

11211



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO  
"HOSPITAL GENERAL DE MEXICO"  
"SERVICIO DE CIRUGIA PLASTICA Y RECONSTRUCTIVA"

"PROTECCION CELULAR A LA ISQUEMIA MEDIANTE LA  
PERFUSION TRANSOPERATORIA CON SOLUCION  
DE WISCONSIN"

SECRETARIA DE SALUD

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO

ORGANISMO DESCENTRALIZADO

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE:

ESPECIALISTA EN CIRUGIA PLASTICA Y

RECONSTRUCTIVA

P R E S E N T A:

DR. MARCO ANTONIO RODRIGUEZ INFANTE

DIRECCION DE ENSEANZA

PROFESOR TITULAR Y ASESOR DE TESIS:

DR. NICOLAS SASTRE ORTIZ

# HGM

Organismo Descentralizado MEXICO, DISTRITO FEDERAL, DICIEMBRE DE 2005

m347472



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

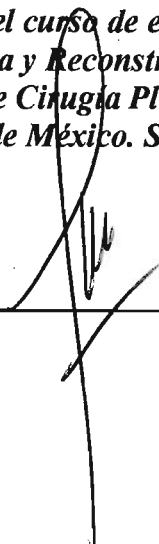
**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**APROBACIÓN:**

**DR. Nicolás Sastré Ortiz**  
**Profesor Titular del curso de especialización**  
**En Cirugía Plástica y Reconstructiva.**  
**Jefe del Servicio de Cirugía Plástica y Reconstructiva.**  
**Hospital General de México. S. S. A.**



SUBDIVISIÓN DE ESPECIALIZACIÓN  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA  
U.N.A.M.

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

NOMBRE: Marco Antonio

Rodriguez Infante

FECHA: 17-08-05

FIRMA: \_\_\_\_\_

## **ÍNDICE:**

<b>SUBTITULO</b>	<b>PAGINAS</b>
<b><i>Resumen estructurado.....</i></b>	<b>1-2</b>
<b><i>Introducción y marco teórico .....</i></b>	<b>2</b>
<b><i>Planteamiento del problema y Justificación.....</i></b>	<b>4</b>
<b><i>Hipótesis y Objetivos.....</i></b>	<b>4</b>
<b><i>Material y Métodos.....</i></b>	<b>5-8</b>
<b><i>Resultados.....</i></b>	<b>9-10</b>
<b><i>Discusión.....</i></b>	<b>11</b>
<b><i>Conclusiones.....</i></b>	<b>12</b>
<b><i>Bibliografía.....</i></b>	<b>13</b>

# **“PROTECCIÓN CELULAR A LA ISQUEMIA MEDIANTE LA PERFUSIÓN TRANSOPERATORIA CON SOLUCIÓN DE WISCONSIN”**

## **RESUMEN ESTRUCTURADO :**

Actualmente los procedimientos reconstructivos utilizados cotidianamente en Cirugía Plástica, tales como las transferencias tisulares microquirúrgicas y los procedimientos reconstructivos de las extremidades, se realizan bajo isquemia fría y /o caliente con tiempos de re-perfusión variables, que someten a los tejidos manipulados, particularmente al tejido muscular, a cambios celulares y ultraestructurales, reversibles en la mayoría de los casos e irreversibles en otros, que traducen daño tisular con secuelas que pueden ser importantes.

En el presente estudio se propone realizar un procedimiento de perfusión tisular transoperatoria con solución de Wisconsin utilizada desde 1986 para la preservación de órganos para trasplante, con la finalidad de prevenir o disminuir el daño tisular que se produce en procedimientos realizados con isquemia, y mejorar los resultados postoperatorios en este tipo de procedimientos.

### **Objetivo:**

Mejorar el resultado postoperatorio en procedimientos que se realizan con isquemia tisular transoperatoria, mediante la perfusión transoperatoria de los tejidos manipulados con solución preservadora de tejidos tipo Wisconsin.

### **Hipótesis:**

Si el daño celular provocado por la isquemia en el tejido muscular estriado es disminuido mediante la perfusión transoperatoria con solución de Wisconsin, entonces la perfusión de esta solución se podría utilizar en forma rutinaria en los procedimientos que tienen el riesgo de sufrir daño por isquemia.

