



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
DELEGACIÓN SUR DEL DISTRITO FEDERAL  
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI**

**“MARCADORES DE STRESS OXIDATIVO EN EL FENÓMENO DE  
ISQUEMIA REPERFUSIÓN DURANTE LA CIRUGÍA DE  
REVASCULARIZACIÓN EN INSUFICIENCIA ARTERIAL AGUDA”**

**R-2010-3601-129**

**T E S I S**

**QUE PRESENTA**

**DR. FRANCISCO JAVIER MORENO GUTIÉRREZ**

**PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA ESPECIALIDAD EN  
ANGIOLOGÍA Y CIRUGÍA VASCULAR**

**DR. ERICH CARLOS VELASCO ORTEGA  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN**

**ASESOR: DR. ADOLFO CHÁVEZ NEGRETE  
DIRECTOR DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD**



**MÉXICO, D.F.**

**FEBRERO 2012**



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

---

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DELEGACIÓN SUR DEL DISTRITO FEDERAL

UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI

TITULO.

**“MARCADORES DE STRESS OXIDATIVO EN EL FENÓMENO DE ISQUEMIA  
REPERFUSIÓN DURANTE LA CIRUGÍA DE REVASCULARIZACIÓN EN INSUFICIENCIA  
ARTERIAL AGUDA”**

***(R-2010-3601-129)***

TESIS QUE PRESENTA

**Dr. FRANCISCO JAVIER MORENO GUTIÉRREZ**

PARA OBTENER EL DIPLOMA

EN LA ESPECIALIDAD EN

ANGIOLOGÍA Y CIRUGÍA VASCULAR

DR. ERICH CARLOS VELASCO ORTEGA

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN ANGIOLOGÍA Y CIRUGÍA  
VASCULAR, HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI

ASESOR: DR. ADOLFO CHÁVEZ NEGRETE

DIRECTOR DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI

MÉXICO, D.F.

2012

---

DOCTORA

**DIANA G. MENEZ DIAZ**

DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD

UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES SIGLO XXI

---

DOCTOR

**ERICH CARLOS VELASCO ORTEGA**

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ANGIOLOGÍA Y CIRUGÍA VASCULAR

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI

---

DOCTOR

**ADOLFO CHÁVEZ NEGRETE**

DIRECTOR DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN

UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS  
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud  
Coordinación de Investigación en Salud

**Dictamen de Autorizado**

COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD 3601

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ, CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO  
XXI, 3 SUROESTE DEL D.F.

FECHA 14/12/2010

**DR. ERICH CARLOS VELASCO ORTEGA**

**P R E S E N T E**


Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

**MARCADORES DE STRESS OXIDATIVO EN EL FENOMENO DE ISQUEMIA REPEFUSIÓN  
DURANTE LA CIRUGIA DE REVASCULARIZACIÓN EN INSUFICIENCIA ARTERIAL  
AGUDA**

que usted sometió a consideración de este Comité Local de Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro
R-2010-3601-129

ATENTAMENTE

  
**DR. (A) CARLOS FREDY CUEVAS GARCÍA**  
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud núm 3601

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

"En un día dado, una circunstancia dada, piensas que tienes un límite. Y entonces vas por este límite y tocas este límite, y piensas, 'Bueno, este es el límite'. En cuanto tocas este límite, algo pasa y de repente puedes ir un poco más allá. Con el poder de tu mente, tu determinación, tu instinto, y la experiencia también, puedes volar muy alto."

Ayrton Senna

Siempre hay personas que pueden influir en tú vida y en tu forma de ser, sin embargo son muy pocas las personas que sus esas enseñanzas, la forma de conducirse en la vida y el cariño te quedan tatuadas en el alma. Este trabajo de 4 años esta dedicado a tí y es en memoria tuya "Doc", tuve la fortuna de que fueras mi maestro, operar contigo y que supieras que iba a tener tu misma especialidad. Sé que desde arriba siempre estas conmigo.

A mi mamá siempre con la sabiduría y buen consejo, siempre escuchando paciente y trasmitiéndome todas las alegrías. A mi papá el que siempre me enseñó el como se trabaja y como se deben de hacer las cosas, siempre la constancia y la dedicación.

A mi Abue de quien siempre he recibido el cariño y la alegría. A Alejandro mi hermano por haber compartido una muy buena parte de este viaje fuera de casa. A Gabriel por planear sueños en común y ser siempre un amigo para mi.

A mis abuelos, los que ya no están, por cuidarme y siempre estar al pendiente de mi. A toda mi familia que; los primos, tíos y tías que siempre hacen que el sueño de regresar a casa este latente y que todos ellos influyeron en mí para ser la persona que soy ahora.

A mis ahijados Beto y Nicolás que el solo pensar en ello me hacen tratar de ser cada vez mejor, para tratar de dar el mejor de los ejemplos y darme cuenta que todo vale la pena.

A mi familia adoptiva durante este tiempo que nunca me dejaron solo y siempre estuvieron al pendiente de mi Rodrigo, Iliana y Rodriuguín.

A mis amigos que quiero con toda mi alma Eduardo, Erika, Alicia y Paty, en los que siempre encontré el apoyo y las alegrías.

Al Dr. Velasco que con su ejemplo y enseñanza día a día me guiaron durante mi residencia para convertirme en Angiólogo y Cirujano Vascular. A mi profesor adjunto Dr. Rosales por siempre estar dispuesto a discutir casos y cirugías, así como brindarme el consejo dentro y fuera del hospital.

A mis maestros que siempre vieron por lo mejor para mí, una mención especial, por enseñarme a no rendirme, a aprender a que lo que más cuesta, al final da mayor satisfacción para ser un mejor profesional Dra. Barrera, Dra. Quezada, Dr. Sánchez, Dr. García, Dr. Serrano. Dr. Fernández, Dr. González y Dra. Luna.

A mis residentes superiores que fueron amigos y maestros que tiene todo mi aprecio y respeto Miguel, Ciau, Tomás, Roberto, Rosita, Juan Carlos. A Abi por las grandes alegrías durante la residencia, por estar pendiente de mi y señalar mis virtudes y mis defectos, por hacer mas llevaderos los tragos amargos. Deni que junto a mí estuvo a durante mi camino de formación como angiólogo.

A mis residentes que me permitieron aprender de ellos y que me gustó de trabajar con ellos Verónica, Armando, Isaac, Azul, Enrique, Fernando y Rodrigo.

A todas las personas que me ayudaron a concluir una etapa más en mi vida, así también a quienes me ayudaron a terminar este trabajo, especialmente a la QFB Ma. Magdalena Rojas Uribe con su dedicación y empeño en mi protocolo y a la Dra. Elizabeth Andalón médico pasante del CMNO por su amistad y por la ayuda en los puntos críticos de este trabajo.



## ÍNDICE

I.	Resumen .....	1
II.	Justificación del estudio .....	3
III.	Marco teórico .....	4
IV.	Introducción .....	4
V.	Planteamiento del problema .....	14
VI.	Hipótesis .....	15
VII.	Objetivos .....	15
VIII.	Material y métodos .....	16
IX.	Resultados .....	24
X.	Discusión .....	30
XI.	Conclusiones .....	34
XII.	Referencias bibliográficas .....	35
XIII.	Anexos .....	38
XIV.	Cronograma .....	38
XV.	Hoja de recolección de datos .....	39

## RESUMEN

### Introducción

La cirugía de revascularización es el tratamiento que se ofrece a la mayoría de los pacientes que padecen insuficiencia arterial aguda, desencadenando un fenómeno de isquemia reperusión; donde el periodo de isquemia puede ir de mínimas repercusiones hasta la necrosis, agotando las reservas energéticas de la célula y acumulando metabolitos tóxicos; en tanto que la reperusión puede provocar daño por la formación de oxidantes citotóxicos derivados del oxígeno molecular. Motivo por el cual el objetivo de este estudio es describir los efectos de la cirugía de revascularización mediante los niveles de lactato, radicales libres, acidosis metabólica y potasio.

### Material y Métodos

Bajo un diseño descriptivo, longitudinal, cuasiexperimental y analítico se incluyeron pacientes mayores de 18 años de edad con insuficiencia arterial aguda Rutherford I, IIA y IIB que acudieran al servicio de urgencias del HE CMN Siglo XXI, y fueran candidatos a cirugía de revascularización. Se tomaron muestras sanguíneas al ingreso, durante el acto quirúrgico y 24 horas posteriores a la cirugía evaluando en cada uno de estos tiempos los niveles de nitrato de sodio, malondialdehído, potencial hidrógeno, potasio, lactato y hemoglobina. También se evaluó la presencia de comorbilidades y complicaciones quirúrgicas. Los resultados obtenidos fueron cometidos al paquete estadístico SPSS versión 17 para su análisis.

