



11211 4
91.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO, S. S.
Unidad de Cirugía Plástica y Reconstructiva

ISQUEMIA Y REPERFUSION REPETIDAS EN EL MUSCULO SERRATO DE RATA

SECRETARIA DE SALUD
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO
ORGANISMO ESPECIALIZADO



DIRECCION DE ENSEÑANZA

T E S I S

Que para obtener la especialidad de
CIRUGIA PLASTICA Y RECONSTRUCTIVA

PRESENTA:

DR. GUSTAVO CHAVARRIA LEON

Asesor: Dr. Nicolás Sastre Ortiz
Profesor del curso: Dr. Nicolás Sastre Ortiz

TRABAJO DE TESIS REGISTRADA
CON EL NUMERO: DIC-91-501A-01-194

MEXICO, D. F.

1997

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

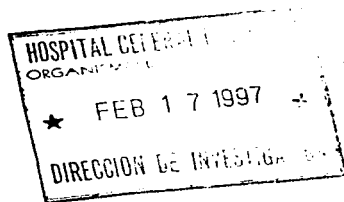


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



TRABAJO DE TESIS REGISTRADA CON EL NÚMERO
DIC/94/501A/01/194

CON EL TÍTULO:
ISQUEMIA Y REPERFUSION REPETIDAS EN EL MUSCULO SERRATO DE
RATA

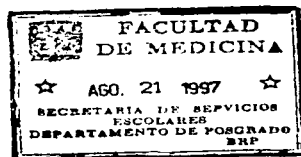
QUE PRESENTA:

EL DR. GUSTAVO CHAVARRIA LEON

PARA OBTENER: LA ESPECIALIDAD DE CIRUGIA PLASTICA Y
RECONSTRUCTIVA

ASESOR:
DR NICOLAS SASTRE ORTIZ

PROFESOR DEL CURSO:
DR NICOLAS SASTRE ORTIZ



A mis padres.

**Por todo el apoyo que de ellos recibí en todos estos años.
Por la orientación que me dieron para ser un mejor ser humano.**

INDICE

I. INTRODUCCION.....	1
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
III. JUSTIFICACION.....	4
HIPOTESIS.....	5
OBJETIVOS.....	6
IV. METODOLOGIA.....	7
1. ANALISIS ESTADISTICO.....	9
2. CRITERIOS.....	9
3. DEFINICION DE VARIABLES.....	9
4. PROCEDIMIENTO.....	10
V. RESULTADOS.....	14
1. ANALISIS DE LOS RESULTADOS.....	15
2. ANALISIS HISTOPATOLOGICO.....	20
VI. DISCUSION.....	24-25
VII. CONCLUSION.....	26
VIII. BIBLIOGRAFIA.....	27-28

I. INTRODUCCION

"Operar una mano sin torniquete es como intentar arreglar un reloj dentro de un tintero"

Sterling Bunnell

(1944)¹

La oclusión vascular manipulada en forma temporal no es una técnica nueva, ya que desde 1552 Ambrosio Paré usó la isquemia por medio de una ligadura para controlar la hemorragia en una amputación de pierna, como lo afirma Mullick² Este mismo autor señala que Lister fue el primero en usar la isquemia quirúrgica con un objetivo diferente a las amputaciones, la manera de realizar la exanguinación de la extremidad era por medio de la elevación de la misma por un periodo de cuando menos 4 minutos. En 1873, Johann Friederch Esmarch introdujo el uso del vendaje de caucho para exanguiñar la extremidad antes de colocar el torniquete. En 1904, Harvey Cushing introdujo la utilización de un torniquete neumático con el mismo fin y le agregó un manómetro para poder medir la presión a la que debería ser inflado³. Bunnell¹, a quien se le conoce como el padre de la cirugía de mano, fue enfático en asegurar que una mano debería operarse siempre bajo el estado de isquemia. Bruner destacó que los riesgos potenciales del procedimiento de isquemia quirúrgica son básicamente para los nervios y los músculos, por esta razón, Mullick determinó a qué presión deberá mantenerse el torniquete neumático durante el procedimiento quirúrgico². En la cirugía de la mano y en la transferencia microquirúrgica de tejidos, los cirujanos plásticos se ven forzados a privar el aporte sanguíneo de esos tejidos durante periodos prolongados. De acuerdo a los estudios clínicos de Wilgis, existe una base racional para no exceder las dos horas de isquemia clínica en un periodo inicial, ya que demostró la existencia de una acidosis progresiva en la sangre venosa distal al torniquete, que aumenta en proporción directa a la duración de la isquemia⁵. Aunque los límites absolutos del tiempo de isquemia tolerado con seguridad por un músculo no son universalmente aceptados, el límite de seguridad ha sido estudiado en diferentes tiempos de acuerdo a diferentes autores; por ejemplo, 45 minutos por Eckhoff (1931),⁶ 90 minutos por Sapega (1985),⁷ 120 minutos por Bunnell (1944),¹ Flatt (1972),⁸ y Mullick (1978),² y 240 minutos por Smith (1983).⁹ La mayoría de estos estudios fueron realizados en forma clínica, a excepción de los de Sapega y Mullick que utilizaron perros. Los tejidos más susceptibles al daño por torniquete son el nervio y el músculo, siendo el

