

51
Leji



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO, O.D.

SERVICIO DE CIRUGIA GENERAL

"IDENTIFICACION DE LA ISQUEMIA INTESTINAL
CON MARCADORES QUIMICOS. EVALUACION
COMPARATIVA ENTRE EL AZUL DE METILENO
Y LA FLUORESCINA." MODELO EXPERIMENTAL
EN RATA.

T E S I S

SECRETARIA DE SALUD

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO

SERVICIO DESCENTRALIZADO

U E P R E S E N T A :

DRA. SANDRA CECILIA LOPEZ ROMERO

PARA OBTENER EL TITULO DE

LA ESPECIALIDAD EN:

CIRUGIA GENERAL



DIRECCION DE ENSEÑANZA

TUTOR: DR. RAFAEL GUTIERREZ VEGA.

247900

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1998



Universidad Nacional
Autónoma de México

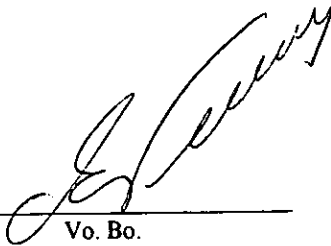


UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.



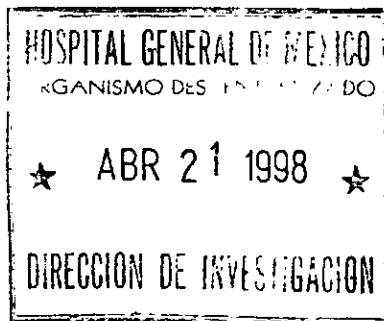
Vo. Bo.

Dr. Enrique Fernández Hidalgo
Profesor Titular del Curso
de Especialización en Cirugía General



Vo. Bo.

Dr. Rafael Gutiérrez Vega
Tutor de Tesis



ESTA TESIS FUE REGISTRADA CON LA CLAVE DIC/97/304/01/059

DEDICATORIA

A mi padre, Flavio A. López Torres, por su ejemplo en cuanto a disciplina, honestidad y esmero en su trabajo diario, por su confianza y su apoyo, por sus consejos y su amor.

A mi madre, Mirtha Romero Sosa, por su cariño incondicional, por brindarme su tiempo, comprensión y confianza, por inculcar en mí el amor a los demás y la puntualidad, la satisfacción del deber cumplido y su buen humor a toda hora y ante cualquier circunstancia.

A mi hermano, Nestor López Romero, por ser mi compañero y mi amigo, por tenerme confianza y por sus palabras de aliento en los tiempos difíciles, por su protección y por enseñarme a reirme de los malos momentos.

A Carlo, por ser mi base de sustentación, por su amor, por ser mi ejemplo quirúrgico y académico, por sus consejos oportunos, su guía y su compañía dispuesta, por sus enseñanzas, por ser mi confidente y mi mejor amigo.

Al Dr. Enrique Fernández Hidalgo, Dr. José Martínez Robles, Dr. Rafael Gutiérrez Vega y Dr. Oscar Chapa Azuela, por tener confianza en mí, darme la oportunidad de aprender el arte de la cirugía y ser un ejemplo de la calidad humana y académica que debe formar a un cirujano.

A mis hermanos por su cariño, su comprensión y su apoyo.

AGRADECIMIENTOS

A mis compañeros residentes: Dr. Abel Jalife M. (mi padre quirúrgico), Dr. Felix Ibieta, Dra Xóchitl Castellanos y Dr. José Luis Berástegui que se preocuparon en transmitirme sus conocimientos y habilidades, por su amistad y por perpetuar la calidad del residente de cirugía general de este hospital.

A mis amigos: Dr. Jaime Shalkow, Dr. Alfonso De Silva, Dr. Andrés Malo, Dr. Carlos Ortiz, Dr. Jorge Flores, Dr. Eduardo Montalvo, Dr. Daniel Flores, Dr. Hugo Avalos, Dr. Moisés Adame, Dr. Jorge De la Torre y Dr. Horacio Velis (q.e.p.d) por hacer de estos cuatro años los mejores años de mi vida, por los ratos de bohemia y de estudio juntos, por ser grandes compañeros en el trabajo diario, por hacerme sentir aceptada, querida y protegida en todo momento, permitiéndome ser parte de esta gran generación de residentes.

A Yuliana, mi mejor amiga, por estar a mi lado en los momentos oportunos, por su risa y su interés en mis problemas y por su inmenso cariño.

A mis hijos quirúrgicos: Dr. Ignacio Escotto, Dra. María Herrera, Dr. Marco Rodríguez, Dra. Irene Cal y Mayor, Dr. Aldo Hernández, Dr. Rafael Solorio y Dra Paola Arroyo por permitirme continuar con la tradición académica del hospital y hacerme sentir orgullosa de haber trabajado con ellos compartiendo momentos duros, agradeciendo su compañía y su cariño.

Al Dr. Carlos Cervantes y al Dr. Adolfo Hernández, por auxiliarme en la elaboración de este trabajo y compartir mis inquietudes ayudándome a darles forma.

A los pacientes de este hospital, medio y fin de mi educación médica.

INDICE

| SECCION | PAGINA |
|---------------------------------|--------|
| RESUMEN | |
| INTRODUCCION..... | 2 |
| PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... | 6 |
| JUSTIFICACION..... | 7 |
| HIPOTESIS..... | 7 |
| OBJETIVOS..... | 8 |
| TIPO DE ESTUDIO..... | 8 |
| METODOLOGIA..... | 9 |
| RESULTADOS..... | 12 |
| DISCUSION..... | 14 |
| CONCLUSIONES..... | 18 |
| ANEXOS..... | 19 |
| REFERENCIAS..... | 21 |

RESUMEN

Los síndromes de isquemia mesentérica aguda representan las formas más comunes de isquemia intestinal e incluyen oclusión, por trombosis o émbolos de la arteria mesentérica superior, o por la isquemia no oclusiva secundaria a vasoconstricción esplácnica.

