

11211



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD
PETROLEOS MEXICANOS

EFFECTO DE LA ERITROPOYETINA EN COLGAJO
MUSCULOCUTANEO MODELO EXPERIMENTAL

TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER EL TITULO DE:
ESPECIALISTA EN CIRUGIA PLASTICA Y
R E C O N S T R U C T I V A
P R E S E N T A :
DR. FRANCISCO MIGUEL SAID LEMUS



MEXICO, D. F.

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

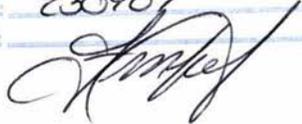
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico y impreso el contenido de mi trabajo profesional.

NOMBRE: Francisco Miguel Saiz Lemus

FECHA: 23/09/04

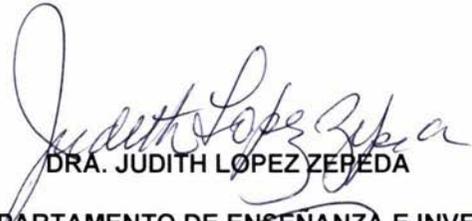
FIRMA: 



HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD PETROLEOS MEXICANOS



DR. CARLOS FERNANDO DIAZ ARANDA
DIRECTOR MEDICO.



DRA. JUDITH LOPEZ ZEPEDA
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION.



DR. LUIS ERNESTO RAMOS DURON
JEFE DE SERVICIO.



HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD PETRLEOS MEXICANOS

TITULO DE TESIS

EFFECTO DE LA ERITROPOYETINA EN COLGAJO MUSCULOCUTANEO

MODELO EXPERIMENTAL

AUTOR:

DR. FRANCISCO MIGUEL SAID LEMUS

RESIDENTE DE TERCER AÑO



ASESORES

DR. FRANCISCO JAVIER CARRERA GOMEZ

PROFESOR TITULAR



DR. EDUARDO GUTIERREZ SALGADO

PROFESOR ADJUNTO



DR. LUIS ERNESTO RAMOS DURON

JEFE DE SERVICIO

El amor es...

La libertad para perseguir tus propios deseos

Mientras compartes tus experiencias con la otra persona

El crecimiento individual de uno al lado

Y junto con el crecimiento del otro.

El amor es la fuente del éxito.

KALILH GIBRAN

A mi esposa

Ana Laura:

Gracias por querer compartir tu vida con la mía.

A mis padres

Miguel y Maria Elodia:

Gracias por su ejemplo y amor incondicional.

A mi abuela

Maria:

Gracias por ser como eres.

A mis hermanos y sobrinos:

Erika, Geraldine, Jorge, Antonio, Viviana, Carlos, Alain, Toñito.

Gracias por su entusiasmo.

A mis maestros:

Gracias por su paciencia y sabiduría.

A mis amigos:

Gracias por su apoyo.

INDICE:

- I. INTRODUCCION**
- II. HIPOTESIS**
- III. OBJETIVOS GENERALES**
- IV. MATERIAL Y METODOS**
- V. ESTADISTICA**
- VI. RESULTADOS**
- VII. DISCUSION**
- VIII. CONCLUSION**
- IX. BIBLIOGRAFIA**

Introducción:

La utilización de colgajos con circulación axial ó aleatoria es actualmente una de las herramientas más importantes para el cirujano reconstructivo. El tema de la anatomía vascular y los angiosómas ha sido causa de múltiples estudios con el fin de tener el fundamento para asegurar la sobrevivida de los colgajos, así como otras formas que ayuden a asegurar la perfusión tisular de los tejidos (1,2). Habitualmente los procedimientos en los cuales es necesario la utilización de los colgajos son procedimientos mayores, en donde la perdida sanguínea puede ser alta, llegando a ser necesaria la trasfusión sanguínea homologa ó autóloga, para mantener una adecuada perfusión tisular y asegurar la sobrevivida del colgajo (3).

La eritropoyetina humana recombinante es comúnmente utilizada por su actividad hematopoyetica en pacientes nefrópatas (4). Actualmente es utilizada para aquellos pacientes en donde se programa una cirugía con posibilidad de autotransfusión ó para optimizar las trasfusiones en el transoperatorio o postoperatorio inmediato.

