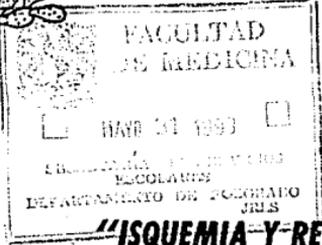




UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO
SECRETARIA DE SALUD



"ISQUEMIA Y REPERFUSION HEPATICA: REVISION BIBLIOGRAFICA Y MODELO EXPERIMENTAL EN RATA: (Naloxona, Cimetidina, Piroxicam y Ciclosporina.)"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
CIRUJANO GENERAL
P R E S E N T A :
DR. HOMERO LOPEZ MONJARDIN

MEXICO, D. F.

1993

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 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.

INDICE

PREFACIO

INTRODUCCION

A) REVISION BIBLIOGRAFICA

I MECANISMO DE PRODUCCION DE ISQUEMIA Y

REPERFUSION

II LESION PROVOCADA POR ISQUEMIA

III LESION PROVOCADA POR REPERFUSION

IV PREVENCIÓN DEL DAÑO

a) DURANTE LA ISQUEMIA

1.- ATP

2.- PROSTAGLANDINAS

3.- GLUCAGON

4.- HIDRALAZINA

5.- CICLOSPORINA

b) DURANTE LA REPERFUSION

1.- SUPEROXIDO DESMUTASA

2.- ALOPURINOL

3.- BLOQUEADORES DEL CALCIO

4.- COENZIMA Q

5.- TOCOFEROL

6.- QUELANTES

7.- FACTOR ACTIVADOR PLAQUETARIO

8.- PIROXICAM

9.- NALOXONA

10.- INHIBIDORES DE RECEPTORES H2

CONCLUSIONES

B) TRABAJO EXPERIMENTAL: "MANIPULACION FARMACOLOGICA

EN LA ISQUEMIA Y REPERFUSION HEPATICA: NALOXONA,

CIMETIDINA, CICLOSPORINA Y PIROXICAM"

I JUSTIFICACION

II OBJETIVO

III HIPOTESIS

IV MATERIAL Y METODOS

1.- GRUPOS EXPERIMENTALES

2.- FARMACOS

3.- PREPARACION

4.- CIRUGIA

5.- PATOLOGIA

6.- LABORATORIO

7.- SOBREVIDA

V RESULTADOS

1.- SOBREVIDA

2.- PATOLOGIA

3.- LABORATORIO

VI CONCLUSIONES

VII BIBLIOGRAFIA

PREFACIO

El presente es un trabajo que se compone de dos partes: la primera consta de una revisión bibliográfica actualizada en la que se revisan las causas frecuentes de presentación clínica que ocasionan el fenómeno de isquemia y reperfusión en el hígado, los mecanismos que provocan el daño celular, así como los diversos agentes farmacológicos que han sido empleados para tratar de prevenir o disminuir el daño durante dichos eventos.

La segunda parte es un estudio prospectivo realizado en un modelo experimental de isquemia y reperfusión selectiva en el hígado de la rata, en el cual se probaron comparativamente cuatro diferentes fármacos que prometen protección durante el fenómeno de isquemia y reperfusión

INTRODUCCION

El daño que sufre el hígado durante un periodo de tiempo en el cual se le priva de su irrigación sanguínea, ocurre por diversas causas en la práctica quirúrgica cotidiana, condicionando lesiones que ocasionalmente llegan a ser irreversibles. Dentro de las causas que con mas frecuencia se asocian a isquemia hepática se encuentran los traumatismos del hígado, procedimientos quirúrgicos del tipo de la hepatectomía y el transplante del órgano. Es evidente que las causas previamente mencionadas son cada día de presentación mas frecuente, por lo que es indispensable conocer a fondo los mecanismos de lesión que se lleva a cabo durante el período de isquemia y reperfusión, así como las alternativas de manejo con las que se puede contar para enfrentar dicho problema en la actualidad.

A continuación se brinda una revisión de los mecanismos que provocan el daño en la isquemia y reperfusión, así como las medidas terapéuticas que se han empleado para tratar de evitar o reducir la intensidad de la lesión

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

MECANISMO DE PRODUCCIÓN DE ISQUEMIA Y REPERFUSIÓN

La irrigación hepática disminuye durante el estado de choque, trauma severo, sepsis y ligadura de la arteria hepática entre otras causas. Por otra parte, es necesaria la interrupción total del flujo sanguíneo hepático en el trasplante de dicho órgano, en la reparación de traumatismos vasculares o cuando se realiza una resección amplia por cáncer (1). La ligadura de la arteria hepática se recomienda en el tratamiento del cáncer del hígado, hemangiomas, aneurismas, fístulas arteriovenosas y hemorragia por lesión parenquimatosa (2). La isquemia hepática como parte de un procedimiento quirúrgico para reducir sangrado fue propuesta por Duchinova, quien realizó oclusión vascular temporal de la arteria hepática y vena porta (3). El control tumoral por ablación de neoplasia metastásica (4) ha fomentado la cirugía resectiva hepática. Así, Fortner reportó en 1974 un total de veintinueve resecciones hepáticas amplias en humanos usando un método de aislamiento vascular completo y perfusión hipotérmica con una mortalidad transoperatoria del 10.3% (5). Diez años más tarde, Deiva informó de veinticuatro resecciones hepáticas con técnica de exclusión vascular sin mortalidad durante la operación (6). Por otro lado, se ha demostrado el daño celular progresivo durante la isquemia asociada a un estado de choque (7), encontrando en hasta un 2% de pacientes en estado de choque ictericia de moderada a severa, lo cual es debido a un defecto celular en la excreción de bilirubina, condicionado por la hipoxia (8). Con respecto a los trasplantes de órganos, desde que Starzl realizó con éxito el primer trasplante ortotópico de hígado en humano (9), han sucedido grandes progresos que han prolongado la viabilidad del injerto. Actualmente el trasplante de hígado es una forma terapéutica frecuentemente utilizada en todo el mundo, incluyendo a nuestro país, que lo inició en 1968. Para mencionar solo algunos de los reportes publicados al respecto, en 1967 el registro europeo de trasplantes de hígado reportó 1218 pacientes transplantados

en el periodo comprendido entre 1988 y 1987 (10). En la Universidad de Wisconsin de Estados Unidos de Norteamérica se han realizado de 1984 a 1990 un total de 223 trasplantes ortotópicos de hígado (11). Una limitante que se ha enfrentado con éxito parcial es el manejo de la isquemia hepática, que continua siendo el principal problema no inmunológico que durante el procuramiento del órgano y trasplante del mismo puede condicionar disfunción hepática transitoria o definitiva (12).

Dado el escaso tiempo de isquemia tolerado por el hígado, resulta difícil el transporte del sitio en el que se obtuvo el órgano al que habrá de transplantarse, convirtiendolo al procedimiento en una situación de Urgencia (13).

Los tejidos bien diferenciados como el corazón, hígado y riñón, requieren de gran cantidad de oxígeno para realizar sus funciones especializadas, las cuales son mantenidas por energía procedente del metabolismo aerobio y cesan al disminuir el aporte de oxígeno. Cuando el periodo de isquemia es breve, habitualmente se recupera la función del órgano afectado, pero si ésta se prolonga, el daño es irreversible (14,15,16), un ejemplo de ello es la observación de Chien, quien encontró que la rata tolera 30 minutos de isquemia hepática, manteniendo la capacidad de regenerar niveles normales de ATP, en cambio, si la isquemia se prolonga por mas de dos o tres horas existe necrosis extensa (17). En la *tabla 1* se muestra una revisión de los tiempos de isquemia hepática tolerados en diferentes especies antes de presentar daño irreversible.

El daño celular provocado durante la reperusión de un órgano previamente isquémico es mas frecuentemente observado en aquellos tejidos que han sido sometidos a periodos prolongados de isquemia, como en los órganos transplantados los cuales en ocasiones tienen que ser transportados a sitios lejanos del lugar de su obtención. En estas situaciones, a pesar de tratarse de isquemia fría, manteniendo el órgano a 4 grados centígrados, es factible observar la lesión provocada por reperusión una vez que se ha revascularizado.

