

citotóxico capaz de dañar los tejidos debido a su condición de radical libre y a la posibilidad de reaccionar con otros radicales libres como el anión superóxido. En su metabolismo tiene como productos finales los nitritos y los nitratos. En vista de esta doble acción, hemos investigado el papel que juega el oxido nítrico en el daño por isquemia-reperusión en un modelo de autotrasplante de riñón en el perro que sufre diferentes grados de isquemia caliente.

Metodología: Hemos utilizado perros entre 15 y 25 Kg de peso. Hemos realizado autotrasplante de riñón izquierdo y nefrectomía derecha. Grupo I: Autotrasplante renal sin isquemia. Grupo II Autotrasplante renal tras 24 horas de isquemia fría. Grupo III: Autotrasplante renal tras 24 h. de isquemia fría mas 30 min. de isquemia caliente. Grupo IV: Autotrasplante renal tras 24 h. de isquemia fría mas 30 min. de isquemia caliente.

Se determinaron los niveles de nitritos y nitratos en plasma de arteria y vena renales, a los 30 y 60 min. de la reperusión.

Resultados: Encontramos que se produce un descenso significativo en los niveles de nitritos en los grupos que han sufrido algún tipo de daño isquémico. En cuanto a los nitratos, observamos que se produce un incremento significativo en el grupo de riñones más dañado por la isquemia (grupo IV), tanto a los 30 como a los 60 minutos de la reperusión.

Conclusiones: (a) Los nitritos son marcadores del daño producido por la cirugía. (b) Los nitratos expresan claramente el daño de los órganos que han sufrido isquemia-reperusión caliente, y esto probablemente se deba a la inducción por el sistema inmunitario general del organismo.

DESNUTRICIÓN PRENATAL Y DESARROLLO DEL METABOLISMO RESPIRATORIO EN LOS CUERPOS MAMILARES Y TÁLAMO ANTERIOR (77)

Durán HJ, González-Pardo H, Menéndez-Patterson A, Arias JL, Rodríguez G, Durán MC, Lorente L, Aller MA, Arias A
Departamento de Cirugía, Hospital Universitario San Carlos, UCM, Madrid. Laboratorio de Psicobiología y Área de Fisiología, Universidad de Oviedo

Objetivos: La actividad de citocromo oxidasa (COX) permite cuantificar la actividad respiratoria neuronal durante el desarrollo de dos estructuras del sistema límbico muy activas metabólicamente, como lo demuestra la incorporación de 2-desoxiglucosa: el tálamo anterior y los cuerpos mamilares. Asimismo, se estudian los efectos que ejerce la malnutrición calórico-proteica "in útero" y durante la lactancia sobre el metabolismo oxidativo en estas dos áreas del SNC en la rata.

Métodos: Mediante una técnica histoquímica se determina la actividad COX en ratas Wistar a los 14, 21 y 30 días de edad en el núcleo mamilar medial, en su *pars mediales* (NMM) y *pars lateralis* (NML), así como en los núcleos talámicos antero-ventral (AV) y antero-medial (AM).

Resultados: En los animales control la actividad COX aumenta significativamente a los 21 días de edad en todos los núcleos estudiados. La malnutrición produce una marcada disminución de la actividad COX a los 14, 21 y 30 días en todos los núcleos considerados, aunque en el núcleo disminuye a los 21 días de edad.

Conclusiones: El comportamiento similar respecto de su actividad metabólica respiratoria de ambos núcleos talámicos y mamilares demuestra su estrecha relación no sólo anatómica (tracto mamilotalámico), sino también funcional.

MODELO EXPERIMENTAL PARA EL ESTUDIO DE SOLUCIONES DE REPERFUSIÓN INTESTINAL (78)

García-Alonso I, Portugal P, Emparan C, Loureiro C, Méndez J
Laboratorio de Cirugía Experimental, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco

Se presentan dos modelos experimentales de reperusión intestinal: uno con una solución de reperusión acelular oxigenada, y otro, que permite reperfundir el intestino con sangre "ex vivo". La combinación de ambas técnicas permite realizar estudios de preservación y modulación farmacológica de los injertos, sin necesidad de recurrir al implante del intestino.