nervio más fácilmente lesionado por presión directa y el músculo por isquemia⁷. La presión máxima segura a la cual el torniquete debe ser inflado depende del sitio de aplicación del torniquete, del tamaño del miembro y del nivel de presión sistólica del paciente. En el adulto esta presión es cerca de 500 a 300 mmHg en la extremidad inferior y superior, respectivamente².

Se ha intentado de establecer el tiempo de isquemia seguro para operar en un campo exangüe, sin que ocurran cambios patológicos en el músculo esquelético. Sapega y colaboradores sugirieron que el daño muscular puede ser reducido al limitar el periodo de isquemia a una y media horas, pudiendo después de 5 minutos de reperusión continuar con otro periodo de una hora y media más de isquemia⁷. Newman determinó por estudios de resonancia magnética que el periodo de reperusión debe ser de cuando menos diez minutos¹⁰. Solonen afirma que no hay alteraciones significativas en los músculos a las dos horas de isquemia¹¹. Tountas no encuentra cambios a las 2 horas, notando cambios mínimos a las 3 y 4 horas de isquemia¹².

En nuestro servicio, en forma experimental, Manuel¹³ determinó que 180 minutos de isquemia es el tiempo máximo tolerado por el músculo serrato de rata. En forma clínica hemos observado que al someter un músculo a un segundo o tercer periodo de isquemia sucesivo, como ocurre en la revisión de una anastomosis microquirúrgica, su viabilidad disminuye. A este respecto, Concannon¹⁴ sugiere que un periodo único de isquemia prolongado puede ser menos dañino que repetidos periodos de isquemia y reperusión, de menor duración, sin embargo, no encontramos ninguna referencia que demuestre la afección muscular en varios periodos sucesivos de isquemia-reperusión, por lo tanto, hacemos los siguientes cuestionamientos:

¿Pueden ser las isquemias sucesivas de la misma duración o deben ser escalonadamente de menor tiempo? ¿ El daño tisular se incrementa progresivamente con el tiempo de isquemia? y ¿Cuál es realmente el tiempo de seguridad para un periodo único y periodos repetidos de isquemia?

En el presente estudio evaluamos la viabilidad de un músculo sometido a periodos repetidos de isquemia y reperusión, así como los efectos que tienen dichos eventos a nivel histopatológico, para confirmar o rechazar la hipótesis, que parece universalmente aceptada, de que a mayores tiempos de isquemia en una segunda o tercera ocasión, existirá mayor daño muscular.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

En este estudio se evaluó la viabilidad de un músculo sometido a periodos repetidos de isquemia y reperfusión. Se determinó los cambios producidos por la isquemia y la modificación del fenómeno de reperfusión.

III. JUSTIFICACION:

Existe una gran cantidad de estudios encaminados a determinar el tiempo máximo de isquemia tolerado por el músculo, así como la presión más adecuada a la que se debe mantener el torniquete neumático, sin embargo no tenemos conocimiento de algún estudio que determine el tiempo de isquemia tolerado en periodos sucesivos, no sabemos si el fenómeno de isquemia y reperfusión disminuye la tolerancia a una isquemia sucesiva, cuál es el periodo más adecuado de un segundo y tercer periodo de isquemia, o si el daño provocado por la reperfusión es aditivo

En la práctica de la Cirugía Plástica, tanto en la cirugía de mano, como en la transposición de colgajos microvasculares, nos vemos forzados a requerir de prolongados periodos en los que privamos a los tejidos de su aporte sanguíneo, y sabiendo que no es prudente exceder las dos horas de isquemia clínica en un periodo inicial, sugeridas por los textos clásicos, permitimos la reperfusión para posteriormente realizar un nuevo periodo de isquemia