A continuación se desarrollarán los principales mecanismos y consecuencias descritas del daño celular observado durante el proceso de isquemia y reperusión en hígado

TIEMPO DE TOLERANCIA A LA ISQUEMIA HEPATICA

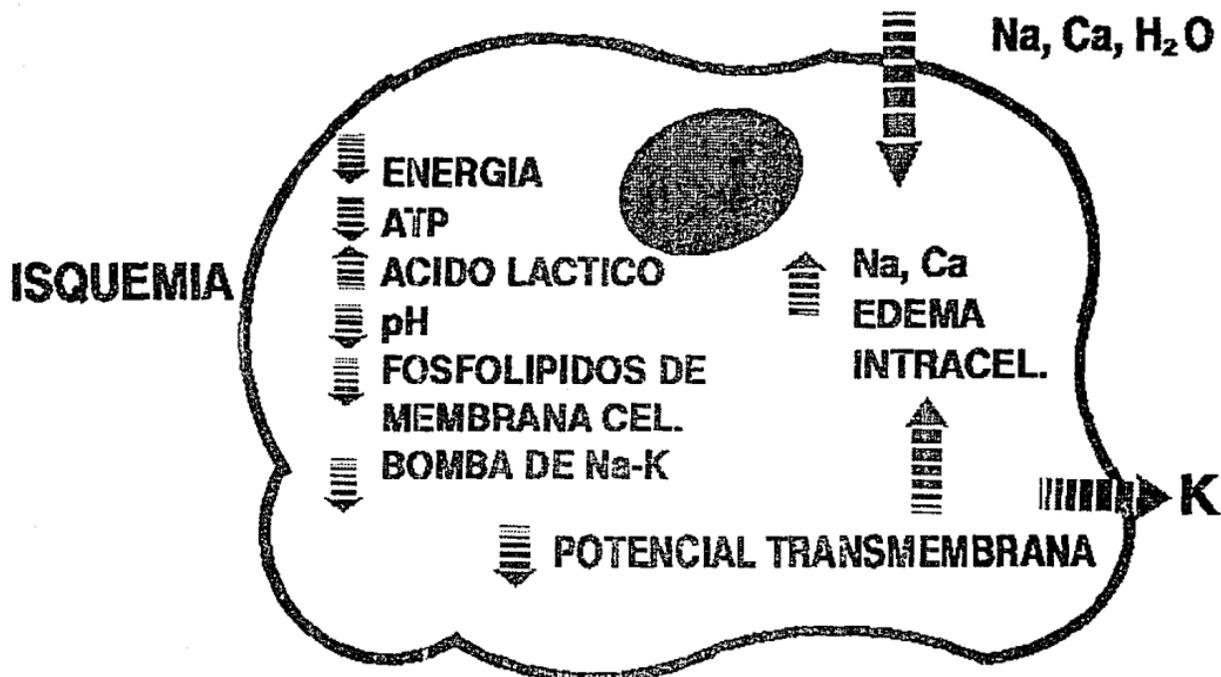
AUTOR	AÑO	ESPECIE	TIEMPO MIN	REFERENCIA
DUCHINOVA	1925	PERRO	35	3
RAFFUCCI	1953	PERRO	20	82
ASHFORD	1965	RATA	30	18
ALVAREZ	1987	RATA	90	54
HOLPER	1974	PRIMATE	90	19
NÖRDLINGER	1980	CERDO	90-120	83
BATTERSBY	1974	CERDO	35	84
FREDLUND	1974	CERDO	60	85
FORTNER	1974	HUMANO	45-133	5
DELVA	1984	HUMANO	24-65	6
HUGET	1978	HUMANO	60-78	86

TABLA 1

MECANISMO DE LESION DURANTE LA ISQUEMIA

Ashford estudió con microscopía de luz y electrónica la respuesta del parénquima hepático a una y dos horas de isquemia en la rata (18). Macroscópicamente observó coloración pálida con patrón reticular que sugiere delineación lobulillar. Con el microscopio de luz encontró vacuolización del citoplasma en áreas focales de distribución al azar. Con el microscopio electrónico descubrió en el núcleo la cromatina marginada y agregada, la membrana nuclear solo con un leve aumento entre la capa interna y la externa, el nucléolo sin alteraciones. En el retículo endoplásmico liso dilataciones y vacuolizaciones, gran disminución en el contenido de glucógeno, con liberación del mismo hacia los sinusoides, en el retículo endoplásmico rugoso, vesiculaciones conservando los ribosomas, el aparato de Golgi sin cambios, los lisosomas con interrupción en su membrana limitante y la membrana celular con aplanamiento de sus superficies libres de células adyacentes. Con respecto al sistema fagocítico mononuclear, se ha reportado disminución en la fagocitosis y alteración en las células de Kupffer durante la isquemia (19). Con respecto a la microcirculación, se ha descrito disminución de su flujo durante el choque hipovolémico y trauma que atenta contra su integridad celular y eleva el riesgo de insuficiencia hepatocelular (20). La disminución en el flujo sanguíneo hepático se acompaña de formación de agregados celulares finos de leucocitos y plaquetas que crecen y se aglomeran provocando congestión sinusoidal (21,22). En biopsias hepáticas de pacientes que desarrollan ictericia por choque se encontró congestión centrolobulillar y ocasionalmente necrosis con colestasis (8). La disminución en el flujo sanguíneo provoca una situación de hipoxia y disminución en la remoción de productos metabólicos de desecho. Los niveles celulares de energía disminuyen rápidamente cuando se interrumpe la irrigación sanguínea (21,23) o en respuesta a hipoperfusión por choque o sepsis (24). A medida que disminuye el oxígeno celular, cesa la fosforilación oxidativa y se depletan las reservas de ATP, con lo que se interrumpe las funciones dependientes de energía (23). El metabolismo celular del hígado se altera aún en etapas tempranas de hipoperfusión

(20), la glucólisis aumenta inicialmente con producción de grandes cantidades de ácido láctico y posteriormente disminuye con la depleción de las reservas de glucógeno (12,20). La betaoxidación de ácidos grasos es interrumpida rápidamente con producción de metabolitos intermedios como ésteres de cadena larga de Acetil coenzima A (13). La síntesis de proteína también se ve afectada por la disminución en la concentración de ATP (13,23). El daño a la membrana celular es una de las principales consecuencias de la lesión celular por isquemia (7). Al disminuir la energía destinada a la bomba de cationes, se provoca un mayor ingreso de sodio y cloro al espacio intracelular, con una correspondiente salida de potasio al extracelular, debido a una disminución del potencial transmembrana (23), y en consecuencia se pierde la regularización del volumen celular, aumentando éste a expensas del agua transportada osmóticamente junto con el sodio y llegando al edema de la célula (25). La membrana celular se ve lesionada adicionalmente por la degradación de fosfolípidos debido a la activación de la fosfolipasa A (26). En periodos de isquemia las mitocondrias se ven forzadas a producir mayor energía para proteger al medio intracelular manteniendo la función de la bomba de sodio - potasio (7). Aunque se han identificado más de quince alteraciones en la mitocondria durante la isquemia del hepatocito (13), se sospecha que son dos los cambios fundamentales en la función y estructura de la membrana mitocondrial interna: Una disminución en la actividad de la "adenin nucleótido transferasa" y un aumento en su permeabilidad perdiendo potasio y magnesio al tiempo que gana sodio (13) y con esto provocando edema osmótico, lo cual se ha demostrado con microscopía electrónica después de una hora de isquemia. Finalmente la isquemia afecta la estabilidad de las membranas lisosomales en el hepatocito (27), provocando liberación de enzimas que degradan los fosfolípidos de las membranas celulares y con ello el daño celular es irreversible (7). Otro factor metabólico contribuyente al daño por isquemia es el aumento en la producción de Tromboxano A₂, (28) y factor activador plaquetario (29), que provocará vasoconstricción y aumento en la agregación de las plaquetas. En la *figura uno* se resumen las alteraciones más importantes que ocurren durante la isquemia.



ALTERACIONES PRESENTES EN EL HEPATOCITO DURANTE LA ISQUEMIA

fig 1

MECANISMOS DE LESION DURANTE LA REPERFUSION

El daño provocado durante la reperfusión puede ser definido como una lesión tisular y celular resultante del restablecimiento del flujo sanguíneo y con el oxígeno a un tejido previamente isquémico o anóxico (30,31). Un radical libre es una especie química que contiene un electrón impar en su órbita externa. Esta característica le confiere un estado de inestabilidad química y alta reactividad. Son tres especies químicas las principales responsables de la lesión durante la reperfusión de un órgano: El superóxido (O_2^-), El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) el cual es mas bien considerado como un intermediario y no como un verdadero radical libre, y el Hidroxilo (OH^-) (30,31). La producción de radicales libres de oxígeno (RLO) durante la reperfusión de un órgano previamente isquémico ha sido implicada como componente crítico en las reacciones postisquémicas del intestino (31), piel (32), pulmón (33), riñón (34), cerebro (35), miocardio (38), páncreas (37) e hígado (38). En todos los tejidos existe un balance químico entre enzimas protectoras o "secuestradoras" que tienen acción antioxidante y elementos prooxidantes que contribuyen al daño por reperfusión. Entre las enzimas antioxidantes destaca la superóxido desmutasa (SOD), catalasa, peroxidasa, tocoferol, ácido ascórbico y coenzima Q. Cuando los elementos prooxidantes exceden la capacidad antioxidante, los RLO no son suficientemente "secuestrados" resultando en lesión celular. Emster ha descrito tres vías de producción del radical superóxido: Conversión de la enzima Xantina deshidrogenasa (XD) a Xantina oxidasa (XO), generación de NADH oxidasa a través de la activación de leucocitos polimorfonucleares por productos del metabolismo del ácido araquidónico y semiquinonas y otros compuestos de redox lábiles, incluyendo a componentes de la cadena respiratoria mitocondrial (39). Siems y colaboradores han propuesto que la vía de la Xantina oxidasa puede ser la mayor fuente de radicales libres de oxígeno en el hígado (40). En condiciones normales, la enzima Xantina deshidrogenasa (XD) se encuentra en su forma inactiva en la mayor parte de los tejidos (41). Durante el proceso de isquemia la XD se convierte en XO por oxidación, la XO utiliza al oxígeno como aceptor de electrones, produciendo superóxido a una velocidad superior que su

degradación por la SOD endógena (38,41). El sustrato de la XO es generado mediante la degradación de nucleótidos de adenina producidos por la isquemia, así se forma la hipoxantina que durante la reperfusión, la XO la convierte en ácido úrico consumiendo oxígeno y generando aniones superóxido así como sus derivados (1,35,38,41). figuras.