### Resultados

Fueron evaluados un total de 13 pacientes, de los cuales 9 fueron del género femenino con una edad de  $74.2 \pm 10.4$  años, y 4 del sexo masculino con una edad de  $69.25 \pm 7.9$  años. La comorbilidad que más se presentó fue la hipertensión arterial en el 35% (n=6), seguida de arritmias en el 29% (n=5), diabetes mellitus en un 24% (n=4) y dislipidemia en el 12% (n=2). Los niveles de nitrato de sodio disminuyeron con tendencia a la significancia del preoperatorio al postoperatorio ( $p=0.06$ ). El malondialdehído se incrementó significativamente al comparar el preoperatorio con el perioperatorio ( $p=0.013$ ) y con el postoperatorio ( $p=0.006$ ). Los niveles de lactato tendieron al aumento en el postoperatorio en comparación con el perioperatorio ( $p=0.06$ ); en tanto que la hemoglobina disminuyó en relación del preoperatorio con el perioperatorio ( $p=0.001$ ) y con el postoperatorio ( $p=0.000$ ). No encontramos diferencias estadísticamente significativas para los niveles de potasio y potencial hidrógeno.

### Conclusiones

El malondialdehído promete ser un marcador de estrés oxidativo en la cirugía de revascularización para el tratamiento de la isquemia arterial aguda; en tanto que requerimos de estudios subsecuentes con un incremento en el tamaño de la muestra para evaluar con certeza el papel del óxido nítrico y los niveles de lactato en los eventos de revascularización.

1. datos del alumno	
Apellido Paterno:	Moreno
Apellido materno:	Gutiérrez
Nombre	Francisco Javier
Teléfono	(33) 36299931
Universidad	Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad o escuela	Facultad de Medicina
Carrera:	Especialidad Angiología y Cirugía Vasculat
No. de cuenta:	508213296
2. datos del asesor	
Apellido paterno:	Chávez
Apellido materno:	Negrete
Nombre:	Adolfo
Apellido paterno:	Velasco
Apellido materno:	Ortega
Nombre:	Erich Carlos
3. datos de la tesis	
Título:	Marcadores de stress oxidativo en el fenómeno de isquemia reperfusión durante la cirugía de revascularización en insuficiencia arterial aguda.
No. de páginas	39
Año:	2012

## **JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

Los tratamientos disponibles para el síndrome de reperfusión antes mencionados, y que fueron descritos por Haimovici; son la adecuada hidratación del paciente, mantener la uresis ya sea con diuréticos osmóticos o de asa-, el uso de alopurinol, y la alcalinización de la orina: mismos que son tratamientos indirectos al síndrome de reperfusión, en el cual, con el uso de ésta terapéutica se busca depurar la mioglobina circulante. Sin embargo ninguno de estos tratamientos se encuentra en la búsqueda de disminuir el daño de las células musculares que ocasiona la peroxidación de las membranas celulares por los radicales libres. Lo anterior no indica que el tratamiento convencional no se efectivo; no obstante se deben de buscar otras estrategias para disminuir el síndrome de reperfusión desde su génesis.

## **MARCO TEÓRICO**

### **LESIÓN POR ISQUEMIA Y REPERFUSIÓN**

#### **INTRODUCCIÓN**

Existe un grupo diverso de complicaciones, las cuales se pueden presentar de manera aislada o en conjunto como resultado del restablecimiento de flujo sanguíneo a una extremidad isquémica, éste tipo de complicaciones mencionadas dependerán de la intensidad de la isquemia que se presente en dicha extremidad (1,2).

La probabilidad e intensidad con la que se pueden presentar las complicaciones antes mencionadas son determinadas por numerosos factores como el volumen de tejido afectado, la intensidad de la isquemia y la duración en tiempo que ésta se presenta. Afectando así de manera directa e indirecta al paciente en el periodo del peri operatorio (1).

La mortalidad y la morbilidad en el proceso de la reperfusión pueden reducirse de manera significativa mediante la anticipación, el reconocimiento y tratamiento de los efectos de la revascularización (1,3).

#### **FISIOPATOLOGÍA**

Cuando los tejidos del organismo son sometidos a isquemia, dependiendo el tiempo de la misma, puede haber recuperación de la función con mínimas repercusiones, o bien, una serie de eventos que pueden terminar en disfunción tisular e inclusive llegar a necrosis.

Se cree que la necrosis y la disfunción celular se deben al agotamiento de las reservas energéticas que se encuentran dentro de la célula, así como también a la acumulación de metabolitos tóxicos.

Aunque es básico restablecer el flujo sanguíneo a la célula, la reperfusión puede lesionar aún más los tejidos, inclusive el daño provocado por la reperfusión puede ser aún más considerable que aquel daño provocado por la misma isquemia. Lo anterior se debe al proceso de reintroducción de sangre oxigenada al tejido isquémico, al parecer por la formación de oxidantes citotóxicos derivados del oxígeno molecular.

El oxígeno molecular puede aceptar un total de 4 electrones para formar agua, sin embargo el oxígeno puede reducirse en pasos univalentes para generar tres especies de oxidantes. La reducción univalente tiene como producto el anión superóxido  $O_2^-$ . La reducción bivalente del oxígeno produce el peróxido de hidrógeno  $H_2O_2$  o también por la dismutación del oxígeno: la dismutación espontánea de  $O_2$  se lleva a cabo con rapidez en una solución acuosa; por lo que la producción de  $O_2$  in vivo se acompaña inalterablemente con la producción de  $H_2O_2$ . El tercer radical libre derivado del oxígeno molecular es el radical hidroxilo ( $-OH$ ) el cual es formado por la interacción de  $O_2$  y el  $H_2O_2$  por la reacción de Haber-Weiss y es un agente oxidante potente.

La generación de radicales libres es perjudicial, para muchas biomoléculas que se encuentran en las células, en especial; los ácidos nucleicos, lípidos de la membrana, enzimas y receptores. Los ácidos grasos poliinsaturados que se encuentran en la superficie de la membrana celular, son muy susceptibles a su degradación por el hidroxilo resultando en la peroxidación de estos lípidos. La peroxidación de los lípidos de la membrana celular puede alterar su fluidez y distribuir el contenido celular en compartimientos lo que dará como consecuencia la lisis celular.

Durante la reperfusión existe una fase explosiva de formación de radicales libres que dura de dos a cinco minutos, entrando en acción los protectores celulares a los cuales se les llama enzimas depredadoras de radicales libres como la dismutasa de superóxido y la catalasa la cual cataliza la desproporción entre  $\text{H}_2\text{O}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{O}_2$ . También existen depredadores no enzimáticos que atenúan la lesión entre ellos, como son el dimetilsulfóxido (DMSO), dimetiltiourea y el manitol.

Dado que la principal protección que ofrecen los depredadores es contra el hidroxilo, muchos investigadores proponen que este es el radical principal que provoca el daño celular, sin embargo la reacción de Haber-Weiss ocurre a un ritmo muy bajo para tener importancia fisiológica, pero se ha visto que la reacción se puede acelerar en gran medida en la presencia de metales de transición como el hierro y cobre. En el caso del hierro, cuando se encuentra en estado férrico (ferritina  $\text{Fe}^{+3}$ ) el superóxido puede reaccionar con la ferritina y producir hierro ferroso ( $\text{Fe}^{+2}$ ) y liberar de forma importante hidroxilo. Esta reacción puede ser detenida con deferoxamina o apotransferrina.

La capacidad de los radicales de hidroxilo para reaccionar con los lípidos de membrana da por resultado la formación de radicales en forma de dienos conjugados y radicales hidroperóxidos de los lípidos. A menudo se mide la intensidad de la reperfusión por la medición de estos dienos o del malondialdehído como índices de peroxidación de los lípidos.

Durante la isquemia la reducción del oxígeno conduce a un cambio del metabolismo aerobio a metabolismo anaerobio. Conforme el ácido láctico se acumula y las demandas metabólicas permanecen sin cambio, la bomba de la membrana  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  dependiente de ATP falla y la membrana celular es incapaz de mantener un gradiente osmolar; resultando en mayor edema, entrando un ciclo de auto perpetuación del daño. Conforme se agrega la anoxia de los tejidos se induce la peroxidación lipídica de la membrana celular, estimulando la cascada inflamatoria, activando neutrófilos y generando hipoxantina. Si este proceso continúa, puede

ocurrir un daño permanente conocido como síndrome de reperfusión, en el cual no hay correlación entre el daño metabólico con el daño estructural aún cuando el flujo se haya restablecido (4,5).

La xantinaoxidasasa es la enzima que limita la magnitud del ácido nucleico, por medio del cual todas las purinas se destinan a la oxidación terminal. La xantinaoxidasasa tiene la capacidad de generar  $H_2O_2$  y  $O_2^-$  durante la oxidación de hipoxantina a xantina.

En condiciones normales la xantinaoxidasasa, que se encuentra en las células sanas no isquémicas, sobre todo en forma de deshidrogenasa de xantina, dependiente del  $NAD^+$  (XDH). Ésta forma la enzima y emplea  $NAD^+$  en vez de  $O_2$  como aceptador de electrones durante la oxidación de las purinas y no produce  $O_2^-$  ni  $H_2O_2$ .

La xantinodeshidrogenasa se convierte en la forma productora de oxidantes durante la isquemia llamada xantinaoxidasasa por medio de dos mecanismos: la oxidación y la proteólisis, que es la forma irreversible. El grado de conversión es proporcional a la duración de la isquemia.