HIPOTESIS:

Si sometemos el músculo serrato a un segundo y tercer tiempo de isquemia con la misma duración entonces disminuirá la viabilidad del mismo

OBJETIVOS:

1. Conocer la tolerancia del músculo esquelético a un segundo y tercer periodo de isquemia, por medio de los efectos que tiene dicho fenómeno a nivel histopatológico.
2. Valorar si la reperfusión permite que un nuevo periodo de isquemia sea de la misma duración o si hay un efecto nocivo acumulativo que limite la duración de periodos sucesivos de isquemia.
3. Establecer tiempos de tolerancia de isquemia y reperfusión repetida, los cuales puedan ser utilizados en la cirugía de mano y en la transferencia microquirúrgica de colgajos.

IV. METODOLOGIA:

1. POBLACION Y MUESTRA:

Se utilizaron ratas de la variedad Wistar de 250 a 350 gr de peso dividiendolas de la siguientes grupos experimentales

O- 10 ratas para montaje de la técnica (no entran en estadística posterior)

I- 10 ratas con isquemia de serrato de 3 hrs

II- 10 ratas con isquemia de serrato de 3 hrs + 5 min de reperfusión + isquemia por 2 hrs

III- 10 ratas con isquemia de serrato de 3 hrs + 5 min de reperfusión + isquemia por 3 hrs

IV- 10 ratas con isquemia de serrato de 3 hrs + 5 min de reperfusión + isquemia por 3 hrs + 5 min de reperfusión + isquemia por 1 hr

V- 10 ratas con isquemia de serrato de 3 hrs + 5 min de reperfusión + isquemia por 3 hrs+ 5 min de reperfusión + isquemia por 2 hrs

VI- 10 ratas con isquemia de serrato de 3 hrs + 5 min de reperfusión + isquemia por 3 hrs + 5 min de reperfusión + isquemia por 3 hrs

ANALISIS DE RESULTADOS:

Se analizaron las características macroscópicas del tejido muscular una vez que se completaron los tiempos de isquemia y reperfusión para determinar su viabilidad

A nivel histopatológico se clasificó la lesión muscular con base al grado de edema, inflamación, carpiopcnosis y rabdmiolisis.

1. ANALISIS ESTADISTICO:

Al obtener los resultados se sometieron a un análisis estadístico de varianza múltiple de Kruskal-Wallis para variables cualitativas.

2.CRITERIOS:

A) INCLUSION:

Ratas sanas

Variedad Wistar

Peso de 250 a 350 gr

Ambos sexos

B) EXCLUSION:

Ratas enfermas o con alteraciones anatómicas

C) ELIMINACION:

Ratas que presenten enfermedades durante el estudio.

Daño al pedículo vascular durante el estudio

3.DEFINICION DE VARIABLES:

Variable independiente: tiempo de isquemia

Variable dependiente: variabilidad de músculo determinada por biopsia

4. PROCEDIMIENTO:

Las ratas fueron distribuidas en 7 grupos iguales que se denominaron bajo un número progresivo. El primero fue para montaje de la técnica, ya que solamente se diseccionó el músculo serrato, sin someterlo a isquemia. Los animales fueron anestesiados con ketamina a dosis de 6 mg/100 g de peso después del rasurado de la región se procedió a diseccionar el músculo serrato a través de un abordaje sobre la línea axilar posterior (Figura 1). Con técnica microquirúrgica se liberó el músculo de sus conexiones vasculares con el dorsal ancho y la arteria y vena toracodorsal, que tiene 25 a 30 mm de largo (Figura 2). Se colocó un clamp microvascular sobre dichos vasos durante el tiempo establecido según el protocolo a todos se les permitió reperfundirse por 5 minutos antes de seccionar el pedículo y enviar el músculo para estudio de histopatología. Los especímenes del grupo 1 que no fueron sometidos a isquemia, por ser grupo control también se enviaron a estudio de histopatología. El patólogo desconocía a que grupo pertenecía cada espécimen, para hacer este trabajo experimental, al azar y ciego. En el estudio histopatológico se clasificó la lesión muscular con base en el grado de edema, el cual tiñe con hematoxilina y se observa entre las fibras musculares, la cariopícnosis por la destrucción del núcleo y la raddiomilisis con la destrucción de fibras musculares. El grado de lesión fue valorado de acuerdo a la impresión subjetiva del patólogo en un determinado número de cruces, de una a cuatro según la intensidad del evento. En el grupo 2 se realizó isquemia durante 3 horas continuas. En el grupo 3 se aplicaron 2 periodos de isquemia de tres y dos horas separados por cinco minutos de reperusión. En el grupo 4 los animales fueron sujetos a dos episodios de isquemia de tres horas cada uno, con cinco minutos de reperusión entre ambos. En el grupo 5 se aplicaron dos periodos de isquemia de tres horas, más un periodo de isquemia de una hora, con los mismos cinco minutos de reperusión entre ellos. En el grupo 6 se realizó lo mismo que en el grupo 5, pero con dos horas de isquemia en el periodo final. Las ratas del grupo 7 fueron sometidas a tres periodos de isquemia de tres horas cada uno, también con cinco minutos de reperusión entre ellos (Figura 3).