Los RLO producen peroxidación de los lípidos de las membranas celulares y de organelos tales como los lisosomas (42)., ya que los metabolitos lipídicos oxidados provocan oxidación de nuevos lípidos de la membrana, pudiendo extenderse dicha reacción hasta una sucesión de mil pasos (38). Los RLO provocan también lesión del endotelio vascular produciendo extravasación de líquido y células al área previamente isquémica, lo cual puede constituir un mecanismo de lesión durante la reperfusión (34). Otra alteración que conduce a daño celular durante la reperfusión de un hígado isquémico es el gran influjo de iones de calcio al interior de la célula (1,43), lo cual impide la recuperación de la membrana mitocondrial interna, fomentando la progresión de la irreversibilidad del daño (13). El flujo sanguíneo previo al período de isquemia no se restablece inmediatamente al reperfundir (1,28,44) debido a que el edema celular provoca por compresión una disminución en la velocidad del flujo (44). Por otra parte, la reperfusión hepática resulta en un daño a la microvasculatura, que es más acentuada en edades tempranas de la vida (45), lo cual coincide con un mayor índice de trombosis de la arteria hepática en el trasplante de hígado en niños, 30% (46) que en adultos (47). Finalmente, durante la revascularización en un órgano transplantado, se ha demostrado activación tanto en la cascada de coagulación como en la fibrinólisis (48). En la figura dos se resume la vía de producción de RLO y sus mecanismos de daño.

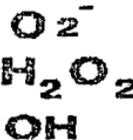
Degradación de los nucleótidos de adenina



Hipoxantina

→ XD →

XO →



→

Lipoperoxidación de membrana celular y de organelos

↑
Oxígeno



Lesión del endotelio vascular

PRODUCCION DE RADICALES LIBRES DE OXIGENO, VIA XD

XO Xantin oxidasa
XD Xantin deshidrogenasa

fig 2

PREVENCIÓN DEL DAÑO

del conocimiento cada vez más profundo de los mecanismos de daño durante la isquemia y reperfusión, se ha podido ir delineando alternativas terapéuticas enfocadas a tratar de disminuir o evitar la lesión producida durante estos eventos, mismas que a continuación abordaremos.

ISQUEMIA

1.- ATP

Chaudry realizó una revisión de los múltiples efectos benéficos publicados concernientes al uso de ATP en el choque séptico y hemorrágico, sepsis, peritonitis, quemaduras, insuficiencia renal aguda, hipoxia neonatal, isquemia renal y hepática. Encontró efectos bioquímicos tales como una represión de los niveles celulares de ATP, mejor homeostasis de la glucosa, con elevación de los niveles de insulina y glucagón, una disminución en la producción de lactato, estabilización de la membrana celular, disminución del edema celular hepático inducido por isquemia, mejoría en la permeabilidad de la membrana celular, restauración de la función del sistema fagocítico mononuclear y mejoría en el flujo sanguíneo. Estos efectos dependen de la dosis administrada y del momento de su administración (7,49). En el hígado se han encontrado resultados controvertidos: Machiedo reportó que la administración de ATP-MgCl₂ puede mejorar significativamente las funciones celulares afectadas por el estado de choque (50). Hirasawa encontró mejoría en la función hepática y supervivencia de ratas sometidas a isquemia hepática cuando se administró ATP-MgCl₂ (51). Sin embargo Hasselgreen no encontró efectos benéficos de su administración en el potencial transmembrana alterado y síntesis proteica en la isquemia hepática en rata (23).

2.- Prostaglandinas

La prostaciclina (PGI₂) es un prostanoide derivado del ácido araquidónico producido por las células del endotelio vascular entre otras con las siguientes acciones farmacológicas: Evita la agregación plaquetaria, provoca vasodilatación coronaria, estabiliza la membrana lisosomal, aumenta el flujo sanguíneo esplácnico e inhibe la formación de tromboxano por las plaquetas (52). Un efecto benéfico de la PGI₂ en la célula hepática puede ser el aumento del flujo esplácnico (43). Se ha encontrado que la PGI₂ ejerce un efecto citoprotector conservando la membrana lisosomal y citoplásmica así como manteniendo la función fagocitaria de las células de Kupffer en el hígado hipóxico del gato (52). Se ha preservado el hígado canino en solución de Saks mas PGI₂ durante 24 horas en un 100% de los órganos y en 80% a las 48 horas en condiciones de hipotermia (53). También se ha demostrado que disminuye el contenido de agua en el hígado de cerdo sometido a 90 minutos de isquemia caliente. La prostaglandina E₂ (PGE₂) reduce el consumo de oxígeno por el hepatocito en un 30%, lo cual podría proteger a la célula de la hipoxia (54), sin embargo, los resultados en modelos experimentales en rata no han sido concluyentes (55). La indometacina, bloqueador de la ciclooxigenasa, vía común de síntesis de prostaglandinas y tromboxanos ha mostrado utilidad en la protección del hígado durante la isquemia y reperfusión. (56).

3.- Glucagon

Es una hormona polipeptídica que entre otras acciones libera ácidos grasos e incrementa los niveles de AMP cíclico en el hígado (57). Tiene efectos inotrópico y cronotrópico positivos en el miocardio, aumenta el flujo sanguíneo esplácnico (58), coronario y renal, mejora la microcirculación esplácnica (59), incrementa el pH, disminuye el ácido láctico y mejora el metabolismo hepático en el choque hemorrágico (20), sin embargo en diferentes modelos experimentales no se ha podido mejorar la

función hepática en el hígado isquémico, como Proctor lo demostró en sus trabajos, a pesar de existir un incremento en el flujo portal (60).

4. - Hidralazina

Se ha demostrado que induce una redistribución del gasto cardíaco con un aumento en el flujo hepático proporcionalmente mayor que el aumento en el gasto cardíaco (20), sin embargo no existe trabajos concluyentes en la utilización de la isquemia hepática.

5.- Ciclosporina A

Es un potente Inmunosupresor ampliamente aceptado en la práctica clínica para prevenir y tratar el rechazo a órganos transplantados. Ha mostrado efectos protectores del hepatocito sometido a isquemia. Recientemente se demostró que la Ciclosporina A (CyA) es capaz de proteger al hígado del daño por isquemia, gracias a un efecto hepatotrófico demostrado por una menor liberación de enzimas intrahepáticas, menor porcentaje de necrosis y una mayor actividad mitocondrial con respecto a los controles (13). Otro reporte demuestra datos que sugieren que la CyA protege la membrana lisosomal del hepatocito en perros con hígado sometido a isquemia (61). El nuevo agente inmunosupresor FK506, también tiene efecto hepatotrófico, como se ha publicado en trabajos realizados por el grupo del doctor Starzl (62), lo que permite especular que el control del crecimiento hepático esté modulado inmunológicamente. Una explicación alternativa está relacionada a los sitios de unión citosólica de ambas drogas, estos sitios están distribuidos a través de casi todos los tejidos, son ricos en una enzima llamada peptidilprolil isomerasa, la alteración de esta enzima por ambas drogas se piensa que tiene una gran cantidad de efectos no inmunológicos en múltiples señales de transducción y procesos metabólicos. Actualmente se cree que estos cambios, más que los efectos a nivel del sistema inmune son los responsables de los efectos hepatotróficos ya mencionados (63).

REPERFUSION

1.- Superóxido desmutasa (SOD)

La SOD es una enzima que transforma catalíticamente dos moléculas de superóxido rápida y específicamente a oxígeno y peróxido de hidrógeno, actuando en los sistemas biológicos como antioxidantes y evitando el daño celular provocado por RLO (30). Cuando se administra durante o inmediatamente después del inicio de la isquemia, la SOD ha demostrado disminuir el grado de lesión por reperusión (34). Estudios en piel (32) y riñón (34), han demostrado el valor de la SOD en la prevención del daño celular provocado por los RLO durante la reperusión. En hígado se ha demostrado que la presencia de la SOD al momento de la reperusión reduce los niveles de RLO y el daño mediado por éstos, la función hepática mejora si el momento de la administración es durante el inicio de la reperusión (39). Por otro lado, algunos trabajos no han demostrado el efecto benéfico mencionado previamente (41).

2.- Alopurinol

Un fármaco ampliamente usado en el tratamiento de la hiperuricemia primaria de la gota y de la secundaria a padecimientos hematológicos o tratamientos antineoplásicos. Es un análogo de la hipoxantina, que junto con su metabolito primario, el oxipurinol, son inhibidores de la XO. En concentración baja es un sustrato e inhibe por competitividad, pero en concentraciones altas es un inhibidor no competitivo de la enzima (64). El alopurinol ha demostrado un efecto protector del daño mediado por la isquemia y reperusión del riñón (64), corazón (65), intestino delgado (66) y piel (32). En el hígado también se ha demostrado un efecto protector del daño por isquemia y reperusión (67,68). Se ha establecido que el momento ideal en la administración del alopurinol como, protector del daño por isquemia y reperusión en el hígado es antes de iniciar la isquemia, de 4 horas a 10 minutos, ya que el efecto benéfico una vez establecida la reperusión del órgano es menos claro (70).