Dado que los depreadores de los radicales de oxígeno ofrecen una propiedad protectora, también se ha dado énfasis a la inhibición de la xantinaoxidasasa con la administración de alopurinol, el cual atenúa la necrosis celular y el incremento de la permeabilidad capilar.

Otro de los mecanismos de lesión en el síndrome de reperfusión son los neutrófilos, los cuales contienen NADPH oxidasa, el cual es encargado de reducir el oxígeno molecular hasta el anión superóxido; además de secretar enzima mieloperoxidasa (MPO) la cual cataliza la formación de ácido hipocloroso (HOCl) a partir del peróxido de hidrógeno y iones de cloruro.

El ácido hipocloroso, por otro lado, es una agente oxidante y clorante potente 100 veces más reactivo que el  $H_2O_2$ , reaccionado con rapidez con las aminas primarias



(RNH<sub>2</sub>) para producir derivados N-clorados (RNHCl) que tienen la equivalencia oxidante del H<sub>2</sub>O y del HOCl. Las N-cloraminas lipófilas son las causantes probables de la lesión celular acompañadas de la producción de HOCl. La citotoxicidad que se observa cuando hay HOCl y N-cloraminas puede ser mediada por la oxidación de los sulfhidrilos, inactivación de la proteína hem y el citocromo y la degradación de los aminoácidos y las proteínas.

Los neutrófilos activados además de la producción de radicales libres, pueden ser citotóxicos por la activación de enzimas como la elastasa y colagenasa, que lesionan las células parenquimatosas y la microvasculatura. Los neutrófilos también son los mediadores primarios de la permeabilidad microvascular inducidos por la reperfusión.

No está claro el mecanismo por el cual el superóxido media la adherencia de los leucocitos dependientes del endotelio, sin embargo se ha sugerido que el superóxido puede inhibir sustancias antiadherentes en el endotelio, sospechando principalmente del óxido nítrico, que es una sustancia biológicamente activa producida por las células endoteliales que impide la agregación de las plaquetas y los leucocitos.

Como conclusión por parte de los estudios realizados, hay evidencia que el daño producido por la reperfusión está dado por lesión a la célula parenquimatosa así como también a la microvasculatura. Esta lesión está mediada por los metabolitos reactivos del oxígeno y por los leucocitos polimorfonucleares activados. Los oxidantes derivados de la xantinaoxidasa provocan la producción y descarga de agentes pro inflamatorios, que a su vez promueven la adherencia y migración de los leucocitos polimorfonucleares. Los leucocitos adherentes, median la lesión microvascular por descarga de proteasas, oclusión física de la barrera endotelial o ambos mecanismos.

## MANIFESTACIONES CLINICAS

Se reconocen ciertas alteraciones sistémicas justo después de la restauración de la continuidad del flujo arterial en extremidades con un grado de isquemia avanzado (rigidez precoz, pérdida de la sensibilidad y cierta pérdida de la función motora) presentando desequilibrios importantes en electrolitos sistémicos y en el sistema ácido base; esto provocado por un retorno rápido y repentino hacia el corazón de sangre acidótica, con elevado contenido en potasio. Este efecto metabólico, junto con el remanso de sangre en los vasos dilatados de la extremidad, da lugar a una hipotensión. Se ha encontrado que hasta en un 80% de los pacientes presentan, posterior a la retirada de las pinzas, efectos electrocardiográficos significativos, hipotensión o ambos cambios a la vez, por lo que se requiere de un anestesiólogo experimentado en estas situaciones para el manejo de estas alteraciones.

Es necesaria la vigilancia estrecha en el postoperatorio, ya que el alto contenido de potasio puede producir efectos adversos en el ritmo cardiaco y conducir a una muerte súbita. A pesar de que esta elevación del potasio es transitoria, en algunas ocasiones puede persistir, motivo por el cual se requiere vigilancia estrecha así como monitorización electrocardiográfica en este tipo de pacientes.

## MONITORIZACIÓN DEL FENÓMENO

El análisis continuo de la creatinfosfoquinasa (CPK) en el período postoperatorio suministra una indicación de la extensión de la lesión tisular que se ha producido, presentándose posteriormente una mioglobinuria en presencia de una necrosis muscular extensa, y dando como consecuencia una insuficiencia renal (6).

## TRATAMIENTO CONVENCIONAL

Como parte del tratamiento estándar que se ha sugerido posterior a la revascularización de una extremidad con isquemia avanzada, se recomienda la

adecuada hidratación del paciente, así como la administración de furosemida para provocar una diuresis enérgica con el objeto de prevenir las complicaciones renales; así como la alcalinización de la orina con bicarbonato de sodio por vía sistémica para la prevención de la precipitación de mioglobina a nivel de los túbulos renales (1).

Dentro de las complicaciones locales se puede producir edema de la extremidad afectada como un efecto ulterior a la revascularización; este edema puede ser tan severo que puede llegar a comprometer en un inicio el flujo venoso y, posteriormente, el flujo arterial, pudiendo dar lugar a una reoclusión. El principal proceso primario de este edema es la lesión capilar, lo cual resulta en un trasudado de líquido a través de la membrana basal de los capilares; conforme la presión intratisular se incrementa por el efecto del edema, los capilares se comprimen resultando en una isquemia de los tejidos.

En caso de que haya una trombosis venosa profunda concomitante, ésta contribuye como causa adicional al edema ya descrito. El fallo en reconocer esta condición pone en serio riesgo la viabilidad de la extremidad, por lo que se requieren revaloraciones continuas, sin ser fiable la presencia de pulsos; ya que la desaparición de éstos es una manifestación tardía de un síndrome compartamental (7,8)

## PERFLUROCARBONO

El desarrollo de sustitutos de sangre capaces de liberar oxígeno a los tejidos ha sido abordado de dos maneras diferentes: las soluciones acarreadores derivadas de hemoglobina y los perflurocabonos (PFC). Las habilidades intrínsecas de los PFC de disolverse, liberar y atrapar gases (oxígeno y bióxido de carbono) han sido exploradas en diferentes modelos experimentales con muchas aplicaciones clínicas (9,10).

Los PFC son una familia de compuestos derivados de un hidrocarburo donde los átomos de hidrógeno han sido remplazados por átomos de flúor. Esta sustitución tiene una profunda influencia sobre las propiedades físicas y químicas de estos

compuestos, permitiendo diferentes usos tanto en la electrónica, como en la química y la medicina (11).

Estos compuestos pueden disolver grandes volúmenes de gases respiratorios (por ejemplo entre el 40 y 70 % de oxígeno por unidad de volumen a 37 °C, cifras mayores que la sangre) con una relación lineal entre la tensión de oxígeno y la presión parcial, de acuerdo con la ley de Henry; lo que contrasta con la curva sigmoidea de la sangre total y la hemoglobina (Hb). Debido a su pequeña medida, pueden emplearse para el transporte de oxígeno a regiones vasculares distales con oclusiones parciales, como en el infarto agudo del miocardio, la trombosis o las crisis de la anemia drepanocítica; también pueden emplearse para el transporte de oxígeno al interior de un tumor para aumentar el tratamiento subsecuente con radiaciones ionizantes. (10)

Propiedades de los líquidos perfluorocarbonados:

- a) Líquidos claros. - Inodoros.
- b) Química y biológicamente inertes.
- c) Alta solubilidad en gas.
- d) Alta densidad.
- e) Baja viscosidad.
- f) Baja tensión superficial.
- g) Radiopacos.
- h) Fácilmente esterilizables.

Debido a que son inmiscibles en sangre y agua, deben emulsificarse para su uso intravascular. Después de la infusión intravascular, las gotas de la emulsión se remueven de la circulación y se retienen temporalmente por las células fagocíticas del sistema retículo endotelial y finalmente se excretan en la exhalación corporal. Los fluorocarbonos con peso molecular en el rango de 460 a 520 tienen tiempos de retención tisular aceptables (10).

Las desventajas de los fluorocarbonos son:

La necesidad de someter al paciente a un medio con alta concentración de oxígeno, lo que puede provocar toxicidad.

El bloqueo potencial del sistema retículo endotelial (este sistema es el que realiza su aclaramiento) y producir una subsecuente disminución del aclaramiento de agentes patógenos.

En 1996 Lenad C. Clark sumergió un ratón por muchas horas en un PFC oxigenado, aunque el ratón murió por daño pulmonar este experimento lanzó a la fama a estos compuestos y a la búsqueda de sus aplicaciones clínicas (12).

Han surgido muchos problemas técnicos para el desarrollo de los PFC. El PFC ideal debe de ser lo suficientemente pesado para ser emulsificado para su aplicación intravenosa, pero lo bastante ligero para ser liposoluble para una rápida excreción. Deben de ser optimizados para soportar las presiones de vapor y evitar la retención de aire en los alvéolos, el cual puede causar un incremento en el volumen residual pulmonar. Las emulsificaciones de PFC se crean con un alto grado de homogenización de pequeñas gotas de PFC en fosfolípido de la yema de huevo (10).