Fig 1 Abordaje sobre la línea axilar para levantar el músculo serrato de la rata



Fig 2 Se observa el músculo serrato de la rata unido únicamente por su pedículo vascular que son los vasos toracodorsales

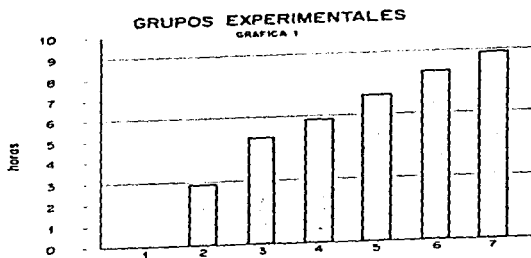


Fig 3. Representación esquemática de los tiempos de isquemia y reperfusión en el presente estudio.

V. RESULTADOS:

El edema se manifestó en todos los grupos (Figura 4) y desde el grupo control, en el que los especímenes aparecieron principalmente con una cruz de la misma forma que en el grupo 2, aunque en este último hubo además tres especímenes con lesión de dos cruces.

Los grupos 3 y 4 mostraron idéntico grado de lesión, la mayoría de los especímenes con dos cruces. El grupo 5 presentó el mayor grado de edema, manifestado por dos especímenes de tres cruces. Curiosamente el grupo 6 se manifestó con el mayor grado de edema, principalmente con especímenes de una cruz y el grupo 7 presentó solamente un espécimen de tres cruces.

La inflamación se distribuyó en los grupos de la siguiente manera: el grupo 1 presentó predominio de lesiones de una cruz. Tanto en el grupo 2 como en el grupo 6, la mayoría de los especímenes no mostraron lesión. En el grupo 3 hubo seis especímenes con una cruz de intensidad. La inflamación fue más grave en los grupos 4 y 7, los cuales tuvieron tres y dos especímenes de dos cruces, respectivamente. El grupo 5 presentó un espécimen de dos cruces (Figura 5). La cariopícnosis se manifestó en los grupos 1 y 2 con predominio de una cruz. Esta lesión fue mayor en los grupos 3 y 7, con dos especímenes de tres cruces en cada uno. Los grupos 5 y 6 tuvieron un espécimen cada uno, con las mismas tres cruces. El grupo cuatro mostró cuatro especímenes de dos cruces (Figura 6). La Rabdomiolisis (Figura 7) fue mayor en el grupo 7 con cuatro especímenes de cuatro cruces. Sin embargo, es notorio que en todos los grupos hubo especímenes con tres cruces y que en el grupo 3 hubo cinco especímenes con ese grado de lesión.

ANALISIS DE RESULTADOS:

Al analizar los resultados llama la atención que en el grupo sometido a mayor isquemia, que fue el grupo 7, sólo en la rhabdomiolisis se demostró como el grupo de mayor lesión, pero en los otros parámetros no se puede decir lo mismo, sobre todo porque el grupo 3 tuvo un comportamiento de respuesta similar al grupo 7, a pesar de que existe una gran diferencia en horas totales de isquemia (cinco horas para el grupo 3 contra nueve para el grupo 7). Algo similar podemos decir en cuanto al parámetro de inflamación, el cual resultó equiparable entre los grupos 4 y 7.