### **Diseño:**

Se trata de un estudio de investigación de tipo experimental con animales de laboratorio, prospectivo, comparativo, ciego, longitudinal y aleatorio.

### **Material y Métodos:**

El estudio se llevó a cabo de agosto a septiembre del 2001 en las instalaciones de microcirugía del Servicio de Cirugía experimental y de Patología del Hospital General de México.

**Recursos humanos:** El investigador principal realizó los procedimientos microquirúrgicos el análisis de los resultados y las conclusiones, el investigador responsable, coordinó el trabajo de investigación, los especialistas en veterinaria y zootecnia se encargaron del cuidado pre, trans y postoperatorio de los animales de investigación, un investigador del servicio de patología realizó el análisis histológico de las muestras tisulares, y un investigador en salud pública realizó las pruebas estadísticas para el análisis de los resultados.

**Población y muestra:** Se utilizaron 30 ratas de diferentes camadas, machos y hembras microbiológicamente convencionales de la cepa Wistar con un peso aproximado de 350 gramos cada una. Las cuáles se dividieron en forma aleatoria en 3 grupos: el grupo control (I n = 10), el grupo de Solución Hartmann (II n = 10), y el grupo de Solución de Wisconsin (III n = 10).

**Material y Métodos:** A cada una de las ratas de los diferentes grupos, se les practicó una disección de uno de los miembros posteriores respetando únicamente los vasos femorales para dejarlo unido al resto del cuerpo. Previa exanguinación mecánica de la extremidad, se provocó isquemia mediante el pinzamiento de los vasos femorales por espacio de 120 minutos. Al grupo I o control no se le irrigó con ninguna solución, al grupo II posterior a la exanguinación se les irrigó con 20 cc de solución Hartmann a temperatura ambiente, y al grupo III con 20 cc de solución de Wisconsin a 4 oC. Después de despinzar los vasos, para permitir la re-perfusión del miembro durante 90 minutos, cada una de las ratas fue sacrificada. Se tomó una muestra de músculo cuádriceps de aproximadamente 3 mm cúbicos que se fijó en formaldehído. Cada muestra tisular fue analizada en forma ciega por un solo patólogo con un microscopio electrónico de transmisión para observar los cambios mitocondriales y de membrana. Para valorar la severidad de los daños se otorgó una puntuación a la presencia de edema, cariopcnosis, rbdomiolisis y alteraciones de membrana como: 0 puntos para el tejido sin cambios, 1 punto para cambios leves, 2 puntos para cambios moderados y 3 puntos para cambios severos.

**Análisis de los resultados:** Para el análisis de los resultados obtenidos se utilizaron la prueba H o de varianza múltiple de Krussal-Wallis para variables cuantitativas, y la prueba de U o de Mann Whitney comparativa no paramétrica.

**Resultados.** Al comparar los 3 grupos de estudio se encontró que la perfusión transoperatoria con solución de Wisconsin, disminuye el daño por isquemia al disminuir las alteraciones de membrana en comparación con los otros métodos con una p significativa de 0.05. La Cariopcnosis, rbdomiolisis y el edema no mostraron diferencia significativa que justifiquen su uso.

## • INTRODUCCIÓN

El siglo XX se caracterizó por presentar importantes avances en el área de cirugía plástica relacionada con la terapéutica quirúrgica de reconstrucción. Entre las aportaciones más importantes destacan la transferencia microquirúrgica de tejidos y el reimplante de tejidos seccionados traumáticamente, procedimientos que actualmente se realizan en forma cotidiana en cualquier centro de Cirugía Plástica y Reconstructiva. De igual forma los procedimientos para la reconstrucción de las extremidades son muy variados para resolver satisfactoriamente un gran porcentaje de lesiones congénitas y traumáticas (1). Todos estos procedimientos tienen como común denominador el hecho de someter a los tejidos que se manipulan a una isquemia transitoria, para mantener un campo operatorio limpio, que facilite la realización de microanastomosis y el trasplante o el reimplante de órganos. El evento isquémico invariablemente afecta la función y la sobrevida de los tejidos tratados, de manera reversible o en muchos casos irreversible (1).

