

ANALES MEDICOS

Volumen **50**
Volume

Número **2**
Number

Abril-Junio **2005**
April-June

Artículo:

Efecto de la eritropoyetina en colgajo musculocutáneo. Modelo experimental

Derechos reservados, Copyright © 2005:
Asociación Médica del American British Cowdray Hospital, AC

Otras secciones de este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

Others sections in this web site:

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



medigraphic.com

Efecto de la eritropoyetina en colgajo musculocutáneo. Modelo experimental

Francisco Miguel Said Lemus,* Eduardo Gutiérrez Salgado**

RESUMEN

La eritropoyetina es utilizada para la corrección de la anemia postoperatoria o en los casos en los que se tiene calculada una pérdida hematopoyética considerable. También ha demostrado tener otros efectos favorables en las lesiones por isquemia. **Material y métodos:** Estudio experimental con treinta ratas Wistar, asignadas de forma aleatoria en tres grupos. En todas las ratas se levantó un colgajo musculocutáneo tipo TRAM extendido bilateralmente con su circulación inferior. El colgajo fue aislado del lecho con un segmento de plástico. En el grupo control se aplicó un placebo; en el grupo I se administró eritropoyetina en dosis de 50 UI/kg y en el grupo II 100 UI/kg, en el postoperatorio inmediato y cada tercer día durante 14 días. Al finalizar este lapso, se realizó la resección del colgajo, el cual fue calificado, fotografiado y enviado al Departamento de Patología para su estudio. Se realizó medición de hematocrito al inicio y al final, así como la calificación diaria del colgajo. **Resultados:** El grupo I sufrió menos isquemia a diferencia del grupo control y del grupo II ($p < 0.0001$). La supervivencia del colgajo en el grupo I fue del 80%, mientras que en el grupo II fue de 60%. No se encontró elevación significativa del hematocrito en ninguno de los tres grupos de estudio. **Conclusión:** El efecto de la eritropoyetina fue comprobado mediante el aumento de la supervivencia de las áreas extendidas de los colgajos, siendo ésta independiente a la dosis.

Palabras clave: Eritropoyetina, isquemia, colgajo musculocutáneo, TRAM.

INTRODUCCIÓN

La utilización de colgajos con circulación axial o aleatoria es actualmente una de las herramientas más importantes para el cirujano reconstructivo. El

ABSTRACT

Erythropoietin is used for the correction of post surgery anemia or when there is a considerable calculated hematopoietic loss. Other positive effects have been also demonstrated regarding ischemia injuries. The study was made with 30 Wistar rats assigned at random to three different groups. In all groups a TRAM type musculocutaneous flap extended bilaterally with its inferior circulation. The flap was isolated from the top section with a plastic piece. A placebo was applied to the control group; Group I application was erythropoietin 50 UI/Kg and in group II 100 UI/Kg, immediately after surgery and every 3 days during 14 days. After research ended, removal of the flap was made, graded, photographed and sent to the pathology department for testing. Measurement of hematocrit was taken at the beginning and at the end. Flap measurements were made every day. It was found that group I suffered less ischemia than control group and group II ($P < 0.0001$) increasing the life of the flap in group I by 80% and in group II with 60%. There was no significant increase in the hematocrit levels in any of the three study groups.

Key words: Erythropoietin, ischemia, musculocutaneous flap, TRAM.

tema de la anatomía vascular y los angiosomas han sido causa de múltiples estudios con la finalidad de asegurar la supervivencia de los colgajos, así como múltiples medios que ayuden a asegurar la perfusión tisular de los tejidos.^{1,2} Habitualmente los procedimientos en los cuales es necesario la utilización de los colgajos son procedimientos mayores en los que la pérdida sanguínea puede ser alta, llegando a ser necesarias las transfusiones sanguíneas homólogas o autólogas para mantener una adecuada perfusión tisular y asegurar la supervivencia del colgajo.³ La eritropoyetina humana recombinante es comúnmente utilizada por su actividad hematopoyética en pacientes nefróticos.⁴ En la actualidad

* Departamento de Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva. Hospital Central Sur de Alta Especialidad PEMEX.

** Facultad de Medicina. División de Estudios de Posgrado, Universidad Nacional Autónoma de México.

Recibido para publicación: 29/04/05. Aceptado para publicación: 21/06/05.

Correspondencia: Dr. Francisco Miguel Said Lemus
Pensilvania núm. 15, torre 4, depto. 302 Col. Nápoles, 03080 México D.F.
Tel: 55-43-87-44. E-mail: fmsaid@hotmail.com

es empleada para pacientes en los que se programa una cirugía con posibilidad de autotransfusión o para optimizar las transfusiones en el transoperatorio o posoperatorio inmediato.

