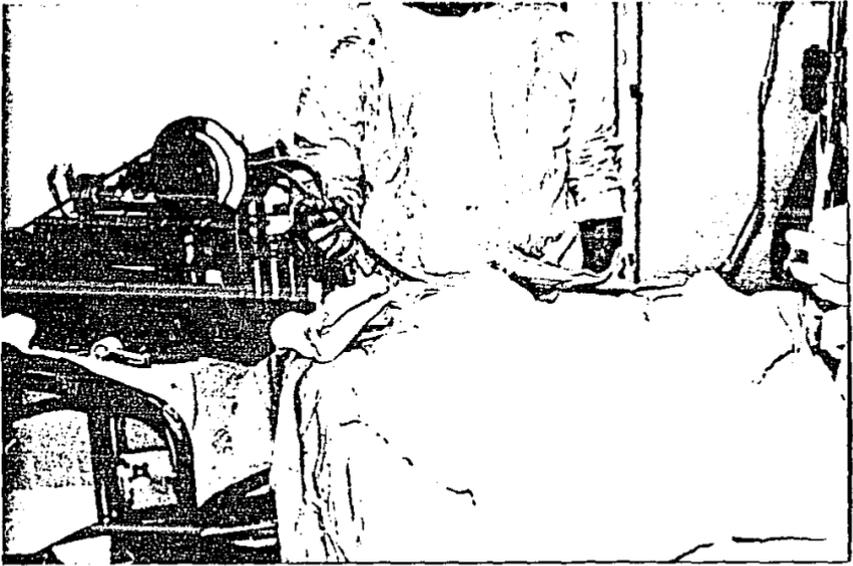
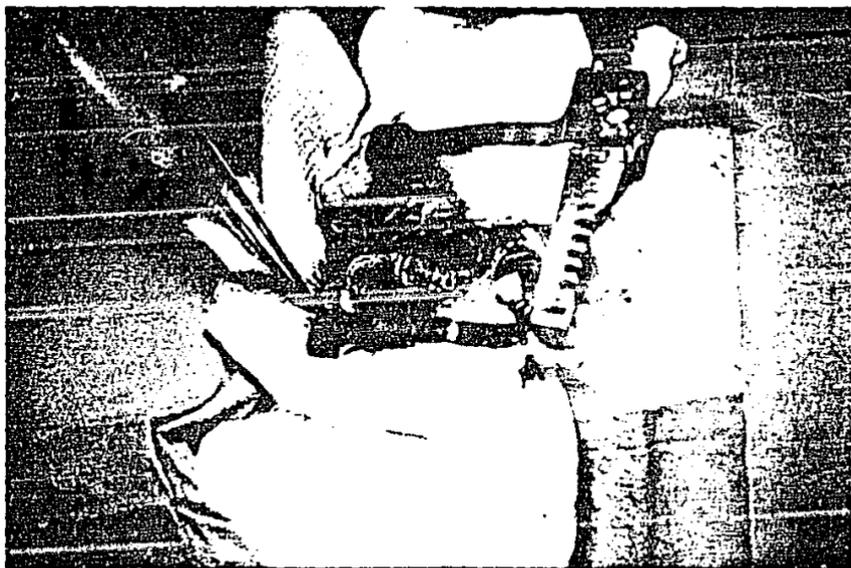


Fig. 1. Se puede observar la cara anterior de cuello y tórax ya preparada para cirugía, con el tubo endotraqueal introducido mediante traqueostomía.



**Fig. 2.** Se presenta la bomba Palmer utilizada para la ventilación asistida durante el procedimiento.



**Fig. 3.** Puede visualizarse en el campo operatorio la porción correspondiente a ambos ventrículos y la coronaria descendente anterior.

- 1.10. Ligadura de tronco de arteria pulmonar en su origen con seda 000.
- 1.11. Sección de aorta ascendente inmediatamente abajo de la emergencia del primer tronco supraaórtico y canulado con equipo para transfusión conectado a bolsa de reservorio con solución de Krebs-Henseleit compuesta por sodio 140 mEq/l, potasio 5.9 mEq/l, calcio 5.1 mEq/l, magnesio 2.4 mEq/l, cloro 105 mEq/l, bicarbonato 25 mEq/l, glucosa 10 mEq/l, insulina 10 ui/l, aireada con mezcla de 95:5 de O<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub>, para mantener una paO<sub>2</sub> de 200 torr (60, 63).
- 1.12. Punción en punta de ventrículo izquierdo para evitar sobredistensión ventricular.
- 1.13. Colocación del corazón en un vaso de precipitado con capacidad de 1000 cc conteniendo solución de Krebs-Henseleit a 37°C de temperatura mantenida por un calentador termostato automático (Maiko PCB, Taiwan) y vigilada con termómetro de mercurio con rango de medición de -20°C a 110°C (Brannan Inc).
- 1.14. Se inicia la perfusión del corazón ya aislado y depositado en el recipiente (Figs 4 y 5), con solución Krebs-Henseleit oxigenada vía arteria aorta a 100 cm H<sub>2</sub>O de presión (77 mm Hg).

## 2. ESTABILIZACION, ISQUEMIA Y ALEATORIZACION:

- 2.1. El corazón aislado se dejó perfundiendo por un periodo de 15 minutos antes de iniciar el experimento (periodo de estabilización). Durante ese lapso de tomaron mediciones de actividad cardiaca, flujo coronario y muestras basales de la isoenzima MB de la creatín cinasa (CK-MB).

2.2. Una vez pasado el periodo de estabilización se suspendió la perfusión de solución de Krebs-Henseleit durante 30 minutos (periodo de isquemia).

2.3. Durante el periodo de isquemia mediante sorteo se distribuyeron los corazones en dos grupos de 7 corazones cada uno. El grupo I o experimental recibió durante la reperfusión solución de Krebs-Henseleit con solución hipertónica-hiperoncótica obteniendo una concentración de sodio de 150 mEq/l (68). El grupo II o grupo control solo recibió durante la reperfusión solución de Krebs-Henseleit.

No se modificaron la oxigenación, la presión de perfusión ni la temperatura.

### 3. REPERFUSION.

3.1. Completado el periodo de isquemia se reinició la perfusión de solución de Krebs-Henseleit sola o con solución hipertónica-hiperoncótica, dependiendo del grupo. El momento en que inició la reperfusión se tomó como tiempo 0, y la reperfusión se mantuvo por 60 minutos durante los cuales se vigiló la actividad cardíaca continuamente y se midió flujo coronario y se tomaron muestras para determinación de niveles enzimáticos a los 0, 5, 15, 30 y 60 minutos de reperfusión.

### 4. DETECCION DE ARRITMIAS.

4.1. El electrodo endocárdico bipolar se conectó a un monitor de un canal (Fig 6) para trazo electrocardiográfico pPg modelo ED-420 (Biomedical Systems Division, The Netherlands), con el que se vigiló desde el periodo de estabilización el trazo electrocardiográfico, hasta los 60 minutos de

reperfusión. Se tomaron trazos de ambos grupos y en particular cuando se presentó la arritmia.

## 5. MEDICION DE FLUJO CORONARIO

5.1. El catéter dejado en la luz de la aurícula derecha se mantuvo permeable desde su colocación hasta los 60 minutos de reperfusión, dejando la salida a gravedad del efluente del seno coronario hacia un vaso de precipitado (Fig 4).

5.2. Durante el periodo de estabilización se vació el vaso de precipitado y se colectó el efluente durante un minuto, midiéndolo posteriormente con jeringas con capacidad de 3 cc.