Metodología: Se utilizan ratas WAG hembras (225-250 g) singénicas. El intestino se extrae según la técnica habitual para obtener injertos intestinales descrita por Monchik. Así, se obtienen como pedículos vasculares la vena porta y un segmento aórtico que incluye la arteria mesentérica superior (AMS). La vena porta es canulada con un catéter 16G y la AMS con otro 20G. Se perfunde a través de ellos Ringer heparinizado a 4°C, para posteriormente ser sustituido por Collins heparinizado. Tras la extracción, los injertos se sumergen en un baño a 4°C (Collins) durante 6 horas. 1) *Modelo con reperusión acelular oxigenada (SRA)*. Para la reperusión de los injertos se prepara una solución de reperusión acelular, enriquecida en oxígeno, que previamente se ha demostrado que es capaz de reactivar el metabolismo celular. Los extremos vasculares son conectados a una bomba de perfusión, manteniendo flujos y presiones constantes. 2) *Reperusión sanguínea ex vivo*. Se utiliza una rata WAG de 250 g. Bajo anestesia con éter se realiza una exposición de la aorta infrarrenal y de la porta. Tras ser convenientemente heparinizada, se cateteriza la aorta, tras el clampaje de la AMS, y se conecta al extremo arterial del injerto intestinal (previamente calentado a 37°C). A continuación, se cateteriza distalmente la vena porta, conectándose a su vez al drenaje venoso del injerto, cerrándose el circuito vascular del injerto.

Resultados: La reperusión con SRA logra la activación del injerto, demostrada por el consumo de glucosa y la producción de CO₂. Como cabe esperar, la reperusión oxigenada se acompaña de un grado de lesión histológica mayor que el debido a la simple preservación hipotérmica. La utilización de una bomba peristáltica permite obtener una perfusión pulsátil, muy similar al riego arterial normal. La reperusión sanguínea "ex vivo" según la técnica descrita, permite irrigar el injerto durante periodos de 20 a 30 minutos, eludiendo la utilización de bombas y oxigenadores. Es una técnica bien tolerada por el "animal donante" y logra una revascularización no distinguible de la obtenida mediante el implante quirúrgico.

Conclusiones: Estas técnicas de reperusión consiguen una adecuada funcionalidad del injerto, permitiendo la toma de muestras anatomopatológicas y bioquímicas para la valoración de la eficacia de distintas medidas terapéuticas.

EVALUACIÓN DEL DAÑO DE REPERFUSIÓN EN INJERTOS INTESTINALES USANDO SISTEMAS DE PERFUSIÓN ACELULAR Y DE PERFUSIÓN SANGUÍNEA (79)

Emparan C, García-Alonso I, Portugal V, Méndez J
Laboratorio de Cirugía Experimental, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco

Introducción: El daño inducido por la isquemia-preservación de injertos intestinales es incrementado durante el periodo de reperusión. El daño de reperusión es mediado por la actividad de los productos de desecho acumulados durante el periodo de preservación que fomentan la actividad de los radicales libres de oxígeno durante el periodo de reperusión. Debido a que los

netrófilos y otros factores incluidos en la sangre (plaquetas, sistema del complemento, células del sistema inmune...) juegan un papel determinante en el daño de reperfusión sanguínea, tras un periodo de preservación hipotérmica en solución de Collins de 6 horas.

