

1120/13
reje.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

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

**ALTERACIONES MORFOLOGICAS EN LA
MANIPULACION FARMACOLOGICA DE LA
ISQUEMIA Y REPERFUSION HEPATICA:
Modelo experimental en Rata**

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN:
ANATOMIA PATOLOGICA
P R E S E N T A :
DR. JOSE EDUARDO SAMAYOA PALMA



MEXICO, D. F.

1993

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

RECEBIDA EN LA SECRETARIA DE SALUD
EL 10 DE ABRIL DE 1993



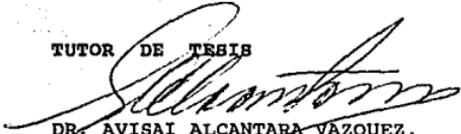
UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

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.

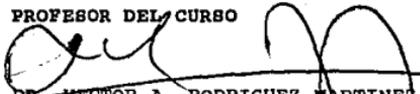
TUTOR DE TESIS



DR. AVISAI ALCANTARA VAZQUEZ,

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA QUIRURGICA, UNIDAD DE ANATOMIA PATOLOGICA, HOSPITAL GENERAL DE MEXICO, S.S. PROFESOR TITULAR DE PATOLOGIA, FACULTAD DE MEDICINA, UNAM.

PROFESOR DEL CURSO



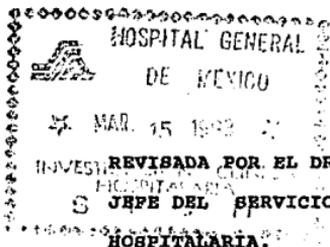
DR. HECTOR A. RODRIGUEZ MARTINEZ,

JEFE DE LA UNIDAD DE ANATOMIA PATOLOGICA, HOSPITAL GENERAL DE MEXICO, S.S. PROFESOR TITULAR DE PATOLOGIA, FACULTAD DE MEDICINA, UNAM.

RECEIVED
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO
MAY 2 1983
SECRETARIA DE SALUD
SECRETARIA DE SALUD

ESTA TESIS QUEDO REGISTRADA EN EL SERVICIO DE
INVESTIGACION CLINICA HOSPITALARIA DEL HOSPI-
TAL GENERAL DE MEXICO DE LA SECRETARIA DE
SALUD CON LA CLAVE: -----

DIC/91/PC/03/304/01/02.



REVISADA POR EL DR. OCTAVIO AMANCIO CHASSIN,
JEFE DEL SERVICIO DE INVESTIGACION CLINICA
HOSPITALARIA.

RECONOCIMIENTOS

Agradesco al Dr. Homero López su colaboración para la obtención del material quirúrgico utilizado.

Al Dr. Octavio Amancio por su ayuda en el análisis estadístico.

Al Sr. Jorge Lira, por su apoyo en la elaboración de las técnicas (tinciones) especiales realizadas.

A mi amiga, la Dra. Norma Uribe, por tantas molestias que le cause.

A Josefina Pérez y María Lucas, encargadas del archivo, por su disposición.

R E S U M E N.

Múltiples han sido los intentos para reducir el daño provocado por el proceso de isquemia y reperfusión en el hígado, utilizando gran diversidad de fármacos, entre los cuales destacan: el adenosin trifosfato-clorato de magnesio (ATP-MgCl_2), los prostanoides, el glucagon, la hidralazina, la superóxido dismutasa, el alopurinol, los bloqueadores de los canales de calcio y la coenzima Q. En el presente estudio se utilizaron 4 fármacos con esta finalidad, y fueron: el piroxicam, la cimetidina, la naloxona y la ciclosporina.

Se utilizaron 160 ratas machos, sanas, divididas en 16 grupos: el grupo 1 no fue sometido a procedimiento alguno, a los 15 grupos restantes se les produjo isquemia de los lóbulos medio e izquierdo hepáticos, con un clamp durante 60, 90 ó 120 minutos, según fué el caso y reperfusión posterior. Hubo una población control (grupos 2, 3 y 4), a la cual no se le administró medicamento, la naloxona se administró de la siguiente forma: 100 mc/Kg en solución a 400mcg/ml, 1-2 minutos previos (durante 5, 6 y 7), la cimetidina: 1.2 g/Kg/24 hrs., vía oral, una hora previa (grupos 8, 9 y 10), ciclosporina 10 mg/Kg/24 hrs., vía oral, 3 días antes (grupos 11, 12 y 13) y piroxicam 0.3 mg/Kg, 48, 24 y 1 horas previas, vía intraperitoneal (grupos 14, 15 y 16). Cinco ratas fueron sacrificadas de cada grupo para obtener los segmentos sometidos a isquemia y se valoraron: la congestión, necrosis e infiltrado inflamatorio

presentes en el tejido, así como, también la pérdida de glucógeno intracitoplasmático; las 5 ratas restantes se dejaron en observación para valorar la sobrevida.

La congestión fué el dato más constante en el tejido analizado y fué mayor en períodos prolongados de isquemia, la necrosis sólo se presentó en forma esporádica y el infiltrado inflamatorio estuvo presente en localización medio zonal en todos los casos. La pérdida de glucógeno intracitoplasmático fué directamente proporcional al período de isquemia; la naloxona presentó la menor pérdida de glucógeno y el piroxicam la mayor. Hubo diferencias significativas en la sobrevida de las ratas que se les administró piroxicam y ciclosporina a las 24 hrs.; la naloxona es el medicamento que mejor protege al hígado en la isquemia.

INTRODUCCION.

La vida surgió espontáneamente en la tierra hace aproximadamente 3,500 millones de años a partir de compuestos reducidos simples en una atmósfera primitiva con características reductoras, aunque a últimas fechas se ha manejado el concepto de que las moléculas primigenias de la vida pueden ser parte del universo mismo. Con la aparición de células capaces de llevar a cabo el proceso de la fotosíntesis (algas cianofíceas o azul-verdosas), hace aproximadamente 2,600 millones de años comenzó a acumularse lentamente el oxígeno molecular (O_2 en la atmósfera. Sólo hasta entonces (hace aproximadamente 2,600 millones de años) se pudieron desarrollar los organismos aeróbicos, capaces de utilizar oxígeno para extraer mayor cantidad de energía de los nutrimentos, que se oxidan en el ciclo de Krebs después de haber sido transformados en acetilcoenzima A (1).

Los procesos metabólicos de la respiración y de la fosforilación oxidativa facilitaron un gran avance evolutivo que facilitó la multiplicación y la diversificación de los eucariotes monocelulares y pluricelulares. Por esta razón, es difícil aceptar que el oxígeno pueda ser, a su vez, una molécula tóxica con efectos deletéreos sobre diversos sistemas biológicos.

Como evidencia de la toxicidad del oxígeno, además de la clínicamente conocida, se observaron los síndromes de isquemia/reperfusión (infarto del miocardio, choque circulatorio, trasplantes de órganos), el daño tisular se extiende y agrava precisamente durante la reperfusión. Estos datos han llevado a la conclusión de que la toxicidad del oxígeno y de sus derivados desempeña un papel primordial en las lesiones tisulares y celulares producidas en una gran variedad de procesos fisiopatológicos.

A pesar de que el oxígeno es indispensable para la vida aeróbica, tiene características tóxicas, y en los procesos metabólicos sólo se puede utilizar si los órganos cuentan con una batería de moléculas que los protejan de los derivados del oxígeno.

Cuando éste equilibrio se rompe y los sistemas productores de radicales derivados de oxígeno sobrepasan la capacidad neutralizadora de los sistemas de defensa sobreviene la enfermedad, local y generalizada.

Tradicionalmente se ha considerado que el hígado está constituido por unidades regulares, dotadas de una vena central eferente, denominadas lobulillos. Más recientemente éstas unidades han sido consideradas como acinos, con un espacio portal como estructura central. El parénquima de los acinos se divide en tres zonas: la uno que es la más próxima a la irrigación arterial y portal, la tres, la más cercana a la

vena centrolobulillar y la dos, situada en la parte intermedia. Entre los espacios porta y las venas centrales, los sinusoides forman una trama regular que se apoya en fibras de reticulina. Estas últimas, a veces, se irradian a partir de las venas centrales; esta disposición está más influida por el flujo sanguíneo que por estructuras anatómicas y se altera fácilmente cuando aumenta la presión venosa hepática (2).

En cada espacio porta se observa una arteria o arteriola, una rama de la vena porta, uno o varios conductillos biliares, vasos linfáticos y tejido conectivo. Este último contiene un número variable, pero en general, pequeño de linfocitos o células mononucleares más grandes. No se ven células plasmáticas.

El parénquima esta constituido por hepatocitos que forman láminas, separadas unas de otras por el laberinto sinusoidal. Entre los hepatocitos y el endotelio sinusoidal se encuentra el espacio de Disse, que contiene líquido hístico, colágeno y fibras de reticulina. Las células endoteliales son alargadas. En la periferia de los lobulillos se ven células de Kupffer globulosas y PAS-positivas. Normalmente también se ven en los sinusoides o en los espacios de Disse células cargadas de grasa o lipocitos y un escaso número de células mesenquimatosas de otros tipos. En el adulto, las láminas hepáticas suelen tener una célula de espesor, aunque en cualquier corte histológico se ven algunas láminas que parecen más gruesas por haber sido cortadas tangencialmente. El térmi-

no periportal se aplica tanto al parénquima vecino al espacio porta como al tejido que rodea una rama de la vena porta.