Desafortunadamente, los procedimientos diagnósticos disponibles no permiten evaluar la presencia de isquemia intestinal preoperatoriamente, disminuyendo la eficacia en la resección intestinal de tejido isquémico. Solo la fluoresceína se ha mantenido como el estándar de oro para identificar el tejido isquémico y, consecuentemente, para definir con mayor exactitud los límites de la resección intestinal.

En el presente estudio se compara el uso de otro marcador, el azul de metileno, con la fluoresceína, para definir tejido viable en intestino isquémico. Se formaron dos grupos de 20 ratas cada uno, el primero para la utilización de fluoresceína y el segundo para el azul de metileno. En todos los casos se produjo isquemia intestinal con la oclusión completa de la arteria mesentérica por 30 minutos. Posteriormente se tomaron muestras representativas de tejido viable (A), isquémico (B) y del tejido con el límite de la tinción entre ambos (C).

El grupo A (tejido marcado como viable) no presentó ninguna muestra con datos histopatológicos de isquemia, tanto para la fluoresceína como para el azul de metileno, presentando ambos una sensibilidad y especificidad del 100%. Para el grupo B (tejido marcado como isquémico) solo se presentó isquemia grado I en 18 muestras, 9 para cada marcador, resultando 22 muestras viables, lo que representa una sensibilidad y especificidad del 50% para los dos marcadores, con un valor predictivo del 45%. En el tejido C (tejido con tinción limitrofe) se encontraron 3 casos de isquemia en las muestras teñidas con fluoresceína (sensibilidad 46% y especificidad 12%), y, en el caso del azul de metileno, todas fueron viables.

Los estudios estadísticos no reportaron diferencia significativa entre los dos grupos de ratas; lo cual nos demuestra que, en el presente trabajo, el azul de metileno tiene una utilidad comparable a la fluoresceína para identificar la viabilidad intestinal, en el intestino isquémico.

I. INTRODUCCION

Ante el aumento en la expectativa de vida, la enfermedad vascular mesentérica se presenta como una patología frecuente en la práctica quirúrgica actual. Es una enfermedad letal que afecta en mayor parte a pacientes ancianos, presentándose como una urgencia quirúrgica con todas las manifestaciones de parálisis del mecanismo peristáltico, así como pérdida de la viabilidad del intestino afectado. El resultado es una forma de obstrucción intestinal estrangulada y comprende todos los riesgos relacionados con esta alteración (1).

En relación a la distribución por sexos, los hombres son los más afectados, con una frecuencia mayor entre la 5^a. y 6^a. década de la vida (2).

Los síndromes de isquemia mesentérica aguda representan las formas más comunes de isquemia intestinal e incluyen oclusión tanto por trombosis o émbolos de la arteria mesentérica superior como por la isquemia no oclusiva secundaria a vasoconstricción esplácnica. Se ha calculado que entre el 15 y 30% de todos los accidentes vasculares mesentéricos son debido a trombosis venosa primaria y aproximadamente un 50% a oclusión arterial primaria (1). El intestino delgado, el colon derecho y el colon transverso son con frecuencia involucrados, dado el origen común de su aporte sanguíneo, derivado de la arteria mesentérica superior (3).

La isquemia mesentérica crónica resulta de la enfermedad oclusiva arterial de vasos esplácnicos, lo cual impide el incremento del flujo necesario para satisfacer las demandas metabólicas del intestino por aumento de la motilidad, la secreción y la absorción después de la ingesta de alimentos.

La hipoperfusión es el mecanismo inicial responsable de la cascada subsecuente que contribuye a la severidad del daño isquémico. Una hipoperfusión intestinal significativa puede ser bien tolerada clínica y experimentalmente sin lesión por varias horas, gracias a la presencia de la circulación colateral intestinal (4). El consumo de oxígeno puede ser mantenido con una liberación relativamente baja de éste. Por debajo de un nivel crítico de flujo sanguíneo, el consumo de oxígeno cae precipitadamente porque el incremento en la extracción no puede ser compensado. La suma de la hipoperfusión mesentérica con los factores autonómicos, humorales y locales afecta la respuesta intestinal desencadenando la lesión tisular.

La isquemia intestinal produce una serie de lesiones que varían desde cambios menores en la permeabilidad capilar hasta la necrosis transmural. Las alteraciones que ocurren bajo condiciones isquémicas (con o sin reperfusión) incluyen incremento en la filtración transcápilar, edema intestinal con secreción de líquido intraluminal e incremento de la permeabilidad de la mucosa a las bacterias intestinales. La obstrucción arterial brusca y completa provoca un infarto mesentérico, mostrándose las paredes intestinales pálidas. Como resultado del intenso espasmo de los vasos intramurales, con ulceración subsecuente de la mucosa. En esta etapa, el intestino se encuentra hipertónico y contraído. En una a dos horas el espasmo vascular desaparece y los capilares de la pared anóxica del intestino se ingurgitan. Al producirse trombosis más allá del sitio de la oclusión, la musculatura intestinal se fatiga y pierde contractibilidad promoviéndose la trombosis de las venas viscerales; la pared intestinal se vuelve inerte, edematosa y cianótica como resultado de la ingurgitación y la extravasación dentro de los tejidos murales del intestino isquémico. A medida que el infarto progresa hasta la necrosis de todo el espesor del intestino, la pared intestinal se vuelve cianótica y trasuda líquido serosanguinolento dentro de la cavidad peritoneal (5,6).