EDEMA

(n = 70 RATAS)

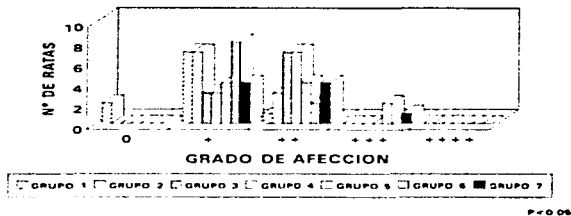


Fig 4. Edema (n=70 ratas). El grupo 5 presentó el mayor grado de edema, manifestado por dos especímenes con tres cruces.

INFLAMACION

(n = 70 RATAS)

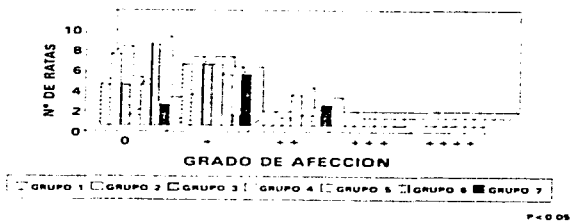


Fig 5. Inflamación (n=70 ratas). La inflamación fue más severa en el grupo 4, con tres especímenes de dos cruces y en el grupo 7 con dos especímenes de dos cruces.

CARIOPICNOSIS

(n = 70 RATAS)

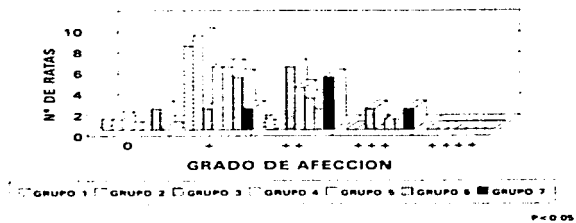
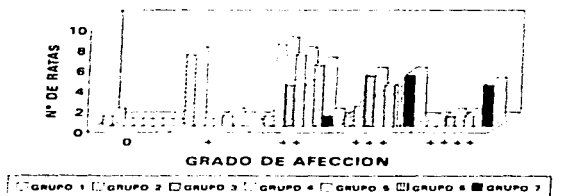


Fig 6. Cariopincosis (n= 70 ratas). La cariopincosis fue mayor en los grupos 3 y 7, con dos especimenes de dos cruces cada uno.

RABDOMIOLISIS

(n = 70 RATAS)



P < 0.05

Fig 7. Rabdomiolisis (n=70 ratas) La rabdomiolisis fue mayor en el grupo 7 con cuatro especimenes y cuatro cruces

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

ANALISIS HISTOPATOLOGICO:

Se muestran algunos de los cortes histopatológicos que se observaron durante los tiempos repetidos de isquemia-reperfusion

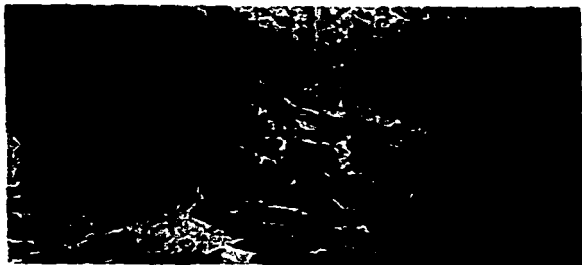


Fig 8. Corte histológico que muestra edema, infiltrado inflamatorio y necrosis coagulativa.



Fig 9 Se observan datos de vasculitis leucocitoclástica y edema

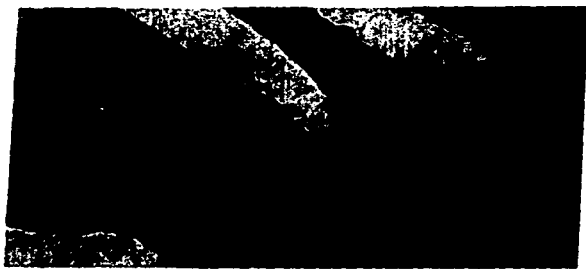


Fig 10 Fibras musculares que muestran cambios de cariopichosis y hemorragia escasa



Fig 11 Edema intersticial que separa las fibras musculares y cambios de cariorecrosis.

VI. DISCUSION:

El presente modelo experimental originalmente fue diseñado con fines de investigación microquirúrgica¹⁵ pero después fue utilizado con fines de estudio de isquemia-reperfusion manipulada con drogas por Manueli¹³. Es un modelo sencillo seguro y constante por lo tanto adecuado para el conocimiento requerido. La lesión provocada por la isquemia se relaciona directamente con la disminución de la fosforilación, esto es con la producción de ATP el cual es necesario para el mantenimiento de las funciones celulares como el transporte iónico de membranas¹¹.