Dentro de la medicina se han usado en el campo de la oftalmología para reemplazos temporales de humor vítreo. La longitud de la cadena de carbono determina las características físicas de un PFC en particular. Los perfluorocarbonos de cadena pequeña como el perfluoro-propano son gases que se introducen en el ojo y sellan los agujeros retinianos. Los PFC de cadena larga como el perfluoro-octano son líquidos más pesados que el agua (13). Son compuestos inertes, muy estables, y muy solubles; pueden ser utilizados como contrastes de ultrasonido ya que son líquidos a temperatura ambiente y tienen la propiedad de verse convertidos en gas con la temperatura corporal formando microburbujas, las cuales oscilan y vibran cuando se les aplica energía sónica, reflejando el ultrasonido (10).

Las emulsificaciones de PFC han sido propuestas para el tratamiento del síndrome de isquemia- reperfusión. Este fenómeno se puede presentar en el contexto de un shock séptico, hipovolémico, EVC, hemorragia, trauma, cirugía, angioplastia coronaria, trasplante de órganos y reparaciones de aneurismas.

La reperfusión posterior a la isquemia incrementa la permeabilidad de las proteínas en los capilares; resultando en edema y la posible evolución hacia la necrosis. Este tipo de lesión en el músculo esquelético está asociado a una alta morbilidad y mortalidad. Numerosas evidencias sugieren que el evento inicial de la reperfusión está asociado a la acumulación de productos reactivos del oxígeno y de PMN en las vénulas poscapilares, en conjunción con la migración de los neutrófilos a través de la barrera microvascular. La severidad de los cambios que ocurren durante la reperfusión depende en parte del tiempo de isquemia. El incremento en la adherencia de los PMN, la permeabilidad de las proteínas y la formación de edema ocurre en los primeros 30 minutos de la reperfusión (5).

Los PFC continúan siendo propuestos como materiales que proporcionan un acarreador de oxígeno en cuadros anémicos. Estos materiales pueden ser un inicio en la sustitución de sangre ya que sus ingredientes en la mayoría sintéticos son de mucha disponibilidad en la industria. No es muy claro cómo estos materiales mejoran la sobrevivencia de los tejidos cuando estos se encuentran con mala perfusión, con isquemia o sometidos a anemia intensa. Es importante determinar como los fosfolípidos usados en la emulsificación de los PFC reaccionan con los radicales libres del oxígeno generados durante la isquemia y como afecta a la microcirculación (10,11).

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El fenómeno o lesión de reperfusión en la cirugía de revascularización en extremidades con insuficiencia arterial aguda, conlleva necesariamente un período de isquemia, que en ocasiones puede ser prolongada, lo que desencadena un estado anaerobiótico del tejido isquémico de miembros inferiores; esto a su vez genera un metabolismo alterno para lograr ATP; como es el ciclo de anaerobiosis con la producción de lactato como metabolito representativo de la isquemia.

El fenómeno de estrés oxidativo consecutivo a la isquemia se caracteriza por la producción de radicales libres de oxígeno como el peróxido de hidrógeno, el malondialdehído, que pueden ser evaluables a través de ensayos bioquímicos por ELISA.

Las intervenciones hasta la fecha no han logrado disminuir sustancialmente la producción de radicales libres. Se ha tenido buena experiencia con el acarreador de oxígeno (perfluorocarbono) en otros eventos isquémicos como la lesión traumática de medula espinal y la angioplastia coronaria; puesto que ha demostrado no sólo abatir los niveles de radicales libres, sino también mejorar la sobrevida del tejido y la recuperación motriz.

Es de esperarse que las consecuencias a la cirugía de revascularización en extremidades con insuficiencia arterial aguda (como la acidosis metabólica, arritmia cardíaca, insuficiencia renal o incluso el infarto del miocardio) disminuyan al barrer los radicales libres de oxígeno. Por lo que se deberán buscar los marcadores adecuados para establecer el fenómeno de isquemia reperfusión y posteriormente evaluar la intervención de los perfluorocarbonos.

## **HIPÓTESIS**

Los pacientes sometidos a cirugía de revascularización en extremidades con insuficiencia arterial aguda, tendrán un incremento en los niveles de lactato, radicales libres, acidosis metabólica y potasio consecutivo al despinzamiento arterial. Los pacientes sometidos a cirugía de revascularización en extremidades con insuficiencia arterial aguda, tendrán presencia de arritmias cardíacas, acidosis metabólica, hiperkalemia y creatinemia (> basal).

## **OBJETIVOS**

Describir los efectos de la cirugía de revascularización en extremidades con insuficiencia arterial aguda, sobre los niveles de lactato, radicales libres, acidosis metabólica y potasio consecutivo al despinzamiento arterial.

Describir los efectos de la cirugía de revascularización en extremidades con insuficiencia arterial aguda, en relación a la presencia de arritmias cardíacas, acidosis metabólica, hiperkalemia y creatinemia (> basal).



## **MATERIAL, PACIENTES Y MÉTODOS**

### Diseño del estudio:

Se trata de un estudio descriptivo, longitudinal, cuasiexperimental y analítico.

### Universo de trabajo:

Se llevó a cabo en una población derechohabiente del Hospital de Especialidades del CMN SXXI, que cumpliendo con los criterios de inclusión, se incorporaron en forma consecutiva al estudio; estos pacientes fueron seguidos por un período de 24 horas posterior a su intervención quirúrgica. Lo anterior realizado en un período comprendido entre agosto del 2010 a junio del 2011.

### Variables:

#### Independientes:

Edad, género, origen, etnia.

#### Dependientes

Tiempo de isquemia (por historia clínica)

Tabaquismo

Comorbilidades (diabetes tipo 2, hipertensión arterial, arritmia cardíaca, dislipidemia)

Clasificación de isquemia

Nivel plasmático de malondialdehído, óxido nítrico, pH, hemoglobina, potasio y lactato.

### Variables de confusión:

Hemoglobina / hematocrito

Viscosidad sanguínea,

## Selección de la muestra:

### a) Tamaño de la muestra:

Dado que no existe antecedente en la literatura de la asociación entre la isquemia y reperfusión así como sus marcadores de reperfusión, se llevará a cabo un estudio piloto o exploratorio, para tratar de identificar al biomarcador más sensible para el fenómeno mencionado.

### b) Criterios de selección:

#### I. Criterios de inclusión:

- Se incluyeron todos los pacientes mayores de 18 años de edad, con insuficiencia arterial aguda Rutherford I, IIA y IIB acudan al servicio de urgencias del HE CMN Siglo XXI , los cuales sean candidatos a cirugía de revascularización en extremidades.

#### II. Criterios de no inclusión:

- Pacientes con padecimientos inflamatorios vasculares agudos.
- Vasculitis (Takayasu)
- Tromboangeítis obliterante.
- Ergotismo
- Insuficiencia arterial crónica.

#### III. Criterios de exclusión:

- Isquemia Irreversible
- Insuficiencia Rutherford III, pacientes embarazadas

Tratamiento:

- Se tomaron 5cc de sangre durante la obtención de muestras habituales a su ingreso, en el procedimiento trans anestésico al despinzamiento de la extremidad y 24 horas posteriores a la cirugía durante la monitorización de tiempos de coagulación y CPK. Las muestras tomadas se separaron, 1 cc se procesó con gasómetro para determinación de pH y lactato. El resto de los 4 cc se colocó en tubo seco y se centrifugaron, separando el suero y se almacenarán a -80°C para su posterior proceso.
- Técnica quirúrgica: Se Preparó estérilmente al paciente con campos quirúrgicos el segmento vascular a explorar. La cirugía inició con la exposición de la arteria afectada con control vascular proximal y distal, heparinización sistémica, pinzamiento proximal y distal exploración con catéter de Fogarty hacia proximal y distal dependiendo de diámetro y/o hallazgos, se realizó trombectomía y/o tromboembolectomía verificación del adecuado reflujo y irrigación con heparina no fraccionada hacia distal y hacia proximal, cierre de arterial con polipropileno Se despinzó el reflujo de la arteria operada. Se verifica hemostasia, cierre de herida en múltiples capas para eliminar la fuga linfática.

## PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

### ÓXIDO NÍTRICO

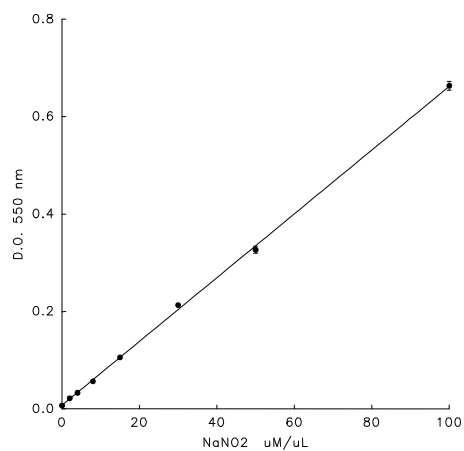
#### Método de Griess

#### CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO (NITRITOS)

La curva de calibración para la determinación de óxido nítrico, se basó en la determinación de nitritos de acuerdo al procedimiento de Griess. En este caso todos los reactivos se adquirieron de la marca Sigma

Cuadro 1. Procedimiento para realizar la curva de calibración de óxido nítrico plasmático y urinario reacción de Griess (Green et al, 1982).