El periodo de vida relativamente corto de las células sanguíneas maduras requiere su continuo reemplazo, un proceso denominado hematopoyesis. La producción de nuevas células debe de responder tanto a las necesidades básicas como a las situaciones de mayor demanda. La regulación de la hematopoyesis es compleja e incluye interacciones célula-célula, dentro del microambiente de la médula ósea y también factores de crecimiento hematopoyeticos y linfopoyeticos. Varias de estas proteínas han sido identificadas y caracterizadas, sus genes han sido clonados mediante técnicas de ADN recombinante y se producen cantidades suficientes de ellas para ser utilizados como agentes terapéuticos (5). Se han publicado múltiples usos para la eritropoyetina,

lo que ha dado como resultado nuevas líneas de tratamiento en diferentes especialidades.

Hipótesis:

- 1.- La aplicación de eritropoyetina recombinante humana mejora la sobrevida de la piel del colgajo músculo cutáneo específicamente las zonas de circulación aleatoria, y la más distal en el modelo experimental.
- 2.- Existe diferencia entre dos dosis postoperatorias de eritropoyetina, para la sobrevida del colgajo músculo cutáneo y zona de circulación aleatoria.

Objetivos Generales:

- 1.- Aplicar los beneficios de la eritropoyetina humana para la sobrevida de un colgajo músculo cutáneo extendido.
- 2.- Incrementar el área disponible del colgajo.
- 3.- Mejorar la evolución de las ratas sometidas al estudio.

Material y Métodos:

Se realizó estudio experimental, comparativo, prospectivo y transversal, en el bioterio del Hospital Central Sur de Alta Especialidad PEMEX, de Mayo a Octubre del 2003.

Se utilizaron 30 ratas Wistar con peso entre 225.4 y 253.3 grs. las cuales fueron divididas en tres grupos de manera aleatoria, dos grupos de tratamiento y uno control. Fueron anestesiadas con 35 mg / kg de ketamina de manera intramuscular. Previamente al procedimiento quirúrgico, se tomo muestra para medición del hematocrito.

Las ratas fueron colocadas en tablas para el procedimiento. Se realizó el marcado del colgajo abdominal con una base superior e inferior de 3 cm. y una altura de 2.5cm. Se hizo asepsia y antisepsia del área y se realizó el levantamiento del colgajo músculo cutáneo del recto anterior del abdomen (TRAM) incluyendo los dos músculos rectos los cuales fueron disecados y ligados de su inserción inferior con sutura de seda 4-0, se colocó entre el lecho y el colgajo un segmento de plástico para aislarlo y fue colocado este en su mismo sitio suturado al lecho con sutura de prolene 5-0. Todos los animales fueron colocados en jaulas previamente identificadas por grupos de trabajo para su reconocimiento. Las ratas fueron observadas durante el transcurso del estudio y valoradas. Al final del estudio se realizó nuevo hematocrito.

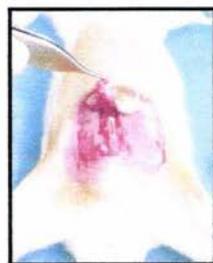
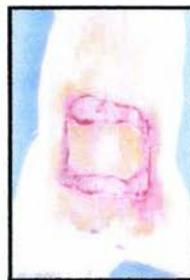
Los dos grupos experimentales fueron tratados con eritropoyetina humana recombinante, mediante la aplicación subcutánea de eritropoyetina, en el postoperatorio inmediato y cada tercer día durante un periodo de 14 días. Al grupo control se administró placebo .5 ml. de solución inyectable. Al grupo I se le administró 50 UI / Kg. por vía subcutánea, al grupo II 100 UI / Kg. mediante la misma vía.

Para la administración de las dosis se realizó una dilución de eritropoyetina humana recombinante (rHuEPO) (Bioyetin, laboratorio PROBIOMED) con 4000 UI por ampula, en un mililitro de solución inyectable y esta a su vez diluida en 99 ml de sol inyectable, para obtener una dilución de 40 UI por mililitro y en cada décima de mililitro 4 UI, con la finalidad de facilitar la administración del medicamento.