El daño que provoca la reperfusion es resultante del reestablecimiento del flujo sanguíneo y el oxígeno a un tejido previamente isquémico o anóxico¹⁶.

Durante esta reperfusion se generan radicales libres de oxígeno como superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) e hidroxilo (OH^-) por la vía de las enzimas xantinoxidasa y xantina-deshidrogenasa y de leucocitos polimorfonucleares a partir de la nicotinamida adenina dinucleótido-fosfato o NADPH oxidasa. El mecanismo propuesto para la generación de radicales libres consiste en la pérdida del metabolismo aerobio durante la isquemia cuando las reservas de ATP no pueden ser regeneradas y son metabolizadas a hipoxantina, la cual no se convierte en xantina hasta el momento de la reperfusion cuando el oxígeno esta disponible para aceptar un electrón libre¹⁴. Los radicales libres de oxígeno provocan peroxidación de membranas celulares, para llevar a la muerte celular^{16, 17}. En el músculo esquelético la xantinoxidasa no se convierte con la isquemia, por eso el músculo es más resistente a la lesión isquémica en comparación con otros tejidos¹⁸. El fenómeno de no reflujo, debido al edema celular que obstruye la microvasculatura, aporta un tiempo adicional de isquemia tisular, en ocasiones irreversible^{19, 20}. Llama la atención que en el grupo sometido a mayor isquemia, que fue el grupo 7, sólo en la rabiomólisis se demostró como el grupo de mayor lesión, pero en los otros parámetros no se puede decir lo mismo, sobre todo porque el grupo 3 tuvo un comportamiento similar de respuesta al grupo 7, a pesar de que existe una gran diferencia de horas totales de isquemia (cinco horas para el grupo 3 contra nueve para el grupo 7). Algo semejante podemos anotar en lo referente al parámetro de inflamación, el cual fue equiparable entre los grupos 4 y 7. Esto difiere de lo informado sobre los daños producidos por la isquemia en el músculo 24

esqueletico porque los diferentes grupos tuvieron distintos grados de lesion sin un parámetro acorde al tiempo de isquemia

Debemos señalar que los parámetros que usamos para evaluar el grado de lesion muscular no han sido utilizados por otros autores con este fin, por esta razón, no podemos hacer un analisis comparativo con otros trabajos. Para valorar el daño muscular posterior a isquemia con torniquete, Sapega y colaboradores⁷ analizaron las alteraciones metabolicas intracelulares como pH y niveles de intermediarios fosforilados de la glicolisis y lesion muscular ultraestructural. Concannon,¹⁴ en un estudio en el que analiza los patrones de lesion por reperfusion usando una reaccion con ácido tiobarbitúrico, encontró que en los tiempos isquémicos acumulativos la menor cantidad de lesion por reperfusion se obtiene con episodios cortos de isquemia y con frecuentes intervalos de reperfusion, tambien señala que si esto no es posible, puede ser mejor dejar el torniquete por un periodo prolongado de isquemia en lugar de permitir una única pausa de reperfusion

El estudio presente se desarrolló con un modelo de gran pureza técnica de investigación porque es un estudio ciego en sus resultados histopatológicos lo cual le otorga confiabilidad metodológica

Por esta razon debemos aceptar que no tenemos respuestas, con valor científico, para las interrogantes que nos hicimos. De hecho, ni siquiera podemos contestar la interrogante básica sobre el intervalo de seguridad, es decir, el tiempo máximo de isquemia tolerado por un músculo sin demostrar lesion tisular.

Es importante considerar en retrospectiva que el presente modelo experimental, el cual fue diseñado para fines de investigación microquirúrgica,¹⁵ es fácil y adecuado para la investigación del efecto isquemia-reperfusion. Lo que posiblemente no es adecuado es el tipo de estudios en los cuales se evaluó el grado de lesion tisular. Como estos parámetros no confirmaron nuestra hipótesis, de que a mayores periodos de isquemia y reperfusion, mayor grado de lesion, consideramos muy importante informar que con estos estudios histopatológicos no se puede llegar a conclusiones válidas en cuanto al fenómeno de isquemia y reperfusion repetido. Por lo tanto, creemos prudente mencionar, que debemos continuar esta línea de investigación para buscar, a través de otros parámetros y otras variables de analisis comparativo, el apoyo a nuestra hipótesis.