Concentración de NaNO <sub>2</sub>	Volumen final de estándar de NaNO <sub>2</sub> (100 µM) µL	Agua destilada µL	Sulfanilamida 1.0% µL	Agitar suavemente e incubar a 22°C por 15 minutos en oscuridad	NED 0.1% µL	Agitar suavemente e incubar a 22 °C por 15 minutos en oscuridad	Leer a 540 nm
0	0	50	50		50		
2	1	49	50		50		
4	2	48	50		50		
8	4	46	50		50		
15	7.5	42.5	50		50		
30	15	35	50		50		
50	25	25	50		50		
100	50	0	50		50		
Plasma	10 µL	40	50		50		
Orina	10 µL	40	50		50		
Saliva	10 µL	40	50		50		



Curva de calibración de óxido nítrico, cada punto se realizo por triplicado, la línea totalmente recta corresponde a la regresión lineal.

Volumen de la muestra 20 o 50  $\mu$ L (desproteínizada).

Preparación de reactivos

Reactivo de Sulfanilamida al 1%

- 1). 100 mg de sulfanilamida o ácido sulfanílico (Sigma).
- 2). Aforar a 10 mL con ácido fosfórico al 5%
- 3). Agitar e incubar a 30°C por 10 min para facilitar la disolución
- 4). Conservar en oscuridad y a 0°C

Reactivo de N-1-Naftilendiamino (NED) al 0.1%

- 1). 10 mg de NED (Sigma)
- 2). Aforar a 10 mL con ácido fosfórico al 2%
- 3). Conservar en oscuridad y a 0 °C

Estándar de Nitrito de sodio (concentrado) 100 mM/mL

- 1). 69 mg de nitrito de sodio (Productos Químicos Monterrey. Monterrey, NL. Mex)
- 2). Aforar a 10 mL con agua destilada
- 3). Es estable indefinidamente a temperatura ambiente

Estándar de Nitrito de sodio (solución de trabajo) 100  $\mu$ M/mL

- 1). 10  $\mu$ L de la solución concentrada de NaNO<sub>2</sub>
- 2). Aforar a 10 mL con agua destilada
- 3). Es estable indefinidamente a temperatura ambiente

Ácido fosfórico al 5%

- 1). 500  $\mu$ L de ácido fosfórico concentrado ( )
- 2). Aforar a 10 mL con agua destilada
- 3). Es estable indefinidamente a temperatura ambiente

#### Ácido fosfórico al 2%

- 1). 200  $\mu$ L de ácido fosfórico concentrado
- 2). Aforar a 10 mL con agua destilada
- ó
- a). 4 mL de ácido fosfórico al 5%
- b). 6 mL de agua destilada
- 3). Es estable indefinidamente a temperatura ambiente

#### MALONDIALDEHIDO

##### Método de Ohkawa

##### Desproteinización de la muestra

50  $\mu$ L de muestra

50  $\mu$ L de TCA al 20% frío

Mezclar en vortex

Incubar a 4  $^{\circ}$ C, 10 min.

Centrifugar a 11,000 g, 3 min.

Conservar la pastilla para la medición de carbonilos totales

Recuperar el SOBRENADANTE

##### Medición del MDA

25  $\mu$ L de sobrenadante

200  $\mu$ L de TBA al 0.8%

Mezclar en vortex

Incubar a 95  $^{\circ}$ C, 60 min.

Incubar a 4  $^{\circ}$ C, 10 min.

Colocar 90  $\mu$ L en pozo (por duplicado)

Leer a 532 nm

##### Curva de calibración

1 mL de MDA 100  $\mu$ M

Hacer con ella, diluciones seriales de 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625, y 0  $\mu$ M

## Reactivos

TBA 0.8%, 50 mL

- 400 mg ácido 2-tiobarbiturico (TBA, Aldrich D 11.350-6, o Sigma o Acros)
- 5 mL TCA 20%
- 1.25 mL HCl 0.25 N
- 43.75 mL Agua BD

TCA (20%)

- mL ácido tricloroacético al 20% (Merck 9415)
- mL agua desionizada

HCl (0.25N)

- 5 mL ácido clorhídrico 1 mol/l
- 15 mL agua desionizada

TBA/HCl/TCA (preparar en agua con hielo)

TBA: HCl: TCA = 1: 1: 1

MDA (TEP) 100 mM

- 83 uL MDA
- 5 mL agua BD

MDA 100 uM

- 10 uL MDA 100 mM
- 10 mL H<sub>2</sub>O Agua BD.

BTH (Butilerter Alcohol, (2% in Ethanol)). ESTE REACTIVO ES OPCIONAL y se usa 5 mL por cada 50 uL de muestra.

- 20 mg 2,6-di-tert. Butyl-4-methylphenol (Aldrich D 4-740-4)
- 1 mL etanol al 100%

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Inicialmente se realizarán medidas de tendencia central y se intentará si las muestras son homogéneas implementar ANOVA.

## CONSIDERACIONES ÉTICAS

Debido a que no se realizarán maniobras diferentes a las habituales en la revascularización y solamente se tomarán un par de muestras de 5 ml antes y después del procedimiento, se le comunicará mediante consentimiento informado al paciente si está de acuerdo en que se le realice el muestreo de sangre, dado que el paciente firma la carta de consentimiento habitual para el procedimiento quirúrgico se le explica previo a la firma del mismo la característica del estudio.

## RECURSOS PARA EL ESTUDIO

Recursos humanos: Investigador, Químico farmacobiólogo y Asesor

Recursos materiales: Uso de tubos de ensayo secos, gasómetro con reactivo de lactato, congelador para muestras a  $-80^{\circ}$  proporcionado por el módulo de investigación hospitalaria del H. de Especialidades CMNSXXI, hoja de recolección de datos, expedientes de los pacientes de Angiología y Cirugía Vascular del H. de Especialidades CMNSXXI. Computador MacBook de la marca Apple con programa Microsoft Office for Mac 2011 (Word y Excel). Reactivos necesarios para realizar determinación de malondialdehído con método de Okhawa y óxido nítrico por el método de Griess.

Recursos Financieros: no se requieren.

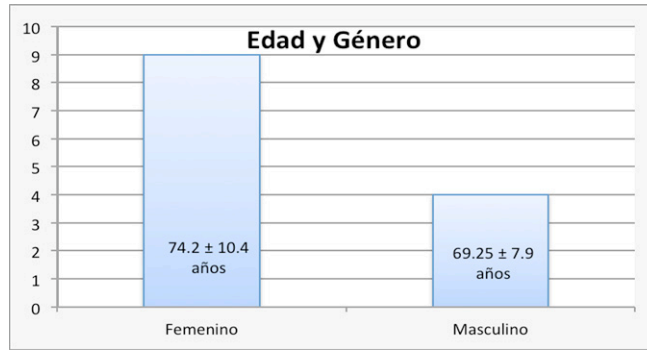
## FACTIBILIDAD

El proyecto es totalmente factible ya que se realizan aproximadamente 5 a 7 procedimientos a la semana con las características mencionadas, y que considerando las limitaciones de los criterios de inclusión, serán entre 3 a 4 por semana para recolectar la muestra completa en 3 meses. Por otro lado se cuenta ya con los reactivos para determinar el estrés oxidativo condicionado por la isquemia.



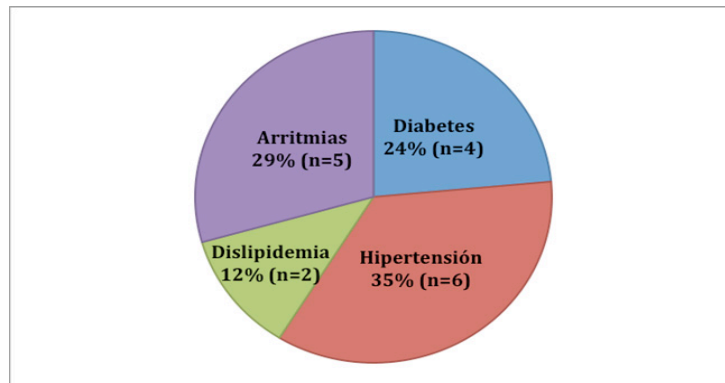
## RESULTADOS

Se evaluaron un total de 13 pacientes entre 53 y 85 años de edad, obteniéndose una edad. Un número de 9 pacientes correspondieron al género femenino con una edad de  $74.2 \pm 10.4$  años; y 4 al género masculino con una media de edad de  $69.25 \pm 7.9$  años (Figura 1).