Para llegar a un diagnóstico clínico de accidente vascular intestinal se debe tener un alto índice de sospecha que alerte al médico a considerar una insuficiencia arterial mesentérica. Esto incluye una historia de embolia arterial, isquemia crónica tanto abdominal como de las extremidades, enfermedad valvular cardíaca, disritmias cardíacas y aterosclerosis aórtica. La diabetes mellitus, la enfermedad renal terminal, el bajo aporte de líquidos por vía oral y el hábito tabáquico importante son factores de riesgo que deben tomarse en cuenta. La presentación de los pacientes con una isquemia mesentérica aguda embólica se distingue por la naturaleza aguda y el inicio brusco del dolor abdominal. El dolor se presenta fuera de proporción con los hallazgos físicos, encontrando el abdomen blando y con resistencia muscular moderada. La acidosis, la hipovolemia y la hemoconcentración son sugestivas de infarto mesentérico. La trombosis de la arteria mesentérica superior se presenta insidiosamente con dolor abdominal progresivo y gradual aunado a distensión abdominal. Sin embargo, puede también desarrollarse un cuadro rápidamente evolutivo de sepsis incluyendo deshidratación, leucocitosis, diarrea sanguinolenta y colapso cardiovascular finalmente. La isquemia mesentérica sin oclusión orgánica demostrable es

usualmente producida por estímulos como choque, deshidratación, trauma, disminución del gasto cardíaco y vasoconstricción esplácnica inducida por fármacos (7).

El manejo de estos pacientes se apoya en el uso de la angiografía, ya que además de confirmar el diagnóstico y discernir la etiología (oclusiva o no oclusiva), ayuda a planear la revascularización visceral. Sin embargo, es un método invasivo que tiene complicaciones técnicas inherentes y su uso se limita en pacientes con inestabilidad hemodinámica.

El tratamiento inicial de esta entidad consiste en la reposición de líquidos, corrección de la hemoconcentración y la acidosis y la prevención de la infección, siguiendo con el tratamiento quirúrgico de urgencia. En estos casos, es difícil valorar la extensión de la resección que mejore la supervivencia del paciente después de un infarto isquémico intestinal.

Se han desarrollado varias técnicas para determinar la presencia de necrosis intestinal preoperatoriamente y el grado de viabilidad intestinal transoperatoriamente. Aun así, la viabilidad posterior a la laparotomía es la que determina la supervivencia. La mejor técnica para evaluar ambas es la cirugía de reintervención 24 a 48 horas después de la exploración inicial. En la primera exploración, el intestino necrosado debe ser resecado, permitiendo una reconstrucción vascular en la medida de lo posible. El éxito de esta primera intervención depende de la eficacia para determinar la viabilidad del intestino involucrado. Si el intestino remanente presenta zonas no viables, la perforación y la sepsis son inevitables. El intestino viable pero con daño irreversible en su pared, que se deje en cavidad abdominal puede posteriormente resultar en colitis isquémica o estenosis. Por otro lado, si se resecan segmentos de intestino viable inadvertidamente se puede condicionar el síndrome de intestino corto con la consecuente repercusión en la calidad de vida del paciente.

Son varios los métodos utilizados para identificar la viabilidad intestinal. Estos incluyen: la valoración clínica (color, peristalsis, temperatura y pulsos presentes en mesenterio), flujo arterial por Doppler (8), uso de fluoresceína como marcador químico intravenoso (9,10) con determinación cualitativa y cuantitativa (11), la oximetría de superficie (12), tonometría, electromiografía y espectrofotometría (2,13,14,27), medición electrónica de la temperatura intestinal y determinación de pH intraluminal (9), uso de azul Thrypan y otros colorantes (2), e incluso uso de resonancia magnética local (15,16).

El método más utilizado es el reconocimiento clínico de las características físicas de la pared intestinal; sin embargo, este método es completamente subjetivo y tiene una sensibilidad de aproximadamente 78% con un porcentaje de resección innecesaria del 48%, y un valor predictivo del 64% (9,17).

La mortalidad de la isquemia ha disminuido en los últimos 40 años por la posibilidad de revascularización visceral, la resección del intestino necrosado, el diagnóstico temprano y el uso de la angiografía y los vasodilatadores farmacológicos; disminuyendo la mortalidad previa del orden del 100% hasta aproximadamente un 50% actualmente (7), persistiendo aún las complicaciones inherentes a la adecuada identificación del tejido isquémico y del viable a nivel intestinal. Sin embargo, los síntomas y signos tempranos de isquemia intestinal pueden ser difíciles de detectar dejando pasar el tiempo óptimo para el diagnóstico y el tratamiento tempranos, disminuyendo con esto la supervivencia del paciente. Desafortunadamente, los procedimientos diagnósticos disponibles no permiten evaluar la presencia de isquemia intestinal preoperatoriamente. Los estudios específicos y cuantitativos para realizar una estandarización del patrón de isquemia tisular a nivel intestinal aún no han dado los resultados esperados. Al momento, el mejor procedimiento diagnóstico para determinar la isquemia intestinal es la biopsia de mucosa intestinal, lo cual no ayuda transoperatoriamente al cirujano para delimitar grandes zonas isquémicas (16), por lo que la fluoresceína se ha mantenido como el estándar de oro para identificar el tejido isquémico y mejorar la resección intestinal.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La isquemia vascular mesentérica es un evento de graves consecuencias para el organismo y, una vez diagnosticada, es importante poder dar el tratamiento más adecuado para limitar el daño. Esto se logra de manera más precisa mediante la utilización de marcadores de isquemia, puesto que la visión directa como la valoración del daño isquémico conlleva varias fallas de apreciación. Conociendo más específicamente el sitio del daño isquémico producido y sus límites es posible facilitar un tratamiento adecuado y normar conductas terapéuticas apropiadas a cada caso.

Dada la dificultad para determinar las zonas isquémicas intestinales transoperatoriamente, hace falta un marcador que cumpla con los requisitos de una prueba de viabilidad confiable: disponibilidad, sencillez, eficacia, objetividad y reproductibilidad, con costo accesible.

III. JUSTIFICACION

La enfermedad vascular intestinal es una patología en donde es difícil determinar con exactitud la extensión de la lesión isquémica. Es nuestro interés evaluar la utilidad de los marcadores de la viabilidad intestinal, ya que la precisión en ello podrá reducir la morbilidad y mortalidad de esta entidad.

En trabajos previamente publicados, se ha establecido la utilidad de la fluoresceína para la valoración del daño isquémico enteral. El propósito del presente estudio es verificar la eficacia del azul de metileno, como material químico utilizado en la demarcación de lesiones vasculares durante la isquemia intestinal (5,18,19). Se propone establecer así mismo, su superioridad en cuanto a disponibilidad y costo, por lo que sería de mayor utilidad para su uso frecuente en nuestro medio hospitalario.