5.3. El mismo procedimiento se efectuó a los 0, 5, 15, 30 y 60 minutos de reperfusión.

## 6. TOMA DE MUESTRAS Y DETERMINACION DE NIVELES DE CK-MB

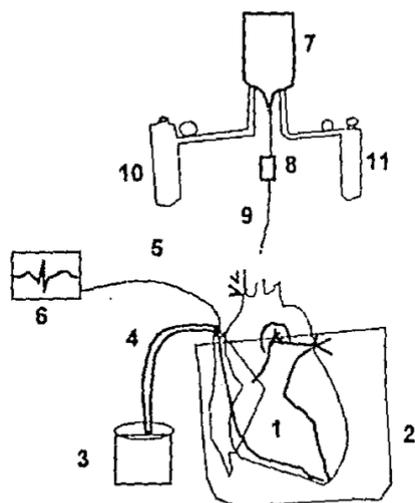
6.1. Durante el periodo de estabilización antes de iniciar el periodo de isquemia se tomaron 3 cc de líquido efluente para determinación de niveles de CK-MB (Fig. 4).

6.2. Al reiniciar la reperfusión, del efluente obtenido para medición de flujo coronario se tomaron 3 cc a los 0, 5, 15, 30 y 60 minutos de reperfusión para determinación de niveles de CK-MB.

6.3. Todas las muestras se conservaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

6.4. La determinación de niveles enzimáticos se realizó por duplicado en el Laboratorio Clínico del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI del I.M.S.S., mediante enzima inmunoanálisis

## MODELO DE LANGENDORFF



1. Corazón aislado
2. Recipiente
3. Vaso para colectar efluente
4. Catéter de aurícula derecha
5. Electrodo endocárdico
6. Monitor
7. Solución de Krebs - Henseleit
8. Filtro
9. Equipo para venoclisis
10. Oxígeno
11. Bióxido de carbono

Fig. 4. Este es un esquema de la preparación de Langendorff detallando cada uno de sus componentes.

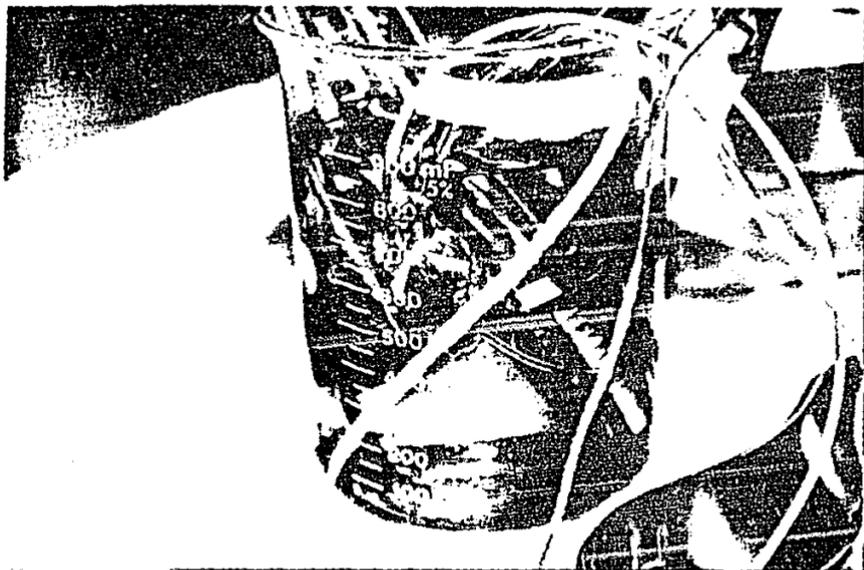


Fig. 5. Se observa el corazón aislado inmerso en solución de Krebs-Henseleit en vaso de precipitado, y perfundido con solución del mismo tipo.

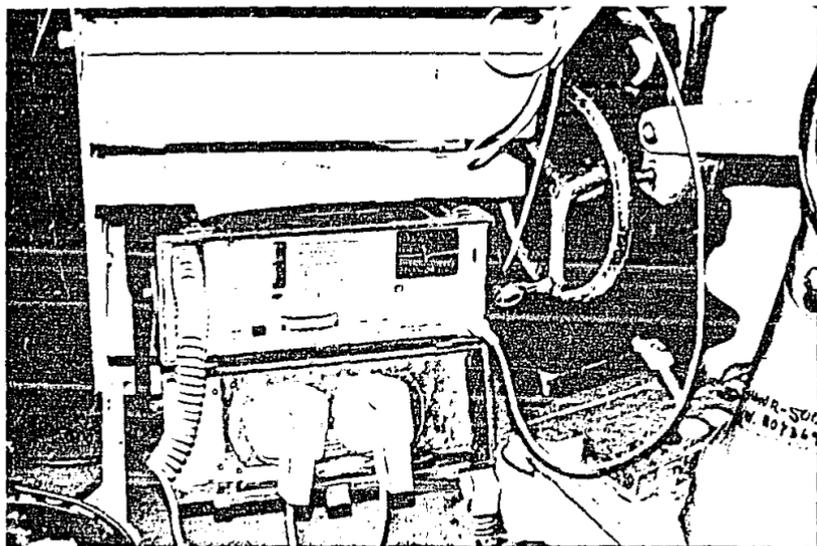


Fig. 6. Se observa el trazo inmediato post-reperusión de uno de los ensayos, en el monitor empleado en el trabajo.

fluorométrico con un aparato Stratus II (Baxter Diagnostics Inc. Miami, Flo.) y reactivos para el mismo con número de catálogo B5700-60 (Baxter Diagnostics Inc. Deerfield, Il 60015-4633 USA). El principio de este estudio es la determinación de la cantidad de CK-MB presente al ser unida a anticuerpos monoclonales de suero de ratón contra la CK-MB, marcados con fluoresceína, valor medido por el aparato y el resultado es expresado en ng/ml.

## 7. HISTOPATOLOGIA.

7.1. Al terminar la hora de reperfusión, el corazón se extrajo del recipiente y se tomó un fragmento de la punta del ventrículo izquierdo de aproximadamente 0.1 mm el cual inmediatamente fue colocado en solución de glutaraldehído al 2.5%. Mediante sección coronal fue revisado en su interior (Fig 7), dejando segmentos anterior y posterior.

7.2. Se corroboró la integridad de los tabiques interauricular e interventricular.

7.3. El segmento posterior se colocó en solución de formol al 10% amortiguado con fosfatos para obtener una fijación adecuada.

7.4 Las muestras para microscopía de luz y electrónica fueron identificadas con número progresivo.

7.5. Para la observación del tejido con microscopía de luz se preparó de la siguiente manera:

7.5.1. Las muestras se dejaron fijar en solución de formol amortiguado por 48 horas.

- 7.5.2. Posteriormente se efectuaron cortes transversales para ser seleccionados para el proceso de inclusión.
- 7.5.3. Se incluyeron en parafina por el método convencional.
- 7.5.4. Se hicieron cortes de 4 micras para tinción con hematoxilina-eosina y tricrómico de Masson.
- 7.5.5. Se efectuó el análisis con microscopio de luz.
- 7.6. La preparación del tejido para estudio de microscopía electrónica se efectuó como a continuación se describe:
- 7.6.1. Las muestras se dejaron fijar en glutaraldehído por 3 horas.
- 7.6.2. Posteriormente se lavaron en solución de buffer de fosfatos durante 2 horas.
- 7.6.3. Se postfijaron en osmio 2 horas.
- 7.6.4. Se efectuó deshidratación en alcoholes y aclaramiento con etanol absoluto.
- 7.6.5. A continuación fueron infiltradas con araldita 6000 hasta quedar totalmente incluidas en resina.
- 7.6.6. Los cortes siguientes se efectuaron con ultramicrotomo Reichter obteniendo cortes semifinos.
- 7.6.7. Se estudiaron los cortes semifinos al microscopio de luz con la finalidad de seleccionar las áreas para cortes finos.
- 7.6.8. Se hicieron los cortes finos y se montaron en rejillas.
- 7.6.9. Se efectuó la observación de los cortes semifinos en microscopio electrónico Jeol.
- 7.7. La porción anterior del corazón se utilizó para el cálculo de contenido de agua miocárdica (CAM), de la siguiente manera:

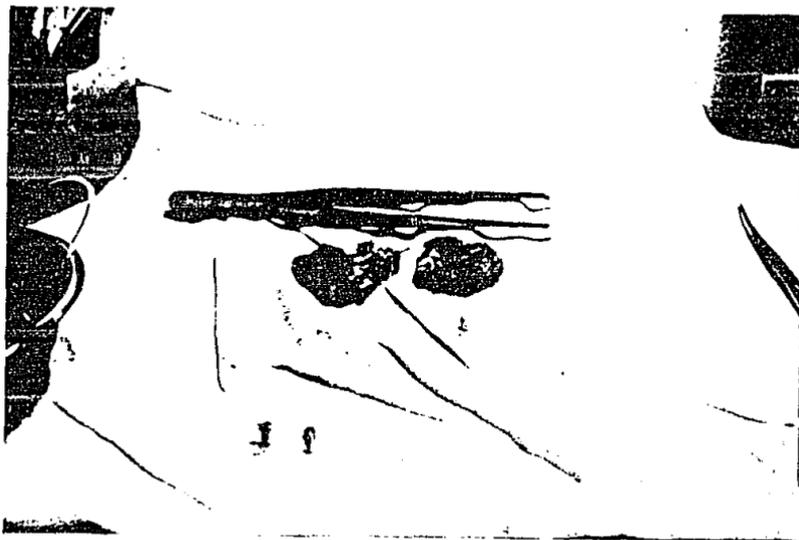


Fig. 7. La sección coronal del corazón permitió revisar la integridad de los tabiques interauricular e interventricular, así como calcular con un segmento el contenido de agua miocárdica y con otro el estudio histopatológico.

7.7.1. Se pesó una vez seccionada en una balanza analítica (E. Mittler, Zurich), con precisión de diezmilésimas de gramo (Fig 3).

7.7.2. Se colocó en una estufa a 80°C para desecación por 24 horas.

7.7.3. Al completar el período de desecación fue pesado nuevamente en la misma balanza por el mismo observador.

7.7.4. El cálculo del CAM se efectuó con la fórmula utilizada por Breda y cols (41) en su trabajo, y que es la siguiente:

$$\text{CAM} = (1 - \text{peso seco/peso húmedo}) 100\%$$

Para mantener la ceguedad en el estudio se efectuaron las siguientes maniobras:

1. Las mediciones de flujo coronario y arritmias fueron realizadas por evaluadores que no supieron que tipo de solución se usó en la reperfusión.

2. Las muestras para estudios del líquido efluente y de histopatología se rotularon en número progresivo, desconociendo, quienes efectuaron estas evaluaciones, a que grupo pertenecía cada muestra.

Además se determinó la variabilidad intraobservador para el anatomopatólogo que realizó el estudio histopatológico y las muestras para determinar niveles de CK-MB se procesaron por duplicado con un solo equipo de reactivos.

## ANALISIS ESTADISTICO

Se efectuó estadística descriptiva para conocer las características de cada grupo y para comparación entre grupos se utilizó la U de Mann-Whitney y la prueba exacta de Fisher.

El nivel de significancia determinado fue de  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

Los resultados obtenidos en las variables estudiadas no presentaron distribución normal, por lo que los valores de tendencia central y de dispersión que se presentan son mediana (Md) y desviación cuartílica (Q).

**EDEMA:** Para determinar el grado de edema se cuantificó como arriba se anota el CAM y la observación histopatológica.

En cuanto al CAM, el cuadro II presenta los valores promedios y de dispersión de ambos grupos. La diferencia entre los porcentajes de agua miocárdica de ambos grupos fue estadísticamente significativa con un valor de  $p < 0.05$  (0.476).

El edema se evaluó como parte de la escala de medición de lesión histopatológica.

**ARRITMIAS:** En cuanto a esta variable, el grupo I (experimental), reperfundido con solución hipertónica-hiperoncótica, no presentó alteraciones del ritmo durante los 60 minutos que duró la reperfusión. Además llamó la atención que todos los corazones de este grupo iniciaron la actividad contráctil espontáneamente en los primeros 5 minutos de reperfusión.

En el grupo II, el 57.14% (4/7) presentaron alteraciones del ritmo (Fig 9), que fueron extrasístoles ventriculares aisladas en 1 caso, bigeminismo 1 caso, y fibrilación ventricular en 2 casos. En ningún caso la actividad contráctil inició antes de los 5 minutos de reperfusión.

La diferencia en la incidencia de arritmias fue estadísticamente significativa con un valor de  $p < 0.05$  (0.0349).

**NIVELES DE CK-MB:** El grupo I mantuvo niveles de CK-MB con una mediana de 2.14 +/- 1.41, y el grupo II Md= 78.5 +/- 2.92 durante la reperfusión y la fig 10 muestra la evolución de este parámetro durante la hora de reperfusión, donde puede observarse un pico inicial con posterior decremento en ambos grupos, e incremento posterior en el grupo II.

La diferencia entre los valores de ambos grupos fue estadísticamente significativa con un valor de  $p < 0.05$  (0.0350).

**ALTERACIONES HISTOPATOLÓGICAS:** De acuerdo a las clasificaciones anotadas, se estableció lesión atribuible a la isquemia o a la reperfusión. No hubo diferencias significativas  $p = 0.47$  en cuanto a la lesión isquémica, lo que habla de la homogeneidad de este fenómeno en ambos grupos. En cambio la lesión celular muscular y endotelial atribuida a la reperfusión, aunque presente en ambos grupos, fue menor en el grupo I (Figs 11-17), con una diferencia estadísticamente significativa  $p < 0.05$  (0.018).

**FLUJO CORONARIO:** El flujo coronario durante la reperfusión fue mayor a lo largo de este período en el grupo I (Md= 12 +/- 5.45 ml/min) respecto al grupo II (Md=2.2 +/- 2.15 ml/min) (Fig 18), y la diferencia entre ambos grupos fue estadísticamente significativa  $p < 0.05$  (0.0350).

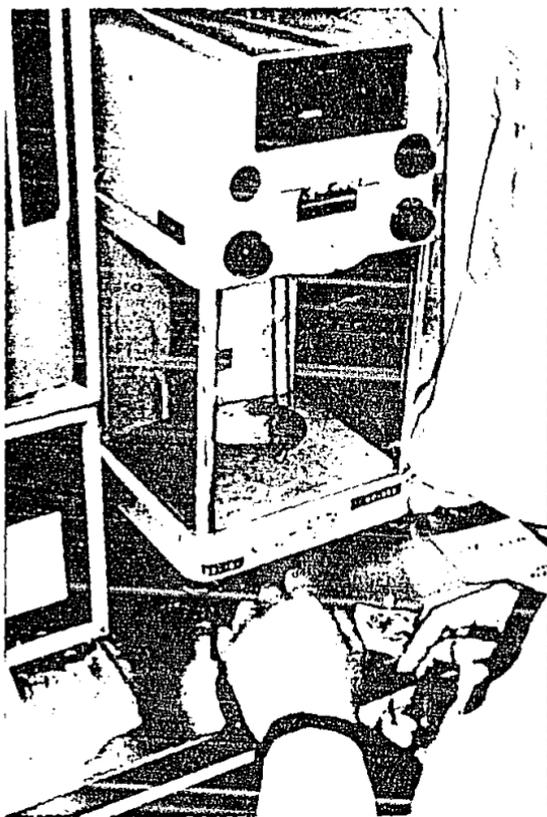
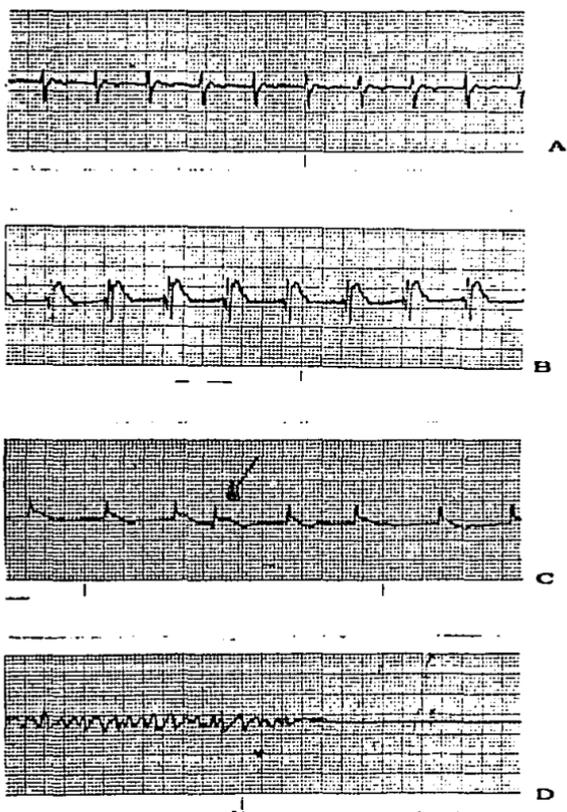