## • MARCO TEÓRICO

Se han estudiado por varios autores los tiempos límites para que un tejido isquémico no sufra cambios irreversibles (Spegá, Concannon, Farber, Manuell, Chavarría), y se ha encontrado en común que el tiempo ideal para trabajar con tejido muscular sin provocar cambios irreversibles es de 90 minutos (2). En periodos mayores de 3 horas de isquemia caliente se presentan cambios extensos y hallazgos de daño microsomal intracelular, ya documentados (Farber) tanto bioquímica como histológicamente.

La isquemia con la consecuente disminución del ATP intracelular afecta de un modo particular a la célula de músculo estriado ya que esta condición provoca la formación de complejos actina-miosina irreversibles, que dejan con el tiempo células musculares vivas, pero con falta de contractibilidad (3, 4).

De igual modo cuando no es posible reducir el tiempo de isquemia en el periodo pre o transoperatorio como en el caso de algún reimplante o de alguna complicación transoperatoria en un procedimiento microquirúrgico, se ha estudiado la inmersión e irrigación de los tejidos con soluciones variadas (Norden, Kihira, Beyersdorf), que han demostrado que las soluciones preservadoras de tejidos como la Wisconsin y la Eurocollins mejoran el porcentaje de daño celular y sobrevida de los trasplantes o reimplantes a las 24 hrs (6).

La solución de la Universidad de Wisconsin es una solución hipercalémica preservadora de tejidos para trasplante con un pH a temperatura ambiente de 7.4, que contiene una gran concentración de agentes impermeantes, como el ácido lactobionico 100 mmol/L, la rafinosa 30 mmol/L, contiene también hidroxietilo 50gm/L para suprimir el edema celular secundario a hipotermia, adenosina 5.0 mmol/L para estimular la regeneración de ATP, glutatión 3.0 mmol/L para suprimir el daño por radicales libres de oxígeno durante la reperfusión, alopurinol 1.0 mmol/L para la supresión de xantinoxidasa, 30mEq/L de sodio, 128 mEq/L de potasio y 5mmol/l de magnesio, para mantener un ambiente externo fisiológico y fosfatos para su utilización como un amortiguador de pH (6).

- **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN:**

Hasta la fecha no se han publicado estudios que utilicen soluciones preservadoras de tejidos para disminuir el porcentaje de daño celular cuando los periodos de isquemia pre o transoperatorios son mayores a 120 minutos con isquemia caliente.

En el presente estudio se trata de demostrar que la irrigación de tejido muscular inmediatamente después de haber sido sometido a isquemia con solución de Winsconsin disminuye el daño celular provocado por ésta, con una mejoría de la sobrevida de los tejidos, y también de la funcionalidad de los mismos.

- **HIPÓTESIS:**

1. Si el daño celular a los miocitos del tejido muscular estriado provocado por isquemia y reperfusión es disminuido mediante la perfusión transoperatoria con solución de Wisconsin, entonces la perfusión con esta solución se podría utilizar en forma rutinaria en los procedimientos que tienen el riesgo de sufrir este tipo de daño.
2. Hipótesis alterna: Si la perfusión tisular con solución de Wisconsin en un músculo estriado en estado de isquemia, no disminuye el daño celular al miocito provocado por el mecanismo de isquemia y reperfusión, entonces no se puede utilizar en forma rutinaria en los procedimientos que tienen el riesgo de sufrir este tipo de daño.

- **OBJETIVO:**

Demostrar que es posible disminuir el daño causado al tejido muscular estriado en procedimientos realizados bajo isquemia, mediante la perfusión de solución Wisconsin, y mejorar así el pronóstico funcional de nuestros procedimientos quirúrgicos.

- **DISEÑO DEL ESTUDIO:**

Se trata de un estudio de investigación de tipo experimental con animales de laboratorio, prospectivo, comparativo, ciego, longitudinal y aleatorio.



## • **MATERIAL Y METODO:**

El estudio se llevó a cabo de Agosto a Septiembre del 2001 en las instalaciones de microcirugía del Servicio de Cirugía Experimental y de Patología del Hospital General de México.