Los hepatocitos son de forma poligonal, tienen límites netos, poseen núcleos redondos con nucléolos bien definidos. Normalmente se ven algunas células binucleadas. Las mitosis son muy infrecuentes y su presencia no es necesariamente patológica. El tamaño de los núcleos varía; la mayor parte de ellos son diploides, aunque también hay algunos tetraploides, octaploides e incluso mayores. Algunos núcleos contienen vacuolas de glucógeno que no siempre pueden demostrarse con los métodos habituales. Lo mismo sucede con el glucógeno intracitoplasmático. El citoplasma de los hepatocitos normales es pálido. En las preparaciones coloreadas con hematoxilina-eosina, el retículo endoplásmico rugoso, rico en ácido ribonucléico, se ve en forma de grumos basófilos dispersos en un fondo eosinofílico. En personas normales se pueden ver algunas vacuolas de grasa. El hierro coloreable es escaso o no existe (3).

En patología clásica los cambios morfológicos de la lesión no letal se denominaban degeneraciones, pero actualmente se designan más sencillamente, lesiones reversibles. En microscopía óptica se reconocen dos patrones: Tumefacción celular y degeneración grasa. La tumefacción celular aparece siempre que la célula es incapaz de mantener la homeostasis iónica y de los líquidos, es la primera mani-

festación de casi todas las formas de lesión celular, y es consecuencia del paso de agua extracelular al interior de la célula. Cuando afecta a todas las células de un órgano produce cierta palidez, turgencia y aumento de peso del mismo. Microscópicamente, el agrandamiento celular es más discernible por la comprensión de la microvascularización del órgano, como ocurre, por ejemplo, con los sinusoides hepáticos y la red capilar de la corteza renal.

Si el agua continúa acumulándose en el interior de la célula aparecen pequeñas vacuolas claras en el citoplasma. Estas vacuolas representan segmentos separados o secuestrados del retículo endoplásmico dilatado. Este patrón de lesión no letal es denominado a veces <degeneración hidrópica> o <degeneración vacuolar>.

En microscopía óptica las células pueden reconocerse como muertas sólo cuando han experimentado una secuencia de cambios denominados necrosis. La necrosis puede definirse como los cambios que siguen a la muerte celular en un organismo o tejido, vivo, y que se deben a la progresiva acción degradativa de las enzimas sobre las células lesionadas de forma letal.

Dos procesos, esencialmente coincidentes, producen los cambios de la necrosis: 1) la digestión enzimática de la célula y 2) la desnaturalización de las proteínas. Las enzimas catalíticas derivan de los lisosomas de las células muertas, en cuyo caso la digestión enzimática se denomina autólisis, o

de los lisosomas de los leucocitos que acuden, lo que se denomina heterólisis (4).

La célula muerta suele mostrar aumento de la eosinofilia, atribuible en parte a la pérdida de la basofilia normal del ARN citoplasmático y en parte debida a la unión de la eosina a las proteínas intracitoplasmáticas. Las células pueden tener un aspecto más esmerilado y homogéneo que las normales, lo que se debe a la pérdida de glucógeno. Cuando las enzimas lisosómicas han digerido los organelos citoplásmicos, el citoplasma se vacuoliza y tiene un aspecto apolillado. Finalmente, en algunos casos puede tener lugar la calcificación de las células muertas.

En las células con lesiones letales o subletales, también se producen cambios nucleares (Fig. 1). El primer cambio ultraestructural es la condensación reversible de la cromatina, que forma grandes acúmulos adheridos a la membrana nuclear y al nucleólo. Sin embargo, a medida que progresan los cambios degradativos en las células, la degeneración nuclear puede tomar dos caminos. En algunas células el núcleo se contrae progresivamente y se transforma en una pequeña masa arrugada de cromatina condensada, una alteración denominada piconosis nuclear. Con el tiempo, ésta cromatina sufre disolución progresiva (cariólisis), aparentemente a consecuencia de la acción hidrolítica de ADNasas de origen lisosómico. En otras células, tras la piconosis, tiene lugar un

proceso denominado cariorrexis, en el que el núcleo desaparece.

La sangre que irriga el parénquima hepático procede de los espacios porta y se dirige hacia las venas centrolobulillares; de ella, un 30 a 40 por ciento llega por las ramificaciones terminales de la arteria hepática y el resto por las raíces venosas portales.

Se ha dicho que los hepatocitos situados alrededor de las venas centrolobulillares se encuentran más alejados del flujo sanguíneo, por lo que estarían en la periferia de los acinos, que están centrados por ramas de la vena porta y la arteria hepática, que salen a intervalos de los espacios porta y que corren por los lados del lobulillo clásico para irrigar a segmentos cuneiformes de lobulillos contiguos (5, 6).

La oclusión de ramas de la arteria hepática ocasionalmente produce infartos, a pesar de la existencia de aporte sanguíneo adicional procedente de la circulación venosa portal. Son capaces de producir oclusión arterial la poliarteritis nodosa, embolias, trombosis y ligaduras quirúrgicas. Se han publicado casos de infartos consecutivos a homotrasplantes hepáticos (7).

Los infartos suelen medir pocos centímetros de diámetro están situados profundamente dentro del hígado y son independientes de los límites lobulillares. En los infartos grandes se distinguen cuatro zonas, que de adentro a fuera son: un área central de necrosis coagulativa, a continuación

una banda de infiltración neutrofilica, por fuera de ésta un halo de necrosis periférica y finalmente una zona necrobiótica en la que los hepatocitos se ven encogidos y acidófilos. En los infartos pequeños sólo se ven las zonas más periféricas. Los espacios porta y el parénquima centrolobulillar (8, 9).

El daño que sufre el hígado durante el tiempo que se ve privado de irrigación sanguínea clínicamente ocurre por diversas causas, condicionando lesiones en ocasiones irreversibles. Entre las causas, que con más frecuencia se asocian a isquemia hepática se encuentran los traumatismos, procedimientos quirúrgicos del tipo de la hepatectomía y el trasplante. Estas situaciones cada día son de presentación más frecuente, por lo que es indispensable conocer a fondo los mecanismos de lesión durante el periodo de isquemia y reperfusión, lo mismo que las posibilidades de manejo con las que contamos actualmente.

Estudios previos, han confirmado las alteraciones fisiopatológicas que ocurren durante la lesión de isquemia y reperfusión (1). A los cambios circulatorios que por definición ocurren en la lesión de isquemia/reperfusión (I/R), se añaden otras alteraciones producidas por ciertos componentes de la sangre, como los leucocitos polimorfonucleares (PMN) que intensifican el grado de lesión tisular. Durante la primera etapa de la lesión de reperfusión la migración e infiltración de PMN y de neutrófilos ocupan un papel muy importante. En el pasado no se sabía directamente

que la lesión de I/R estuviera asociada a los neutrófilos; recientemente se ha acumulado evidencia suficiente para explicar la relación causal de los neutrófilos con la lesión I/R. Así los estudios iniciales, aunque a través de un mecanismo diferente, adquieren mayor importancia para entender y manejar la lesión de I/R.

Mecanismos de producción de isquemia y reperfusión: Entre otras causas, la irrigación hepática disminuye durante el estado de choque, trauma severo, sepsis y ligadura de la arteria hepática. Por otra parte, la interrupción total del flujo sanguíneo es necesaria durante el trasplante hepático, en la reparación de traumatismos vasculares o cuando se realiza una resección amplia por cáncer. La ligadura de la arteria hepática se recomienda en el tratamiento del cáncer de hígado, hemangioma, aneurisma, fístula arteriovenosa y hemorragia por lesiones parenquimatosas. La isquemia hepática para disminuir el sangrado como parte de un procedimiento quirúrgico fué propuesta por Duchinova, quien realizó oclusión temporal de la arteria hepática y vena porta (10). El control tumoral por ablación de neoplasias metastásicas ha fomentado la cirugía hepática resectiva. Así, en 1974, Fortner informó que en un total de 29 resecciones hepáticas amplias en humanos en las que se utilizó un método de aislamiento vascular completo y perfusión hipotérmica, se registró una mortalidad transoperatoria de 10%. Diez años más tarde Delva informó de 24 resecciones hepáticas con exclusión vascular sin que hu--

biera fallecido ningún caso durante la intervención. Por otro lado, se ha demostrado el daño celular progresivo en la isquemia asociada a estado de choque, encontrándose que hasta un 2% de pacientes chocados presentaban ictericia moderada a severa debida a un defecto celular en la excreción de bilirrubina condicionado con la hipoxia hepática. En lo referente a trasplantes de órganos, desde que Starzl, realizó con éxito el primer trasplante ortotópico de hígado en humano (11), han existido grandes progresos para prolongar la viabilidad de injerto. En 1987, el registro europeo de trasplante de hígado reportó 1,218 pacientes trasplantados entre 1968 y 1987. En la Universidad de Wisconsin, EUA, por mencionar sólo uno de los centros que realizan este tipo de trasplantes, se han realizado un total de 223 trasplantes ortotópicos de hígado entre 1984 y 1990. Una limitante que se ha enfrentado con éxito parcial es el manejo de la isquemia hepática; pero ésta continúa siendo uno de los principales factores de tipo no inmunológico que, durante el procuramiento del órgano y el trasplante mismo, puede condicionar disfunción hepática transitoria o definitiva. Dado el escaso tiempo de isquemia tolerado por el hígado, el transporte del sitio en que se obtuvo al que habrá de ocuparse resulta crítico, convirtiendo al procedimiento en una situación de urgencia.