3.- Bloqueadores del calcio

El verapamil es un bloqueador de los canales lentos del calcio de las células excitables, ha sido empleado para prolongar la tolerancia del hígado en modelos experimentales con rata, encontrando resultados ligeramente favorables en la sobrevida de los animales (59).

El diltiazem, otro calcio antagonista se estudió durante la reperfusión del hígado isquémico en cerdo, encontrando una disminución en la producción de transaminasa glutámico oxalacética y de deshidrogenasa láctica sin cambio significativo en el edema manifestado por el contenido de agua en el tejido (43)

4.- Coenzima Q (CoQ)

Es un componente mitocondrial que funciona como transportador de electrones y protones en la cadena respiratoria, lo que la hace indispensable para la producción de ATP mitocondrial (71). La CoQ tiene un gran poder antioxidante protegiendo las membranas celulares y subcelulares de la peroxidación de los lípidos (12). Marubayashi usó la CoQ en la preservación de las funciones mitocondriales del hígado de ratas y en la viabilidad hepática con buenos resultados (71). Mas tarde el mismo autor en conjunto con Sumimoto presentaron los hallazgos bioquímicos e histológicos del uso de la CoQ en la prevención del daño en un modelo experimental en rata, encontrando que para observar el efecto benéfico, es necesario administrarla antes de la reperfusión del órgano (11).

5.- Tocoferol

Actúa in vivo como "secuestrador" de RLO y antioxidante. Durante la isquemia y reperfusión, los niveles de alfa tocoferol disminuyen, lo que sugiere su consumo. En ratas sometidas a isquemia hepática manejadas con alfa tocoferol se demostró un menor daño celular y un incremento en la sobrevida (72).

6.- Quelantes

La peroxidación de lípidos de las membranas ocurren favorecidas en presencia de un metal transicional como el hierro (Fe). El superóxido es capaz de reducir el hierro de su forma férrica a ferrosa, y este hierro ferroso puede donar un electrón al producto intermedio en la peroxidación lipídica, creando RLO adicionales. La Desferroxiamina, que es un agente quelante del hierro, ha demostrado ser benéfica para disminuir el grado de lesión después de periodos de isquemia, mostrando un mejor efecto al administrarse antes de la isquemia (73).

7.- Inhibidores del factor activador plaquetario (FAP)

El FAP es un mediador en la inflamación, elaborado por diferentes clases de células, tales como plaquetas, neutrófilos y células endoteliales, está íntimamente ligado con la respuesta de la microcirculación a estados de isquemia y reperfusión. Recientemente se ha valorado el uso del SR63-441, un potente antagonista del FAP, observándose un menor grado de lesión después de isquemia hepática y superando comparativamente en el mismo estudio los efectos benéficos del SOD (30).

8.- Piroxicam

El piroxicam es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo que posee efectos inhibitorios en las funciones de leucocitos polimorfonucleares (PMN), tales como la degranulación y liberación de RLO (74), se sabe que dicho fármaco ejerce su acción antiinflamatoria principalmente inhibiendo a la ciclooxigenasa, aunque se han implicado otros mecanismos, tales como la inhibición en la generación de RLO al bloquear la unión ligando - receptor (75), el piroxicam así como otros antiinflamatorios no esteroideos forman quelantes de cobre que catalizan la desmutación de los RLO (76). Se ha demostrado supresión en la liberación de RLO por PMN humanos en pacientes con artritis reumatoidea tratados con piroxicam (77). Por último, se ha encontrado que el tratamiento con piroxicam en ratones protege del daño pulmonar producido por *Pseudomona aeruginosa* al disminuir la lesión creada por la respuesta inflamatoria (78).

9.- Naloxona

La naloxona, inhibidor de receptores opiáceos, con efectos presores, ha demostrado reducir la liberación de RLO de neutrófilos humanos por medio de una probable inhibición enzimática y no como un "secuestrador" de RLO (79). La naloxona ha sido usada con éxito para disminuir el daño provocado por el proceso de isquemia y reperfusión en el Intestino de rata (80).

10.- Inhibidores de receptores H2

Tanto la cimetidina como la ranitidina inhiben la producción de RLO por neutrófilos activados a dosis suprafarmacológicas, probablemente por medio de la inhibición de la enzima XO y no como "secuestrador" de RLO (81)

CONCLUSIONES

En la presente revisión se han expuesto los conocimientos más recientes en cuanto a los mecanismos de producción de lesión durante la isquemia y reperusión.

Se resumen las causas más frecuentes que pueden llevar a estas situaciones y se estudian los mecanismos del daño desencadenados durante dichos eventos, así como las consecuencias que cada uno de ellos condicionan a nivel celular. Así mismo, es importante conocer con detalle los avances más recientemente logrados en lo que se refiere a la manipulación farmacológica para tratar de evitar o disminuir el grado de lesión. De los fármacos revisados, se puede mencionar que algunos de ellos se encuentran aún en fase experimental, y otros ya se aplican en el terreno clínico cotidiano, como por ejemplo el alopurinol, uno de los componentes de la solución de perfusión de la Universidad de Wisconsin (solución UW), que es frecuentemente utilizada en el trasplante de hígado.

Finalmente es necesario enfatizar que el conocimiento amplio de los mecanismos de lesión revisados y de las posibles manipulaciones farmacológicas que de ello se deriven, abren un vasto campo para la investigación.

TRABAJO EXPERIMENTAL:

" MANIPULACION FARMACOLOGICA EN LA ISQUEMIA Y REPERFUSION HEPATICA EN RATA: NALOXONA, CIMETIDINA, CICLOSPORINA Y PIROXICAM "

JUSTIFICACION

La incidencia en la presentación de daño por isquemia y reperfusión hepática es cada día mas alta, debido al incremento en la realización de procedimientos quirúrgicos sobre dicho órgano y a la elevada frecuencia de politraumatismos que en la actualidad observamos entre otras causas. Esta situación ha condicionado la necesidad de buscar métodos que disminuyan o eviten el daño producido por dicho evento.

OBJETIVO

Se pretende probar el efecto protector de la naloxona, cimetidina, piroxicam y ciclosporina en el daño producido por el fenómeno de la isquemia y reperfusión hepática en rata.

HIPOTESIS

"La naloxona, cimetidina, piroxicam y ciclosporina protegen al hígado del daño provocado por el fenómeno de isquemia y reperfusión".

MATERIAL Y METODO

Grupos de experimentación:

Se usaron 160 ratas machos cepa Wistar con un peso entre 200 y 250 gramos, provistas de alimento estandar (nutricubos de purina) y agua ad libitum, previamente valoradas como sanas por el grupo veterinario de la Unidad de Cirugía Experimental del Hospital General de México. Se dividieron las 160 ratas en 16 grupos de 10 ratas cada uno (n=10) de la forma siguiente:

- Grupo I: control. Sin tratamiento ni sometidas a isquemia
- Grupo II: sin tratamiento y sometidas a 60 min. de isquemia
- Grupo III: sin tratamiento y sometidas a 90 min. de isquemia
- Grupo IV: sin tratamiento y sometidas a 120 min. de isquemia
- Grupo V: tratados con Naloxona (*) y 60 min. de isquemia
- Grupo VI: tratados con Naloxona (*) y 90 min. de isquemia
- Grupo VII: tratados con Naloxona (*) y 120 min. de isquemia
- Grupo VIII: tratados con Cimetidina (+) y 60 min. de isquemia
- Grupo IX: tratados con Cimetidina (+) y 90 min. de isquemia
- Grupo X: tratados con Cimetidina (+) y 120 min. de isquemia
- Grupo XI: tratados con Ciclosporina (&) y 60 min. de isquemia
- Grupo XII: tratados con Ciclosporina (&) y 90 min. de isquemia
- Grupo XIII: tratados con Ciclosporina (&) y 120 min. de isquemia
- Grupo XIV: tratados con Piroxicam (%) y 60 min. de isquemia
- Grupo XV: tratados con Piroxicam (%) y 90 min. de isquemia
- Grupo XVI: tratados con Piroxicam (%) y 120 min. de isquemia

Fármacos:

(*) Naloxona a dosis de 100 microgramos por kilo de peso en solución de 400 mcg/ml administrada intravenosa 1 a 2 minutos previos a la isquemia.

(+) Cimetidina a dosis triple de la necesaria para inhibir la secreción gástrica de ácido en la rata: 120 miligramos por kilo de peso, vía oral una hora previa a la isquemia.

(&) Ciclosporina a dosis de 10 miligramos por kilo de peso al día vía oral durante tres días previos a la isquemia

(%) Piroxicam a dosis de 0.3 miligramos por kilo de peso cada día administrado intraperitonealmente 48, 24 y 1 hora previo a la isquemia.

Preparación:

Se anestesió a las ratas con Xilacina (Rompun, Bayer) a dosis de 13 mg/Kg IM y Ketamina (Ketalar) a dosis de 5 mg/Kg IM. Posteriormente se razuró la región abdominal de la rata y se fijó por medio de ligas a la mesa de microcirugía especialmente diseñada para roedor.