Primer tiempo quirúrgico:

Se realizó modelo para levantar colgajo tipo TRAM, con la rata previamente anestesiada, se colocó en tabla, con protección en las cuatro extremidades se realizó tricotomía del abdomen (foto 1), se tomó el punto medio de la distancia entre el xifoides y la sínfisis del pubis para marcar el ombligo de manera virtual marcando un colgajo de 3 X 2.5 cm. (foto 2) Los márgenes de la piel se realizaron incisiones y se levantan hasta el margen del músculo recto anterior del abdomen de forma bilateral (foto 3), es dividido en el borde inferior del colgajo, la hoja externa del músculo se incidió de manera lateral y bilateral del colgajo (foto 4). Es levantado de forma completa respetando la hoja posterior de la fascia del recto anterior del abdomen y el sistema epigástrico profundo. El defecto músculo facial es cerrado, se coloca una hoja de plástico estéril sobre el sitio donador (foto 5) y es colocado nuevamente el colgajo en su lugar inicial el cual es suturado con material no absorbible (foto 6).

Fotos (1-6)



Sobrevida del colgajo

Se observó la evolución diaria del colgajo abdominal durante 14 días, se elaboró un mapa micrométrico para realizar medición de las zonas que presenten necrosis del colgajo y se reportó de manera diaria:

- 1.- Coloración del colgajo
- 2.- Necrosis del colgajo
- 3.- Hemorragia del colgajo
- 4.- Cicatrización
- 5.- Infección
- 6.- Crecimiento de pelo en el colgajo

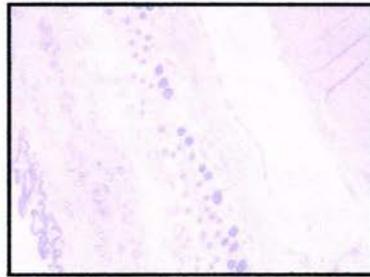
Segundo tiempo quirúrgico:

Al día 14 se realizó el sacrificio de las ratas, mediante una dosis letal de formol, las mismas fueron colocadas en tabla con protección en las cuatro extremidades, se realizó levantamiento del colgajo cortando el borde superior del mismo, se mide el área de necrosis en mapa micrométrico, se fotografió y se colocó en formol para su estudio histológico. Las evaluaciones tomadas posterior al levantamiento definitivo del colgajo fueron:

- 1.- Necrosis del colgajo
- 2.- Infección
- 3.-Hemorragia
- 4.- Cicatrización
- 5.- Crecimiento del pelo
- 6.- Formación de seromas

Las muestras previamente medidas y fotografiadas fueron etiquetadas y clasificadas por grupos y enviadas al servicio de Patología Clínica del Hospital de PEMEX, donde fueron incluidas en cápsulas, mediante tres cortes secuenciales para ser estudiados mediante microscopia y con tinción de hematoxilina eosina (fotos 7-9). El primer corte incluyó músculo recto abdominal en su porción proximal al colgajo. El segundo en la parte media, incluyendo músculo, piel suprayacente y lateral y el tercero músculo y piel suprayacente respectivamente.

Fotos (7, 8, 9)



Grupo control: Colgajo vista anterior y posterior

Microhematocrito

Se realizó mediante la toma de tubo capilar y heparinizado vía transconjuntival, la muestra sanguínea, para la determinación de microhematócrito en el preoperatorio y al finalizar el estudio previo al sacrificio del animal, a los 14 días, el cual se proceso en el departamento de Banco de Sangre del hospital.

Estadística

La sobrevida del colgajo fue analizada mediante el estudio de Chi cuadrada. Los microhematocritos por T pareada, las variables no nominales por la prueba de Tukey.

Sobrevida del colgajo y porcentaje de retracción por prueba estadística de Chi cuadrada

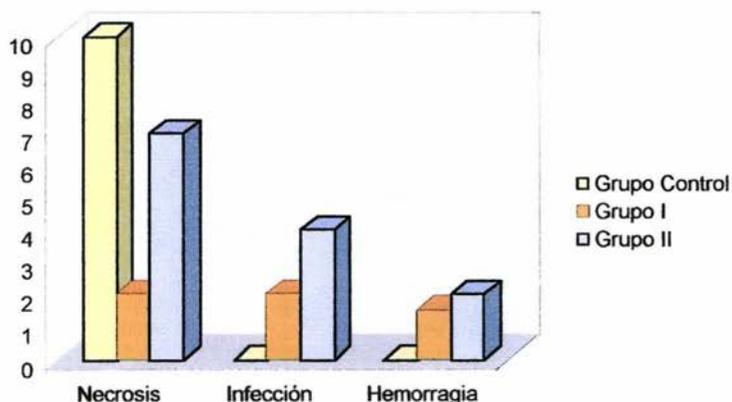
Resultados

Comparación en los porcentajes de sobrevida del colgajo, así como en el porcentaje de retracción. En el grupo control, contra el grupo I, al cual se le aplicó 50 UI/Kg. de rHuEPO, presentó una sobrevida total del 80%, con ($P < 0.05$).