### **RECURSOS DISPONIBLES:**

**1. Recursos humanos:** El investigador principal realizó las disecciones y procedimientos microquirúrgicos con la misma técnica, participó en el análisis de los resultados y en las conclusiones del estudio, supervisado por un investigador responsable que realizó las correcciones pertinentes al estudio. Los Especialistas en Veterinaria y Zootecnia, se encargaron del cuidado preoperatorio, transoperatorio y postoperatorio de los animales del laboratorio. Un investigador del servicio de patología preparó las muestras tisulares y las evaluó los cambios histológicos bajo magnificación en forma ciega. Y un investigador en Salud Pública realizó las pruebas estadísticas pertinentes para el análisis de los resultados.

**2. Recursos Materiales:** Para las infusiones tisulares se utilizaron 2 litros aproximadamente de solución comercial de Wisconsin la cual contiene 28 mmol /L de sodio, 128 mmol /L de potasio, 25 mmol /L de fosfato, 5 mmol /L de magnesio, 5 mmol /L de sulfato, 30 mmol /L de rafinosa, 100 mmol /L de lactobionato, 3 mmol /L de glutatión, 5 mmol /L de adenosina, 1 mmol /L de alopurinol, y 50 g /L de pentafracción. Así como 2 litros de solución Hartmann de uso habitual.

El equipo de microcirugía y el microscopio fueron proporcionados por el Servicio de Cirugía Experimental. Se utilizaron: Jeringas de 1 y 10 cc, y agujas de insulina. Gasas estériles. Suturas de seda del 2-0 y catgut del 2-0 para los procedimientos quirúrgicos. Material adicional fue utilizado por el servicio de Patología del Hospital General de México para la realización y el análisis de los cortes histológicos.

*MATERIAL: Se anexa cuadro de material utilizado por los Servicios de Cirugía Experimental y Patología Quirúrgica en anexo #1.*

3. **Población y Muestra.** Se utilizaron 30 ratas de diferentes camadas, machos y hembras microbiológicamente convencionales de la cepa Wistar con un peso aproximado de 350 gramos cada una. Las cuáles se dividieron en forma aleatoria en 3 grupos: el grupo control (I n = 10), el grupo irrigado con solución Hartmann ( II n = 10), y el grupo irrigado con solución de Wisconsin (III n = 10). Según la siguiente tabla:

**Grupo #1:**

2, 10, 6, 7, 8, 3, 4, 15, 9, 1

---

**Grupo #2:**

1, 21, 5, 13, 20, 8, 16, 29, 24, 7

---

**Grupo #3:**

29, 23, 24, 7, 12, 3, 13, 18, 21, 16

---

Tabla 1. Aleatorización de los sujetos experimentales.

**4. Modelo experimental.** El investigador principal con la supervisión de los médicos veterinarios, bajo anestesia general con acenopromacina a 2mg/100mg P.V. y xilacina a 20 mg/100mg P.V., a cada una de las ratas de los diferentes grupos les realizó bajo magnificación con un microscopio y equipo de microcirugía, una disección de la extremidad posterior derecha. Se separaron meticulosamente todos los elementos de sostén a nivel de la articulación de la cadera, respetando únicamente la vena y la arteria femorales. Una vez disecado el miembro posterior y los vasos mencionados, previa exanguinación mecánica, provocó isquemia definitiva en la totalidad de la extremidad, mediante el pinzamiento de los vasos femorales por espacio de 120 minutos. Inmediatamente posterior al pinzamiento en el grupo II se canalizaron la vena y la arteria femorales con agujas hipodérmicas del número 28, a través de las cuales se irriego el miembro en dirección anterógrada con 20 ml de solución Hartmann a temperatura ambiente, y al grupo III con 20 cc de solución de Wisconsin a 40°C, al grupo control (I) no se les perfundió con ninguna solución. En caso de persistir el orificio de canalización en cualquiera de los vasos, este se reparó con puntos simples de nylon 9-0. Una vez que se cumplió el periodo de isquemia, se despinzaron los vasos femorales para permitir la re-perfusión de la extremidad, por un periodo de 90 minutos. Al completar la isquemia y re-perfusión conforme al protocolo, cada uno de los animales fue sacrificado mediante la sección total de la vena cava provocándoles choque hipovolémico. De inmediato se tomaron muestras del músculo cuádriceps de la rata, de aproximadamente 3 a 5 mm cúbicos que se fijaron en una solución de formaldehído al 5%. Las muestras de músculo estriado fueron preparadas con tinsiones de hematoxilina y eosina, y analizadas con un microscopio óptico y un electrónico de transmisión para observar datos de lesión mitocondrial y de membrana celular. Un solo patólogo de la Unidad de Patología del Hospital General de México que no tuvo conocimiento del grupo al que pertenecía cada muestra calificó en forma ciega cada uno de los cambios tisulares por daño celular. Las variables de daño celular que fueron evaluadas son: edema, cariopícnosis, rabdomiolisis, y alteraciones de membrana. El mismo observador conforme a su magnitud califico a cada variable como cambios ausentes (+), leves (++) , moderados (+++) y severos (++++).