SITUACION ACTUAL.

Los tejidos bien diferenciados como el corazón, cerebro, hígado y riñón, requieren de gran cantidad de oxígeno para realizar sus funciones especializadas, las cuales son mantenidas por la energía procedente del metabolismo aerobio y cesan al disminuir el aporte de dicho elemento (12). Cuando el período es breve, habitualmente se recupera la función del órgano afectado, pero éste se prolonga, el daño es irrevisible (13).

Se ha encontrado que la rata tolera 30 minutos de isquemia hepática, manteniendo la capacidad de regenerar niveles normales de ATP; sin embargo, a las 2-3 horas de isquemia existe necrosis extensa (14).

El daño sufrido por un órgano al que se le privó de su circulación sanguínea por un período determinado de tiempo, no sólo está condicionado por la isquemia per se, sino que también la reperfusión ocasiona considerable daño mediado por la producción de radicales libres de oxígeno (15), lo cual ha sido corroborado en la isquemia hepática en rata (16). Una fuente importante de radicales libres de oxígeno (RLO) es la vía xantin-oxidasa (XO); en condiciones normales, la enzima que actúa sobre la xantina es la xantin-deshidrogenasa (XD), que utiliza al NAD⁺ como aceptor de electrones, produciendo NADH (16). Durante el proceso de I/R, la XD se convierte, por

oxidación, en XO, al haber disposición de oxígeno en exceso. La XO utiliza al oxígeno como aceptor de electrones, produciendo RLO a una velocidad mayor que su degradación por la superóxido-dismutasa endógena (SOD) (16,17). El sustrato de la XO es generado por la degradación de nucleótidos de adenina producidos por la isquemia, de esta forma la hipoxantina, que durante la reperusión la XO la convierte en ácido úrico, consumiendo oxígeno y generando RLO (16-19).

Los RLO provocan lesión tisular por múltiples mecanismos: peroxidan la membrana celular y de organelos, tales como los lisomas (20), lesionan el endotelio vascular, provocando extravasación de líquido y células al área previamente isquémica (21).

Existen múltiples intentos para reducir el daño provocado por el proceso de isquemia y reperusión en el hígado, entre los cuales destacan: la administración de adenosin trifosfato-clorato de magnesio (ATP-MgCl₂) (22) puede mejorar significativamente las funciones celulares afectadas por el estado de choque; también se ha encontrado mejoría en la función hepática cuando se administró ATP-MgCl₂. Los prostanoideos, como la prostaciclina (23), que es un derivado del ácido araquidónico producido por las células del endotelio vascular, poseen 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 plaque-

tas. Un efecto benéfico de este prostanoides en la célula hepática puede ser el aumento del flujo esplácnico. El glucagon, una hormona polipeptídica (24), que entre otras acciones libera ácidos grasos e incrementa los niveles de AMP cíclico en el hígado, tiene un efecto inotrópico y cronotrópico positivo en el miocardio, la microcirculación esplácnica, incrementa el pH, disminuye el ácido láctico y mejora el metabolismo hepático en el choque hemorrágico. La hidralazina (25) ha demostrado que induce una redistribución del gasto cardíaco con un aumento en el flujo hepático proporcionalmente mayor que el incremento en el gasto cardíaco. La superóxido dismutasa (26) es una enzima que rápida y específicamente transforma catalíticamente dos moléculas de superóxido a oxígeno y peróxido de hidrógeno, actuando en los sistemas biológicos como antioxidante y evitando el daño celular provocado por RLO.

Cuando se administra durante o inmediatamente después del inicio de la isquemia, la SOD ha demostrado disminuir el grado de lesión por reperfusión; en el hígado se ha demostrado que al momento de la reperfusión la presencia de la SOD reduce los niveles de RLO y el daño mediado por estos, la función hepática mejora si la administración se efectúa al inicio de la reperfusión. El alopurinol (27) es un análogo de la hipoxantina y junto con su metabolito primario, el oxipurinol, son inhibidores de la XO, en concentraciones bajas es un sustrato e inhibe por competitividad, pero en concentraciones

altas es un inhibidor no competitivo de la enzima; el alopurinol ha demostrado un efecto protector del daño mediado por isquemia y reperfusión, se ha establecido que el momento ideal para la administración de alopurinol, empleado como protector del daño po I/R en este órgano es antes de iniciarse la isquemia en un lapso de cuatro horas a diez minutos. Los bloqueadores de los canales de calcio, como el verapamil (28), ha sido empleado para prolongar la tolerancia del hígado en modelos experimentales con rata, encontrándose resultados ligeramente favorables en la sobrevida de los animales. La coenzima Q (29), es un componente mitocondrial que funciona como transportador de electrones y protones en la cadena respiratoria, lo cual la hace indispensable para la producción de ATP mitocondrial. La coenzima Q tiene gran poder antioxidante protegiendo las membranas celulares y subcelulares contra la peroxidación de lípidos. Otros medicamentos que han sido utilizados comprenden los fármacos anti-inflamatorios no esteroideos, antagonistas de los receptores H2 de la histamina, naloxona y ciclosporina.

Un fármaco anti-inflamatorio no esteroideo de uso reciente es el Piroxicam (carboxamidas N-heterocíclicas del 1,2 benzotiacina-1,1-dióxido; presenta un protón 4 hidroxil débilmente ácido y un nitrógeno piridinilo débilmente básico) que posee efectos inhibitorios en las funciones de leucocitos polimorfonucleares (PMN), tales como la desgranulación y liberación de RLO (30). Se sabe que dicho fármaco ejerce ac-

ción anti-inflamatoria 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 (31). El piroxicam, así como, otros anti-inflamatorios no esteroideos, forman quelantes de Cobre, que catalizan la demutación de los RLO por PMN humanos en pacientes con artritis reumatoide tratados con piroxicam (33). 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 (34).

La Naloxona [(-)-17-alilo-4,5 α epoxi-3,14-dihidroximorfinan-6-uno hidrocloreuro], un inhibidor de receptores opiáceos con efectos presores, ha demostrado reducir la liberación de RLO de PMN humanos por medio de la probable inhibición de la XO y no como ahorrador de RLO (35). La naloxona ha sido usada con éxito para disminuir el daño provocado por el proceso isquemia-reperusión en el intestino de rata (36).

Tanto la Cimetidina (N"-ciano-N-metil-N'-(2((5-metil-1H-imidazol-4 y 1) metil) tio) -etil) guanidina) como la ranitidina, antagonistas de los receptores H2 de la histamina, pueden inhibir la producción de RLO de neutrófilos activados, a dosis suprafarmacológicas (37), probablemente por medio de la inhibición de la enzima XO y no como depurador de RLO.

La Ciclosporina A (CyA), (polipéptido cíclico de 11 aminoácidos), un potente inmunosupresor ampliamente aceptado en la práctica clínica para evitar el rechazo a órganos trasplantados, ha mostrado efectos protectores del hepatocito sometido a isquemia, gracias a un efecto hepatotrófico, demostrado por una menor liberación de enzimas intrahepáticas (transaminasas), menor porcentaje de necrosis y una mayor actividad mitótica con respecto a controles (38).

J U S T I F I C A C I O N .

Con el presente estudio se pretende prolongar significativamente el tiempo tolerado por el hígado de la rata a la isquemia, por medio del uso de fármacos, tales como el piroxicam, la naloxona, la cimetidina y la ciclosporina, así como, determinar diferencias entre ellos.

Al prolongar dichos tiempos de isquemia, se solucionarían los problemas enfrentados en las situaciones clínicas anteriormente descritas.

H I P O T E S I S .

NULA:

El piroxicam, la naloxona, cimetidinay ciclosporina no prolongan el tiempo de isquemia tolerado por el hígado de la rata, con respecto a controles.

ALTERNA:

El piroxicam, la naloxona, cimetidina y ciclosporina prolongan el tiempo de isquemia tolerado por el hígado de la rata, con respecto a controles.

O B J E T I V O S .

1.- Encontrar qué fármaco protege de manera más efectiva contra el daño causado por el tiempo de isquemia hepática y la reperfusión.

2.- Identificar los cambios histopatológicos a nivel hepático, causados por la isquemia y reperfusión.

MATERIAL Y METODOS:

Se utilizaron 160 ratas machos, raza Lewis, con peso de 200 a 300 g., sanas, provistas de alimento standard y agua ad libitum; se excluyeron ratas diagnosticadas como enfermas, hembras o con un peso mayor de 300 g., o menor de 200 g y se eliminaron ratas que enfermaron o murieron por causas ajenas al experimento.

Se dividieron a las 160 ratas en 16 grupos de 10 ratas cada uno (tabla 1): la población control comprendió 4 grupos de 10 ratas cada uno, las que fueron sometidas a períodos de tiempo de isquemia que variaron de 0 minutos hasta 120 minutos, respectivamente, sin utilizar medicamentos hepatoprotectores.

En la segunda población de ratas estudiadas se utilizó naloxona, administrada de la siguiente forma: 100 mcg/Kg, en solución a 400 mcg/ml, 1-2 minutos previos a la isquemia, los grupos formados quedaron de la siguiente manera: grupo 5, administración de naloxona y sometidas a 60 minutos de isquemia grupo 6, administración de naloxona y sometidas a 90 minutos de isquemia y el grupo 7 administración de naloxona y sometidas a 120 minutos de isquemia (36).