En el grupo II al cual se le aplicó una dosis de 100 UI/Kg. rHuEPO, se encontró una sobrevida total del 60% con ($P < 0.05$).

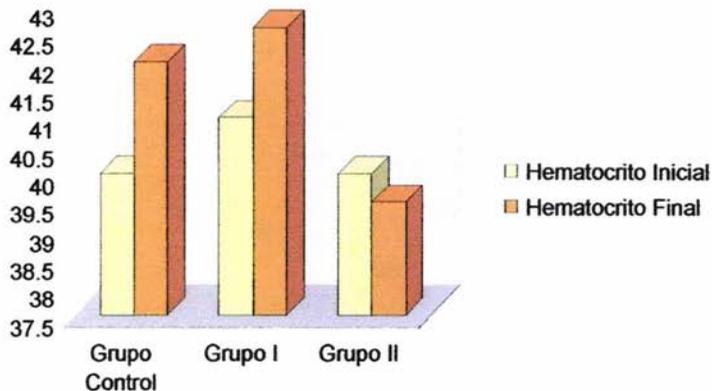
En la valoración diaria de los grupos de estudio se encontró una diferencia estadística entre el grupo I y II al presentar mayor número de complicaciones postoperatorias en el grupo II ($P < 0.0001$).

Figura (10)

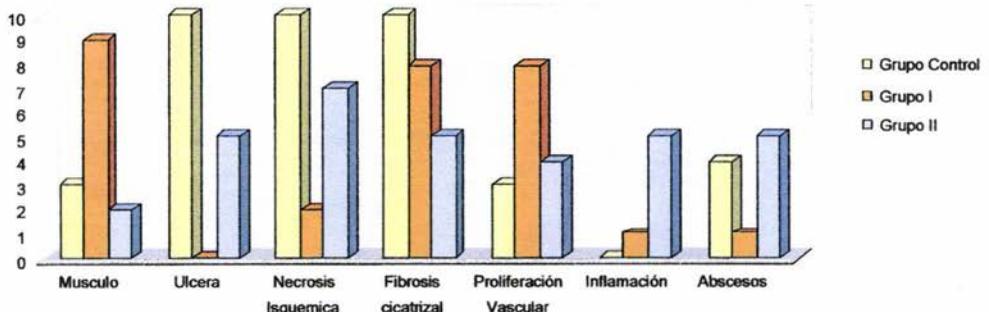


Se evaluaron los resultados del estudio el hematocrito en las ratas del grupo I y II no se encontró una elevación estadísticamente significativa entre los grupos y comparados con el grupo control con ($P>0.05$).

Figura (11)



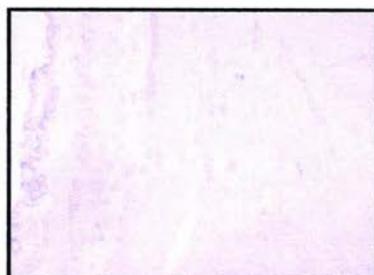
En la observación de las laminillas al microscopio, de los diferentes cortes realizados, se elaboraron columnas en relación a los hallazgos encontrados en cada una, siendo los mas comunes: el estado de las fibras musculares, presencia de ulcera por isquemia, necrosis, fibrosis cicatrizal, proliferación vascular, inflamación y la presencia de abscesos. No se encontró diferencia en la proliferación vascular entre los diferentes grupos de estudio. Figura (12)





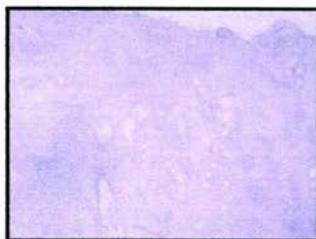
Figuras:(13, 14, 15)

Grupo Control: Area de necrosis, colgajo levantado, imagen de microscopio con ulcera isquemica.



Figuras: (16, 17, 18)

Grupo I: cicatrización completa, colgajo sin áreas de necrosis, sin cambios patológicos al microscopio.