- **ANÁLISIS ESTADÍSTICO:**

Un investigador en Salud Pública analizó los resultados obtenidos mediante una prueba estadística de H o de varianza múltiple de Kruskal-Wallis para variables cuantitativas, para poder comparar los 3 grupos. Y utilizó una prueba de U o de Mann Whitney comparativa y no paramétrica para comparar individualmente el grupo de Solución de Wisconsin con el grupo control y el grupo de solución Hartmann dándole a la p un valor significativo de 0.05.

- **ASPECTOS ÉTICOS Y DE BIOSEGURIDAD:**

En el estudio se utilizaron animales de laboratorio, y sustancias que son utilizadas cotidianamente en la práctica clínica, por lo que no representaron peligros de bioseguridad. De mismo modo los sujetos de experimentación fueron sometidos a los procedimientos mediante anestesia general, con medicamentos de uso cotidiano, para evitar el sufrimiento de los mismos. El trato a los animales se realizó de acuerdo a la ley de protección animal del D.F. publicada en 1988, así como por el reglamento interno de manejo de animales de experimentación, del Servicio de Cirugía Experimental del Hospital General de México.

- **RELEVANCIAS Y EXPECTATIVAS:** El presente trabajo puede ser una aportación al área de la cirugía de reconstrucción microquirúrgica de miembros superiores e inferiores, si disminuye el número y la severidad de las secuelas que se presentan cuando se realizan los procedimientos bajo tiempo de isquemia prolongadas o con múltiples periodos de isquemia, que hoy en día, a pesar de los avances tecnológicos, continúan presentando una incidencia importante.

**TABLA 2. RECOLECCIÓN DE DATOS DE BIOPSIAS DE MÚSCULO ESTRIADO.**  
**PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN: PERFUSIÓN DE COLGAJOS MUSCULARES CON SOLUCIONES PRESERVADORAS DE TEJIDOS EN MICROCIRUGÍA.**

GRUPO	EDEMA					CARIOPICNOSIS					RABDOMIOLISIS					ALTERACIONES DE MEMBRANA.				
	#	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4
I. DAÑO EN EL GRUPO CONTROL	3	3	3	2	2	2	3	2	4	4	2	3	2	4	4	2	3	3	4	4
	6	7	8	9	10	6	7	8	9	10	6	7	8	9	10	6	7	8	9	10
	2	3	4	4	3	3	4	4	3	3	2	3	4	3	3	3	4	3	2	2
# ESPECIMEN	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
II. DAÑO EN EL GRUPO DE SOLUCION HARTMANN	3	3	2	3	2	3	4	3	3	2	3	2	2	3	2	3	2	3	3	4
	6	7	8	9	10	6	7	8	9	10	6	7	8	9	10	6	7	8	9	10
	2	3	2	2	3	2	3	1	3	2	3	2	3	2	2	2	2	2	3	2
# ESPECIMEN	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
III. DAÑO EN EL GRUPO DE SOLUCION DE WINSCONSIN	2	2	1	1	2	1	2	3	2	3	2	2	3	2	2	2	2	2	2	1
	6	7	8	9	10	6	7	8	9	10	6	7	8	9	10	6	7	8	9	10
	3	2	3	2	3	2	2	1	2	3	2	1	2	1	2	1	2	1	2	2

## • RESULTADOS.

Se utilizó la prueba H o prueba de Kruskal y Wallis para determinar si los tres grupos son o no igualmente efectivos y se obtuvieron los siguientes resultados:

1. No se encontró diferencia significativa (con un nivel de significancia de 0.05) entre el uso de los tres métodos para evitar el desarrollo de edema.  $H= 4.33$  es menor que  $\chi^2_{.05,2} = 5.991$  no se rechaza la hipótesis nula. Se concluye que no hay diferencia en la efectividad de los tres métodos.
2. Sí hay diferencia significativa (con un nivel de significancia de 0.05) entre el uso de los tres métodos para evitar el desarrollo de cariopcnosis.  $H= 6.72$  es menor que  $\chi^2_{.05,2} = 5.991$  se rechaza la hipótesis nula. Se concluye que sí hay diferencia en la efectividad de los tres métodos.
3. Sí hay diferencia significativa (con un nivel de significancia de 0.05) entre el uso de los tres métodos para evitar el desarrollo de rbdomiolisis.  $H= 7.808$  es menor que  $\chi^2_{.05,2} = 5.991$  se rechaza la hipótesis nula. Se concluye que sí hay diferencia en la efectividad de los tres métodos.
4. Sí hay diferencia significativa (con un nivel de significancia de 0.05) entre el uso de los tres métodos para evitar el desarrollo de alteraciones de membrana.  $H= 10.82$  es menor que  $\chi^2_{.05,2} = 5.991$  se rechaza la hipótesis nula. Se concluye que sí hay diferencia en la efectividad de los tres métodos.

Se utilizó la prueba U para determinar si la utilización de la solución de Winsconsin evita el daño en comparación con el uso de la solución de Hartmann. Se probó la hipótesis nula de que las poblaciones muestreadas son idénticas contra la hipótesis alternativa de que en promedio el uso de la solución de Winsconsin produce menos daños. Para rechazar la hipótesis nula  $Z < -Z_{.05}$ .  $-Z_{.05} = -1.645$

$$H_0: \mu_w = \mu_h$$

$$H_1: \mu_w < \mu_h$$

1. No se encontró diferencia significativa (con un nivel de significancia de 0.05) entre el uso de solución de Winsconsin y de solución de Hartmann para evitar el desarrollo de edema. Debido a que  $Z = -1.133$  es mayor que  $-1.645$  no se rechaza la hipótesis nula, se concluye que no hay diferencia significativa entre el uso de ambas soluciones.
2. No se encontró diferencia significativa (con un nivel de significancia de 0.05) entre el uso de solución de Winsconsin y de solución de Hartmann para evitar el desarrollo de cariopcnosis. Debido a que  $Z = -1.285$  es mayor que  $-1.645$  no se rechaza la hipótesis nula, se concluye que no hay diferencia significativa entre el uso de ambas soluciones.

3. No se encontró diferencia significativa (con un nivel de significancia de 0.05) entre el uso de solución de Winsconsin y de solución de Hartmann para evitar el desarrollo de rbdomiolisis. Debido a que  $Z = -0.944$  es mayor que  $-1.645$  no se rechaza la hipótesis nula, se concluye que no hay diferencia significativa entre el uso de ambas soluciones.
4. Si se encontró diferencia significativa (con un nivel de significancia de 0.05) entre el uso de solución de Winsconsin y de solución de Hartmann para evitar el desarrollo de alteraciones de membrana. Debido a que  $Z = -2.456$  es menor que  $-1.645$  se rechaza la hipótesis nula, se concluye que en promedio el uso de la solución de Winsconsin produce menos daños.

Se utilizó la prueba U para determinar si la utilización de la solución de Winsconsin evita el daño en comparación con no utilizar solución. Se probó la hipótesis nula de que las poblaciones muestreadas son idénticas contra la hipótesis alternativa de que en promedio el uso de la solución de Winsconsin produce menos daños. Para rechazar la hipótesis nula  $Z < -Z_{.05}$ .  
 $-Z_{.05} = -1.645$