VII. CONCLUSIONES:

- 1- El estudio presente se desarrolló en un modelo con gran pureza técnica de investigación. Es un estudio ciego en sus resultados histopatológicos, lo cual le otorga confiabilidad metodológica.
- 2- Los siete grupos se sometieron a un análisis estadístico de variancia múltiple de Kruskal-Wallis para variables cualitativas, y se encontró que todos ellos son diferentes. En un análisis comparativo entre los mismos se demuestran como estadísticamente significativos, con una $P < 0.05$.
- 3- Llama la atención que el grupo sometido a mayor isquemia, que fue el grupo 7, sólo en la rabiomiositis se demuestra como el grupo de mayor lesión, pero en los otros parámetros, no se puede decir lo mismo, porque en especial el grupo 3 tuvo un comportamiento de respuesta similar al grupo 7.
- 4- Los parámetros que se evaluaron no confirmaron nuestra hipótesis, de que a mayores periodos de isquemia y reperfusión, mayor grado de lesión, como se presentó en la cariopinchosis y en la rabiomiositis.
- 5- Lo anterior nos obliga a continuar esta línea de investigación, para buscar a través de otros parámetros de análisis comparativo, si nuestra hipótesis, que es la creencia universal, es válida desde el punto de vista científico, y nuestras variables serán en un futuro diferentes a aquellas que utilizamos, como lo son la histoquímica y la microscopía electrónica.

VIII. BIBLIOGRAFIA:

- 1 Bunnell S. Surgery of the hand Philadelphia, JB Lippincott 1944
- 2 Mullick S The tourniquet in operations upon extremities
Surg Gynecol Obst, 1978,146 821 826
- 3 Bolton CF,Mc Farlene RM Human Peumatic Tourniquet paralysis
Neurology 1978,28 787- 793
- 4 Bruner JM Time , pressure and temperature factors in the use of
tourniquet Hand 1970, 1 39-42
- 5 Wilgis EFS Tourniquet in reconstructive surgery of the hand Hand
Chirurgie 1972,4 99-102
- 6 Eckhoff N Tourniquet paralysis Lancet 1931,2 343-345
- 7 Sapega A,Heppenstall R, Change B, Park Y Optimizing tourniquet
application and release time in extremity surgery A biochemical and
ultrastructural stufy j Bone Joint Surg 1985,67A 303-314
- 8 Flatt AE Tourniquet time in hand surgery Arch Surg 1972,104 190-192.
- 9 Neimkin RJ,Smith RJ Double tourniquet with mercury manometers for hand
surgery J Hand Surg 1983,938-941
10. Newman RJ and Muirhead A A safe and effective low pressure
tourniquet A prospective evaluation J Bone Joint Surg 68 B 625-628,1986
- 11.Solonen KA, Hjelt L Morphologycal changes in striated muscle during
ischemia Acta Orthop Scan 1968,39 13-19.
- 12.Tountas CP and Bergman RA Tourniquet ischemia Ultrastructural and
Histochemical observations of ischemic human muscle and of monkey muscle
and nerve J Hand Surg 2 31-35,1977
- 13 Manuell GR.Evaluación de la carboxilasa en el incremento de la
tolerancia a la isquemia del músculo serrato anterior de rata.Tesis de
Postgrado de Cirugía Plástica UNAM,1993.
- 14.Concannon M, Kester G, Puckett C. Patterns of free radicals productions
after tourniquet isquemia. implications for the hand surgeon.Plast Reconstr
Surg 1992,89:846-852.
- 15.De la Peña JA, Lineweaver W, Buncke H. Microvascular transfer of
latissimus dorsi and serratus anterior muscles in rats Microsurgery
1988,9:18-20.
- 16.Buckley A The role of oxygen free radicals in human disease
process Surgery 1983,94 407-411.

- 17 Siems P Xanthine oxidase pathway as the major source of free-radical formation *Biomed Biochem Acta* 1983 42 1079-1080
- 18 Mc Cord J Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury *NEJM* 1985,312 153-159
- 19 Farber J, Kenneth C, Mittnacht S The pathogenesis of irreversible cell injury in ischaemia *Am J Pathol* 1981,102 271-281
- 20 Leaf J Cell Swelling *Circulation* 1973,48 455-458