Cirugía:

Bajo técnica aséptica y previa antisepsia de la región abdominal con Isodine espuma, se practicó incisión xifo-púbica de 4cm de longitud, se continuó por planos hasta la cavidad abdominal, exponiendo con retractores el hilio hepático con equipo de microcirugía y microscopio quirúrgico. Se realizó oclusión vascular segmentaria de los lóbulos medio e izquierdo con un clamp microvascular, dejando perfundidos los lóbulos el lóbulo lateral derecho y caudado. La isquemia permaneció durante 60, 90 o 120 minutos de acuerdo al grupo asignado aleatoriamente. Con este procedimiento de isquemia segmentaria, el 70% del hígado se toma isquémico, permitiendo la perfusión del lóbulo lateral derecho y caudado para evitar congestión esplácnica, y con ella translocación bacteriana, lo cual sería una variable que provocaría una morbimortalidad adicional que complicaría el análisis de los resultados. A continuación se irrigó la cavidad peritoneal con 1 ml. de solución isotónica salina para compensar pérdidas por evaporación y se suturó la pared abdominal en un plano con Nylon calibre 0000. Transcurrido el periodo de isquemia de cada caso (60,90 y 120 min. respectivamente), se abrió la cavidad abdominal nuevamente, se retiró el microclamp e inmediatamente se realizó lobectomía en los lóbulos hepáticos lateral derecho y caudado, los cuales se habían dejado perfundidos para evitar la congestión esplácnica. Se suturó nuevamente el abdomen de la rata pero ahora en 2 planos: músculoaponeurótico y piel. La razón de practicar la lobectomía consiste en que la evolución de la rata dependa exclusivamente de los lóbulos hepáticos que se sometieron al fenómeno de isquemia y reperusión, que constituyen el 70% del volumen hepático total, y no reciben ayuda metabólica del resto de los lóbulos que no sufrieron isquemia y que representan el 30% del volumen hepático

HIGADO DE LA RATA

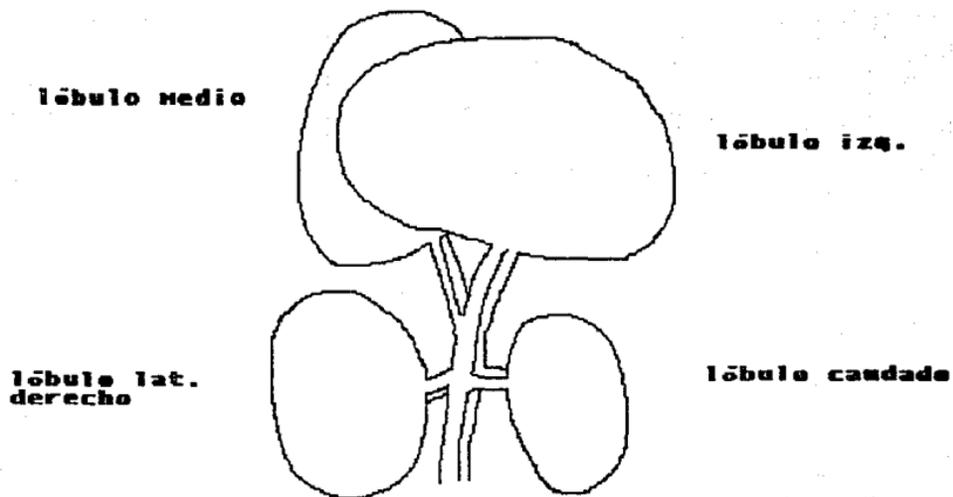


fig 3

total. Una vez transcurrida una hora de la reperfusión (tiempo suficiente para efectuarse el daño provocado por la reperfusión), se relaparotomizó a la mitad de los roedores de cada grupo (5 ratas) y se sacrificaron para obtener 3 ml de sangre e inmediatamente biopsiar los lóbulos hepáticos medio e izquierdo (sometidos a isquemia y reperfusión) para su estudio histopatológico.

Patología

A las 5 biopsias de cada grupo se les valoró en forma aislada por 2 patólogos experimentados con microscopía de luz determinando el grado de congestión en cruces (+ a +++) tanto portal, centrolobulillar y sinusoidal y la intensidad del infiltrado inflamatorio también en cruces (+ a ++++).

Laboratorio

De los 3 ml de sangre obtenida en las 5 ratas antes de sacrificarlas, se determinó enzimas hepáticas: Transaminasa glutámico oxalacética (TGO), Transaminasa glutámico pirúvica (TGP), y Deshidrogenasa láctica (DHL).

Sobrevida

Se vigiló a las 5 ratas que se dejó en observación después de la cirugía, para recavar sobrevida acumulada, registrando periodo de sobrevida a 1, 2, y 3 días.

RESULTADOS

1- Sobrevida:

En las gráficas 1, 2 y 3 se muestra la sobrevida de las ratas control y las manejadas farmacológicamente con cimelidina, naloxona, piroxicam y ciclosporina a 60, 90 y 120 minutos de isquemia respectivamente. Se registra el porcentaje de ratas que vivieron uno dos y tres días para cada medicamento. A los 60 minutos de isquemia destaca el piroxicam con mayor sobrevida a 24, 48 y 72 hrs que el control ($p < 0.001$ a c/u), (gráfica 1). A los 90 minutos destaca nuevamente el piroxicam con mayor sobrevida, frente al control a las 24, 48 y 72 hrs ($p < 0.001$) y los demás medicamentos ($p < 0.01$ naloxona y ciclosporina) (gráfica 2). A los 120 minutos no hay grandes diferencias entre los medicamentos y el control, solamente la ciclosporina muestra una mayor sobrevida a las 24 horas, pero con diferencia no significativa (gráfica 3).

2.- Patología:

A los 60 minutos de isquemia la congestión portal y centrolobulillar fue menor con la naloxona, comparando con el control ($p < .005$ y $< .001$ respectivamente) y el piroxicam y cimelidina ($p < .001$ c/u). Los cinco grupos (4 con medicamentos y control) presentaron congestión sinusoidal importante (gráfica 4).

A los 90 minutos de isquemia se observó una ligera disminución no significativa en la congestión hepática portal y sinusoidal cuando se usó cimelidina y ciclosporina, y en la centrolobulillar no se observó congestión en el grupo tratado con naloxona y moderada congestión con la ciclosporina (gráfica 5).

A los 120 minutos de isquemia se observó una gran congestión tanto portal, sinusoidal y centrolobulillar en todos los grupos, salvo en el grupo tratado con naloxona, que mostró nula congestión centrolobulillar (gráfica 6). Cabe destacar que la naloxona evitó completamente la congestión centrolobulillar a los 60, 90 y 120 minutos de isquemia.

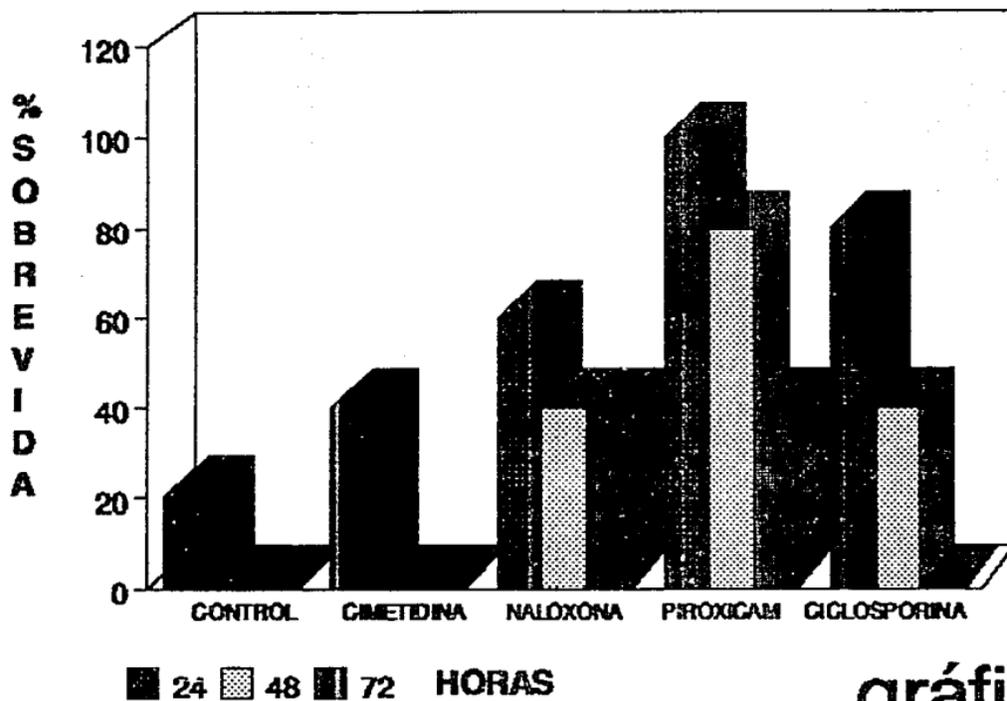
El infiltrado inflamatorio presente a los 60 minutos de isquemia fué menor en los grupos tratados con naloxona y piroxicam frente al control y grupos tratados con cimelidina y

ciclosporina, con diferencias no significativas debido al pequeño número de casos. A los 90 minutos la ciclosporina mostró el menor infiltrado inflamatorio y a los 120 minutos el piroxicam, ambos nuevamente con diferencias no significativas. (gráfica 7).