$$H_0: \mu_w = \mu_c$$

$$H_1: \mu_w < \mu_c$$

5. Si se encontró diferencia significativa (con un nivel de significancia de 0.05) entre el uso de solución de Winsconsin y no usar solución para evitar el desarrollo de edema. Debido a que  $Z = -1.96$  es menor que  $-1.645$  se rechaza la hipótesis nula, se concluye que en promedio el uso de la solución de Winsconsin produce menos daños.
6. No se encontró diferencia significativa (con un nivel de significancia de 0.05) entre el uso de solución de Winsconsin y no usar solución para evitar el desarrollo de cariopicnosis. Debido a que  $Z = -2.494$  es menor que  $-1.645$  se rechaza la hipótesis nula, se concluye que en promedio el uso de la solución de Winsconsin produce menos daños.
7. No se encontró diferencia significativa (con un nivel de significancia de 0.05) entre el uso de solución de Winsconsin y no usar solución para evitar el desarrollo de rbdomiolisis. Debido a que  $Z = -2.607$  es menor que  $-1.645$  se rechaza la hipótesis nula, se concluye que en promedio el uso de la solución de Winsconsin produce menos daños.
8. Si se encontró diferencia significativa (con un nivel de significancia de 0.05) entre el uso de solución de Winsconsin y no usar solución para evitar el desarrollo de alteraciones de membrana. Debido a que  $Z = -2.985$  es menor que  $-1.645$  se rechaza la hipótesis nula, se concluye que en promedio el uso de la solución de Winsconsin produce menos daños.

## • Discusión.

Desde la década pasada los refinamientos de técnicas para la preservación de órganos ha disminuido el riesgo del trasplante de los mismos. En 1987, Wahlberg y colaboradores reportaron el éxito en la preservación de un páncreas de perro mediante el uso de una solución hipertónica creada en la Universidad de Wisconsin (9), desde entonces esta solución preservadora de tejidos ha sido utilizada exitosamente para el almacenamiento de órganos para trasplante como el riñón, páncreas, hígado y pulmón especialmente a 4°C. El efecto que este tipo de soluciones tiene sobre el endotelio vascular ha sido estudiado por varios autores como Cartier, Hollmann, Pelleerin, etc, pero los efectos celulares en el músculo estriado con la perfusión de ésta solución en tejidos que sufren daño por isquemia prolongada no ha sido investigada, o publicada.

La transferencia de tejidos mediante anastomosis microvasculares requiere de la tolerancia del tejido donador a la isquemia. La piel, el tejido subcutáneo y el tejido conectivo son relativamente resistentes a la anoxia y presentan cambios reversibles en 24 horas (10) sin embargo, el músculo estriado es mucho menos tolerante a la isquemia y presenta cambios irreversibles que alteran su metabolismo y dañan su microcirculación en menos de 4- 6 horas (11). El éxito clínico de los tejidos sometidos a isquemia dependen básicamente de la respuesta del endotelio vascular y de su resistencia al daño por radicales libres de oxígeno. Uno de los efectos más temidos por su alta morbilidad en procedimientos que se realizan bajo isquemia es el "fenómeno de no reflujo" que se relaciona a una respuesta celular inflamatoria acrecentada en el endotelio vascular con la subsecuente agregación plaquetaria intravascular, la formación de trombos, la fuga de líquido al espacio intersticial y los cambios del Ph celular, que en menos de 12 horas pueden hacer que la pérdida de los tejidos afectados sea irreversible(12). Se ha reportado que éste fenómeno puede ocurrir en el 30% de los tejidos musculares independientemente del tiempo de isquemia al que fueron sometidos. Esto ha propiciado el estudio de sustancias como trombolíticos, anti-inflamatorios no esteroideos, y el uso de técnicas como las de enfriamiento que mejoren la tolerancia a la isquemia de todos los tejidos (13). Con la finalidad de hacer reversibles los cambios musculares por isquemia desarrollamos el presente trabajo, considerando que la solución de Wisconsin además de tener agentes impermeables, y componentes que disminuyen el edema celular, regeneran el ATP, suprimen la acción de los radicales libres y proveen un medio fisiológico óptimo, su utilización a 4°C debe tener la ventaja adicional de mejorar la tolerancia a la isquemia.

No obstante algunos autores como Drinkwater (14) cuestionan el uso de esta solución porque consideran que su alto contenido en potasio puede provocar daño endotelial significativo y propone el uso de otras soluciones preservadores como la de Stanford con menor contenido de potasio. De aquí puede surgir la idea de hacer un estudio similar que en lugar de solución Hartmann compare la solución de Wisconsin con la solución de Stanford.

Los resultados son concluyentes en que la solución de Wisconsin si previene las alteraciones de membrana en el daño por isquemia, pero no reduce el edema y altera poco la aparición de rhabdomiolisis y caripicnosis. No obstante su bajo costo puede

justificar su uso en procedimientos en los que queramos mejorar la tolerancia muscular a la isquemia.