El periodo de vida relativamente corto de las células sanguíneas maduras requiere su continuo reemplazo mediante un proceso denominado hematopoyesis. Además, la producción de nuevas células debe de responder tanto a las necesidades basales como a las de mayor demanda. La regulación de la hematopoyesis es compleja e incluye interacciones célula-célula dentro del microambiente de la médula ósea, y también factores de crecimiento hematopoyéticos y linfopoyéticos. Varias de las proteínas que intervienen en este proceso han sido identificadas y caracterizadas; sus genes han sido clonados mediante técnicas de ADN recombinante y se producen cantidades suficientes de ellas para ser utilizados como agentes terapéuticos.⁵ Se han publicado múltiples trabajos sobre los usos para la eritropoyetina, lo que ha dado como resultado nuevas líneas de tratamiento en diferentes especialidades.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio experimental, comparativo, prospectivo y transversal, realizado en el Bioterio del Hospital Central Sur de Alta Especialidad PEMEX, de mayo a octubre del 2003.

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

Las ratas fueron colocadas en tablas para el procedimiento (*Figura 1*). Se realizó el marcado del colgajo con una base superior e inferior de 3 cm y una altura de 2.5 cm (*Figura 2*). Se hizo asepsia y antisepsia del área y se realizó el levantamiento del colgajo musculocutáneo del recto anterior del abdomen, incluyendo los dos músculos rectos, los cuales fueron disecados y ligados de su inserción inferior con sutura de seda 4-0 (*Figuras 3 y 4*); entre el lecho y el colgajo, se colocó un segmento de plástico para aislarlo (*Figura 5*) y fue colocado éste en su mismo sitio suturado al lecho con sutura de prolene 5-0 (*Fi-*



Figura 1.



Figura 2.



Figura 3.



Figura 4.

gura 6). Todos los animales fueron colocados en jaulas previamente identificadas por grupos de trabajo para su reconocimiento. Las ratas fueron observadas durante el transcurso del estudio y valoradas. Al final del estudio se realizó nuevo hematocrito.

Los dos grupos experimentales fueron tratados con aplicación subcutánea de eritropoyetina humana recombinante, en el postoperatorio inmediato y cada tercer día durante un periodo de 14 días. A los animales del grupo control se les administró placebo 0.5 mL de solución inyectable.

A las ratas del grupo I se les administraron 50 UI/kg por vía subcutánea y a los animales del grupo II,

100 UI/kg también por vía subcutánea. Para la administración de las dosis se realizó una dilución de eritropoyetina humana recombinante (rHuEPO) (Bio-yetin, laboratorio PROBIOMED) con 4,000 UI por ampolla, en un mililitro de solución inyectable y ésta a su vez diluida en 99 mL de solución inyectable, para obtener una dilución de 40 UI por mililitro y en cada décima de mililitro 4 UI, con la finalidad de facilitar la administración del medicamento.

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

1) Coloración del colgajo, 2) necrosis del colgajo, 3) hemorragia del colgajo, 4) cicatrización, 5) infección, y 6) crecimiento de pelo en el colgajo.

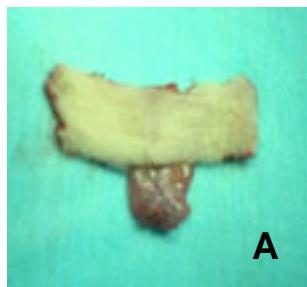
Segundo tiempo quirúrgico. El día 14 se tomó una nueva muestra para hematocrito antes del sacrificio de las ratas. Posteriormente fueron colocadas



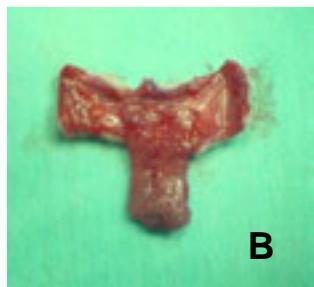
Figura 5.



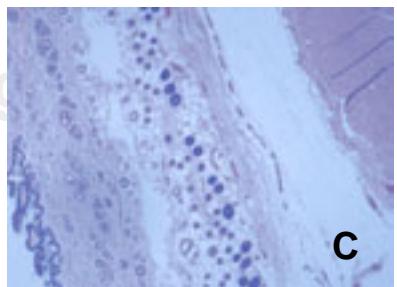
Figura 6.



A



B



C

Figura 7.

Grupo control.

A: Colgajo vista anterior.

B: Vista posterior.