En la tercera población de ratas estudiadas el fármaco utilizado fué la cimetidina, a dosis triple de la necesaria para inhibir la secreción de ácido gástrico en la rata: 1.2 g/Kg/24 hrs, vía oral, una hora previa a la isquemia (37), los

grupos formados quedaron de la siguiente manera: grupo 8, administración de cimetidina y sometidas a 60 minutos de isquemia, grupo 9 administración de cimetidina y sometidas a 90 minutos de isquemia y grupo 10 administración de cimetidina y sometidas a 120 minutos de isquemia.

En la cuarta población de ratas estudiadas el medicamento hepatoprotector utilizado fué la ciclosporina a razón de 10 mg/Kg/24 hrs., vía oral, 3 días previos a la isquemia, los grupos quedaron de la siguiente forma: grupo 11, administración de ciclosporina y sometidas a 60 minutos de isquemia, grupo 12 administración de ciclosporina y sometidas a 90 minutos de isquemia y grupo 13, administración de ciclosporina y sometidas a 120 minutos de isquemia (39).

En la última población de ratas sometidas al experimento, el fármaco administrado fué el piroxicam, el cual se aplicó en forma intraperitoneal en la siguiente dosis 0.3 mg/Kg 48, 24 y 1 horas previas a la isquemia (34), los grupos quedaron de la siguiente forma: grupo 14, administración de piroxicam y sometidas a 60 minutos de isquemia, grupo 15 administración de piroxicam y sometidas a 90 minutos de isquemia y grupo 16, administración de piroxicam y sometidas a 120 minutos de isquemia.

Cada una de las ratas se anestesió con 60 mg/Kg de pentobarbital sódico (Anestosal, aproximadamente 0.2 ml) intraperitoneal (Fig. 3), se practicó incisión media amplia para exponer el hilio hepático (Figs. 4,5,6). Se realizó oclu-

si3n vascular de los l3bulos medio e izquierdo con un clamp microvascular (Fig. 7) y a los 60, 90 3 120 minutos, seg3n fue el caso, se liber3 dicho clamp. Con este procedimiento el 70% del h3gado se torn3 isqu3mico y no caus3 estasis portal. Al momento de retirar el clamp. Con este procedimiento el 70% del h3gado se torn3 isqu3mico y no caus3 estasis portal. Al momento de retirar el clamp de los vasos de los l3bulos medio e izquierdo, se resecaron los l3bulos restantes, estos son el lateral derecho y caudado; finalmente, se procedi3 a cerrar el abdomen en dos planos (Fig. 8).

Una hora despu3 de permitida la reperfusi3n, se sacrificaron 5 ratas de cada grupo para obtener los segmentos hep3ticos sometidos a isquemia; estos segmentos hep3ticos fueron seccionados en varios fragmentos de 5 mm de espesor y fijados inmediatamente en formol al 10%. Posteriormente se incluyeron en las c3psulas respectivas para el proceso de deshidrataci3n se colocaron en bloques de parafina y se realizaron cortes de 5 micras de espesor. Estos cortes fueron te3idos con pery3dico de Schiff (PAS), para valorar los cambios en la cantidad de gluc3geno, as3 como, tinciones de reticulo. Todas y cada una de las laminillas fueron valoradas por dos pat3logos con criterio unificado y los par3metros valorados fueron: congesti3n necrosis, infiltrado inflamatorio y p3rdida de gluc3geno, todos ellos se tabularon en cruces. Una cruz (+) signific3 escasa congesti3n, m3nima necrosis, leve infiltrado inflamatorio o nula p3rdida de gluc3geno, se-

gún fue el caso y cuatro cruces (++++) para máxima congestión, necrosis e infiltrado inflamatorio y pérdida total del glucógeno intracitoplásmico.

R E S U L T A D O S .

Los cambios encontrados en los lóbulos hepáticos sometidos a isquemia se dividieron en dos aspectos característicos.

1. Alteraciones macroscópicas: el lóbulo medio del hígado de la rata en promedio midió 5x3x1 cm.- En la población control, el grupo 1 mostró lóbulo medio de color café pálido consistencia ahulada, no se encontraron alteraciones en la superficie ni al corte. El grupo 2, sometido a 60 minutos de isquemia, mostró la superficie de color café pálido con áreas pequeñas, diseminadas, mal delimitadas, de color azul violáceo y consistencia ahulada; éstas mismas características se encontraron en la superficie de corte. A los 90 minutos de isquemia, la superficie fué de color gris pálido, con áreas extensas de color gris pálido, de bordes irregulares y difuminados, diseminadas, encontradas también en los diferentes niveles de corte.

En la población de ratas a las cuales se les administró naloxona, se encontraron los siguientes datos: a los 60 minutos de isquemia y posterior reperfundición, la superficie del lóbulo hepático fué de color café pálido y consistencia ahulada, con varias áreas de color azul violáceo, pequeñas y mal delimitadas, diseminadas en dicha superficie y en el parénquima. A los 90 minutos el lóbulo presentó superficie de

color café grisáceo y consistencia ahulada, con extensas zonas de color violáceo, de bordes irregulares y difuminados, diseminadas en la misma. Y a los 120 minutos de isquemia correspondiente al grupo 7, la superficie se notó de color café grisáceo y consistencia media, con zonas mal delimitadas de color gris rojizo, de bordes irregulares y poco aparentes, poco extensas, diseminadas en la misma. Estos cambios presentes en esta población, son aparentes a simple inspección macroscópica y cuanto mayor es el tiempo de isquemia, mayor el número y la extensión de las lesiones.

A la población de ratas a las que se les administró cimetidina, los cambios aparecieron a los 60 minutos, de manera notable, la superficie del lóbulo se notó de color café rojizo y consistencia blanda, con áreas de color azul violáceo, poco extensas y diseminadas, encontradas también en los diferentes niveles de corte del parénquima. A los 90 minutos, mostró superficie de color café rojizo y consistencia media, con múltiples y pequeñas áreas de color azul violáceo, de bordes irregulares y difuminados, diseminadas en la misma. Los cambios más aparentes se encontraron a los 120 minutos, la superficie fué de color gris oscuro y consistencia ahulada con varias áreas de color rojo violáceo, poco extensas, diseminadas, de bordes irregulares y mal delimitados.

A las ratas que se les administró ciclosporina, los cambios también aparecieron de manera temprana, vale la pena mencionar que esta población es la que menor número de especí-

menes tuvo por el fallecimiento de dos ratas por causas ajenas al experimento. Los cambios encontrados en los lóbulos sometidos a 60 minutos de isquemia, correspondiente al grupo 11, fueron los siguientes: la superficie fué de color café oscuro y consistencia media, con varias áreas de color azul violáceo, diseminadas, de bordes irregulares y poco aparentes. A los 90 minutos de isquemia, mostró superficie de color café grisáceo y consistencia media, con áreas extensas de color azul violáceo, de bordes irregulares y bien delimitados, encontrados en los diferentes niveles de corte del parénquima Y a los 120 minutos mostró las siguientes características: la superficie fué de color café pálido y consistencia blanda, con múltiples áreas de color azul violáceo, de borde irregulares y mal delimitados, poco extensas.

La última población sometida al experimento constó de ratas a las que se les administró piroxicam, los cambios presentes en el lóbulo fueron los siguientes: a los 60 minutos, la superficie se encontró de color café grisáceo y consistencia media, con múltiples áreas de color gris oscuro, de bordes irregulares y difuminados, poco extensas, diseminadas en dicha superficie; los diferentes niveles de corte del parénquima mostraron las mismas características. A los 90 minutos, los cambios consistieron en superficie de color café amarillento y consistencia blanda, con múltiples zonas de color rojo violáceo, de bordes irregulares, pequeñas, diseminadas en dicha superficie, que alternaron con áreas de

congestión, de aspecto "en nuez moscada", estos cambios se encontraron también en los diferentes niveles de corte. Finalmente, a los 120 minutos, el lóbulo medio presentó superficie lisa, despulida, de color café rojizo y consistencia media, con múltiples zonas diseminadas de color azul violáceo, de bordes irregulares y mal delimitados, presentes en el parénquima de los cortes.

2. Alteraciones microscópicas: el estudio histológico comprendió la valoración cuantitativa (en cruces) de congestión con localización portal, centrolobulillar o sinusoidal; necrosis de localización portal, centrolobulillar o medio zonal, también en cruces; infiltrado inflamatorio localizado en los espacios porta, centrolobulillar o medio zonal y, finalmente, la presencia de glucógeno intracitoplasmático.

En la población control, el grupo que no fué sometido a isquemia, ni a la administración de fármacos, correspondiente al grupo 1, no presentó congestión, necrosis ni infiltrado inflamatorio y conservó totalmente el glucógeno intracitoplasmático. A los 60 minutos de isquemia presentó congestión en las tres localizaciones, en menor cuantía en la región centro lobulillar, no hubo necrosis y la pérdida de glucógeno fué leve (+), el infiltrado inflamatorio fué mínimo y con localización medio zonal (fig. 12). A los 90 minutos presentó congestión importante en las tres localizaciones (fig. 10), no

presentó necrosis y el infiltrado inflamatorio estuvo presente en los espacios porta y en la zona media del acino (fig. 12), la pérdida del glucógeno fué marcada (+++). A los 120 minutos los cambios histológicos encontrados fueron los siguientes: congestión acentuada en las tres localizaciones (fig. 11), aparición de necrosis con localización medio zonal y aumento de la presencia de infiltrado inflamatorio en las 3 localizaciones, la pérdida de glucógeno fué total (++++) . Otras alteraciones encontradas fueron: presencia de núcleos hipercondensados y picnosis, y microvacuolaciones citoplásmicas en varios hepatocitos.