V. HIPOTESIS

Ho : El uso del azul de metileno como marcador químico es un método tan eficaz como el de la fluoresceína, aunque de mejor disponibilidad y menor costo, para determinar la extensión de la lesión intestinal vascular.

Ha : El uso del azul de metileno como marcador químico no es un método tan eficaz como el de la fluoresceína para determinar la extensión de la lesión intestinal vascular.

III. JUSTIFICACION

La enfermedad vascular intestinal es una patología en donde es difícil determinar con exactitud la extensión de la lesión isquémica. Es nuestro interés evaluar la utilidad de los marcadores de la viabilidad intestinal, ya que la precisión en ello podrá reducir la morbilidad y mortalidad de esta entidad.

En trabajos previamente publicados, se ha establecido la utilidad de la fluoresceína para la valoración del daño isquémico enteral. El propósito del presente estudio es verificar la eficacia del azul de metileno, como material químico utilizado en la demarcación de lesiones vasculares durante la isquemia intestinal (5,18,19). Se propone establecer así mismo, su superioridad en cuanto a disponibilidad y costo, por lo que sería de mayor utilidad para su uso frecuente en nuestro medio hospitalario.

V. HIPOTESIS

Ho : El uso del azul de metileno como marcador químico es un método tan eficaz como el de la fluoresceína, aunque de mejor disponibilidad y menor costo, para determinar la extensión de la lesión intestinal vascular.

Ha : El uso del azul de metileno como marcador químico no es un método tan eficaz como el de la fluoresceína para determinar la extensión de la lesión intestinal vascular.

V. OBJETIVOS

A) PRIMARIO:

1. Determinar la eficacia de los marcadores en estudio para delimitar las zonas isquémicas en paredes intestinales sometidas a interrupción aguda del riego sanguíneo.

B) SECUNDARIOS:

1. Determinar si hay presencia de daño tisular en la pared intestinal derivado del uso de alguno de los marcadores utilizados en el estudio mediante comprobación histológica.

2. Determinar la disponibilidad y costos en el uso de los marcadores en estudio al delimitar el daño isquémico intestinal.

VI. TIPO DE ESTUDIO

El presente estudio es descriptivo, longitudinal, prospectivo, aleatorio y experimental, de investigación básica aplicada al área de cirugía experimental. Durante la elaboración de este protocolo se respetaron los estatutos de la Ley General de Salud de México, ajustándose a la Declaración Mexicana de Principios Básicos de la Experimentación en Animales del Comité Específico de Bioética, Investigación y Experimentación en Animales del Comité de Bioética de la Secretaría de Salud.

V. OBJETIVOS

A) PRIMARIO:

1. Determinar la eficacia de los marcadores en estudio para delimitar las zonas isquémicas en paredes intestinales sometidas a interrupción aguda del riego sanguíneo.

B) SECUNDARIOS:

1. Determinar si hay presencia de daño tisular en la pared intestinal derivado del uso de alguno de los marcadores utilizados en el estudio mediante comprobación histológica.

2. Determinar la disponibilidad y costos en el uso de los marcadores en estudio al delimitar el daño isquémico intestinal.

VI. TIPO DE ESTUDIO

El presente estudio es descriptivo, longitudinal, prospectivo, aleatorio y experimental, de investigación básica aplicada al área de cirugía experimental. Durante la elaboración de este protocolo se respetaron los estatutos de la Ley General de Salud de México, ajustándose a la Declaración Mexicana de Principios Básicos de la Experimentación en Animales del Comité Específico de Bioética, Investigación y Experimentación en Animales del Comité de Bioética de la Secretaría de Salud.

VI. METODOLOGIA

A) POBLACION Y MUESTRA

Ratas Wistar de ambos sexos, peso entre 250 y 400 g.

B) CRITERIOS

1. Inclusión: ratas Wistar de ambos sexos, peso entre 250 y 400 g microbiológicamente convencionales.
2. Exclusión: ratas que no cumplan inciso A)
3. Eliminación: muerte de especímenes antes de completar el estudio, por causas ajenas al procedimiento, problemas durante la inducción anestésica o durante el acto quirúrgico.

C) DEFINICION DE LAS VARIABLES

VARIABLES DEPENDIENTES:

1. Límites de la lesión isquémica intestinal, determinados por la irrigación de la arteria mesentérica superior.
2. Cambios tisulares en la pared intestinal secundarios a la utilización de azul de metileno o fluoresceína, determinados por estudio histopatológico.
3. Tiempo de isquemia, el cual fue de 30 minutos (3,5,6) en todos los casos.

VARIABLES INDEPENDIENTES:

1. Sexo de la rata.
2. Peso de la rata.

D) PROCEDIMIENTO

Se formaron dos grupos de 20 ratas cada uno, el primero para la utilización de fluoresceína (ratas con números pares) y el segundo para el azul de metileno (ratas con números nones). Todas las ratas se mantuvieron bajo condiciones generales de Sala de Bioterio y Cirugía Experimental. Una vez asignado el número a la rata, se aplicó anestesia general con Ketamina a 100 mg/kg y Xylacina a 13 mg/kg ambas por vía intramuscular. Una vez bajo los efectos de los anestésicos, se realizó antisepsia de región abdominal con yodopovidona al 1% . Se incidió pared abdominal de forma longitudinal sobre línea media de apéndice xifoides a zona púbica, se continuó corte por planos de pared hasta llegar a cavidad abdominal . Se colocaron separadores metálicos en ambos bordes de pared abdominal para retracción lateral, se inició irrigación de cavidad abdominal con solución fisiológica al 0.9% a temperatura aproximada de 30°C, a razón de 10ml/kg/h. Mediante microscopio óptico, se identificó arteria mesentérica superior a nivel de su emergencia en aorta, se disecó de forma roma, colocando dos ligaduras con seda del 6-0 lo más proximal a su origen, y se cortó entre ellas con tijera metzenbaum, iniciando tiempo de isquemia medido con el mismo reloj en todos los casos. Posteriormente, se procedió a identificar aorta abdominal, disecándola de forma roma desde emergencia de arterias renales hasta bifurcación, se colocó control vascular proximal y distal mediante seda del 6-0, se integraron a la cavidad el resto de las asas intestinales, se cubrió cavidad con gasas húmedas y se esperaron 30 minutos desde el inicio de la isquemia . Al cabo de este tiempo, se colocó clamp arterial sobre aorta abdominal, distal a la emergencia de arterias renales, se incidió pared anterior de aorta entre referencias vasculares y se introdujo un catéter epidural de 5 cm de longitud montado en una jeringa de 3 cc con la dosis calculada del colorante (fluoresceína al 2% 14 mg/kg, azul de metileno al 1% 5 mg/kg) dirigiéndolo cefálicamente hasta pasar emergencia de arterias renales, se anudaron referencias vasculares, primero la distal y después la proximal, esta última sobre catéter para fijarlo. Se retiró clamp arterial y se inyectó el colorante. Se colocaron asas intestinales extendidas sobre cavidad abdominal, esperando la perfusión del colorante; en el caso de la fluoresceína se utilizó lámpara de Wood para detectar la fluorescencia una vez apagadas las luces del quirófano. Se observó la demarcación de zonas viables (teñidas por el colorante), zonas

límites (zonas donde se aprecia el fin de la tinción e inicio de la isquemia) y zonas no viables (ausencia de tinción). Se procedió a resecar segmentos intestinales de 1 cm de largo marcándolos como tejido A (segmentos teñidos), tejido B (segmentos sin tinción) y tejido C (segmentos con el límite de la tinción). Cada uno se colocó en un frasco con formol al 10 % identificado con el número de rata y la clave del tejido. Posteriormente se sacrificó al animal con sobredosis de anestésico.

Las piezas quirúrgicas se enviaron a estudio histopatológico marcadas como A, B y C sin que el médico patólogo conociera la clave sobre la designación de cada tejido. La evaluación histológica del daño tisular por isquemia se refirió como: grado I- infiltrado inflamatorio, hemorragia o necrosis de la mucosa, grado II- infiltrado inflamatorio, hemorragia o necrosis de la submucosa, y grado III- infiltrado inflamatorio, hemorragia o necrosis de la muscular.

El daño tisular relacionado al marcador químico utilizado se estableció como la presencia de necrosis no hemorrágica en la pared intestinal de las muestras estudiadas (20).

VII. RESULTADOS

La determinación de las zonas marcadas por fluoresceína se realizó mediante la ayuda de una lámpara de campo oscuro, comparando el marcaje de las zonas intestinales con la evaluación clínica de la isquemia; las zonas con fluorescencia franca se marcaron como zonas viables, las zonas con ausencia total de tinción se marcaron como zonas isquémicas (generalmente a nivel de yeyuno-íleon o íleon terminal); y las zonas con la delimitación del colorante entre áreas teñidas y las ausentes de colorante se marcaron como zonas límite. De igual forma se realizó la evaluación de la tinción del azul de metileno, a simple vista.

Los resultados se presentan por cada marcador en las tablas 1 y 2. El grupo A (tejido marcado como viable) no presentó ninguna muestra con datos histopatológicos de isquemia tanto para la fluoresceína como para el azul de metileno, presentando ambos una sensibilidad y especificidad del 100% en este caso. Para el grupo B (tejido marcado como isquémico) solo se presentó isquemia grado I en 18 muestras, 9 para cada marcador, resultando 22 muestras viables, lo que representa una sensibilidad y especificidad del 50% para los dos marcadores, con un valor predictivo del 45%. Para el grupo C (tejido con el límite de la tinción), se presentaron en el grupo de la fluoresceína: 17 muestras viables y 3 con daño isquémico grado I, con una sensibilidad del 46% y una especificidad 12%, con un valor predictivo del 87%; para el azul de metileno: las 20 muestras fueron viables, reportando una sensibilidad del 53% y una especificidad del 87%, con un valor predictivo del 97%.

Para el grupo A, el cual tuvo iguales resultados con los dos marcadores, no se aplicó prueba estadística. Para el grupo B se utilizó prueba de X cuadrada y Pearson con valor de $p=1$ ($p<0.05$ para rango de confianza del 95%). Para el grupo C, con valores menores de 5 y 0, se aplicó prueba de Fisher y Fisher de dos colas encontrando una $p=0.231$ y 0.115 respectivamente ($p<0.05$).

Estos resultados corroboran la ausencia de diferencia significativa en los resultados entre los dos marcadores utilizados.

Tabla 1. Resultados histopatológicos del grupo marcado con Fluoresceína

| TEJIDO MARCADO | TEJIDO VIABLE | TEJIDO NO VIABLE |
|----------------|---------------|------------------|
| TEJIDO A | 20 | 0 |
| TEJIDO B | 11 | 9 |
| TEJIDO C | 17 | 3 |
| TOTAL | 48 | 12 |

Tabla 2. Resultados histopatológicos del grupo marcado con Azul de Metileno

| TEJIDO MARCADO | TEJIDO VIABLE | TEJIDO NO VIABLE |
|----------------|---------------|------------------|
| TEJIDO A | 20 | 0 |
| TEJIDO B | 11 | 9 |
| TEJIDO C | 20 | 0 |
| TOTAL | 51 | 9 |

VII. DISCUSION

La determinación transoperatoria de la viabilidad intestinal después del daño isquémico ha sido un problema para los cirujanos. Un gran número de técnicas se han utilizado para definir la viabilidad intestinal transoperatoriamente. Ninguno de ellos ha sido aplicado ampliamente en forma clínica, tanto por lo complejo del material o la técnica, como por la eficacia incierta de los mismos.