3.- Laboratorio:

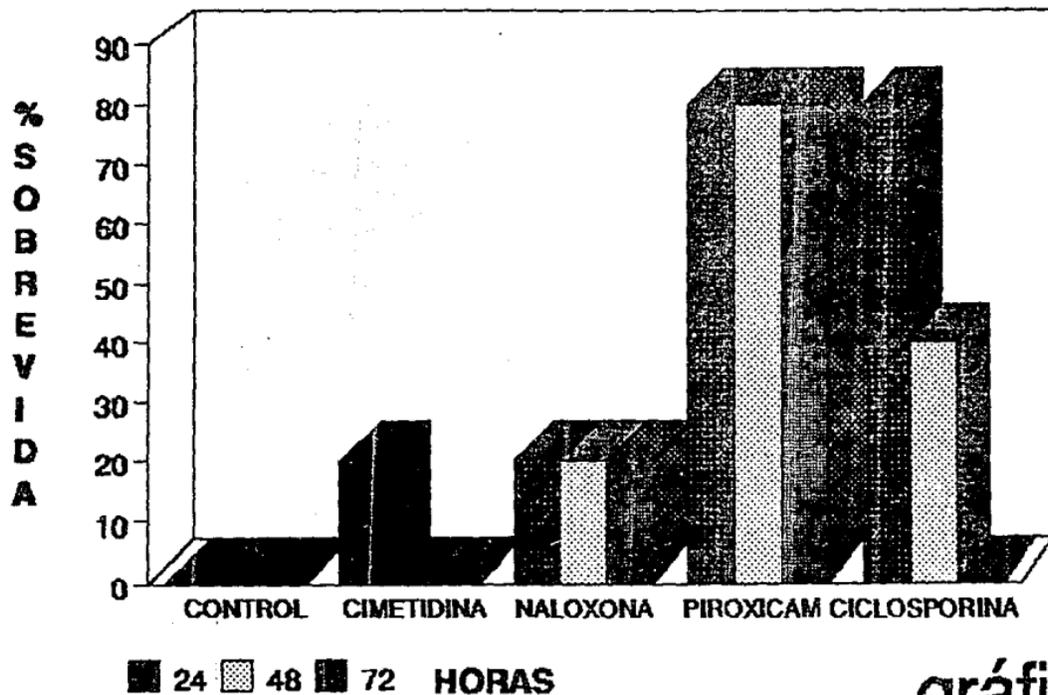
Los valores reportados de enzimas hepáticas (TGO, TGP y DHL) estuvieron sujetos a errores técnicos por parte del laboratorio de nuestro hospital, demostrando cifras que fueron imposibles de utilizar para análisis estadístico, ya que por ejemplo la determinación de TGO en el grupo control fue de 195.6 con una desviación estandar de ± 34 . Con isquemia de 60 minutos sin medicamentos, valores negativos de -4.2 con una desviación estandar de ± 7 ; y con isquemia de 90 minutos sin medicamentos de 181.4 con una desviación estandar de ± 301 . Los estudios de laboratorio no se discutirán en el análisis de resultados.