C: Aspecto microscópico (Hematoxilina y eosina).

en tabla con protección en las cuatro extremidades; se realizó levantamiento del colgajo, cortando el borde superior del mismo; se midió el área de necrosis en mapa micrométrico, se fotografió y se colocó en formol para su estudio histológico. Las evaluaciones tomadas después del levantamiento definitivo del colgajo fueron: 1) Necrosis del colgajo, 2) infección, 3) cicatrización, 4) crecimiento del pelo y 5) formación de serosas.

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

Estadística. La supervivencia del colgajo fue analizada mediante el estudio de chi cuadrada. Los microhematócritos con T pareada y las variables no nominales con la prueba de Tukey. La supervivencia del colgajo y el porcentaje de retracción mediante prueba estadística de chi cuadrada.

RESULTADOS

El grupo I (al cual se le aplicó 50 UI/kg de eritropoyetina humana recombinante) presentó una supervivencia total de 80% con $p < 0.05$. En el grupo II, al cual se le administró una dosis de 100 UI/kg de eritropoyetina, se registró una supervivencia total del 60% con $p < 0.05$.

La evaluación diaria de los grupos de estudio mostró una diferencia estadística entre los grupos I y

II, ya que se presentaron mayor número de complicaciones posoperatorias en el grupo II ($p < 0.0001$) (*Cuadro I*).

El hematocrito en las ratas de los grupos I y II no mostró elevación estadísticamente significativa entre grupos ni al compararlos frente al grupo control ($p > 0.05$).

El *cuadro II* muestra los hallazgos de la observación microscópica de las laminillas de los diferentes cortes realizados. Los más comunes fueron: Estado de las fibras musculares, presencia de úlcera por isquemia, necrosis, fibrosis cicatrizal, proliferación vascular, inflamación y la presencia de abscesos. No se encontró diferencia en la proliferación vascular entre los diferentes grupos de estudio.

La necrosis isquémica fue, en promedio, de 4.8 mm^2 en nueve de 10 casos, con 41.2 mm^2 de retracción en el grupo control. En el grupo I, la necrosis fue de 3 mm^2 en dos casos y la retracción de 40.2 mm^2 . Finalmente, la necrosis fue de 3.6 mm^2 en siete casos y la retracción de 42.3 mm^2 en el grupo II.

Cuadro I. Complicaciones posoperatorias.

Complicación	Grupo		
	Control	I	II
Necrosis	10	2	7
Infección	0	2	4
Hemorragia	0	2	2

Cuadro II. Hallazgos en el estudio de microscopia.

Hallazgo	Grupo		
	Control	I	II
Fibras musculares	3	9	2
Úlcera	10	0	5
Necrosis isquémica	10	2	7
Necrosis cicatrizal	10	8	5
Proliferación vascular	3	8	4
Inflamación	0	1	5
Abscesos	4	1	5

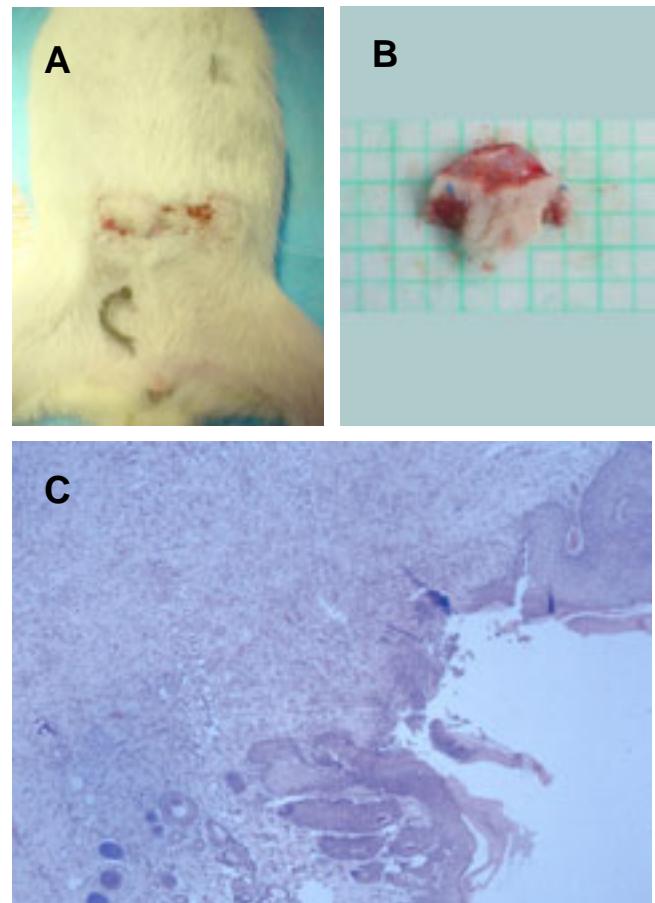


Figura 8. Grupo control. **A:** Área de necrosis. **B:** Colgajo levantado. **C:** Imagen de microscopio con úlcera isquémica.