La gran dificultad para determinar la eficacia de las técnicas comentadas ha sido el resultado desigual reportado por los diferentes investigadores. Lo anterior se debe a que cada investigador obtiene datos con gran sensibilidad y especificidad de la técnica usada en su propio modelo experimental (en rata o perro) pero que no es reproducible por otros autores en diferentes modelos experimentales o con diferentes tiempos de isquemia o en diferentes especies. También es importante hacer notar que, dentro de los mismos modelos experimentales, la obstrucción arterial aunada a la estrangulación del tejido intestinal o combinaciones de oclusión arterial y venosa tienden a producir mayor daño tisular y de forma más rápida que aquellos modelos con oclusión arterial aislada. La determinación de la viabilidad es más fácil en intestino con daño mínimo o severo, que en los casos con daño moderado.

Las diferentes técnicas utilizadas para detectar la viabilidad tisular intestinal han sido evaluadas en diferentes situaciones clínicas o usadas con diferentes propósitos. Así, el Doppler puede ser de gran ayuda para determinar el flujo sanguíneo adecuado en los márgenes de la resección (20), pero tiene poca utilidad en determinar la viabilidad de segmentos grandes de intestino después de la reperusión.

Son todas estas causas las que no han permitido un estudio eficaz de los métodos diagnósticos de viabilidad intestinal, y por lo que cada uno de ellos reporta diferentes resultados. Sin embargo, en la mayoría de los estudios revisados, la fluoresceína se ha reportado como el marcador diagnóstico de viabilidad intestinal con mejores resultados experimentales, por lo cual, es la técnica más utilizada en la práctica clínica (2,7,9,10,11,12,14,21,22).

La fluoresceína (resorcinolfaleína) es un marcador orgánico que emite fluorescencia amarillo verdosa cuando se expone a la luz ultravioleta, a una longitud de onda de 3,600 a 4,000 amstrongs. La fluoresceína es usada en el campo de la oftalmología para definir la superficie corneal y los cuerpos extraños. Es también útil en determinar la viabilidad de los tejidos o el adecuado aporte sanguíneo siendo el único agente comúnmente usado en la práctica clínica (2). Posee una sensibilidad del 88%. La dosis recomendada es de 10 a 15 mg/kg,

Los efectos adversos se presentan en raras ocasiones (0.6%) e incluyen náusea, vómito, urticaria y anafilaxia; los efectos tóxicos se presentan después de la administración de 400 mg/kg. (1). Su máxima intensidad en tejidos se presenta en 2-3 minutos con una duración aproximada de 30 minutos, tras los cuales va disminuyen paulatinamente hasta su depuración renal total en 24 a 36 horas (2). El método de aplicación utilizado es la inyección de la dosis calculada de este marcador de forma intravenosa preoperatoriamente, y la detección de la tinción tisular en el transoperatorio mediante una lámpara de Woods. Una zona de fluorescencia perivascular sin integrarse al tejido determina la falla en la perfusión sanguínea a ese nivel delimitando el tejido con daño isquémico, recomendándose iniciar la resección a 1 cm del intestino teñido para asegurar la viabilidad del borde para anastomosis. La fluoresceína mostró ser superior que el método de Doppler en estudios prospectivos tanto en estudios experimentales como clínicos; siendo un método útil, fácil de realizar, disponible y barato. Sin embargo, es necesaria alguna experiencia para interpretar los resultados, ya que es altamente subjetivo. Un fluorómetro fibroóptico ha sido utilizado para proveer una medición de la fluorescencia en el tejido, aumentando la eficacia de este método para predecir la viabilidad intestinal hasta un valor predictivo del 98% (2,17,20).

En el presente trabajo tratamos de comparar la eficacia de la tinción con azul de metileno con un colorante estándar (la fluoresceína), con la finalidad de encontrar un colorante igualmente eficaz que ésta, de mejor disponibilidad y menor costo para nuestro medio hospitalario.

El azul de metileno es una anilina colorante con varias aplicaciones, particularmente en la tinción histoquímica. Otras aplicaciones médicas incluyen delineación del tejido paratiroides, la isquemia miocárdica y los adenomas pancreáticos (18,20,23). También ha sido usado intrarterialmente para marcar intestino como indicador de resección subsecuente. La dosis

recomendada para la administración intravenosa de azul de metileno en el humano es de 1 a 5 mg/kg. , dosis mayores se han relacionado a efectos adversos tales como metahemoglobinemia en pacientes con talasemia (24), náusea, dolor abdominal o precordial, somnolencia, dolor de cabeza, sudoración profusa, confusión, hemólisis y anemia. Este método clásicamente ha incluido la colocación selectiva angiográfica de un catéter con la inyección del colorante durante la cirugía, propuesto específicamente para determinar viabilidad intestinal por Jasinski y cols. Ellos demostraron la eficacia comparativa de este marcador con la fluoresceína, reportando muestras con necrosis no isquémica probablemente secundarias al uso del azul de metileno (21). En otro estudio, Johnson y Sheppick encontraron, en trabajos con aorta de conejo, que éste colorante puede abolir la relajación producida por la acetilcolina a concentraciones no menores de 50 micromoles; el azul de metileno al 1% (uso clínico) alcanza concentraciones séricas de 26,8 micromoles en el organismo, no suficientes para repercutir en el tono vascular (26). Sin embargo, Benz y cols., pese a encontrar vasoespasmo a través de la inhibición de una sustancia vasoprotectora , un factor de derivación del endotelio (el óxido nítrico); no corroboraron daño directo de significancia clínica, por el colorante en cuestión, a nivel endotelial (25).

Los resultados que obtuvimos muestran que no existen diferencias significativas entre ambos colorantes, además de que no se encontró daño tisular secundario al uso de algunos de ellos. Sin embargo los datos obtenidos con la fluoresceína son muy diferentes comparados con los reportados por Bulkey (17), Jasinski (26), Mann (17), Brolin (8) y otros (2,9,10); aunque son similares a los reportados por Carter (11) en cuanto a la baja sensibilidad para la determinación de viabilidad con la valoración cualitativa de la fluoresceína. En estos casos el marcador falló presentando falsos positivos, lo cual conlleva la resección innecesaria de tejido viable.