Finalmente es necesario probar su utilidad en humanos, por lo que será de interés continuar este estudio con muestras de músculo estriado de pacientes que son sometidos a procedimientos bajo isquemia prolongada.

### • Conclusiones.

Al comparar los 3 grupos de estudio, se encontró que la infusión transoperatoria con solución de Wisconsin disminuye el daño por isquemia que se expresa con cariopincosis, rabdomiolisis y alteraciones de membrana, con una  $p$  significativa menor de 0.05.

Al comparar los resultados del grupo perfundido con solución de Wisconsin y el de solución Hartmann se encontró que la de Wisconsin es más efectiva para prevenir el daño por alteraciones de membrana con una  $p$  significativa de 0.05. Pero no hubo diferencias significativas en el desarrollo de edema, cariopincosis y rabdomiolisis entre ambas soluciones.

Y finalmente al comparar la utilización de la solución de Wisconsin con el no utilizar ninguna solución se encontró que ésta produce menor edema y menos alteraciones de membrana con una  $p$  significativa de 0.05.

Con lo anterior concluimos que se justifica el uso transoperatorio mediante la perfusión con solución de Wisconsin porque disminuye las alteraciones de membrana de los músculos estriados sometidos a isquemia y puede hacer menos severos los cambios por cariopincosis y rabdomiolisis, pero no es más efectiva que la solución Hartmann o el uso de ninguna solución para disminuir el edema celular de los miocitos.

Un agradecimiento especial a la Maestra en Salud Pública Jéssica Gómez Jáuregui por su invaluable ayuda en el Proceso de Análisis Estadístico.



## • **REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:**

1. Norden M, Rao V, Improved preservation of rat hindlimbs with the University of Winsconsin solution and butanedione monoxime. *Plas Reconstr Surg* 1998; 100: 957-965.
2. Sapega A, Heppenstall B, Optimizing tourniquet application and release times in extremity surgery. *J Bone Joint Surg* 1985; 67-A:987-996
3. Concannon M, Garrison K, Patterns of free-radical production after tourniquet ischemia. Implications for the hand surgeon, *Plas Reconstr Surg*, 1992; 89 :546-556.
4. Farber J, Chien K. the pathogenesis of irreversible cell injury in ischemia, *Am J Pathol* 1981;102 :481-497.
5. Ekcer P, Schnackertz K, Ischemic tolerance of human skeletal muscle. *Ann Plast Surg* 1991; 26: 71-80.
6. D'alessandro F, Hoffman A, Current status of organ preservation with University of Winsconsin solution. *Arch Pathol Lab Med* 1991; 115: 89-97.
7. Shapiro R, Cerra F, A model for replantation and transplantation of a complex organ: the rat hindlimb. *J Surg Res* 1978; 24 : 271-287.
8. Beyersdorf F, Unger A, Studies of reperfusion injury in skeletal muscle: preserved cellular viability after extended periods of warm isquemia. *J Cardiovasc Surg* 1991; 32: 664-676.
9. Wahlberg JA, Love R, Landegaard L, Sauthard JH, Belzar FO. Seventy two hour preservation of the canine pancreas transplantation. 1987;43:5-8.
10. Serafin D. Et al: Transcutaneous PO2 monitoring for assessing viability and predicting survival of skin flaps: experimental and clinical correlations. *J Microsurg* 2:165, 1981
11. Eriksson E, Anderson WA, Replogie RL: Effects of prolonged ischemia on muscle microcirculation in the cat. *Surg Forum* 25:254, 1974.
12. Ames A III et al: Cerebral ischemia: II The no-reflow phenomenon. *Am J Pathol* 52:437,1968.
13. Reus WF, Schlenker JD: Comparison of blodod flow after warm and cool ischemia in island flaps: latissimus dorsi myocutaneous and epigastric flaps in the dog. *Ann Plast Surg* 10:130, 1983.
14. Drinkwater D.C., Rudis E. Laks H, Ziv E, Marino J. University of Wisconsin Solution versus Stanford Cardioplegic Solution and the Development of Cardiac Allograft Vasculopathy. *The J of Heart and Lung Transplantation*. 14;5:1995.