Los cambios histológicos encontrados en el tejido correspondiente al lóbulo medio sometido a 60 minutos de isquemia, previa administración de naloxona, en el espacio porta fué mínimo y no hubo en la región centrolobulillar (fig. 9), la necrosis se presentó en un sólo caso y tuvo localización medio zonal, al igual que la presencia de infiltrado inflamatorio; la pérdida de glucógeno fué notable (++) . A los 90 minutos presentó congestión portal y sinusoidal (fig. 10), ausencia de necrosis e infiltrado inflamatorio mínimo de localización medio zonal (fig. 12); prácticamente no hubo pérdida de glucógeno. A los 120 minutos presentó congestión notable en las regiones porta y sinusoidal (fig. 11), ausencia de necrosis e infiltrado inflamatorio leve de localización medio zonal; la pérdida de glucógeno fué valorada como severa (++++) . Otras alteraciones encontradas fueron: presen-

cia de núcleos hipercromáticos, por lo menos, un caso de cada grupo y de microvacuolaciones citoplásmicas. También se notó la presencia de dilatación sinusoidal en un caso del grupo sometido a 60 minutos de isquemia.

En la población a la que se administró cimetidina, los cambios histológicos encontrados fueron: a los 60 minutos, congestión leve en las tres localizaciones, no mostró necrosis, infiltrado inflamatorio mínimo y con localización medio zonal; la pérdida de glucógeno se valoró como leve (++) . A los 90 minutos de isquemia y posterior reperfundición mostró congestión en las tres localizaciones, de moderada intensidad (fig. 10), presentó necrosis en 2 casos, uno de ellos con localización medio zonal, el otro con necrosis leve en las tres localizaciones, el infiltrado inflamatorio estuvo presente en la región medio zonal en forma mínima y la pérdida de glucógeno se valoró como moderada (+++). A los 120 minutos mostró congestión grave en las tres localizaciones (fig. 11), ausencia de necrosis y el infiltrado inflamatorio estuvo presente en la zona 2 del acino en forma mínima (fig. 12); hubo pérdida total de glucógeno (+++). Otras alteraciones encontradas fueron picnosis en 3 casos sometidos a 90 minutos de isquemia y microvacuolaciones en hepatocitos de los lóbulos sometidos a 60 y 120 minutos de isquemia.

Las alteraciones microscópicas encontradas en los cortes histológicos de los lóbulos hepáticos, de las ratas sometidas al experimento y administración de ciclosporina,

fueron las siguientes: a los 60 minutos hubo congestión en los sinusoides y los espacios porta predominantemente y en menor cuantía en la región centrolobulillar (fig. 9), el infiltrado inflamatorio estuvo presente en forma mínima con localización media zonal y no hubo necrosis; la pérdida de glucógeno se valoró como severa (+++). A los 90 minutos la congestión estuvo presente de forma más aparente en las 3 localizaciones, un sólo caso presentó necrosis de localización media zonal y el infiltrado inflamatorio fué mínimo en la zona 2 del acino; la pérdida de glucógeno también se valoró como severa (+++). Y a los 120 minutos mostró congestión que predominó en los sinusoides y en las regiones centrolobulillares, hubo necrosis en un caso y con localización medio zonal y el infiltrado inflamatorio, también medio zonal se encontró en forma leve; hubo pérdida notable de glucógeno intracitoplasmático. Otras alteraciones encontradas fueron: presencia de núcleos hiper cromáticos en dos casos del grupo sometido a 60 minutos de isquemia y en uno a los 90, un caso de degeneración vacuolar de los sometidos a 90 minutos y en uno de los sometidos a 120 y flebitis en este último.

En la última población sometida al experimento, y que constó de ratas a las que se les administró piroxicam, los cambios microscópicos presentes en las laminillas revisadas consistieron, en la población sometida a 60 minutos de isquemia, de congestión en las tres localizaciones, mayor en

los sinusoides y leve en las regiones porta y centrolobulillar el infiltrado inflamatorio se presentó en un sólo caso, con localización medio zonal, en forma mínima (+), no presentó necrosis y la pérdida de glucógeno fué leve (++); tampoco presentó otras alteraciones, como las encontradas en casos anteriores. A los 90 minutos, la congestión estuvo presente en forma importante en las 3 localizaciones, en infiltrado inflamatorio estuvo presente en 3 de los casos, uno de ellos con linfocitos en las 3 localizaciones, en tres casos presentaron necrosis de localiazción centrolobulillar y la pérdida de glucógeno se valoró como grave (+++), un sólo caso presentó, además, picnosis y los 3 casos que presentaron necrosis, también presentaron degeneración vacuolar del citoplasma. Finalmente, en la población sometida a 120 minutos de isquemia la congestión se encontró en las 3 localizaciones (fig. 11), en la misma intensidad, cuatro de los cinco casos presentaron necrosis con localización centrolobulillar el infiltrado inflamatorio estuvo presente y con localización medio zonal en forma moderada, la pérdida de glucógeno se valoró como total y sólo dos casos mostraron degeneración vacuolar de sus citoplasmas, no se encontraron otras alteraciones.

D I S C U S I O N .

Desde hace varias décadas se han realizado múltiples intentos para reducir el daño que sufre el hígado durante el transcurso de varias entidades patológicas, tales como: choque, trauma severo, sepsis, ligadura de la arteria hepática, ésta última de manera accidental o como parte del tratamiento del cáncer primario, hemangioma, aneurisma, etc., así como, también en casos de oclusión arterial por poliarteritis nodosa, embolias y trombosis (6), para lo cual han sido utilizados varios medicamentos con propiedades hepatoprotectoras o bien medicamentos que limitan el daño producido por el proceso de isquemia-reperusión, bloqueando alguna de sus vías del mecanismo de defensa intrínseco; entre éstos fármacos destacan el ATP-MgCl₂, la prostaciclina, el glucagon, bloqueadores de los canales de calcio, la hidralazina, la superóxido dismutasa, el alopurinol, la coenzima Q (22-24) y fármacos con propiedades protectoras del daño hepático como la naloxona, la cimetidina, la ciclosporina y el piroxicam (30-39).

En el presente estudio se corroboraron algunos de los varios cambios histológicos presentes en el hígado de animales de experimentación, sometidos al procedimiento de isquemia-reperusión, previa administración de los fármacos utilizados para éste propósito.

Al comparar las alteraciones microscópicas de los lóbulos hepáticos sometidos a períodos de isquemia preestablecidos y posterior reperfusión, sin administración de medicamentos con especímenes a los que se les administró naloxona, cimetidina, ciclosporina o piroxicam, se encontraron los siguientes datos:

En los especímenes del grupo control los cambios se presentaron sujetos en forma gradual, es decir, la congestión aumentó su intensidad al prolongar el período de isquemia y la localización en la que predominó fué la sinusoidal, lo anterior fué equiparable a lo encontrado en los especímenes a los que se les administró algún fármaco; el infiltrado inflamatorio también se presentó en forma gradual esto difirió con lo observado en los otros especímenes y las necrosis sólo estuvo presente a los 120 minutos de isquemia.

La administración de la naloxona, un inhibidor de receptores opiáceos con efectos presores, mostró sus efectos hepatoprotectores al disminuir el grado de congestión presente en las diferentes localizaciones, con respecto al grupo control, y en los diferentes períodos de isquemia; esta congestión no se presentó en ningún momento en la localización centrolobulillar. El daño causado por la isquemia y presente como necrosis, sólo estuvo presente en un caso y el infiltrado inflamatorio se hizo aparente en períodos de isquemia prolongados. Estos datos son comparables a los reportados en otros experimentos (36) y el mecanismo probable de acción sea el de

reducir la liberación de RLO por PMN, al inhibir a la XO (35), al actuar a nivel intracelular en los neutrófilos, siempre que sea administrado antes de la isquemia.

El uso de un antagonista de los receptores H_2 de la histamina más comunmente prescrito en todo el mundo para reducir la acidez gástrica, como la cimetidina, en animales de experimentación durante el proceso de isquemia, ha mostrado ser de poca utilidad en la prevención del daño tisular (37), durante nuestro estudio, la administración de la cimetidina a dosis extremadamente altas, la congestión en las 3 localizaciones fué comparable a la presente en el grupo control. La necrosis se presentó sólo en dos casos (Fig.13) y la presencia del infiltrado inflamatorio fué constante en una sola localización. Lo anterior corrobora los datos previos y el efecto protector tisular, aún cuando es mínimo, se piensa que es debido al efecto inhibitor del fármaco sobre la enzima XO (37).

La ciclosporina A, un inmunosupresor ampliamente utilizado para evitar el rechazo a órganos transplantados, presentó disminución del daño hepático en las ratas sometidas al experimento gracias a sus efectos protectores, demostrados por la presencia de infiltrado inflamatorio en una sola localización y en poca cuantía, el grado de congestión, presente en las 3 localizaciones, con predominio centrolobulillar y mucho menor en los espacios porta y con sólo 2 casos de necrosis, uno en cada uno de los periodos más prolongados de isque-

nia. Esta protección esta condicionada por un efecto "hepatotrófico", aún no determinado, pero corroborado por menor liberación de enzimas intrahepáticas (transaminasas), menor porcentaje de necrosis y mayor actividad mitótica (38-39). Los mecanismos implicados podrían ser: 1) un efecto estabilizador de membrana y 2) una acción como aceptor de radicales libres.