Las *figuras 9 y 10* muestran el aspecto macro y microscópico de los colgajos del grupo control, así como de los grupo I y II, respectivamente.

DISCUSIÓN

Los conceptos acerca del crecimiento y diferenciación de las células hematopoyéticas se iniciaron en la década de 1950 con los trabajos de Jacobsen,⁶ Osgood.⁷ Estos investigadores demostraron el papel que desempeñan las células del bazo y de la médula ósea en el establecimiento de tejido hematopoyético en animales irradiados. En 1961, Till y McCulloch demostraron que las células hematopoyéticas individuales podían formar nódulos hematopoyéticos microscópicos en los bazos de ratones irradiados. Sus estudios llevaron hacia el concepto de células tron-

cales formadoras de colonias. Posteriormente, se comprobó que las células troncales presentes en la médula ósea son pluripotenciales.⁸

El papel de los factores de crecimiento en la hematopoyesis no fue aclarado sino hasta el desarrollo de las técnicas del cultivo de la médula ósea efectuado por Bradley, Metcalf y otros.⁹

La existencia de un factor de crecimiento circulante que controla la eritropoyesis fue sugerida por los experimentos realizados por Paul Carnot en 1906, quien observó un aumento del recuento de eritrocitos en conejos inyectados con suero obtenido de animales anémicos y postuló la existencia de un factor que denominó hematopoyetina.¹⁰ Sin embargo, en la década de 1950, Reismann, Erslev, Jacobsen y colaboradores definieron el origen y las acciones de la hormona denominada actualmente eritropoyetina.¹¹

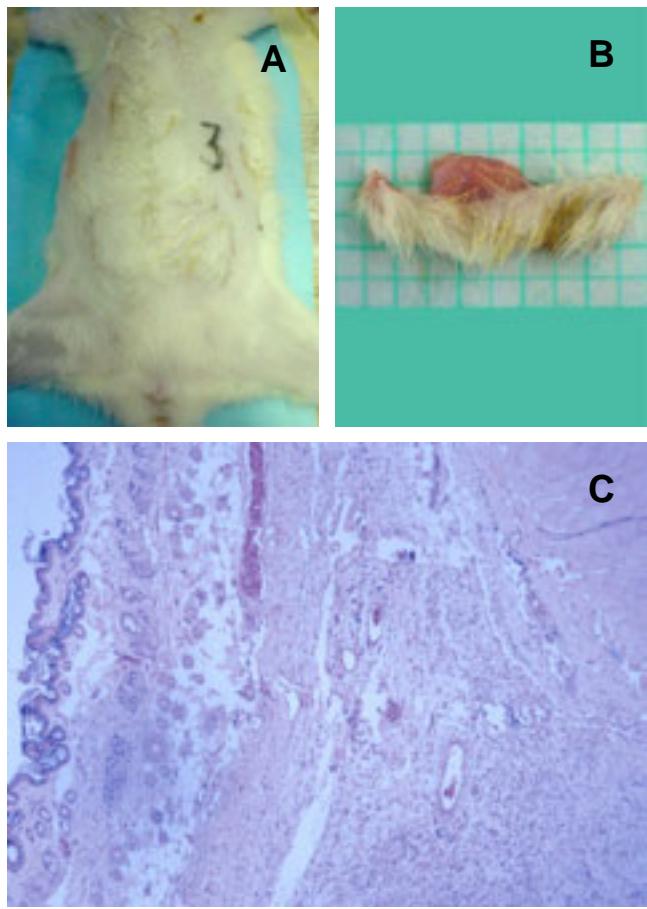


Figura 9. Grupo I. A: Cicatrización completa. B: Colgajo sin áreas de necrosis, sin cambios patológicos al microscopio (C).