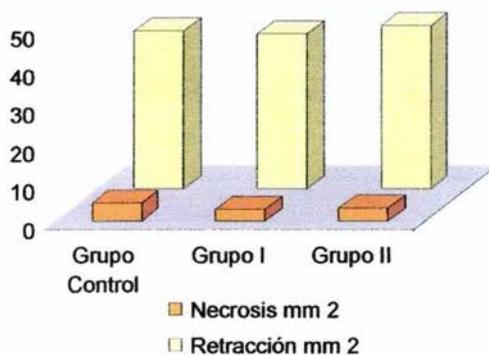


Figuras:(19, 20, 21)

Grupo II: Area de necrosis en cuadrante inferior izquierdo, microfotografía con area de ulcera y cambios inflamatorios agudos y cronicos.

La necrosis isquemica en el grupo control fue de 4.8 mm² en promedio en 9 de 10 casos, con 41.2 mm² de retracción. Para el grupo I (50 UI / Kg.) rHuEPO, 3 mm² de necrosis en 2 casos y 40.2 mm² de retracción. Grupo II 100 UI / Kg. rHuEPO, 3.6 mm² de necrosis en 7 casos y 42.3 mm² de retracción. (figura 22)

Figura (22)



Discusión:

Los conceptos acerca del crecimiento y diferenciación de las células hematopoyéticas se inició en la década de 1950 con los trabajos de Jacobsen (6), Osgood (7). Estos investigadores demostraron el papel que desempeñan las células del bazo y de la médula ósea en el establecimiento de tejido hematopoyético en animales irradiados. En 1961 Till y McCulloch demostraron que las células hematopoyéticas individuales podían formar nódulos hematopoyéticos microscópicos en los bazo de ratones irradiados. Sus estudios llevaron el concepto de células troncales formadoras de colonias. Posteriormente se comprobó que las células troncales presentes en la médula ósea son pluripotenciales (8).

El papel de los factores de crecimiento en la hematopoyesis no fue aclarado hasta el desarrollo de las técnicas del cultivo de la médula ósea por Bradley, Metcalf y otros. (9) La existencia de un factor de crecimiento circulante que controla la eritropoyésis fue sugerida por experimentos realizados por Paul Carnot 1906, quien observó un aumento del recuento de eritrocitos en conejos inyectados con suero obtenido de animales anémicos y postuló la existencia de un factor que denominó hematopoyétina (10). Sin embargo recién en la década de 1950 Reismann, Erslev, Jacobsen y colaboradores definieron el origen y las acciones de la hormona denominada actualmente eritropoyetina. (11)

La eritropoyetina es producida principalmente por las células peritubulares de los túbulos proximales del riñón aunque de una pequeña parte es sintetizada en el hígado (12). El producto primario es una proteína de 193 aminoácidos, de los cuales los primeros 27 son clivados durante la secreción, la proteína madura final está intensamente glucosilada y su peso molecular es de 34,000 daltons.

La glucosilación es importante para prolongar el periodo de vida de la eritropoyetina en la circulación, pero no para ejercer su actividad biológica. Con anemia o hipoxémia, la síntesis y secreción renal aumentan rápidamente hasta 100 veces o más. Esta ola de hormona actúa sobre las células progenitoras tempranas (BFU-E) y tardías (CFU-E) estimulando un reclutamiento notable de precursores en una serie programada de divisiones celulares que llevan a su maduración final. Al mismo tiempo la retroalimentación puede ser interrumpida en cualquier punto, por enfermedad renal, daño estructural de la médula o deficiencia de hierro.

Para lograr una adecuada respuesta si se administra de forma exógena, se recomienda de 50 a 100 UI por kilogramo de peso tres veces por semana, con una vida media plasmática de 10 hrs. Luego de 5 a 24 hrs. se producen las mayores concentraciones plasmáticas. (13)

Actualmente se ha propuesto la utilización de la eritropoyetina para incrementar de forma preoperatoria la cantidad del hematocrito en cirugías electivas, en aquellos pacientes en que se solicitarán paquetes globulares autólogos y para disminuir los casos de infección por transfusión sanguínea homologa (14). En la investigación de nuevos fármacos que limiten las lesiones de isquemia reperusión a nivel cardiovascular. La eritropoyetina ha dado resultados alentadores, con la inhibición de moléculas como las caspasas 8,1 y 3 en la lesión endotelial, citoprotección y disminución de la apoptosis del endotelio vascular con la consiguiente protección miocárdica (15,16,17). Calapai y colaboradores demostraron de forma experimental en animales, la reducción de la síntesis de oxido nítrico en las lesiones de isquemia cerebral con la utilización de eritropoyetina (rHuEPO). (18)