**Figura 1.** Promedio de edad y frecuencia de género

Para los estados comórbidos presentados tanto de manera aislada como en conjunto, encontramos que la diabetes mellitus tipo 2 se mostró en 4 pacientes, en tanto que la hipertensión fue padecida por 6 de ellos, haciéndose presente la dislipidemia en 2 pacientes, y las arritmias fueron identificadas en 5 de ellos. (Figura 2)



**Figura 2.** Frecuencia de aparición de los estados comórbidos.

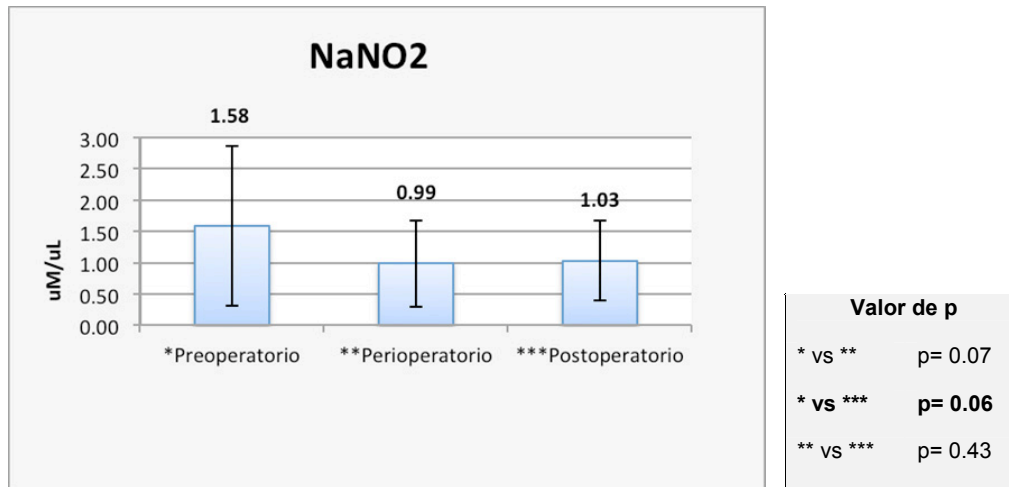
En cuanto a la presencia de tabaquismo, observamos que éste fue positivo en 5 pacientes, correspondiendo 4 de ellos al género masculino y solamente 1 al género femenino.

Para las complicaciones observadas posteriores a los procedimientos terapéuticos realizados a los pacientes, se encontró que 4 de ellos desarrollaron algún tipo de complicación, presentándose en un paciente trombo auricular con paro cardiaco congestivo, y en tres pacientes la necesidad de amputación por encima de la rodilla.

El tipo de isquemia que se manifestó con mayor frecuencia previamente al procedimiento quirúrgico, de acuerdo a la clasificación de Rutherford, fue el IIB (92%) estando presente en 12 pacientes, mientras que sólo un paciente presentó isquemia de tipo IIA (8%). Para el tiempo de isquemia se obtuvo una media de tiempo de  $81.1 \pm 115.73$  horas, teniendo como mínimo 3 horas y como máximo 336 horas.

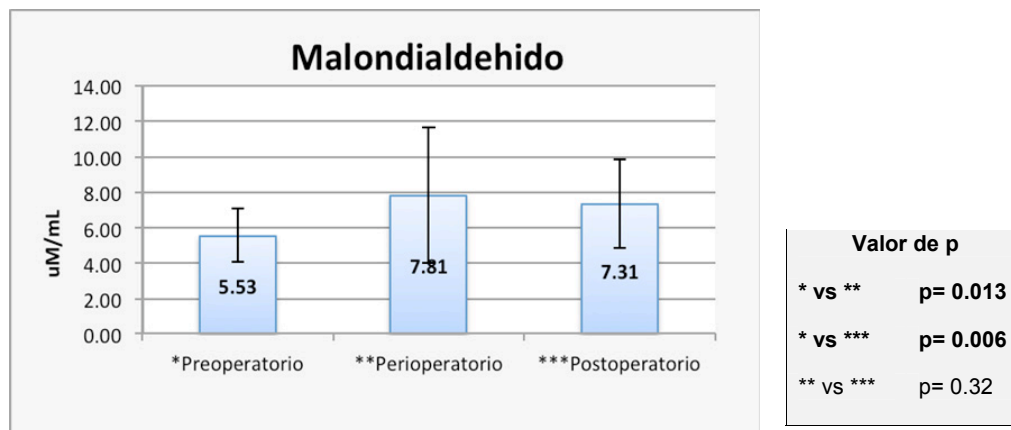
Las concentraciones de los distintos marcadores fueron medidas en los tiempos preoperatorio, perioperatorio y a las 24 horas en el postoperatorio.

En cuanto a la concentración de los niveles de Nitrato de Sodio ( $\text{NaNO}_2$ ), los niveles en el tiempo basal preoperatorio fueron de  $1.58 \pm 1.28 \mu\text{M}/\text{uL}$ ,  $0.99 \pm 0.69 \mu\text{M}/\text{uL}$  en el perioperatorio y  $1.03 \pm 0.64 \mu\text{M}/\text{uL}$  a las 24 horas de la intervención quirúrgica; no observando ninguna diferencia estadísticamente significativa al comparar los tiempos preoperatorio, perioperatorio y postoperatorio entre sí, sin embargo se observa una tendencia de significancia al comparar los niveles basales con los del postoperatorio ( $p= 0.06$ ); por lo que sugerimos para estudios subsecuentes en este ámbito aumentar el tamaño de la muestra. (Figura 3).



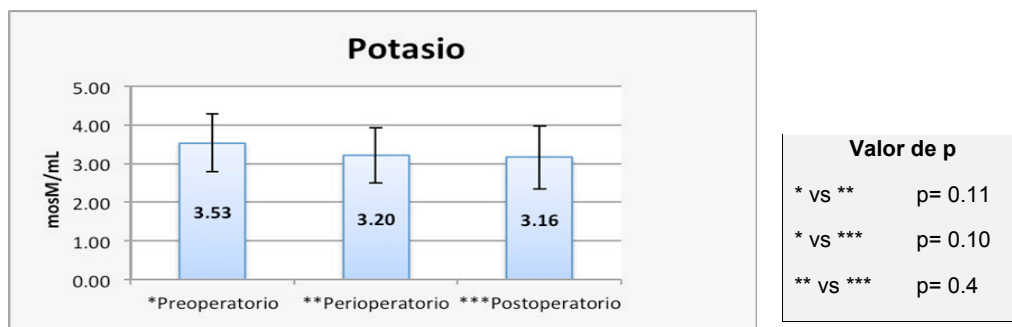
**Figura 3.** Niveles de NaNO2 en el preoperatorio, perioperatorio y a las 24 horas de la intervención quirúrgica.

En cuanto a las concentraciones de Malondialdehído, los niveles en el preoperatorio fueron de  $5.53 \pm 1.51$  uM/mL, de  $7.81 \pm 3.83$  uM/mL en el momento del perioperatorio y  $7.31 \pm 2.49$  uM/mL para el postoperatorio, obteniendo una diferencia estadística al comparar estos niveles en el tiempo preoperatorio vs. perioperatorio ( $p= 0.013$ ), así como el preoperatorio vs. postoperatorio ( $p= 0.006$ ), a favor de su incremento; no siendo así para el tiempo perioperatorio vs. postoperatorio ( $p=0.32$ ). (Figura 4).



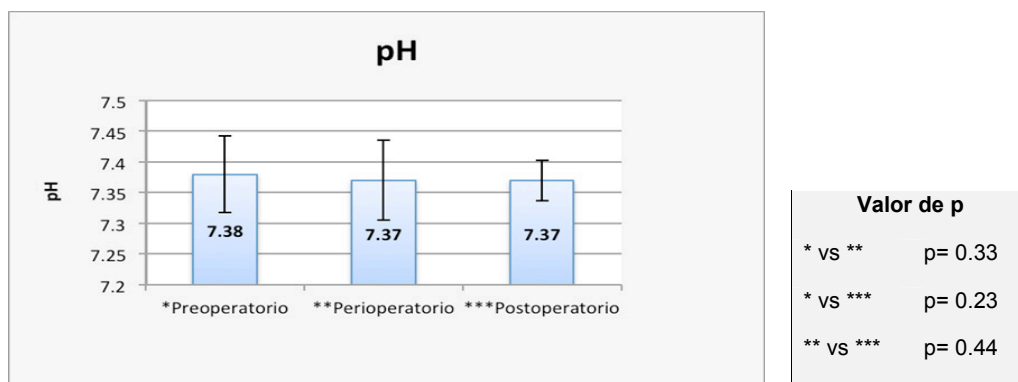
**Figura 4.** Niveles de Malondialdehído en el preoperatorio, perioperatorio y a las 24 horas de la intervención quirúrgica.

Los niveles de potasio en el preoperatorio se encontraron en  $3.53 \pm 0.75$  mosM/ml que en comparación con los valores del perioperatorio  $3.20 \pm 0.72$  mosM/ml, no fue diferente ( $p=0.11$ ), así como tampoco se observaron diferencias al comparar los niveles preoperatorios con los postoperatorios  $3.16 \pm 0.81$  mosM/ml ( $p=0.10$ ), ni de éstos con los preoperatorios ( $p=0.4$ ) (Figura 5).