En nuestro trabajo nos encontramos con la presencia de muestras viables en las zonas marcadas como isquémicas, tanto clínicamente como por ambos marcadores. Piasecki reporta que el tiempo óptimo de isquemia en ratas es de 30 minutos (22), en condiciones de isquemia caliente, con datos de esfacelación completa de las células del borde en cepillo del intestino con infiltrado y desprendimiento a nivel de la lámina basal, interrumpiendo con esto su función de absorción y excreción. Sin embargo, varios investigadores se encontraron con ausencia de daño

tisular demostrable por microscopia óptica con periodos de isquemia similares, e incluso, Katz refiere el uso de electromiografía, aunado a la valoración clínica, para determinar el daño tisular, reportando ausencia de la contractibilidad del músculo liso intestinal inmediatamente después de la oclusión arterial completa. Al permitir, nuevamente, la circulación sanguínea, aún con tiempos de isquemia menores a 6 hrs, se presentaron contracciones intestinales regulares (27). Es importante hacer notar que el intestino de rata tiene una circulación colateral muy desarrollada y, el hecho de solamente ocluir la arteria mesentérica superior sin estrangulamiento de la pared intestinal para impedir el riego colateral, no impondrá un estado isquémico completo (28).

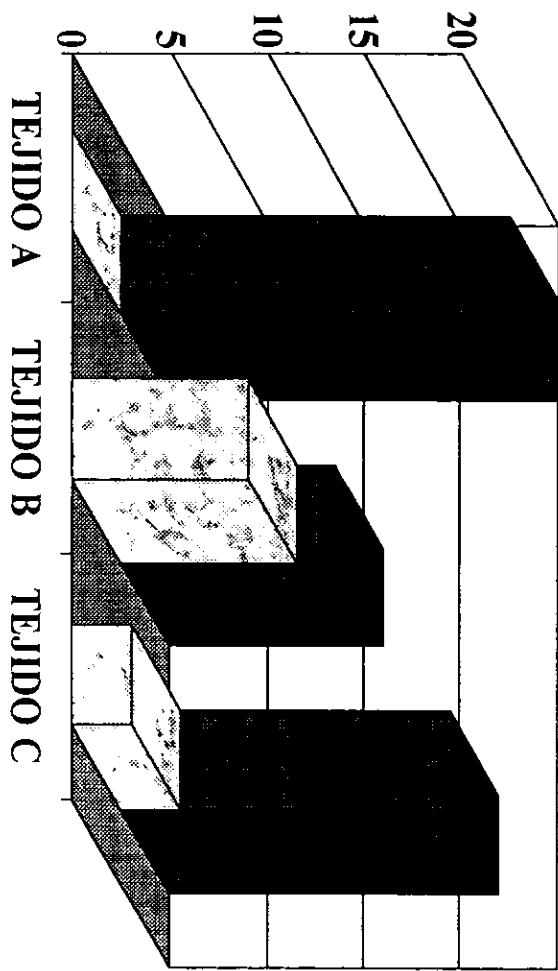
A pesar de esto, los resultados de los tres grupos de tejidos, estudiados en forma comparativa con los dos colorantes, reportaron similitudes en la sensibilidad y especificidad. Los estudios estadísticos no reportaron diferencia significativa, lo cual nos demuestra que el azul de metileno tiene una utilidad comparable a la fluoresceína para identificar la viabilidad intestinal en el daño isquémico.

Para continuar esta línea de investigación faltaría proponer un adecuado modelo experimental en rata o perro, que aunado a un tiempo de isquemia bien determinado, permita identificar el daño isquémico que sirva de estandar para otros proyectos. Lo anterior permitirá evaluar, de forma integral, la eficacia del azul de metileno junto a otros métodos diagnósticos que han probado su utilidad en diferentes modelos experimentales o ante situaciones de isquemia específicas.

VIII. CONCLUSIONES

- 1) En el presente trabajo, el azul de metileno tuvo una eficacia comparable a la fluoresceína, para demarcar tejido intestinal viable, en casos de isquemia mesentérica.
- 2) Hace falta un modelo experimental bien determinado, con tiempos de isquemia establecidos relacionados a daños tisulares específicos, para comparar la reproducibilidad de los resultados de otros autores con diferentes métodos. Con esto, se podrá identificar la sensibilidad y especificidad de cada una de las técnicas diagnósticas de viabilidad intestinal, propuestas en los trabajos revisados.