SOBREVIDA EN RATAS SOMETIDAS A 60 MINUTOS DE ISQUEMIA



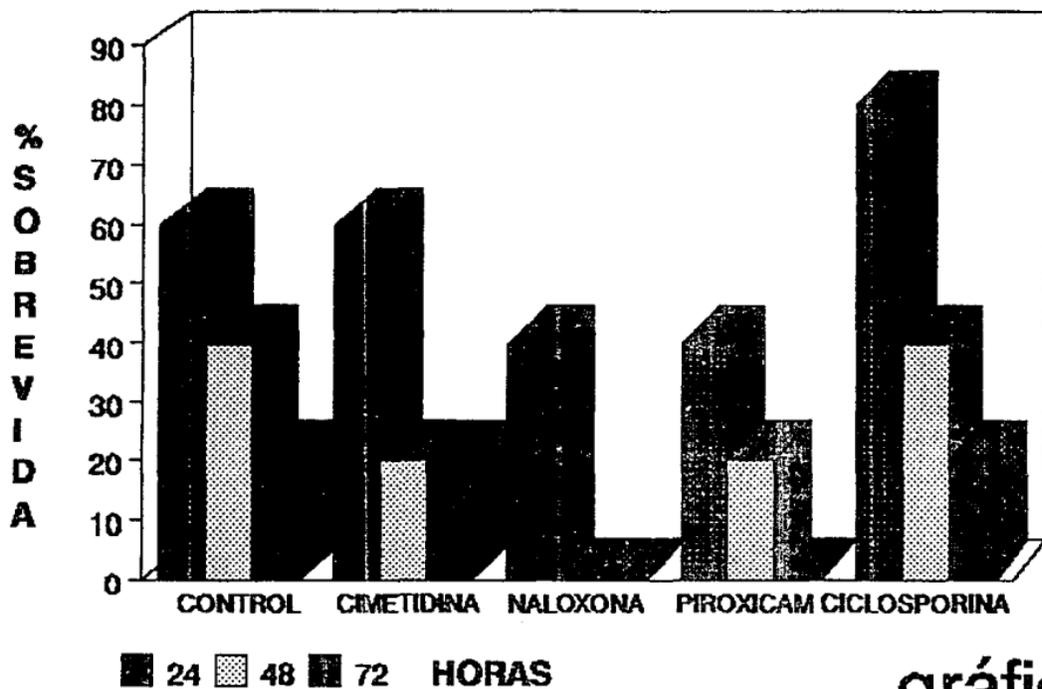
gráfica 1

SOBREVIDA EN RATAS SOMETIDAS A 90 MINUTOS DE ISQUEMIA



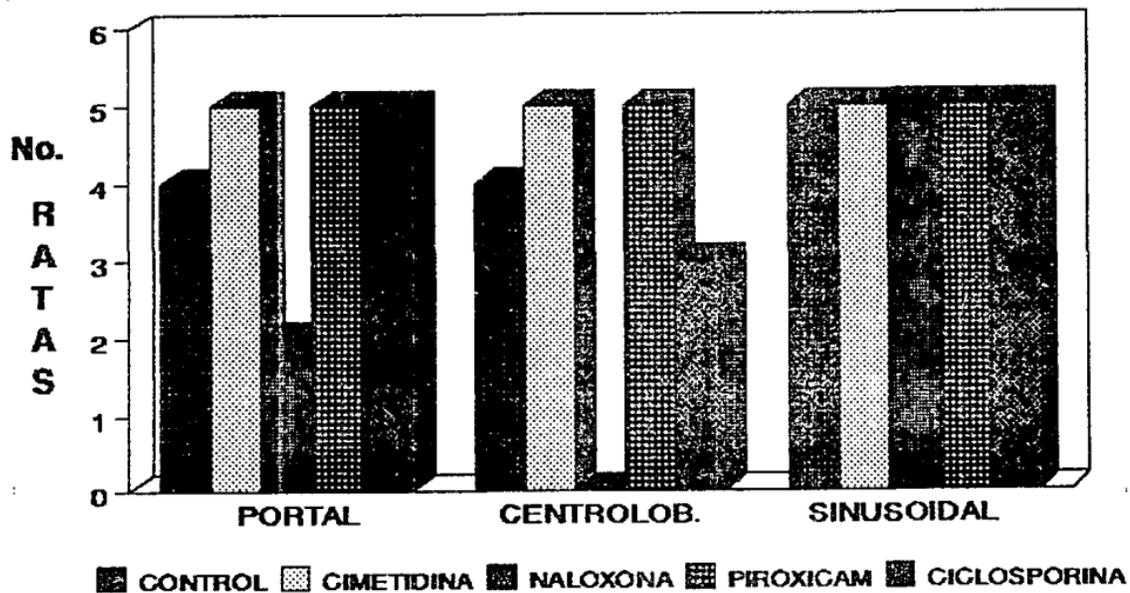
gráfica 2

SOBREVIDA EN RATAS SOMETIDAS A 120 MINUTOS DE ISQUEMIA



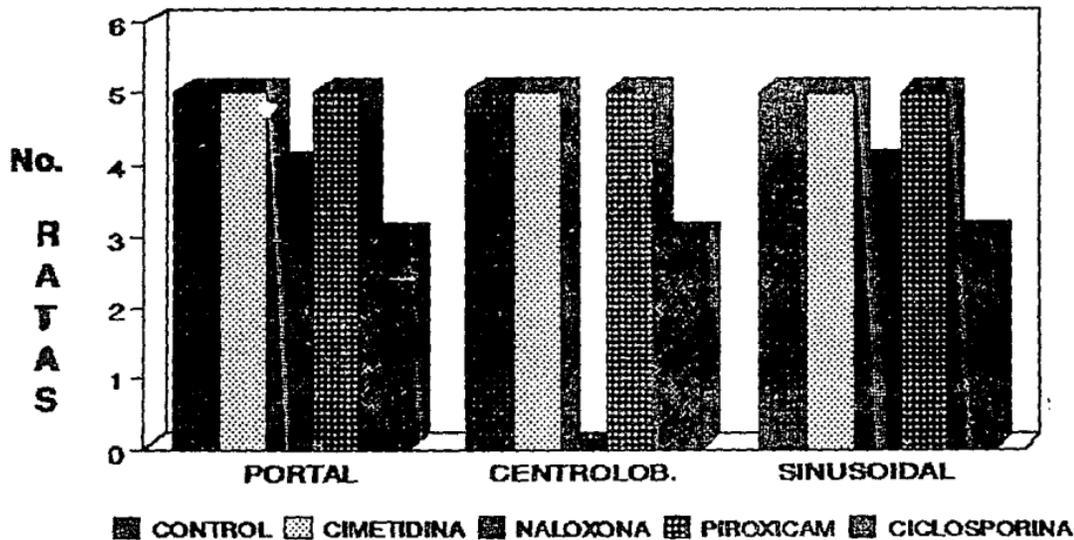
gráfica 3

CONGESTION HEPATICA, 60 MIN. DE ISQUEMIA



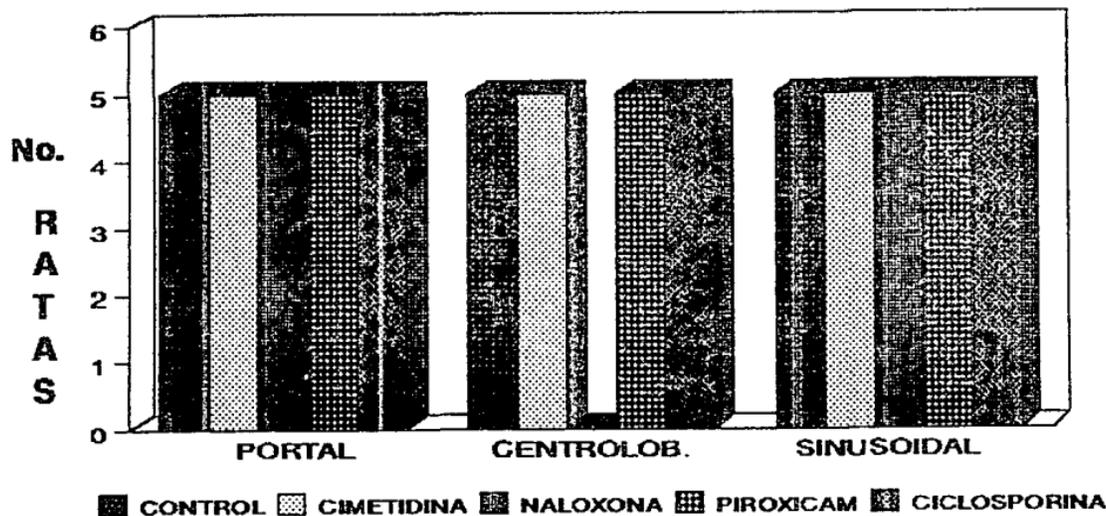
gráfica 4

CONGESTION HEPATICA, 90 MIN. DE ISQUEMIA



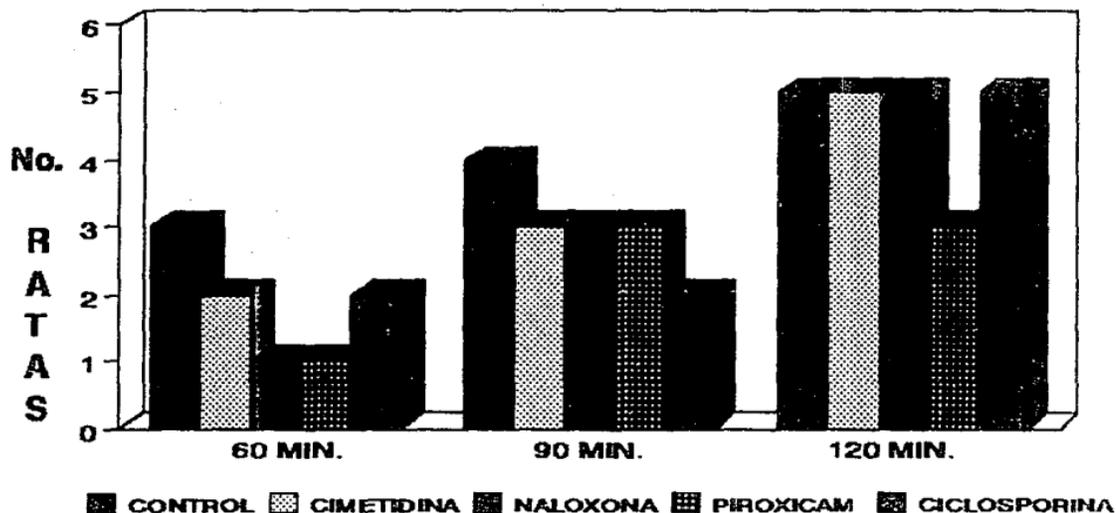
gráfica 5

CONGESTION HEPATICA, 120 MIN. DE ISQUEMIA



gráfica 6

INFILTRADO INFLAMATORIO PRESENTE EN EL HIGADO



gráfica 7

CONCLUSIONES

Si analizáramos por separado la sobrevida y los resultados histopatológicos encontraríamos las siguientes conclusiones importantes:

Con respecto a la sobrevida observamos que a los 60 minutos de isquemia hay un marcado aumento cuando se usó piroxicam, naloxona y ciclosporina, a los 90 minutos destaca la protección del piroxicam, manteniendo una gráfica constante al 80% de sobrevida de 1 a 3 días. Sin embargo, a los 120 minutos de isquemia no se observa alguna protección franca con los fármacos usados en relación al grupo control. De estos datos, podemos inferir que la naloxona ofrece una protección a corto plazo post-reperusión hepática, que no es constante al segundo y tercer día; por otra parte, el piroxicam ofrece una gráfica de sobrevida que se mantiene constante y destaca a los 60 y 90 minutos.

Otro dato categórico que muestra nuestro estudio es el efecto protector que la naloxona ofrece en la congestión hepática centrolobulillar, ya que ésta fue nula a los 60, 90 y 120 minutos de isquemia. Dicha protección puede estar relacionada con el aumento en la sobrevida de los grupos tratados con naloxona a los 60 minutos de isquemia. El grado de congestión sinusoidal y portal no mostró gran disminución en los grupos tratados frente al control.

El infiltrado inflamatorio disminuyó importantemente en los grupos tratados con piroxicam a los 60, 90 y 120 minutos de isquemia, lo cual podría estar relacionado con un aumento en la sobrevida a los 60 y 90 minutos de isquemia.

Finalmente consideramos que sería interesante continuar el estudio haciendo la combinación de dos fármacos con diferente mecanismo de acción protectora en el fenómeno de isquemia y reperusión hepática, como son la naloxona, secuestrador de radicales libres de oxígeno y piroxicam, antiinflamatorio no esteroideo que impide la degranulación de leucocitos polimorfonucleares

BIBLIOGRAFIA

- (1) Per-Olof Hasselgreen. Prevention and treatment of ischemia of the liver. Surg Gynecol and Obstet, 1987;164:187-198.
- (2) Per-Olof Hasselgreen. Liver circulation and oxygen metabolism during short time ligation of the hepatic artery in the dog. Acta Chir Scand, 1979;145:471-477.
- (3) Duchinova. Ueber temporäre abklemmung des lig. hepatoduodenale für bultosa operations. Zentralog F. D. ges Chir, 1925;35:581-82.
- (4) Hugues. Resection of the liver for colorectal carcinoma metastases. Surgery, 1986;100:278-283.
- (5) Fortner. Major hepatic resection using vascular isolation and hypothermic perfusion. Ann Surg, 1974;180:844-850.
- (6) Delva. Hemodynamic and biochemical monitoring during mayor liver resection with the use of hepatic vascular exclusion. Surgery, 1984;95:309-318.
- (7) Chaudry. Alterations in cell function with ischemia and shock, and their correction. Arch Surg, 1981;116:1309-1317.
- (8) Nunes. Mechanism of hepatic dysfunction following shock and trauma. Arch Surg, 1970;100:546-556.
- (9) Starzl. Orthotopic omotransplantation of the human liver. Ann of Surg, 1968;168:392-413.
- (10) Bismuth. Hepatic transplantation in Europe. Lancet, 1987;19:874-876.
- (11) Knechtle. D'Alessandro. Liver retransplantation: The university of Winsconsin experience. Transplantation Proc, 1981;23:1955.
- (12) Sumimoto. Ischemic damage prevention by Coenzyme Q10 treatment of the donor before orthotopic liver transplantartion: Biochemical and hystologic findings. Surgery, 1987;102:821-827.
- (13) Katsunory. The benefical effect of cyclosporine on liver ischemia in rats. Transplantaion, 1989;48:759-764.
- (14) Farber. The pathogenesis of irreversible cell injury in ischemia. Am J Pathol,

1981;102:271-281.

(15) Ames. Cerebral ischemia, the no-reflow phenomenon. Am J Pathol, 1968;52:437-454.

(16) Willms. Ischemia of the skin, electron microscopic study of vascular injury. Am J Pathol, 1969;54:327-354.

(17) Chien. Prevention by Chlorpromazine of Ischemic liver cell death. Am J Pathol, 1977;88:539-558.