Fig. 8. El peso del segmento anterior de cada uno de los corazones se efectuó en una balanza analítica por un mismo observador.



**Fig. 9.** Puede observarse trazos electrocardiográficos de ambos grupos. Mientras el grupo experimental (A y B) no manifestó alteraciones. El grupo control (C y D), tuvo un caso extremo de fibrilación ventricular y asistolia (D).

# NIVELES DE CK-MB

## COMPARACION DE GRUPOS I y II

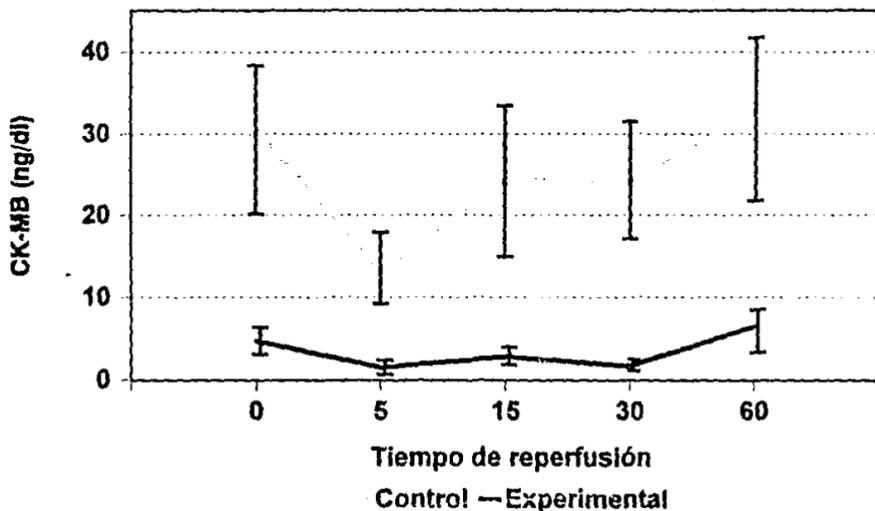


Fig. 10. La gráfica del comportamiento de los niveles enzimáticos durante la fase de reperusión muestra valores inferiores en el grupo experimental a lo largo de los 60 minutos que duró el ensayo.

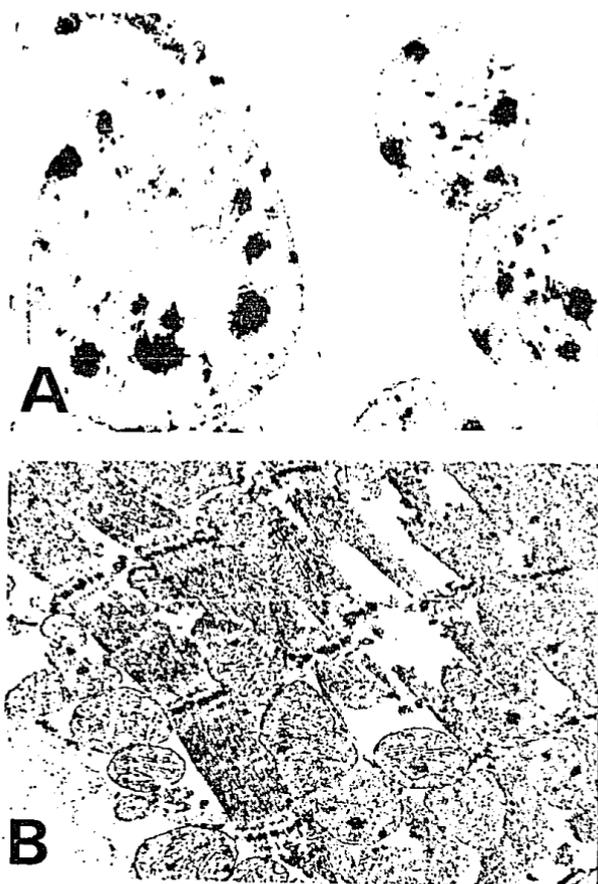


Fig. 11. En la microfotografía electrónica A (grupo II), con aumento de 30,000 x, existe edema mitocondrial acentuado, aumento importante de densidades, daño en las membranas externa mitocondrial y la de las crestas. En la microfotografía B (grupo I) a 15,000 x las mitocondrias presentan cambios mínimos: acentuación de crestas y aumento discreto en el número de densidades.

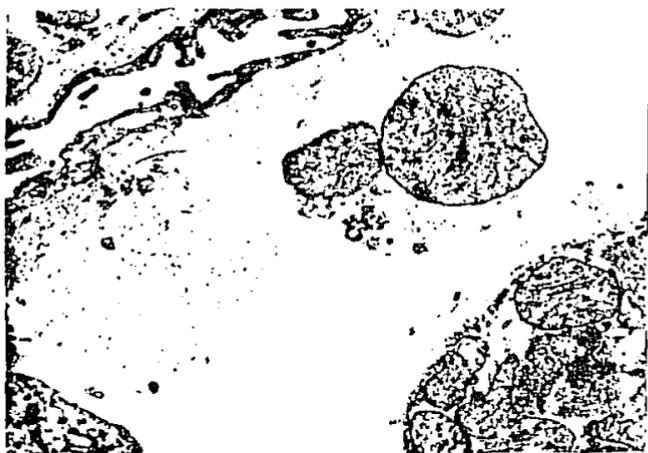


Fig. 12. Esta micrografía a 15,000 x corresponde al grupo II (control), y se visualiza daño severo por presencia de mitocondrias en el espacio extracelular, edema intersticial y la pared de un capilar con procesos intraluminales.



Fig. 13. Esta micrografía a 6,000 x corresponde al grupo I y muestra edema intersticial, discreto edema intracelular, un eritrocito en la luz capilar y discretos cambios en las mitocondrias. Si se compara con la Fig 12. (lesión severa), la magnitud del daño es menor en la presente.



Fig. 14. La microfotografía a 6,000 x corresponde al grupo II y muestra edema intersticial electrodenso, de aspecto lanáceo que diseca fibras de colágena y el núcleo de la célula endotelial con aglutinación leve de la cromatina.



Fig. 15. Microfotografía a 15,000 x de un caso del grupo II que presenta un capilar con aglutinación moderada de la cromatina nuclear y procesos intraluminales marcados, indican lesión endotelial severa.



Fig. 16. Se presenta un aumento de 15,000 x de un corte de miocardio del grupo I, con edema intracelular (espacios claros), edema mitocondrial y sarcómeras bien conservadas.