TABLA I: RESULTADOS DE FLUORESCENCIA

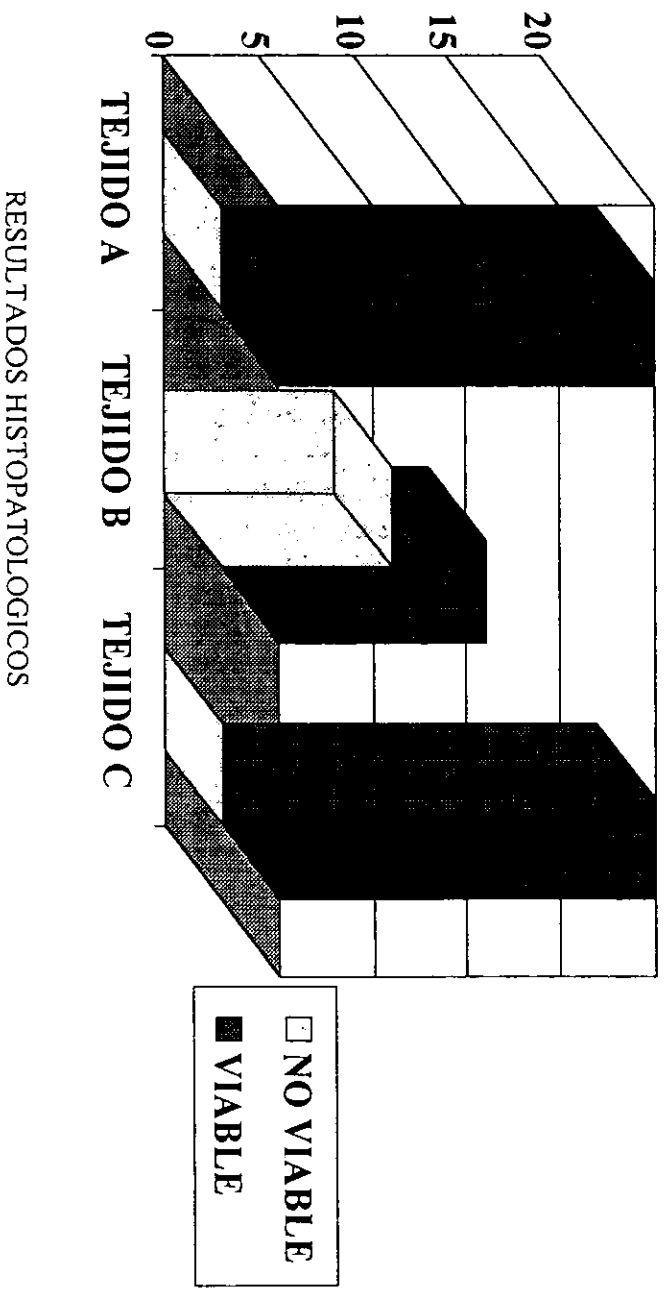


□ NO VIABLE
■ VIABLE

RESULTADOS HISTOPATOLOGICOS

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

TABLA 2: RESULTADOS DE AZUL DE METILENO



RESULTADOS HISTOPATOLOGICOS

IX. REFERENCIAS

1. Marfuggi RA, Greenspan M. Reliable intraoperative prediction of intestinal viability using of fluorescent indicator. *Surg Gynecol Obstet* 1981; 152: 33-35
2. Horgan PG, Gorey TF. Operative assesment of intestinal viability. *Surg Clin North Am* 1992; 72(1): 143-55
3. Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. *Arch Surg* 1970; 101: 478-83
4. Robinson JW, Mirkovitch V, Winistörfer B, Saegesser F. Response of the intestinal mucosa to ischaemia. *Gut* 1981; 22: 512-527
5. Gutiérrez VR, Toledo-PereyraLH. Acute mesenteric small bowel ischemia in rat. *Transplantation* 1990; 49(4): 832-3
6. Glotzer DJ, Villejas AH, Anekamaya S, Shaw RS. Healing of the intestine in experimental bowel infarction. *Ann Surg* 1962; 155(2): 183-189
7. Schneider TA, Longo Ma, Ure F, Vernnava CV. Mesenteric ischemia acute arterial syndroms. *Dis Colon Rectum* 1994; 37(11): 1163-74
8. Brolin RE, Semmlow JL, Schonanda A, Koch RA, Redell MT, Mast BA. Comparison of five methods of assesmente of intestinal viability. *Surg Gynecol and Obstet* 1989; 168: 6-12
9. Papachristou D, Forther JG. Prediction of intestinal viability by intra-arterial dye injection : a simple test. *Am J Surg* 1976; 132: 572-4
10. Herrlin JO, Glasser ST, Lange K. New methods for determining the viability of bowel. *Arch Surg* 1942;45: 785-91
11. Carter MS, Fantini GA, Sammartano RJ, Mitsudo S, Silverman DG, Boley SJ. Qualitative fluorescein fluorescence in determing intestinal viability. *Am J Surg* 1984; 147: 117-23
12. Sheridan WG, Lowndes RH, Williams GT, Young HL. Determination of a critical level of tissue oxygenation in acute intestinal ischaemia. *Gut* 1992; 33: 762-66
13. Kurland B, Brandt LJ, Delany HM. Diagnostic tests for intestinal ischemia. *Surg Clin North Am* 1992; 72(1): 85-105

14. Bussemaker JB, Lindemman J. Comparison of methods to determine viability of small intestine. *Ann Surg* 1972; 176(1): 97-101
15. Blum H, Barlow C, Chance B, et al. Acute intestinal ischemia studies by phosphorus nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Ann Surg* 1986; 204(1): 88-3
16. Temes T, Kauten RJ, Schwartz MZ. Nuclear magnetic resonance as a noninvasive method of diagnosing intestinal ischemia: technique and preliminary results. *J Pediatr Surg* 1991;26(7):775-9
17. Bulkley GB, Zudeima GD, Hamilton SR, et al. Intraoperative determination of small intestinal viability following ischemic injury. *Ann Surg* 1981; 193(5): 628-35
18. Derom AF, Wallaert PC, Janzing HM, Derom FE. Intraoperative identification of parathyroid glands with methylene blue infusion. *Am J Surg* 1993; 165: 380-2
19. Wheeler MH, Wade H. Intraoperative identification of parathyroid glands: appraisal of methylene blue staining. *Am J Surg* 1982; 143: 713-15
20. Mann A, Fazio VW, Lucas FV. A comparative study of the use of fluoresceina and the doppler device in the determination of intestinal viability. *Surg Gynecol and Obstet* 1982; 154: 53-55
21. Jasinski RW, Smith DC, Chase DR, Filed FI. Angiographic preoperative bowel segment localization using methylene blue, isosulfan blue and fluorescein. *Invest Radiol* 1987;22(6):462-6
22. Piasecki C. A new method for the assesment of gut viability. *Br J Surg* 1981; 68: 319-22
23. Athanasoulis CA, Moncure CA, Greenfield AJ, Ryan JA, Dodson TF. Intraoperative localization of combined use of angiographic and methylene blue injection. *Surgery* 1980; 87(1) 77-84
24. Whitman JG, Taylor AR, White JM. Potential hazard of methylene blue. *Anaesthesia* 1979; 34: 122
25. Bentz AV. Vasospam and platelet deposition in human arteries: effects of topical methylene blue. *Plastic and Reconstr Surg* 1991; 88(5): 181-2
26. Johnson PC, Sheppeck R. The dark side of methylene blue. *Plastic and Reconstr Surg* 1989; 83(6): 1076-7
27. Katz S, Wahab A. Murray W, Williams LF. New parameters of viability in ischemic bowel disease. *Am J Surg* 1974; 127: 136-41

28. Fraser N. Metabolic and functional changes in the intestine in shock. *Am J Surg* 1965; 110: 33-6