Un fármaco no-esteroideo, piroxicam, también fue utilizado en el experimento, este fármaco ha demostrado ser de utilidad para disminuir el daño producido por los PMN y los RLO al inhibir la desgranulación y liberación de los RLO (30). El efecto anti-inflamatorio se presenta por inhibición de la ciclo-oxigenasa, otros mecanismos implicados: inhibición de la generación de RLO por bloqueo de la unión ligando-receptor (31). Estos datos son corroborados en el presente estudio al presentar sólo en algunos de los casos la presencia leve de infiltrado inflamatorio de localización medio zonal; sin embargo, la congestión se encontró de manera acentuada en la 3 localizaciones y con la mayor cantidad de casos de necrosis, presente en los periodos prolongados de isquemia, de manera importante. Estos 2 últimos parámetro difieren de los reportados en otros experimentos. (34)

Un parámetro evaluado en el presente estudio, no mencionado en la literatura, fué la presencia o ausencia de glucógeno intracitoplasmático, cuantificado en cruces, el cual en el grupo control disminuyó en forma gradual al aumentar el tiempo de isquemia (Fig. 14). La pérdida de glucógeno en el

tejido hepático de los especímenes a los que se les administró algún fármaco se presentó en forma muy acentuada: con la administración de naloxona, mostró menor pérdida de glucógeno; con la administración de cimetidina o ciclosporina, la pérdida de glucógeno fué igual para ambas y de forma gradual. Sin embargo, con la administración de piroxicam se notó la mayor pérdida de glucógeno.

Estos datos pudieran tener cierta concordancia con respecto al grado de congestión y necrosis, y deberán ser analizados más específica y minuciosamente.

Otros datos encontrados fueron la presencia de microvacuolaciones intracitoplasmáticas (Fig. 16), núcleos hiper cromáticos, picnosis y flebitis (Fig. 15) que expresan, en mayor o menor grado, el daño celular sufrido por el proceso isquemia-reperfusión.

La sobrevida de las ratas sometidas a los diferentes períodos de isquemia hepática, observadas a las 24, 48 y 72 horas posteriores al procedimiento, mostraron diferencias significativas entre dos de los fármacos utilizados (piroxicam y ciclosporina) en el período de 24 horas y sólo el piroxicam, respecto al resto de los fármacos a las 48 horas. Este fármaco presentó 100% de sobrevida a las 24 horas y el 40% a las 72 horas; en cambio, la ciclosporina presentó 0% de sobrevida en éste último período de tiempo. La naloxona preservó, en forma constante, la sobrevida de las ratas en los tres períodos de tiempo cuantificados. La cimetidina sólo mostró un pequeño

porcentaje de sobrevida a las 24 horas (40%) no hubo sobrevida en periodos de tiempo prolongados (Fig. 19).

CONCLUSION:

- A) De los fármacos evaluados, parece que la naloxona presenta una mayor protección, seguido por el piroxicam.
- B) El daño histológico a nivel sinusoidal y portal son los constantes.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Toledo-Pereyra, Mecanismos de daño retrófilo-oxígeno en la lesión isquemia reperfusión. Manipulaciones farmacológicas. Gac Med Mex 1991; 127:349-58.
- 2.- Cotran, RS. Kumar, V. Robbins, SL. Patología estructural y funcional. Boston, McGraw-Hill. 1990. pags. 18-79.
- 3.- Schever, PJ. Interpretación de la biopsia hepática. Edit. Jim Barcelona. 1975 pags. 13-21.
- 4.- Rubin, E. Farber, JL. Patología. Inflamación. Philadelphia, Lippincott. 1988 pags. 3-81.
- 5.- McSween Pathology of the liver. Vascular disorders. 1988, 491-3.
- 6.- Carrol Infractation of the human liver. J. clin. Path 1963, 16:133-6.
- 7.- Wooling. Infarcts of the liver. Gastroenterology. 1951; 17:479-93.
- 8.- Chen, Hepatic infartation. A clinicopathologic study of seven sases. Arch. Pathol. Lab. Med. 1976; 100:32-6.
- 9.- Parker, Arterial infarctation of the liver man. Jornal of Pathology and Bacteriology. 1955;M 70:521-528.

- 10.- Duchinova, Ueber temporare abklemmung des lig hepatoduodenale fur bultose operatione. Zanzralog F.D. Ges Chir. 1925; 35: 581-582.
- 11.- Starlz, Orthotopic omotransplantation of the human liver. Ann of Surg 1968, 168:392-413.
- 12.- Farber, The pathogenesis of irreversible cell injury in ischemia. Am J Pathol 1981; 102: 271-281.
- 13.- Leaf, Regulation of intracellular fluid volume and disease. Am J Med 1970; 49:291-295.
- 14.- Chien, Prevention by Cloropromazine of ischemic liver cell death. Am J Pathol 1977; 88:539-558.
- 15.- Bulckley, The role of oxigen free radicals in human disease process. Surgery 1983; 94:407-411.
- 16.- McKelvey, Mechanism of conversion of xantine deshidrogenase to xantinoxidasa in ischemic rat liver and kidney. Am J Pathol 1988; 254:G753-G760.
- 17.- Southard, Oxigen derived free radicals damage in organ preservation: Activity of superoxide dismutase and xantine oxidase. Sugery 1987; 101:566-570.
- 18.- Per-olof Hasselgren, Preservation and treatment of ischemia of liver. Sur Gynecol and Obstet. 1987; 164:187-196.

- 19.- Mc. Cord, Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. N E J Med 1985; 312:159-163.
- 20.- Fredericks, Changes in acid phosphatase activity in rat liver after ischemia. Histochemistry 1989; 93:161-166.
- 21.- Backer, Oxygen free radicals induced damage in kidneys subjected to warm ischemia and reperfusion. Ann Surg 1985; 202 628-641.
- 22.- Hirasawa, Improved hepatic function and survival with ATP MgCl2 after hepatic ischemia. Surgery 1978; 83:655-660.
- 23.- Alvarez-López, Prostaglandin E2 increased tolerance of splanchnic congestion. Transplantation proc 1987; 19:4105-4109.
- 24.- Kock, The effect of glucagon on hepatic blood flow. Arch Surg 1970; 100:147-149.
- 25.- Saretok, Effects of Hydralazine on liver blood flow in normovolemic dog. Acta Chir Scand 1984; 150: 1-4.
- 26.- Ontell, Pharmacologic modulation of experimental post-ischemic hepatic function. Ann Surg 1989; 209:200-210.
- 27.- Toledo-Pereyra, Protection of the ischemic liver by donor pretraetment before transplantation. Am J Surg 1975; 129: 513-519.

- 28.- Steininger, Protective effect of PGI₂ and Diltiazem on ischemic liver ischemia and reperfusion in pigs. Transplantation proc 1988; 20:999-1002.
- 29.- Marubayashi, Preservation of ischemic rat liver mitochondrial functions and liver viability with CoQ10. Surgery 1982; 91:631-637.
- 30.- French, Effects of Piroxicam on superoxide generation phospholipid methylation and leukotriene production by human blood mononuclear cells. J of Rheumatol 1987; 14: 1018-1021.
- 31.- Minta, Some nonsteroidal antiinflammatory drugs inhibit the generation of superoxide anions by activated polymorph by blocking ligand-receptor interaction. J of Rheumatol 1985; 12:751-757.
- 32.- Paur, Can copper/piroxicam complexes catalyze the elimination of superoxide radicals. Anal Cham 1984; 317:694-695.
- 33.- Van Epps, Alterations neutrophil superoxide production following piroxicam therapy in patients with reuhmatoid arthritis. Inflammation 1987; 232-238.
- 34.- Sordell, Piroxicam treatment protect mice from lethal pulmonary challenge with Pseudonoma aeruginosa. J Infect Dis 1989; 232-238.

- 35.- Simpkins, Naloxone inhibits superoxide release from human neutrophils. Life Sci 1985; 37: 1381-1386.
- 36.- Gutierrez-Vega, Acute mesenteric small bowel ischemia in the rat, I Protective effect of naloxone. Transplantation 1990; 49:830-833.
- 37.- Zimmerman, H2 antagonist inhibition of human neutrophils superoxide anion synthesis. Clin Pharmacol Ther 1989; 45: 487-494.
- 38.- Katsunori, The beneficial effect of cyclosporine on liver ischemia in rats. Transplantation 1989; 48:759-764.
- 39.- Hayashi, Evidence that cyclosporine protects lysosomal membrane in liver ischemia in dogs. Transplantation 1980; 47:924-925.
- 40.- Delva, Hemodynamic and biochemical monitoring during mayor liver resection with the use of hepatic vascular exclusion surgery 1984; 95:309-318.