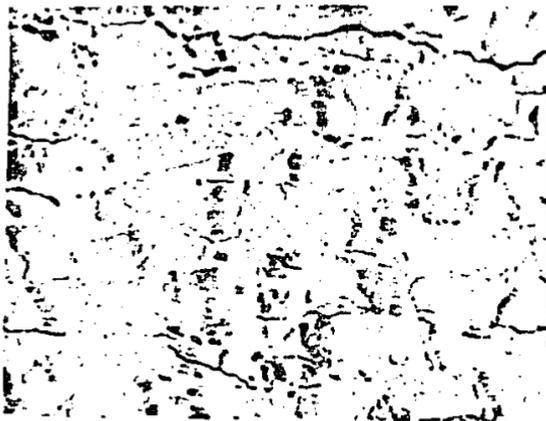


Fig. 17. Esta microfotografía a 1100 x, presenta bandas de contracción, hallazgos observado en ambos grupos, pero preponderante en el grupo control.

## FLUJO CORONARIO EN REPERFUSION

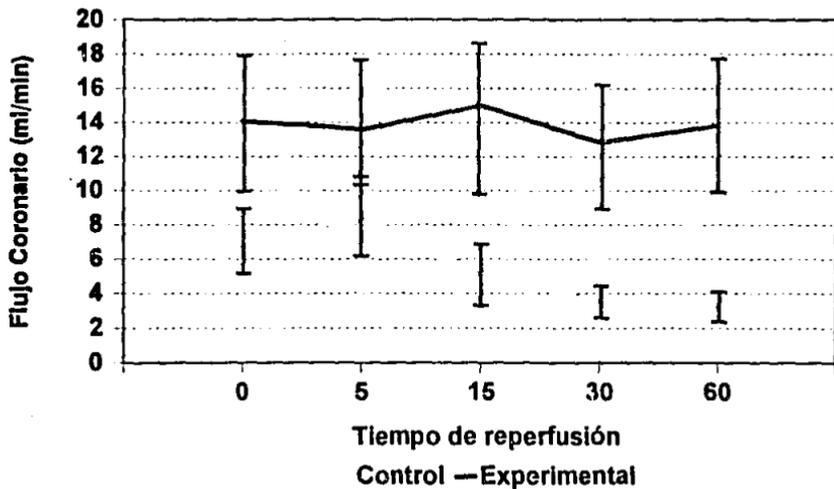


Fig. 18. El flujo coronario no fue adecuado en el grupo control. En cambio el grupo experimental mostró niveles promedio en las mediciones realizadas, superiores a los 12 ml/min.

**CUADRO II**  
**CONTENIDO DE AGUA MIOCARDICA (PORCENTAJE)**

<u>GRUPO I (EXPERIMENTAL)</u>	<u>GRUPO II (CONTROL)</u>
x= 70.29	x= 77.29
s= 5.92	s= 3.88
Md= 68.71	Md= 78.5
Q= 1.73	Q= 1.7

Cuadro II. Los resultados del porcentaje del peso del corazón dependiente de agua presentan diferencias en ambos grupos donde el menor porcentaje correspondió al grupo experimental, lo que indica un menor contenido de agua y por tanto menor edema.

## DISCUSION

Los resultados de esta tesis, muestran que aplicar las soluciones hipertónicas-hiperoncóticas como opción terapéutica o inclusive profiláctica para tratar los efectos de la lesión por reperfusión es una buena alternativa ya que el efecto protector mostrado es más integral que el proporcionado por otras medidas terapéuticas.

Se sabe que una obstrucción crítica como el caso de la cardiopatía isquémica en un corazón sometido a isquemia global agrava el daño por reperfusión al disminuir la velocidad de la sangre, aumentar la adhesión de PMN al endotelio y aumentar la producción de radicales libres (26).

Si un corazón isquémico es reperfundido oportunamente (antes de 3 horas del momento en que inició la obstrucción, se recupera mayor cantidad de miocardio aunque esta cantidad es variable (1, 69), aunque la hipoperfusión no necesariamente implica isquemia, pues los miocitos muertos no consumen oxígeno y los viables tienen disfunción contráctil ("aturdimiento"), por lo que la demanda de flujo es menor (4), pero es a ellos a quienes se deben enfocar los efectos protectores pues al momento de la reperfusión al encontrarse en una zona nutrida por colaterales (70), el daño capilar por reperfusión puede lesionarlos de manera irreversible.

En los estudios sobre el efecto de los barredores de radicales libres o antagonistas de la xantina-oxidasa, el efecto más observado ha sido evitar el deterioro de la función contráctil posreperfusión (71) con la protección con hipotermia a 27°C (7), por algunos autores (72), que encontraron además el inicio espontáneo de la actividad cardíaca con antioxidantes. En otros casos las diferencias para la protección de

enzimas antioxidantes con derivados no tóxicos de endotoxinas fueron aceptadas como estadísticamente significativas con valores de  $p= 0.05$ , habiéndose indicado que el nivel escogido sería  $p<0.05$  (61), lo que metodológicamente puede ser cuestionable.

El modelo implementado para este trabajo que no nos permitió evaluar la función contráctil, facilitó el análisis del comportamiento bioquímico, eléctrico (en cuanto a la incidencia de arritmias), así como el flujo coronario y la morfología postreperusión en un modelo protegido con solución hipertónica-hiperoncótica.

Sabemos que la liberación de CK-MB ocurre por daño irreversible de la membrana celular (73) y es el indicador bioquímico más aceptado de daño miocárdico (74), cuyos niveles en la reperusión han sido abatidos por algunos autores con el empleo de SOD y catalasa o alopurinol (29) en períodos de 60 minutos hasta 48 horas posreperusión. Sin embargo la primera hora de reperusión es crítica sobre todo en cirugía a corazón abierto, pues en ese lapso ocurre el destete de la derivación cardiopulmonar y es cuando se presenta la lesión por reperusión con aturdimiento miocárdico, por lo que nuestro estudio se enfocó a esa hora y se observó un decremento importante de la CK-MB. A este respecto es necesario reconocer que la reperusión facilita el lavado de CK-MB y puede dar una falsa apreciación sobre el agravamiento del daño isquémico (75), además de que hay inactivación de la enzima aparte de la liberación (76). Sin embargo al comparar los niveles de ambos grupos y el flujo coronario, se observa que en el grupo donde hay mejor flujo coronario los niveles totales de CK-MB son menores, aunque ambos grupos presentan

un pico inicial que puede corresponder efectivamente al lavado de la CK-MB liberada durante el período isquémico, correspondiendo las modificaciones en el período de la reperfusión a los efectos lesivos de la misma reperfusión.

Otra alternativa utilizada para disminuir la liberación de CK-MB ha sido la deferoxamina que además ha mostrado preservar mejor la histología del miocardio (77), ambos muestra evidente de su potencial beneficio, sin embargo al evaluar el contenido de agua miocárdica (CAM), no mostró diferencia significativa entre un grupo que recibió este fármaco y un grupo control (65). Nosotros, además de un menor nivel de CK-MB y menor lesión histológica, encontramos una diferencia significativa en favor del grupo tratado con solución hipertónica-hiperoncótica que mostró una menor cantidad de agua retenida, lo que se traduciría como menor edema y por tanto mayor posibilidad de funcionamiento adecuado del miocardio

Por otro lado la incidencia de arritmias como fenómeno directo de la reperfusión observada en nuestro grupo control (57.14%), se mantiene dentro de la incidencia informada en otras series que informan 41% (1), 62% (27) y 80% (29) en modelos caninos con oclusión segmentaria y 70% aún con obstrucciones severas sobre todo con inicio en el subendocardio (78), como lo observó Pogwizd en 75% de los casos de taquicardia ventricular no sostenida (28), aún hasta 24 horas postreperfusión en animales tratados con diltiazem y propranolol (48). Bernier utilizó manitol como alternativa para controlar la incidencia de arritmias lo que logró al disminuirlas desde 80% a 40% en taquicardia ventricular y 7% de fibrilación ventricular. Si bien la hipótesis de ese trabajo fue el efecto barredor de

secuestrador de radicales libres por el manitol, no debe descartarse la posibilidad del efecto osmótico, ya que nosotros observamos un decremento de arritmias de 57.14% a 0% con la solución hipertónica-hiperoncótica cuyos efectos ya demostrados son la mejoría de la microcirculación, vasodilatación, incremento de la contractilidad miocárdica y captación de líquido intersticial (79-81), además de que el inicio de la actividad contráctil fue más rápido en la reperfusión en el grupo experimental.