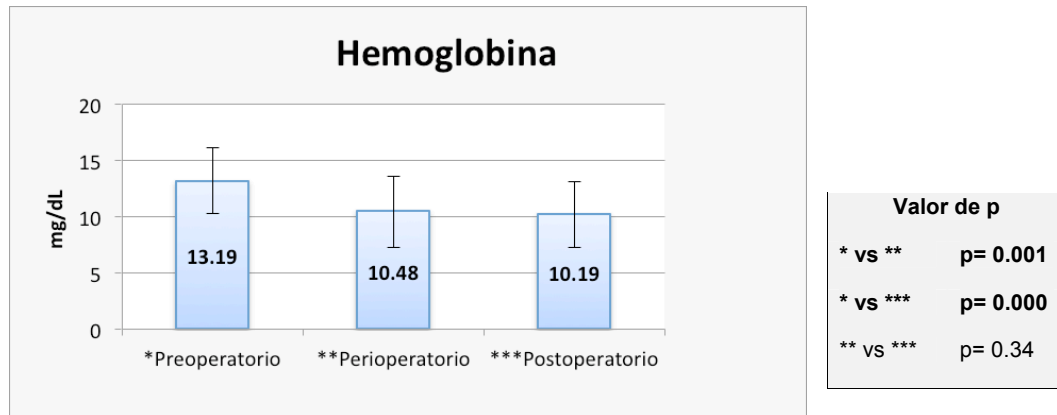
**Figura 5.** Niveles de Potasio en el preoperatorio, perioperatorio y a las 24 horas de la intervención quirúrgica.

Para el potencial hidrógeno (PH) éste se encontró en  $7.38 \pm 0.06$  en el momento prequirúrgico para los pacientes, en  $7.37 \pm 0.65$  en el momento quirúrgico y de  $7.37 \pm 0.033$  en el postquirúrgico, no encontrando ninguna diferencia estadísticamente significativa, ni con tendencia a la significancia al realizar la comparativa. (Figura 6).



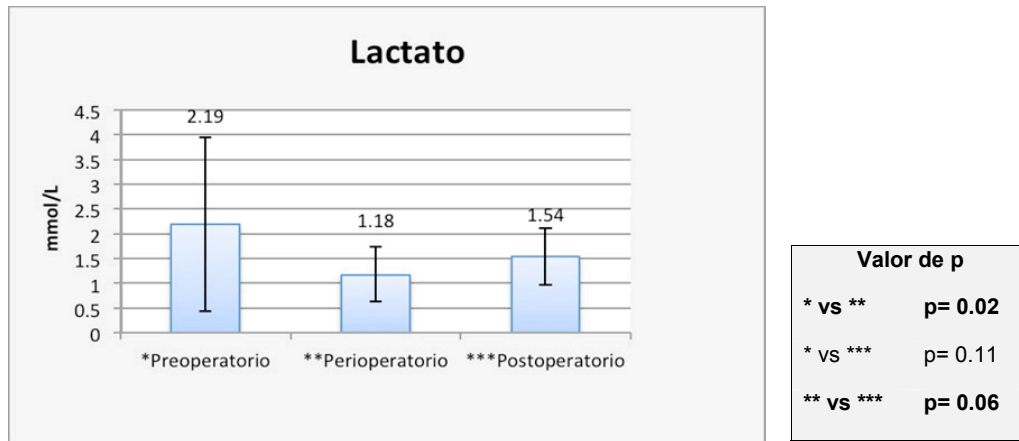
**Figura 6.** Niveles de Potencial Hidrógeno (PH) en el preoperatorio, perioperatorio y a las 24 horas de la intervención quirúrgica.

La hemoglobina para el preoperatorio fue de  $13.19 \pm 2.97$  mg/dL que al compararse con el perioperatorio  $10.48 \pm 3.18$  fue estadísticamente diferente a favor de los valores basales ( $p=0.001$ ), así como también estos valores basales fueron superiores que el postoperatorio  $10.19 \pm 2.96$  mg/dL ( $p=0.000$ ), no habiendo diferencia entre los valores en el perioperatorio y el postoperatorio ( $p=0.34$ ). (Figura 7).



**Figura 7.** Niveles de Hemoglobina en el preoperatorio, perioperatorio y a las 24 horas de la intervención quirúrgica.

Finalmente el lactato se encontró en  $2.19 \pm 1.75$  mmol/L en el prequirúrgico,  $1.18 \pm 0.56$  mmol/L en el perioperatorio, y  $1.54 \pm 0.57$  mmol/L en el postoperatorio, habiendo una diferencia estadísticamente significativa en la comparación del preoperatorio con el perioperatorio ( $p=0.02$ ), no siendo así para el preoperatorio vs. postoperatorio ( $p= 0.11$ ). Y, aunque no se encontraron diferencias para el perioperatorio vs. el postoperatorio, se encontró una tendencia de diferencia significativa entre ellos ( $p=0.06$ ), que nos sugiere que al momento de realizar un aumento en el tamaño de la muestra podría alcanzar la significancia estadística, aunque ésta sólo sería útil, por así decirlo, en demostrar que el lactato aumenta ante el periodo de reperusión, no siendo así para el isquémico, ya que los valores del postoperatorio nunca llegan a superar los basales, pero sí los del perioperatorio en el momento de la isquemia. (Figura 8).



**Figura 8.** Niveles de Lactato medidos en el preoperatorio, perioperatorio y a las 24 horas de la intervención quirúrgica.

## DISCUSIÓN

La insuficiencia arterial es una condición patológica producto de interrupción del flujo sanguíneo con la consecuente hipoxia que representa un motivo de consulta de urgencia frecuente en los servicios de angiología.<sup>(12)</sup>

La característica principal de esta patología es un insuficiente aporte sanguíneo a los tejidos, del cual pueden derivarse diversas manifestaciones que pueden ir desde la claudicación intermitente hasta la necrosis de la extremidad; siendo los cambios en la macrocirculación los responsables de los signos clínicos que incluyen ausencia o disminución de la intensidad del pulso arterial en tanto que los cambios que ocurren en la microcirculación son responsables de la sintomatología.<sup>(13)</sup>

El tratamiento médico en esta entidad dista mucho de ser el ideal para el paciente, por lo que los enfermos en su mayoría deberán someterse a un evento quirúrgico, como la cirugía de embolectomía, derivación arterial y la angioplastia con balón; requiriéndose forzosamente en estos eventos de revascularización que el paciente sea sometido a través de fenómenos de isquemia y reperfusión<sup>(14,15)</sup>; donde está descrito que el daño producido por estos dos procesos puede observarse desde su génesis a través de marcadores que evalúen el estrés oxidativo.

Así como se describió la influencia del óxido nítrico en estudios experimentales <sup>(16)</sup> Lownstein CJ y col, realizó una revisión acerca de los efectos fisiológicos del óxido nítrico(NO), aseverando y concordando con Snyder SH<sup>(17)</sup> que el mismo tenía funciones importantes en el organismo tales como la regulación de la presión arterial<sup>(18)</sup>, la transmisión de las señales neuronales<sup>(19,20,21)</sup> así como la supresión de algunos patógenos<sup>(22, 23, 24)</sup>, sin embargo, y posterior a la revisión de 3044 artículos<sup>(25, 26)</sup>, también pudo concluir que el óxido nítrico en cantidades excesivas, al ser un radical libre, podía dañar a las células huéspedes pudiendo causar neurotoxicidad durante las embolias y causar hipotensión asociada con sepsis entre otros efectos adversos, dejando abierta esta línea de investigación para determinar cuál era el

papel del óxido nítrico en los distintos estados patológicos.<sup>(27)</sup> No obstante se cree que el óxido nítrico es quien interviene en el superóxido para mediar la adherencia de los leucocitos dependientes en el endotelio.

Como marcador en las lesiones pulmonares en pacientes sometidos a bypass coronario el NO exhalado ya había sido utilizado, no habiéndose obtenido resultados concluyentes en relación a la asociación de lesión pulmonar en los pacientes sometidos a este proceso de revascularización y el óxido nítrico.<sup>(28)</sup> En nuestro estudio, para el cual medimos los niveles de la concentración de NaNO<sub>2</sub>, en los diferentes tiempos del proceso de revascularización, antes, durante y a las 24 horas de realizado; encontramos que éste en efecto disminuyó respecto de los niveles basales en comparación con el perioperatorio que representa el momento de isquemia, y aunque ésta diferencia no fue significativa, en parte por el tamaño de nuestra muestra, se mostró una tendencia a la significancia estadística, por lo que en este contexto revaloraríamos aumentar el tamaño de la muestra, con el fin de demostrar si la medición del NaNO<sub>2</sub> puede ser un marcador del stress oxidativo que se produce en el fenómeno isquemia-reperusión, por lo que para ello se requieren estudios ulteriores.

Un estudio experimental en ratas publicado por Granero-Trancón<sup>(29)</sup> evaluó los niveles de malondialdehído, peroxidación y la morfología de los enterocitos en el evento de isquemia-reperusión; donde se sometió a los animales a un periodo de isquemia que variaba entre 30 y 60 minutos, desarrollado sobre la arteria mesentérica superior con la subsiguiente reperusión; y posteriormente aplicando el uso de superóxido dismutasa como antioxidante. Concluyendo que los niveles de malonaldehído se habían visto incrementados de manera importante, así como aseveraron que los procesos de isquemia-reperusión provocaban la peroxidación de lípidos; y que estos cambios eran significativamente reversibles a la aplicación de antioxidantes como superóxido dismutasa. Aunque en nuestro estudio no intervenimos las variables mediante la aplicación de antioxidantes, coincidimos en el contexto de lo publicado por Granero-Trancón acerca de los niveles elevados que se



hicieron presentes en nuestra muestra, ya que obtuvimos diferencias estadísticamente significativas, a favor de que el malonaldehído puede ser utilizado como un marcador de stress oxidativo en el proceso isquemia-reperusión, al encontrar los niveles en el preoperatorio y postoperatorio significativamente aumentados respecto a las mediciones basales. Valdría la pena para posteriores estudios evaluar el efecto de un barredor de radicales libres como el perfluorocarbono en un entorno similar.