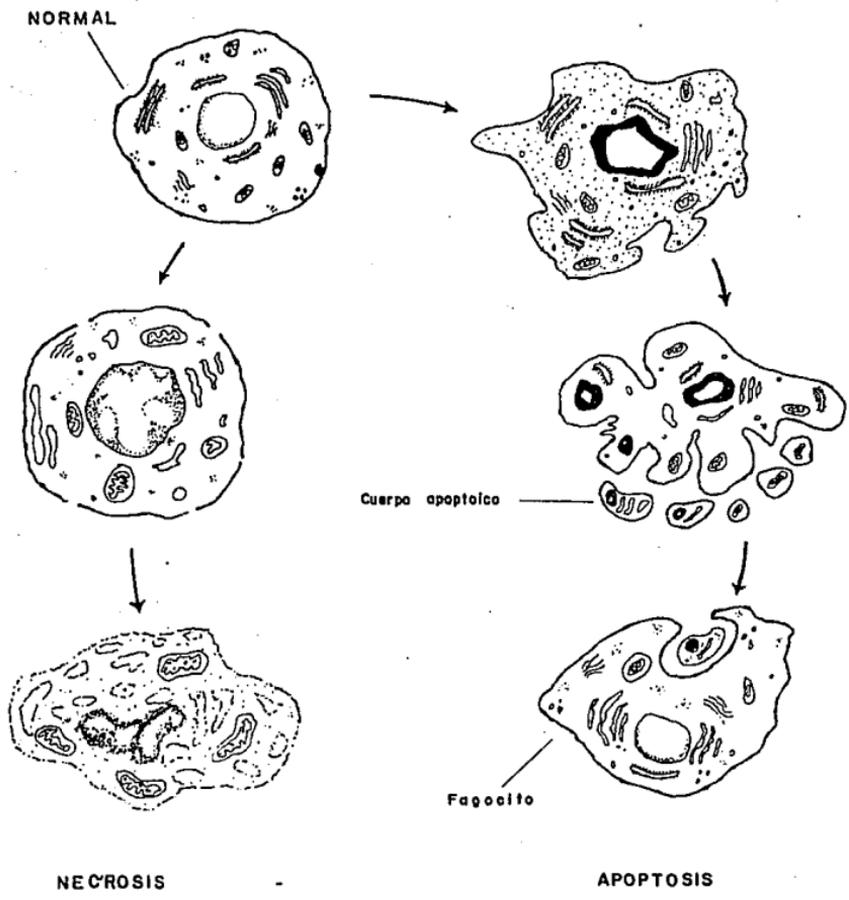


Fig. 1. Necrosis celular y apoptosis.

GRUPO		PROCEDIMIENTO	
FARMACO UTILIZADO	No.	Dosis y vía de administración	Tiempo de Isquemia
CONTROL	1		0
	2	Ninguno	60'
	3		90'
	4		120'
NALOXONA	5		100 mc/kg
	6	en solución a 400 mcg/ml	90'
	7		120'
CIME-TIDINA	8	1 o 2 g / kg / 24 hrs	60'
	9	vía oral	90'
	10		120'
CICLOSPORINA	11	10 mg / kg / 24 hrs	60'
	12	vía oral	90'
	13		120'
PIROXICAM	14	0.3 mg / kg	60'
	15	intraperitoneal	90'
	16		120'

T A B L A 1 .

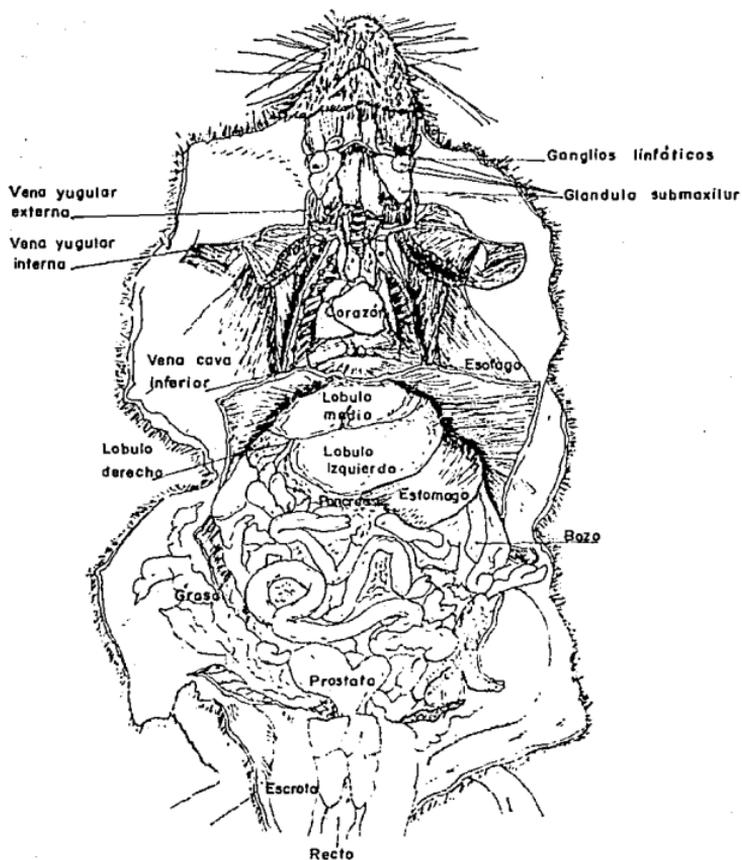


Fig. 2. Dibujo esquemático de los órganos torácicos y abdominales de la rata.

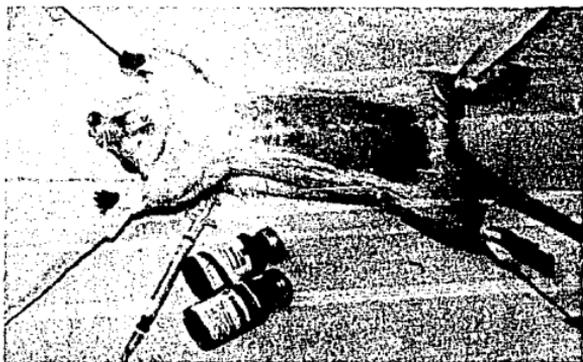


Fig. 3 Fijación de la rata y administración del anestésico intraperitoneal.



Fig. 4 Exposición de vísceras abdominales.



Fig. 5 Exposición del hígado.

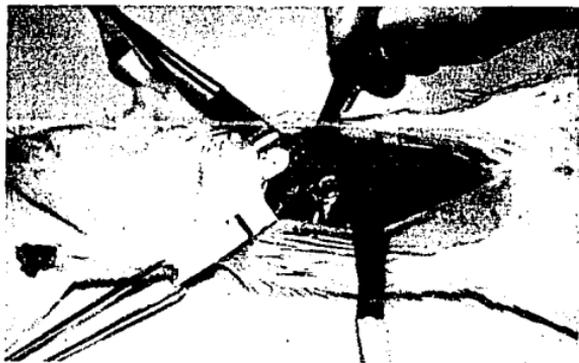


Fig. 6 Exposición del hilio hepático.



Fig. 7 Oclusión del hilio hepático por el clamp.

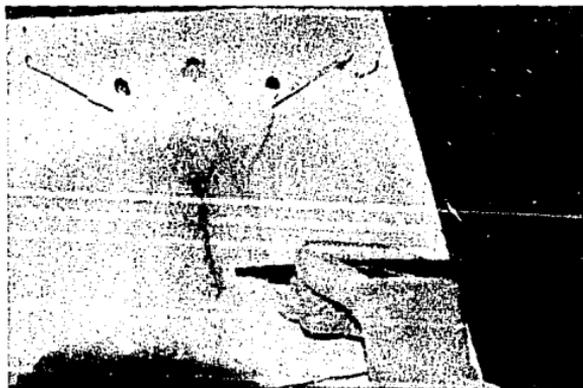


Fig. 8 Cierre de la pared abdominal.