El mecanismo del efecto benéfico en ambos estudios está aún por aclararse puesto que no se ha definido con certeza el mecanismo de producción de las arritmias en la reperfusión (27-29, 76, 82), aunque Nejima y cols en un estudio a largo plazo en tres grupos (control, tratado con SOD-catalasa y otro únicamente con SOD recombinante), observó arritmias en los tres grupos 2 a 5 horas después de la oclusión de la arteria coronaria circunfleja con una incidencia menor en el grupo que recibió SOD recombinante (43), que favorece la explicación que involucra a los radicales libres como generadores directa o indirectamente de las arritmias.

También empleando SOD y catalasa Shlafer y cols (72), en un modelo similar al nuestro, encontraron mejoría en la función contráctil, mantenimiento del flujo coronario similar al preischemico, pero la misma cantidad de agua miocárdica respecto a sus controles, además de que en su modelo el grupo con mejores resultados además de la hipotermia, recibió solución cardioplégica con las enzimas, por lo que aunque el desarrollo del procedimiento es similar al de la cirugía a corazón abierto,

deja de lado el equivalente al evento isquémico agudo que es sometido a **reperusión temprana**, lo que nosotros igualamos al mantener en **normotermia** nuestro modelo que consecuentemente agrava la lesión isquémica, además de no suministrar cardioplegia y aún así la reperusión con solución hipertónica-hiperoncótica mostró resultado similar en cuanto al flujo coronario, pero además ocasionó un menor contenido de agua miocárdica.

Otras opciones utilizadas se han orientado al control de leucocitos como factor obstructivo y formador de radicales libres. Así se ha demostrado que utilizando filtros de leucocitos puede mejorarse la contractilidad postisquémica (44), al igual que la infusión de adenosina para evitar el acúmulo leucocitario y preservar la célula endotelial manteniendo un flujo coronario adecuado (83, 84). Nuestros resultados a este respecto muestran que el flujo coronario se mantiene e inclusive se incrementa respecto al basal preisquémico en el grupo en que se adicionó la solución de sodio al 7,5% y dextrán 60 en el líquido de reperusión y en cambio el grupo control presentó un decremento muy marcado de esta variable. Aunque el modelo que utilizamos fue reperfundido con cristaloides hay la hipótesis de que el dextrán evita la agregación leucocitaria, con lo que el resultado sería similar a obtenido con la adenosina.

En cuanto al daño estructural como ya se sabe, los cambios detectables a la microscopía de luz ocurren entre los 120 y 240 minutos de isquemia (35), sin embargo la evaluación con esta técnica se realizó como paso previo al análisis de ultraestructura, donde las escalas utilizadas nos permitieron demostrar la similitud de daño ocasionado por la isquemia en

ambos grupos y la diferencia de lesión ocasionada por la reperfusión cuyos hallazgos coinciden con los descritos por Hochman y cols quienes enfatizan la presencia de edema y bandas de contracción como evidencia de daño por reperfusión (85), y en que en el grupo reperfundido con solución hipertónica-hiperoncótica fueron menos severas.

Cabe mencionar que gran parte de los estudios de medidas de tratamiento o prevención de la lesión por reperfusión segmentaria se han hecho en modelo canino, el cual tiene como desventaja para este fin la presencia de colaterales entre las ramas coronarias descendente anterior y circunfleja (86-87), que pueden en sesgar los resultados al no obtenerse una isquemia real del segmento estudiado.

En resumen, diremos que un corazón sometido a isquemia por breves períodos tarda varios días en recuperarse por completo (88), cuanto menor sea la duración de la isquemia, la recuperación de la función ventricular será más significativa y cualquier acción protectora contra la reperfusión en caso de paro cardioplégico prolongado, revascularización miocárdica o preservación de órganos y trasplante debe iniciarse lo más pronto posible (21). Esta acción protectora deberá complementar las medidas de reperfusión (trombolisis, angioplastia o revascularización) ya que ellas por si mismas pueden no ser suficientes como en el caso de la trombolisis con estreptoquinasa a cuyo efecto de lisis del trombo se ha agregado la capacidad de secuestro de radicales libres por lo que pudiera creerse no útil la administración de otra medida protectora contra la reperfusión. Sin embargo es mínimo el secuestro de radicales (90), por lo

que debe apoyarse con otras medidas con lo que seguramente se recuperará mayor cantidad de miocardio.

Finalmente, insistiremos en que ninguna de las alternativas hasta ahora propuestas como protectoras contra la lesión por reperfusión ofrece una protección integral y que la solución hipertónica-hiperoncótica como muestran nuestros resultados, puede ser la mejor opción en el tratamiento para proteger el miocardio de la lesión por reperfusión.

## CONCLUSION

Con los resultados obtenidos y la comparación con la literatura podemos concluir que la administración de solución hipertónica-hiperoncótica al momento de la reperfusión después de un periodo isquémico disminuye el daño por reperfusión en corazón aislado, incrementando el flujo coronario, evitando el aumento del contenido de agua miocárdica y el daño estructural observado a la microscopía electrónica y por parámetros bioquímicos (CK-MB), además de disminuir la incidencia de arritmias.

## REFERENCIAS

1. Reiner KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB: The wavefront phenomenon of ischemic cell death: myocardial infarct size versus duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation* 1977; 56: 786-793.
2. Rutkow IM: Rates of surgery in the United States. *Surg Clin North Am* 1982; 62: 559-578.
3. De Wall RA, Warden HE, Varco RL, Lillehei CW: The helix reservoir pump oxygenator. *Surg Gynecol Obstet* 1957; 104: 699-705.
4. Gibbon JR Jr: Application of a mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery. *Minn Med* 1954; 27: 171-178.
5. Lam CR, Geoghen T, Alford A: Induced cardiac arrest for intracardiac surgical procedures: an experimental study. *J Thorac Surg* 1955; 30: 620-629.
6. Silverman NA, Lentsky S: Intraoperative myocardial protection in the context of coronary revascularization. *Prog Cardiovasc Dis* 1987; 29: 413-420.
7. Ferrari R, Raddino R, Di Lisa F et al: Effects of temperature on myocardial calcium homeostasis and mitochondrial function during ischemia and reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990; 99: 919-928.
8. Tyers GFO, Williams DR, Babb JD: The changing status of ejection fraction as a predictor of early mortality following surgery for acquired heart disease. *Chest* 1977; 71: 371-375.