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

El colgajo musculo-cutaneo de recto abdominal (TRAM), ha sido ampliamente estudiado tanto clínica como experimentalmente. Se conoce una relativa alta incidencia de complicaciones que se refleja principalmente en necrosis grasa y cutánea, por lo que se han desarrollado múltiples líneas de estudio con el propósito de incrementar el área útil del colgajo (19). El colgajo TRAM se utiliza universalmente como la primera opción de la reconstrucción mamaria con tejidos autólogos. Roobins fue el primero en reportar el uso vertical del colgajo de recto anterior del abdomen con piel en la reconstrucción mamaria en 1979.(20). Hartrampf y colaboradores introdujeron el concepto del colgajo TRAM en 1982. La isla de piel se orienta de forma transversal en relación al abdomen para cubrir el defecto mamario, dejando una doble cicatriz, con una reconstrucción abdominal tipo abdominoplastía (21). Schefflan y Dinner describieron la anatomía vascular del colgajo TRAM, definiendo que la circulación del músculo recto y de la región infraumbilical esta irrigada por la arteria epigástrica inferior, la piel suprayacente a este músculo cercana a la cicatriz umbilical zonas I y II, son irrigadas por arterias perforantes músculo cutáneas de la arteria epigástrica inferior profunda y superficial. Las zonas III y IV son irrigadas entre comunicaciones entre las arterias epigástrica inferior superficial y la arteria circunfleja iliaca superficial.(22,23)

Moon y Taylor estudiaron la anatomía de la arteria epigástrica superior profunda y de la arteria epigástrica inferior profunda y su relación con los colgajos TRAM, describieron tres formas de conexión entre estas dos arterias.(24)

Matters y Nahai por tener dos vasos dominantes el músculo recto anterior del abdomen lo clasificaron como tipo III (25).

En el presente estudio se demostró que la eritropoyetina mejoro la sobrevida de las áreas de circulación aleatoria en un 80%, grupo I zonas II extendidas.

Se demostraron menos complicaciones, a los colgajos que se les administro 50 UI/Kg. de (rHuEPO) en relación al grupo II que se le administró una dosis mayor (100 UI / Kg.). Por lo que se determinó que el efecto es independiente a la dosis y no directamente proporcional, ya que en las ratas a las que se les administro una dosis mayor no se presento un efecto protector mayor.

Conclusión

La eritropoyetina humana recombinante es una hormona, la cual ha demostrado su utilidad a nivel experimental como: a) citoprotector del endotelio vascular, b) antioxidante, c) en la reducción de la apoptosis celular mediante la activación de moléculas como la protein-quinasa y las cistein-proteasas conocidas como caspasas, en específico la 8, 1 y 3, modulando la despolarización de la membrana mitocondrial, d) protección celular a nivel cardiaco, cerebral y pulmonar mediante la reducción de los niveles de oxido nítrico y e) eficaz en la protección de los colgajos con circulación aleatoria. En el presente estudio el efecto de la eritropoyetina fue comprobado mediante el aumento de la sobrevida de las áreas extendidas de los colgajos, siendo esta de forma independiente a la dosis. Como se comprobó que la dosis de 50 UI / Kg. obtuvo una sobrevida del 80% comparado con la dosis de 100 UI / Kg. que solo obtuvo una sobrevida final del 60%, reduciendo el área efectiva útil del colgajo. Es necesario realizar nuevos estudios para determinar cual es la dosis optima y conseguir el máximo beneficio. Pasando posteriormente a una fase clínica en donde se pueda emplear a la eritropoyetina, como una nueva alternativa en la cirugía plástica, para la prefabricación de colgajos o aumentar su tamaño en aquellos con circulación aleatoria, maximizando su utilidad y sobrevida.

AGRADECIMIENTOS

Dra. Irene Rivera Salgado

Jefe del departamento de Patología Clínica.

Dr. Patricio Azaola Espinoza

Jefe del departamento de banco de sangre.