En contraste a lo descrito por la literatura en cuanto a que en el evento de reperusión se presentan desequilibrios electrolíticos y del sistema ácido base que pueden condicionar alteraciones en el ritmo cardíaco (4). No encontramos diferencias estadísticamente significativas al comparar los niveles de potasio medidos en los diferentes momentos del fenómeno isquemia reperusión. De igual manera para los niveles de PH en los pacientes, éstos no fueron diferentes para la comparación de los momentos preoperatorios, perioperatorios y postoperatorios, ni siquiera con una tendencia a la significancia; motivo por lo que no pudimos asociar las complicaciones presentadas en los pacientes a la evaluación de estas variables; no representando para nosotros, y para este estudio, un valor como marcadores del stress oxidativo.

La respuesta metabólica del músculo esquelético hacia la isquemia ha sido evaluada ya por numerosos autores, mismos que han concluido que el tejido muscular se ve severamente dañado por el fenómeno de isquemia, e inclusive aun más por el periodo de reperusión, incrementando los productos de oxidación lipídica (dienes conjugados de ácidos grasos libres) y metabolitos intramusculares como el lactato.(4,5). Por un lado, en contraste los niveles basales obtenidos en nuestro estudio fueron los más altos en comparación a los periodos peri y postoperatorios, inclusive observándose una diferencia estadísticamente significativa con el primero. Sin embargo, curiosamente, después de descender los niveles de lactato en el perioperatorio, éstos tuvieron una tendencia a incrementarse en el postoperatorio, acercándose a la significancia estadística; no permitiéndonos concluir si el lactato puede o no utilizarse como un marcador de stress oxidativo en el fenómeno

isquemia-reperfusión; sin embargo, esta tendencia al observar los valores de lactato incrementados en el postoperatorio, nos lleva a pensar que quizá el fenómeno de reperfusión es el más involucrado en la elevación de esta variable; por lo que se requerirá en los subsecuentes estudios, en primera, de un tamaño de muestra mayor que permita diferenciar con claridad si existe o no diferencia en los niveles medidos en el pre, peri y postquirúrgico; y en segunda instancia la evaluación de un periodo de seguimiento mayor a las 24 horas en el postquirúrgico, para determinar si subsecuentemente éstos valores lograr superar o no a los valores basales.

## CONCLUSIONES

- En el presente estudio se trató de identificar la sensibilidad de diferentes marcadores que pudieran representar de forma más evidente el fenómeno de isquemia reperusión, en la cirugía de revascularización de extremidades con insuficiencia arterial aguda.
- Pudimos observar es que el malondialdehído, promete ser un marcador de estrés oxidativo, que puede representar el tiempo y la porción de tejido isquémico; sin embargo el reducido número de pacientes denotó un movimiento discreto en la curva posoperatoria.
- El óxido nítrico, al igual que los niveles de potasio y potencial hidrógeno, no mostró diferencias estadísticas que pudieran ayudar a dimensionar el fenómeno de isquemia reperusión.
- Con estos resultados proponemos incrementar el tamaño de la muestra para futuros estudios y ensayar diferentes propuestas terapéuticas que disminuyan el fenómeno o lesión de reperusión; permitan, independientemente del tiempo quirúrgico, tener éxito en el procedimiento de revascularización, y sean capaces de salvar el tejido isquémico afectado.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Beebe-Hugh G. Complicaciones en Cirugía Vascular. Editorial JIMS Barcelona, España. 1976 Págs, 7-9.
2. Ljungman C, Holmberg L, Bergqvist D, Bergström R, Adami HO. Amputation risk and survival after embolectomy for acute arterial ischaemia. Time trends in a defined Swedish population. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1996;11:176-82.
3. Faglia E, Clerici G, Caminiti M, Curci V, Clerissi J, Losa S, et al. Mortality after major amputation in diabetic patients with critical limb ischemia who did and did not undergo previous peripheral revascularization Data of a cohort study of 564 consecutive diabetic patients. *J Diabetes Complications.* 2010 ;24:265-9.
4. Harris K, Walker PM, Mickle DA, Harding R, Gatley R, Wilson GJ, et al. Metabolic response of skeletal muscle to ischemia. *Am J Physiol.* 1986;250:213-20.
5. Moore RE 3rd, Friedman RJ. Current concepts in pathophysiology and diagnosis of compartment syndromes. *J Emerg Med.* 1989;7:657-62.
6. Currie IS, Wakelin SJ, Lee AJ, Chalmers RT. Plasma creatine kinase indicates major amputation or limb preservation in acute lower limb ischemia. *J Vasc Surg.* 2007;45:733-9.
7. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol.* 1988 Dec;255:1269-75.
8. Petrone WF, English DK, Wong K, McCord JM. Free radicals and inflammation: superoxide-dependent activation of a neutrophil chemotactic factor in plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1980;77:1159-63.
9. Cabrales P, Tsai AG, Intaglietta M. Perfluorocarbon in microcirculation during ischemia reperfusion. *J Am Coll Surg.* 2007;204:225-35.

10. Cohn CS, Cushing MM. Oxygen therapeutics: perfluorocarbons and blood substitute safety. *Crit Care Clin.* 2009;25:399-414
11. Riess JG. Understanding the fundamentals of perfluorocarbons and perfluorocarbon emulsions relevant to in vivo oxygen delivery. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol.* 2005;33:47-63.
12. Taylor LM, Porter JM. Natural history and nonoperative treatment of chronic lower extremity ischemia. Rutherford RB. *Vascular Surgery.* Vol I. Fourth edition. Philadelphia, Pennsylvania. 1995. Págs. 751-765.
13. Serrano FJ, Sánchez L. Isquemia crónica de los miembros inferiores. Tamames S, Martínez C. *Cirugía. Aparato digestivo, aparato circulatorio, aparato respiratorio.* Editorial Médica Panamericana. Madrid, España. 2000. Págs. 566-576.
14. Gu YQ, Zhang J, Yu Hx, Li JX, et al. Surgical treatment for 46 cases with severe diabetic lower extremity ischemia using distal bypass. *Chin J Pract Surg* 2003;23:487-89.
15. Gu YQ, Zhang J, Qu LX, Yu HX, et al. surgical treatment of 82 patients with diabetic lower limb ischemia by distal arterial bypass. *Chin Med J* 2007;120:106-109.
16. Buckley C, Bund SJ, McTaggart F, Bruckdorfer KR, Oldham A, Jacobs M. Oxidized low-density lipoproteins inhibit endothelium-dependent relaxations in isolated large and small rabbit coronary arteries. *J Auton Pharmacol.* 1996;16:261-7.
17. Snyder SH, Bredt DS. Biological roles of nitric oxide. *Sci Am.* 1992;266: 28-35.
18. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature.* 1988;333:664-6.
19. Lohinai Z, Balla I, Marczis J, Vass Z, Kovách AG. Evidence for the role of nitric oxide in the circulation of the dental pulp. *J Dent Res.* 1995;74:1501-6.

20. Lohinai Z, Székely AD, Soós L, Fehér E. Distribution of nitric oxide synthase containing elements in the feline submandibular gland. *Neurosci Lett.* 1995;192:9-12.
21. Lohinai Z, Székely AD, Benedek P, Csillag A. Nitric oxide synthase containing nerves in the cat and dog dental pulp and gingiva. *Neurosci Lett.* 1997;227:91-4.
22. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. *Anal Biochem.* 1982;126:131-8.
23. Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron.* 1992 Jan; 8:3-11.
24. Blum M, Yachnin T, Wollman Y, Chernihovsky T, Peer G, Grosskopf I, et al. Low nitric oxide production in patients with chronic renal failure. *Nephron.* 1998;79:265-8.
25. Prendergast MA, Terry AV Jr, Jackson WJ, Buccafusco JJ. Nitric oxide synthase inhibition impairs delayed recall in mature monkeys. *Pharmacol Biochem Behav.* 1997 ;56:81-7.
26. Moncada S, Higgs A, Furchgott R. International Union of Pharmacology Nomenclature in Nitric Oxide Research. *Pharmacol Rev.* 1997 ;49:137-42.
27. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med.* 1994 1;120:227-37.
28. Cuthbertson BH, Stott SA., NR Webster. Exhaled nitric oxide as a marker of lung injury in coronary artery bypass surgery. *Br. J. Anaesth.* 2002; 89: 247-250.
- 29.** Granero-Trancón JE, Rodríguez-García JI, Martínez-Rodríguez E. Effect of reperfusion ischemia on the mucosal malondialdehyde content and enterocyte morphology. Influence of superoxide dismutase. *Cir Esp.* 1998;64:444-7.

# ANEXOS

## CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

### SOMETIMIENTO DEL PROYECTO

Julio 2010	Agosto 2010	Sep2010 - Mayo2011	Mayo - Julio 2011	Julio 2011
REVISION	REVISION			
		RECLUTAMIENTO	RECLUTAMIENTO	ANALISIS
			ANALISIS	PRESENTACION