9. Akins CW, Carrol DL: Event free survival following nonemergency myocardial revascularization during hypothermic fibrillatory arrest. *Ann Thorac Surg* 1987; 43: 628-633.
10. Ganz W, Watanabe I, Kanamasa K, et al: Does reperfusion extend necrosis? *Circulation* 1990; 82: 1020-1033.
11. Vinten-Johansen J, Johnston WE, Mills SA: Reperfusion injury after temporary coronary occlusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1988; 95: 960-968.
12. Tyers GFO, Mantey NJ, Williams EH: Preliminary clinical experience with isotonic hypothermic potassium induced arrest. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1977; 74: 674-681.
13. Topol EJ: Advances in thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. *J Clin Pharmacol* 1987; 26: 735-745.
14. Braunwald E, Kloner RA: Myocardial reperfusion: a double edged sword? *J Clin Invest* 1985; 76: 1713-1719.
15. Bolli R: Mechanism of myocardial "stunning". *Circulation* 1990; 82: 723-738.
16. Hearse DJ, Garlick PB, Humphrey SM: Ischemic contracture of the myocardium: mechanism and prevention. *Am J Cardiol* 1971; 39: 986-993.
17. Dorheim TA, Hoffman A, Van Wylen DGL, Mentzer RM: Enhanced interstitial fluid adenosine attenuates myocardial stunning. *Surgery* 1991; 110: 136-145.
18. Marban E: Myocardial stunning and hibernation the physiology behind the colloquialisms. *Circulation* 1991; 83: 681-688.

19. Mc Cord JM: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Eng J Med* 1985; 312: 159-163.
20. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, et al: Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107: 526-545.
21. Ko W, Hawes AS, Lazenby D, et al: Myocardial reperfusion injury: platelet activating factor stimulates polymorphonuclear leucocyte hydrogen peroxide production during myocardial reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 102: 297-308.
22. Bulkley GB: Free radical-mediated reperfusion injury: a selective review. *Br J Cancer* 1987; 55: 66-73.
23. Opie LH: Reperfusion injury and its pharmacological modification. *Circulation* 1989; 80: 1049-1062.
24. Forman MB, Virmani R, Puett DW: Mechanism and therapy of myocardial reperfusion injury. *Circulation* 1990; 81: IV69-IV78.
25. Sum JZ, Kaur H, Halliwell B, et al: Use of aromatic hydroxylation of phenylalanine to measure production of hydroxyl radicals after myocardial ischemia in vivo. *Circ Res* 1993; 73: 534-549.
26. Richard VJ, Murry Ch, Jennings RB, Reimer KA: Therapy to reduce free radicals during early reperfusion does not limit the size of myocardial infarcts caused by 90 minutes of ischemia in dogs. *Circulation* 1988; 78: 473-480.
27. Priori SG, Mantica M, Napolitano C, Schwartz PJ: Early after depolarizations induced in vivo by reperfusion of ischemic myocardium a possible mechanism for reperfusion arrhythmias. *Circulation* 1990; 81: 1911-1920.

28. Pogwizd SM, Corr PB: Electrophysiologic mechanism underlying arrhythmias due to reperfusion of ischemic myocardium. *Circulation* 1987; 76: 404-426.
29. Bernier M, Hearse DJ, Manning AS: Reperfusion-induced arrhythmias and oxygen-derived free radicals studies with "anti-free radical" interventions and free radical-generating system in the isolated perfused rat heart. *Circ Res* 1986; 58: 331-340.
30. Kloner RA, Przylenk K, Patel B: Altered myocardial states: the stunned and hibernating myocardium. *Am J Med* 1989; 86: 1A14- 1A22.
31. Przylenk K, Kloner RA: Reperfusion injury oxygen-derived free radicals: effects of superoxide dismutase plus catalase given at the time of reperfusion on myocardial infarct size, contractile function, coronary microvasculature and regional myocardial blood flow. *Circ Res* 1989; 64: 86-96.
32. Kloner RA, Rude RE, Carlson N, et al: Ultrastructural evidence of microvascular damage and myocardial cell injury after coronary artery occlusion: which comes first? *Circulation* 1980; 62: 945-952.
33. Zikria BA, Subbarao Ch, Oz MC, Popilkis SJ, et al: Hydroxiethyl starch macromolecules reduce myocardial reperfusion injury. *Arch Surg* 1990; 125: 930-934.
34. Litt MR, Jeremy RW, Weisman HF, et al: Neutrophil depletion limited to reperfusion reduces myocardial infarct size after 90 minutes of ischemia: evidence for neutrophil-mediated reperfusion injury. *Circulation* 1989; 80: 1816-1827.

35. Virmani R, Forman MB, Kolodgie FD: Myocardial reperfusion injury: histopathological effects of perfluorochemical. *Circulation* 1990; 81: IV57-IV68.
36. Hori M, Gotoh K, Kitakaze M, et al: Role of oxygen-derived free radicals in myocardial edema and ischemia in coronary embolization. *Circulation* 1991; 84: 828-840.
37. Jolly SR, Kane WJ, Hook BG, et al: Reduction of myocardial infarct size by neutrophil depletion: effect of duration of occlusion. *Am Heart J* 1986; 112: 682-690.
38. Ambrosio G, Jacobus WE, Bergman CA: Preserve high energy phosphate metabolic reserves in globally "stunned" hearts despite reduction of basal ATP contents and contractility. *J Moll Cell Cardiol* 1987; 19: 953-964.
39. Hinder RA, Stein HJ: Oxygen-derived free radicals. *Arch Surg* 1991; 126: 104-105.
40. Wallace SS: The biological consequences of oxidized DNA bases. *Br J Cancer* 1987; 55: 118-128.
41. Gutiérrez G: Cellular energy metabolism during hypoxia. *Crit Care Med* 1991; 19: 619-626.
42. Breda MA, Drinkwater DC, Laks H, et al: Prevention of reperfusion injury in the neonatal heart with leukocyte-depleted blood. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989; 97: 654-665.
43. Nejima J, Knight DR, Fallon JT, et al: Superoxide dismutase reduces reperfusion arrhythmias but fails to salvage regional function or myocardium at risk in conscious dogs. *Circulation* 1989; 79: 143-153.

44. Westlin W, Nullane KM: Alleviation of myocardial stunning by leukocyte and platelet depletion. *Circulation* 1989; 80: 1828-1836.
45. Bajaj AK, Cobb MA, Virmani R, et al: Limitation of myocardial reperfusion injury by intravenous perfluorochemicals: role of neutrophil activation. *Circulation* 1989; 79: 645-656.
46. Farber NE, Pieper GM, Gross GJ: Lack of involvement of thromboxane A2 in postischemic recovery of stunned canine myocardium. *Circulation* 1988; 78: 450-461.
47. Bodenhamer RM, Johnson RG, Randolph JD, et al: The effect of adding mannitol or albumin to a crystalloid cardioplegic solution: a prospective randomized clinical study. *Ann Thorac Surg* 1985; 40: 374-379.
48. Bush LR, Buja LM, Tilton G, et al: Effects of propranolol and diltiazem alone and in combination on the recovery of left ventricular segmental function after temporary coronary occlusion and long-term reperfusion in conscious dogs. *Circulation* 1985; 72: 413-430.
49. Chávez-Negrete A, Suárez P, Avilés R, et al: Effectiveness of hyperoncotic-hyperosmotic solutions in decreasing CPK enzymatic output during reperfusion after thrombolysis in myocardial infarction. Presented at SALT-5 Congress, Galveston. June 2-5, 1992.
50. Van Blerk M, Maes V, Huyghens L, et al: Analytical and clinical evaluation of creatine kinase MB mass assay by IMx: comparison with MB isoenzyme activity and serum myoglobin for early diagnosis of myocardial infarction. *Clin Chem* 1992; 38: 2380-2386.