Bibliografía:

- 1.-Joseph McCarthy, del libro plastic surgery, capitulo general principles, 1990 pp.275-328
- 2.- Joseph McCarthy, del libro Plastic Surgery, capitulo Territorios vasculares (angiosomas), 1990, pp. 329-378
- 3.-Von Doersten P, Cruz RM, Selby JV, Hilsinger RL, Transfusion, recurrente and infection in head and neck cancer surgery. Otolaryngol Head Neck Surg 1992; 106:60-67
4. - Eschbach, J. W, Kelly M. R., Haley N.R., et.al. Treatment of the anemia of progressive renal failure with recombinant human erythropoietin N. Engl J. Med. 1989; 321: 158-163
- 5.- Robert S. Hillman, del libro Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 1991, 8va edición, cap 54, pp. 123
- 6.-Jacobsen L.O., Goldwasser E., Freed W., et.al. Role of the kidney in erythropoiesis, Nature 1957; 179: 633-634. Del libro Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 1991, 8va edición, cap 54, pp. 1240-1269
- 7.-Osgood E. A unifying concept of the etiology of the leukaemias, lymphomas and cancers, J Natl Cancer Inst. 1957; 18: 155-166. Del libro Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 1991, 8va edición, cap 54, pp. 1240-1269
8. - Wu A., Till J., McCulloch E., A cytological study of the capacity for differentiation of normal haemopoietic colony forming cells. J Cell Physiol 1967; 69:177-184.
- 9.- Bradley T., Metcalf D., The growth of mouse bone marrow cells in vitro. Aust J Exp Biol Med Sci. 1966; 44: 287-300. Del libro Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 1991, 8va edición, cap 54, pp. 1240-1269

10.- Carnot P., Deflandre C., Sur pactivité hémopoïétique de sérum au cours de la régénération du sang. C.R. Acad Sci. 1906; 143: 384- 386. Del libro Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 1991, 8va edición, cap 54, pp. 1240-1269

11.- Reissmann K. Studies on the mechanism of erythropoietic stimulation in parabiotic rats during Hypoxia. Blodd 1950; 5: 372-380. Del libro Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 1991, 8va edición, cap 54, pp. 1240-1269

12.- Powell J., Berkner K., Lebo R., Adamson J., Human erythropoietin gene: High level expression in stably transfected mammalian cells and chromosome localization. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1986; 83: 6465-6469 . Del libro Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 1991, 8va edición, cap 54, pp. 1240-1269

13. Robert S. Hillman, del libro Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 1991, 8va edición, cap 54, pp. 1240

14.- Robert S. Hilman, del libro Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 1991, 8va edición, cap 54, pp. 1240-1269

15.-Chong Z., Kang J., Maiese K. Erithropoietin is a novel vascular protectant through activation of Akt1 and mitochondrial activation of cysteine proteases
J Am Heart 2002;106(23):2973-2979

16.- Parsa C.J., Matsumoto A., Kim J., et. al. A novel protective effect of erythropoietin in the infarcted heart . J Cl Invest 2003; 112 (7): 999-1007

17.- Bany M., Fayez M., Slivka, et.al. Recombinant human erythropoietin: Possible role as an antioxidant in premature rabbits. Int ped res found 1996; 40 (3): 381-387

18.- Calapai G., Marciano M., Corica F., et. al. Erythropoietin protects against brain ischemic injury by inhibition of nitric oxide formation.
Eur J Pharmacol 2000;401:381-387

19. - Özgentas H., Shenag S., Spira M., Study of the delay Phenomenon in the rat TRAM flap model. *Plas recons surg* 1993; 94(7):1018- 1024
- 20.- Robbins TH., Rectus abdominis myocutaneous flap for breast reconstruction. *Aust NZ J Surg* 1979; 49: 527-530. Del libro Achauer *Plastic Surgery* 2000 cap 39, pp 587-605
- 21.- Hartrampf CR., Scheflan M., Black PW., Breast reconstruction with a transverse abdominal island flap. *Plast Reconstr Surg* 1982; 69:216-224
- 22.- Scheflan M., Dinner M., The transverse abdominal island flap part I Indications, contraindications, results and complications. *Ann Plast Surg* 1983; 10: 24-35, del libro Achauer *Plastic Surgery* 2000 cap39, pp 587-605
- 23.- Hamdy H., El-Mrakby., Milner R., The vascular anatomy of the lower anterior abdominal wall: a microdissection study on the deep inferior epigastric vessels and the perforator branches. *Plas Reconstr Surg* 2002; 109: 539-543
- 24.- Moon HK., Taylor GI., The vascular anatomy of rectus abdominis musculocutaneous flaps based on the deep superior epigastric system. *Plast reconstr Surg.* 1988; 82: 815-829
- 25.- Rollin K.D., Kerrigan C.L. del libro *plastic surgery capitulo principles and physiology of skin flan surgery* 1990 pp. 282-284