Metodología: Se emplearon 60 ratas WAG de 250 g de peso, divididas en dos grupos: a) grupo de perfusión normotérmica acelular oxigenada, con la solución Ringer- UVP: 10 animales se emplearon como control (sin isquemia-preservación) y otros 10 animales se reperfundieron tras 6 horas de preservación. B) Grupo de perfusión sanguínea "ex vivo", conectando mediante suturas microvasculares el injerto intestinal con la aorta y la cava de una rata anestesiada. Se dividieron en dos grupos similares, control (sin isquemia-preservación) y reperfusión tras 6 horas de preservación. En los dos grupos de animales se mantuvo la perfusión durante un periodo de 40 minutos, tras los que se tomó una muestra del íleon distal para su estudio histológico. Todas las muestras fueron evaluadas por un sistema de "doble ciego" aplicando el grado de lesión histológica publicado previamente por Chiu.

Resultados: Tanto la perfusión acelular como la sanguínea mostraron signos de leve daño histológico (edema submucoso, discreto engrosamiento de vasos en la lámina propia) en los grupos no sometidos a periodos de preservación. En el grupo de perfusión sanguínea tras 6 horas de preservación, se observó un fenómeno de "no-reflujo" en 4 animales, hemorragia importante por los estomas en otros 4 y un grado de lesión de cuatro en escala de Chiu. El grupo de perfusión acelular oxigenada, sin embargo, consiguió mantener la perfusión durante los 40 minutos, observándose un grado de lesión de 3.5.

Conclusiones: La reperfusión sanguínea de injertos intestinales tras periodos de preservación "prolongados" provoca un fallo primario del injerto en un 80% de los casos. Sin embargo, sí se reactiva el metabolismo del injerto con una solución que evite el aporte de determinados elementos que incrementan el daño de reperfusión; la lesión histológica es considerablemente menor.

DAÑO ISQUÉMICO CAUSADO POR EL PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN Y POSTERIOR PRESERVACIÓN DE INJERTOS INTESTINALES EN RATA (80)

Emparan C, García-Alonso I, Portugal V, Méndez J

Laboratorio de Cirugía Experimental, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco

Introducción: El daño causado por la técnica quirúrgica de extracción en la cirugía del trasplante de órganos es un hecho conocido. De todos ellos, el intestino delgado es un órgano especialmente susceptible al daño isquémico. La "isquemia por bajo flujo" puede dañar severamente al injerto intestinal antes de iniciarse el daño inducido por la preservación hipotérmica. Para poder realizar estudios de preservación y reperfusión de injertos intestinales es necesario conocer las circunstancias que influyen en la calidad del intestino sometido a preservación.

Metodología: Se han realizado 55 extracciones de intestino delgado usando la técnica microquirúrgica de Monchik y Russel en ratas WAG de 250 g de peso. En todos los procedimientos se recogieron los siguientes parámetros: tiempo empleado desde la inducción anestésica hasta la extracción del injerto, incidencias en la disección del pedículo aórtico y portal, estimación de las pérdidas sanguíneas del animal y estado macroscópico del injerto en el momento de ser extraído. Todas las extracciones fueron realizadas por el mismo cirujano y recibieron una puntuación antes de ser introducidos en el estudio. Los injertos fueron aleatoriamente incluidos en 10 grupos de 5 animales cada uno: control, preservación en solución de Collins durante 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 18 y 24 horas. En el momento de completar el periodo de preservación en solución de Collins se tomó una porción de íleon terminal para su estudio histológico. Las muestras fueron evaluadas por el sistema de doble ciego siguiendo el procedimiento de evaluación histológica Chiu.

Resultados: El tiempo empleado en la extracción del injerto (media: 50 minutos), la pérdida sanguínea (media: 4 microtorundas) y el aspecto microscópico del injerto en el momento de la extracción (normal/pequeños focos isquémicos/zonas de isquemia) influyeron decisivamente en el daño producido durante el periodo de preservación y fue multiplicado conforme aumentaban los periodos de preservación hipotérmica.

Conclusiones: En los estudios de isquemia y preservación en modelos de trasplante intestinal es fundamental realizar una técnica de extracción del injerto rápida y con pocas pérdidas hemáticas. El procedimiento clásico de extracción en la rata debería ser modificado para realizar estudios de preservación y reperfusión que no sean influidos por la técnica quirúrgica realizada en el donante.