51. Michelle B, Mazzone C, Börgstrom P, et al: Capillary narrowing in hemorrhagic shock rectified by hyperosmotic saline dextran reinfusion. *Circ Shock* 1990; 31: 407-418.
52. De Felipe J Jr, Gimoner J, Velasco IT: Treatment of refractory hypovolemic shock by 7.5% sodium chloride injections. *Lancet* 1980; 2: 1002-1004.
53. Smith JP, Bodai BI, Hill AS: Prehospital stabilization of critically injured patients, a failed concept. *J Trauma* 1985; 25: 65-70.
54. Mattox KL, Maningas PA, Moore EE, et al: Prehospital hypertonic saline/dextran infusion for posttraumatic hypotension. *Ann Surg* 1991; 213: 482-491.
55. Boldt J, Zickmann B, Ballesteros M, et al: Cardiorespiratory responses to hypertonic saline solution in cardiac operations. *Ann Thorac Surg* 1991; 51: 610-615.
56. Mouren S, Delayance S, Fellahi JL, et al: Effects of hypertonic saline on coronary blood flow and myocardial performance of a blood-perfused isolated rabbit heart. Presented at SALT-5 Congress, Galveston. June 2-5, 1992.
57. Mathew BP, Amirfarzam S, Nelson SH, Kramer GC: Comparison of different hypertonic formulation on the contractility of myocardium. Presented at SALT-5 Congress, Galveston. June 2-5, 1992.
58. Merin RG: The isolated heart preparation. *Br J Anaesth* 1968; 60: 28S-34S.
59. Van der Kraaij AMM, Van Eijk HG, Koster JF: Prevention of postischemic cardiac injury by the orally active iron chelator 1,2

dimethyl-3-hydroxy-4-pyridone (L1) and the antioxidant (+)-cyanidanol-3. *Circulation* 1989; 80: 158-164.

60. De Boer DA, Clark RE: Iron chelation in myocardial preservation after ischemia-reperfusion injury: the importance of pretreatment and toxicity. *Ann Thorac Surg* 1992; 53: 412-418.

61. Nelson DW, Brown JM, Banerjee A, et al: Pretreatment with non-toxic derivative of endotoxin induces functional protection against cardiac ischemia-reperfusion injury. *Surgery* 1991; 110: 365-369.

62. Van der Kraaij AMM, Mostert LJ, Van Eijk HG, Koster JF: Iron-load increases the susceptibility of rat hearts to oxygen reperfusion damage. *Circulation* 1988; 78: 442-449.

63. Nelly JR, Liebermeister H, Battersby EJ, Morgan HE: Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat heart. *Am J Physiol* 1967; 212: 804-814.

64. Van de Werf F, Vanhaecke J, Jang IK, et al: Reduction in infarct size and enhanced recovery of systolic function after coronary thrombolysis with tissue-type plasminogen activator combined with beta-adrenergic blockade with metoprolol. *Circulation* 1987; 75: 830-836.

65. Menache P, Grousset Ch, Movas Ch, Piwnica A: A promising approach for improving the recovery on heart transplants. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990; 100: 13-21.

66. Ambrosio G, Weisman HF, Mannisi JA, Becker LC: Progressive impairment of regional myocardial perfusion after initial restoration of postischemic blood flow. *Circulation* 1989; 80: 1846-1861.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

67. Forman MB, Puett DW, Cates CU, et al: Glutathione redox pathway and reperfusion injury: effect N-acetylcysteine on infarct size and ventricular function. *Circulation* 1988; 78: 202-213.

68. Waagstein L, Haljamäe H, Rickstein SE, Sahlman L: Hypertonic saline for reversal of ischemia-induced cardiac dysfunction in the isolated rat heart. Presented at SALT-5 Congress, Galveston, June 2-5, 1992.

69. Murdock RH Jr, Chu A, Grubb M, Cobb FR: Effects of reestablishing blood flow on extent of myocardial infarction in conscious dogs. *Am J Physiol.* 1985; 249: H783 - H791.

70. Wiggers CJ: The functional importance of coronary collaterals. *Circulation* 1952; 5: 609-615.

71. Schröder ES, Sirna SJ, Kieso RA, Keiber RE: Sensitization of reperfused myocardium to subsequent coronary flow reductions. An extension of the concept of myocardial stunning. *Circulation* 1988; 78: 717-728.

72. Shlafer M, Kane PF, Kirsh MM: Superoxide dismutase plus catalase enhance the efficacy of hypothermic cardioplegia to protect the globally ischemic reperfused heart. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1982; 83: 830-839.

73. Lee TH, Goldman L: Serum enzyme assays in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Ann Intern Med* 1986; 105: 221- 233.

74. Kontinen A, Sommer H: Determination of serum creatine kinase isoenzymes in myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1972; 29: 817-820.

75. Jarmakani JM, Limbird L, Graham TC, Marks RA: Effect of reperfusion on myocardial infarct and the accuracy of estimating infarct

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- size from serum creatine phosphokinase in the dog. *Cardiovasc Res* 1976; 10: 245.
76. Kaplan LJ, Blum H, Banerjee A, Wheatman GJR: Protecting myocardial creatine kinase activity during reperfusion improves bioenergetics and contractile function. *J Surg Res* 1993; 54: 311-315.
77. Myers CL, Weiss SJ, Kirsh MM, Shlafer M: Involvement of hydrogen peroxide and hydroxyl radical in the "oxygen paradox": reduction of creatine kinase release by catalase, allopurinol or deferoxamine but not superoxide dismutase. *J Moll Cell Cardiol* 1985; 17: 675-684.
78. Richard VJ, Brooks SE, Jennings RB, Reimer KA: Effect of a critical coronary stenosis on myocardial neutrophil accumulation during ischemia and early reperfusion in dogs. *Circulation* 1989; 80: 1805-1815.
79. Bave AE, Tragus ET, Parkins WM: A comparison of isotonic and hypertonic solutions on blood flow and oxygen consumption in the initial treatment of hemorrhagic shock. *J Trauma* 1967; 7:743-747.
80. Lopes OV, Pontieri V, Rocha E y cols: Hemodynamic effects of hypertonic NaCl infusions during hemorrhagic shock in dogs. *J Physiol* 1980; 301: 64.
81. Maningas PA: Resuscitation with hypertonic saline/dextran during hemorrhagic shock in swine: effects on organ blood flow. *Crit Care Med* 1987; 15: 427.
82. Keresschot IE, Brugada P, Ramentol M y cols: Effects of early reperfusion in acute myocardial infarction on arrhythmias induced by programmed stimulation: a prospective randomized study. *J Am Coll Cardiol* 1986; 7: 1234-1242.

83. Pitarys CJ II, Virmani R, Vildibill HD, Jackson EK, Forman MB: Reduction of myocardial reperfusion injury by intravenous adenosine administered during early reperfusion period. *Circulation* 1991; 83: 237-247.
84. Babbit DG, Virmani R, Forman MB: Intracoronary adenosine administered after reperfusion limits vascular injury after prolonged ischemia in the canine model. *Circulation* 1989; 80: 1388-1399.
85. Hochman JS, Choo H: Limitation of myocardial infarct expansion by reperfusion independent of myocardial salvage. *Circulation* 1987; 75: 299-306.
86. Becker LC, Schuster EH, Jugdutt BI, Hutchins GM, Bulkley BH: Relationship between myocardial infarct size and occluded bed size in dog: differences between left anterior descending and circumflex coronary artery occlusion. *Circulation* 1983; 67: 549-557.
87. Jugdutt BI, Hutchins AM, Bulkley BM, Becker LC: Myocardial infarction in the conscious dog: three dimensional mapping of infarct collateral flow and region at risk. *Circulation* 1979; 60: 1141-1150.
88. Kloner RA, De Boer LWV, Darsee JR et al: Prolonged abnormalities of myocardium salvaged by reperfusion. *Am J Physiol* 1981; 241: H591-H599.
89. Bush LR, Buja LM, Samowitz W et al: Recovery of left ventricular segmental function after long-term reperfusion following temporary coronary occlusion in conscious dogs. Comparison of 2- and 4-hour occlusions. *Circ Res* 1983; 53: 248-263.
90. Fung AYM, Rabkin SW: Beneficial effects of streptokinase on left ventricular function after myocardial reoxygenation and reperfusion

following global ischemia in the isolated rabbit heart. J Cardiovasc Pharmacol 1984; 6: 429-435.