(18) Ashford. Response of the isolated perfused hepatic parenchima to hypoxia. Ann of Surgery, 1965;162:191-207.

(19) Holper. Effect of ischemia on hepatic parenchima and reticuloendothelial in the baboon. Surgery, 1974;76:423-431.

(20) Saretok. Effects of hydralazine on liver blood flow in normovolemic dogs. Act Chir Scand, 1984;150:1-4.

(21) Lindberg. Liver circulation in hemorrhagic shock. Act Chir Scand, 1977;suppl.476:1-18.

(22) Engle. Role of leucocytes in response to acute myocardial ischemia and reflow in dogs. Am J Physiol, 1988;251:H314-H322.

(23) Per-Olof Hasselgreen. No beneficial effect of ATP-MgCl₂ on inpired transmembran potencial and protein synthesis in liver ischemia. Acta Chir Scand, 1982;148:601-607.

(24) Chaudry. Effects of sepsis on tissues adenin nucleotide level. Surgery, 1979;85:205-211.

(25) Leaf. Regulation on Intracelular fluid volumen and disease. Am J Med, 1970;49:291-295.

(26) Chien. Ischemic myocardial cell injury: Prevention by Chlorpromazine of an accelerated phospholipid degradation and asociated membrane disfunction. Am J Pathol, 1979;97:505-529.

(27) Wattiaux. Effect of a transitory ischemia on the structure linked latency of rat liver acid phosphatase and beta galactosides. Biochemic J, 1981;198:881-886.

- (28) Lelcuck. Prostacyclin and Tromboxane A2 moderate post-ischemic renal failure. Surgery, 1985;98:207-211.
- (29) Oteef. Pharmacologic modulation of experimental post-ischemic hepatic function. Ann Surg, 1989;209:200-210.
- (30) Bulckley. The role of oxygen free radicals in human disease proces. Surgery, 1983;94:407-411.
- (31) Parks. Ischemic injury in the cat small.intestine: role of superoxide radicals. Gastroenterol, 1982;82:9-15.
- (32) Manson. The role of oxygen-free radicals in Ischemic tissue injury in island skin flaps. Ann of Surg, 1983;198:87-90.
- (33) Stuart. Five hours hypothermic lung preservation with oxygen free-radical scavenger. Trasplant Proc, 1985;17:1454-1456.
- (34) Baker. Oxygen free radical induced damage in kidney subjet to warm Ischemia and reperfusion. Ann Surg, 1985;202:628-641.
- (35) Mc. Cord. Oxygen-derived free-radicals in postischemic tissues injury. NEJM, 1985;312:159-163.
- (36) Schiafer. Superoxide dismutase plus catalase enhances the efficacy of hypothermic cardioplegia to protect the globally ischemic, reperused heart. J Thorac Cardiovasc Surg, 1982;83:830-839.
- (37) Sanfey. The pathogenesis of acute pancreatitis. Ann Surg, 1985;201:833-838.
- (38) Mc. Kelvey. Mechanic of conversion of xanthin deshydrogenase to xanthin oxidase in ischemic rat liver an kidney. Am J Physiol, 1988;254:G753-G780.
- (39) Ernster. Pathways of Superoxide free radicals formation. Chemica Scripta, 1986;26:525-526.
- (40) Siems Xanthin oxidase pathway as the major source of free radsicals formation. Biomed Biochem Acta, 1983;42:1079-1080.
- (41) Southard. Oxygen derived free radicals damage in organ preservation: activity of superoxide dismutase and xanthin oxidase. Surgery, 1987;101:566-570

- (42) Frederiks. Changes in acid phosphatase activity in rat liver after ischemia. Histochemistry, 1989;93:161-166.
- (43) Steininger. Protective effect of PGI₂ and Diltiazem on liver ischemia and reperfusion in pigs. Transplantation Proc, 1988;20:999-1002.
- (44) Leaf. Cell Swelling. Circulation, 1973;48:455-458.
- (45) Yahanda. Susceptibility of hepatic microcirculation to reperfusion injury: a comparison of adult and suckling rats. J Pediatric Surg, 1990;25:208-213.
- (46) Vacanti. Liver transplantation in children. Transplantation Proc, 1987;19:3261-3266.
- (47) Wozney. Vascular complications in liver transplantation. AJR, 1986;147:657-663.
- (48) Harper. Coagulation changes following hepatic revascularization during liver transplantation. Transplantation, 1988;48:603-607.
- (49) Chaudry. Effect of ATP-MgCl₂ administration in shock. Surgery, 1974;75:220-227.
- (50) Machiedo. The effect of ATP-MgCl₂ infusion on hepatic cell permeability and metabolism after hemorrhagic shock. Surgery. 1981;90:328-333.
- (51) Hirasawa. Improved hepatic function and survival with ATP-MgCl₂ after hepatic ischemia. Surgery, 1978;83:655-660.
- (52) Haraki. Cytoprotective actions of Prostacyclin during hypoxia in the isolated perfused cat liver. Am J Physiol, 1980;238:H176-H181.
- (53) Monden. 24 and 48 hour canine liver preservation by simple hypothermia with Prostacyclin. Ann Surg, 1982;196:38-42.
- (54) Alvarez-López. Prostaglandin E₂ increases tolerance of the rat liver to warm ischemia in absence of splanchnic congestion. Transplantation Proc, 1987;19:4105-4109.
- (55) Meren. Lack of improvement of ischemic tolerance with PGE₂. Hepatology, 1986;6:917-919.
- (56) Grosfeld. Comparative effects of indomethacin, Prostaglandin E and

- Ibuprofen on bowel ischemia. J Pediatric Surg, 1983;18:738-742.
- (57) Harper. Texto de bioquímica. Editorial Manual Moderno, México D. F. 1983.
- (58) Tibblin. Splachnic hemodynamic responses to glucagon. Arch Surgery, 1970;100:84-89.
- (59) Kock. The effect of glucagon on hepatic blood flow. Arch Surgery, 1970;100:147-149.
- (60) Proctor. The effect of glucagon on hepatic celular energetics during a low flow state. Surgery, 1980;87:369-374.
- (61) Hayashi. Evidence that Cyclosporine protects lysosomal membrane in liver ischemia in dogs. Transplantation, 1989;47:924-925.
- (62) Francavilla. Augmentation of rat liver regeneration by FK 506 compared with Cyclosporine. Lancel, 1989;1:1248-1249.
- (63) Starzl. Cyclosporine and liver regeneration. Surgery, 1972;71:787-790.
- (64) Vasko. Effect of allopurinol in renal ischemia. Surgery, 1972;71:787-790.
- (65) De Wall. Response of the ischemic myocardium to allopurinol. Am Heart J, 1971;82:362-370.
- (66) Parks. Ischemia induced vascular changes: Role of Xanthine oxidase and hydroxil radicals. Am J Physiol, 1983;245:G285-G289.
- (67) Nordström. Benefical effect of allopurinol in liver ischemia. Surgery, 1985;97:879-885.
- (68) Toledo-Pereyra. Protection of the ischemic liver by donor pretreatment before transplantation. Am J Surg, 1975;129:513-519.
- (70) Castillo. Effective timing of allopurinol administration in the ischemic liver. Transplantation, 1989;47:727-730.
- (71) Marubayashi. Preservation of Ischemic rat liver mitochondrial function and liver biability with CoQ10. Surgery, 1982;91:631-637.
- (72) Marubayashi. Role of free radicals in ischemic rat liver cell injury: Prevention of damage by alpha tocopherol administration. Surgery, 1986;99:184-191.

- (73) Omar. Prevention of postischemic lipid peroxidation and liver cell injury by iron chelation. *Gul*, 1989;30:510-514.
- (74) Frech. Effects of Piroxicam on superoxide generation, phospholipid methylation and leukotriene production by human blood mononuclear cells. *J Rheumatol*, 1987;14:1018-1021.
- (75) Minta. Some nonsteroidal antiinflammatory drugs inhibit the generation of superoxide anions by activated polymorphs by blocking ligand-receptor interactions. *J Rheumatol*, 1985;12:751-757.
- (76) Paur. Can copper / Piroxicam complexes catalyze the elimination of superoxide radicals? *Anal Chem*, 1984;317:694-695.
- (77) Van Epps. Alterations in neutrophil superoxide production following piroxicam therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Inflammation*, 1987;11:59-72.
- (78) Sordell. Piroxicam treatment protect mice from lethal pulmonary challenge with *Pseudomonas aeruginosa*. *J Infect Dis*, 1989;159:232-238.
- (79) Simpkins. Naloxone inhibits superoxide release from human neutrophils. *Life Sci*, 1985;37:1381-1386.
- (80) Gutiérrez-Vega. Acute mesenteric small Bowel ischemia in the rat. Protective effect of Naloxone. *Transplantation* 1990;49:830-833.
- (81) Zimmerman. H2 antagonists inhibition of human neutrophil superoxide anion synthesis. *Clin Pharmacol Ther*, 1989;45:487-494.
- (82) Raffucci. The effect of temporary occlusion of the afferent hepatic circulation in dogs. *Surgery*, 1953;33:342-351.
- (83) Nordlinger. An experimental study of survival after two hours of normothermic hepatic ischemia. *Surg Gynecol Obstet*, 1950;150:859-864.