CONGESTION HEPATICA A LOS 60 MIN DE ISQUEMIA/REPERFUSION

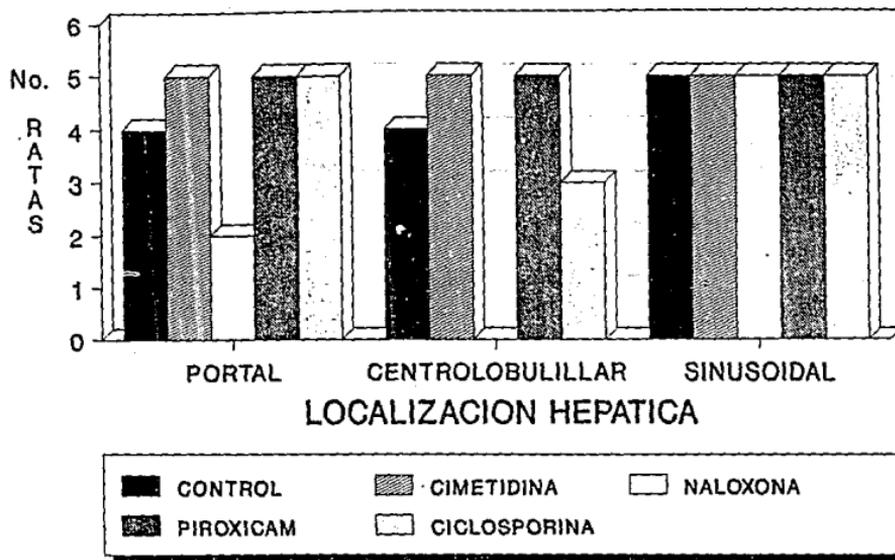


FIGURA 9

CONGESTION HEPATICA A LOS 90 MIN DE ISQUEMIA/REPERFUSION

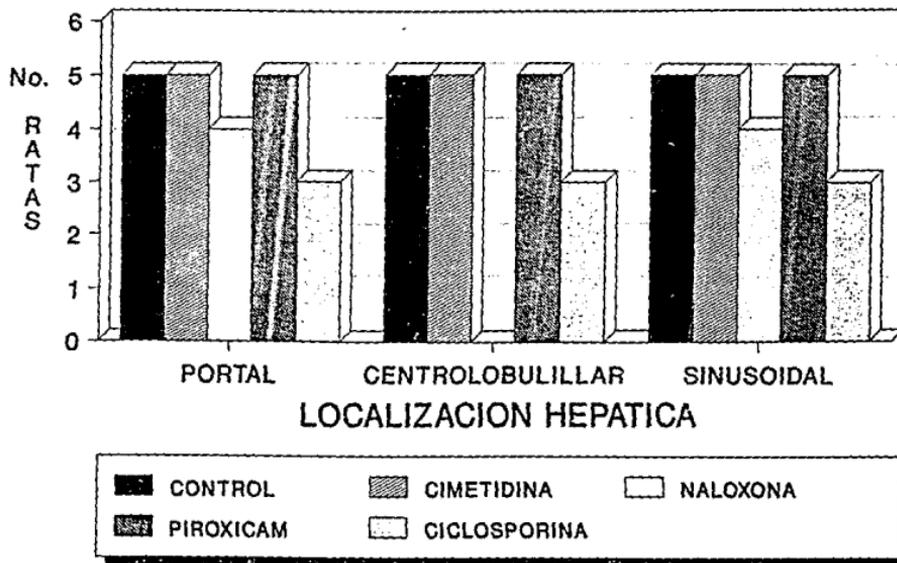


FIGURA 10

CONGESTION HEPATICA A LOS 120 MIN DE ISQUEMIA/REPERFUSION

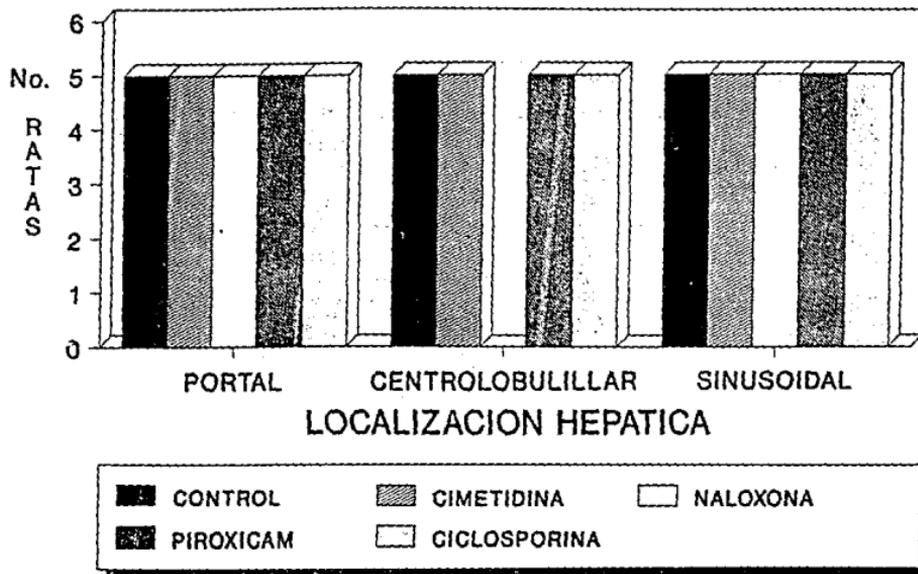


FIGURA 11

INFILTRADO INFLAMATORIO PRESENTE EN EL HIGADO CON ISQUEMIA/REPERFUSION

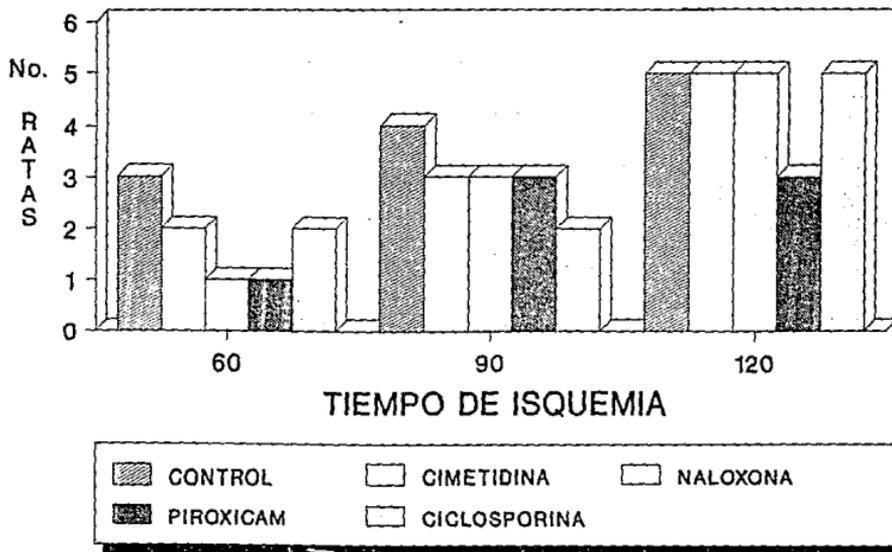


FIGURA 12

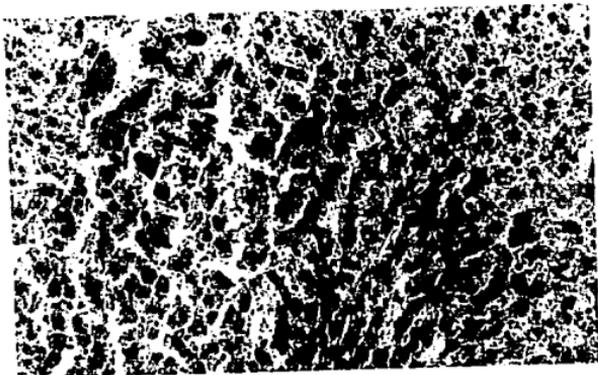


Fig. 13 Necrosis de hepatocitos a los 90 minutos de isquemia-reperfusión. (16x, H-E).



Fig. 14 Pérdida de glucógeno, demostrado en el hígado de la rata, a los 60 minutos, sin administración de medicamento. (40 x, PAS).



Fig. 15 Flebitis (40 x, H-E).

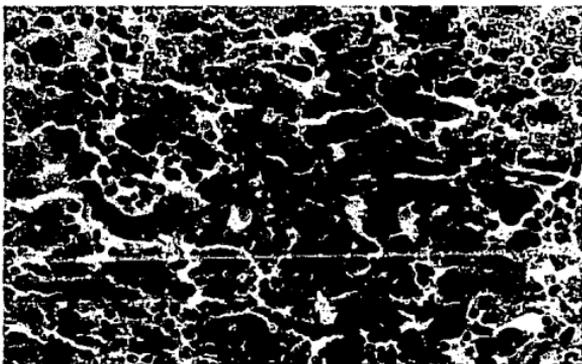


Fig. 16 Microvacuolaciones intracitoplasmáticas y congestión sinusoidal. (40 x, H-E).



Fig. 17 Necrosis acentuada en la región medio zonal.
(40 x, H-E).

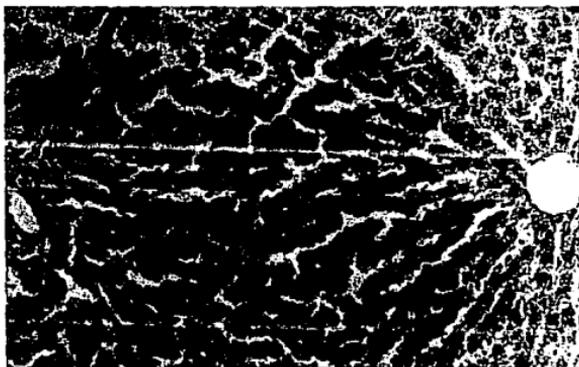


Fig. 18 Fotomicrografía del hígado normal de la rata: Se -
observa la vena central, el espacio porta y la zona 2
del acino. (40 x, H-E).

SOBREVIDA EN RATAS CON MEDICAMENTOS PROTECTORES DEL DAÑO HEPATICO

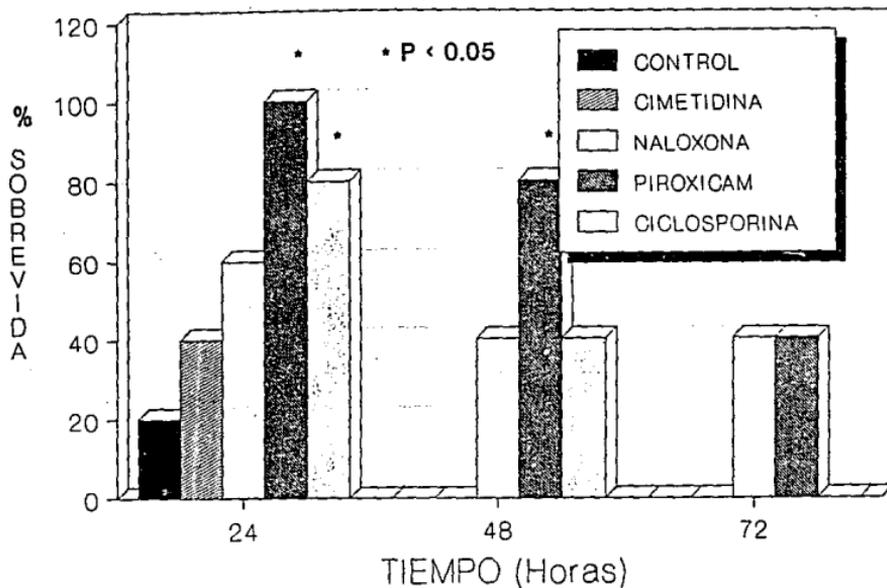


FIGURA 19