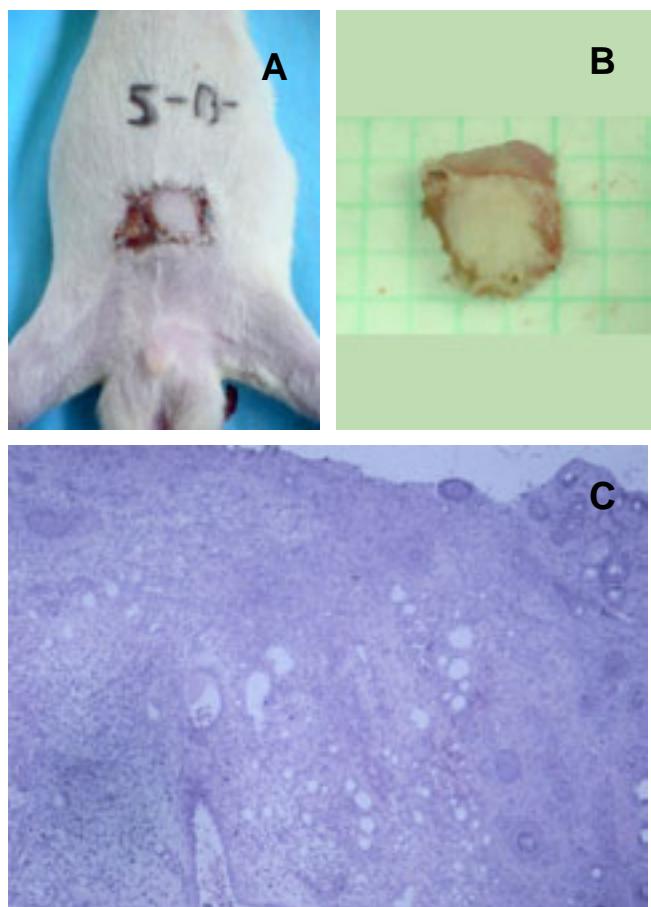


Figura 10. Grupo II. A y B: Área de necrosis en cuadrante inferior izquierdo. C: Microfotografía con área de úlcera y cambios inflamatorios agudos y crónicos.

La eritropoyetina es producida principalmente por las células peritubulares de los túbulos proximales del riñón, aunque una pequeña parte es sintetizada en el hígado.¹² El producto primario es una proteína de 193 aminoácidos, de los cuales los primeros 27 son clivados durante la secreción; la proteína madura final está intensamente glucosilada y su peso molecular es de 34,000 daltons. La glucosilación es importante para prolongar el periodo de vida de la eritropoyetina en la circulación, pero no para ejercer su actividad biológica. Con anemia o hipoxemia, la síntesis y secreción renal aumentan rápidamente hasta 100 veces o más. Esta ola de hormona actúa sobre las células progenitoras tempranas (BFU-E) y tardías (CFU-E) estimulando un reclutamiento notable de precursores en una serie programada de divisiones

celulares que llevan a su maduración final. Al mismo tiempo la retroalimentación puede ser interrumpida en cualquier punto, por enfermedad renal, daño estructural de la médula o deficiencia de hierro.

Para lograr una adecuada respuesta, si se administra de forma exógena, se recomienda en dosis de 50 a 100 UI por kilogramo de peso tres veces por semana. Con una vida media plasmática de 10 horas, luego de cinco a 24 horas se producen las mayores concentraciones plasmáticas.¹³

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

El colgajo musculocutáneo de recto abdominal (TRAM) ha sido ampliamente estudiado, tanto clínica como experimentalmente. Se conoce una relativa alta incidencia de complicaciones que se refleja principalmente en necrosis grasa y cutánea, por lo que se han desarrollado múltiples líneas de estudio con el propósito de incrementar el área útil del colgajo.¹⁹ El colgajo musculocutáneo de recto abdominal se utiliza universalmente como la primera opción de la reconstrucción mamaria con tejidos autólogos. Roobins fue el primero en reportar el uso vertical del colgajo de recto anterior del abdomen con piel en la reconstrucción mamaria en 1979.²⁰ Hartrampf y colaboradores introdujeron el concepto del colgajo musculocutáneo de recto abdominal en 1982. La isla de piel se orienta de forma transversal en relación al abdomen para cubrir el defecto mamario, dejando una doble cicatriz, con una reconstrucción abdominal tipo abdominoplastia.²¹ Scheflan y Dinner describieron la anatomía

vascular del colgajo musculocutáneo de recto abdominal, definiendo que la circulación del músculo recto y de la región infraumbilical está irrigada por la arteria epigástrica inferior; la piel suprayacente a este músculo, cercana a la cicatriz umbilical zonas I y II, es irrigada por arterias perforantes musculocutáneas de la arteria epigástrica inferior profunda y superficial. Las zonas III y IV son irrigadas por comunicaciones entre las arterias epigástrica inferior superficial y la circunfleja iliaca superficial.^{22,23}

Moon y Taylor estudiaron la anatomía de la arteria epigástrica superior profunda y de la epigástrica inferior profunda, así como su relación con los colgajos musculocutáneos de recto abdominal; con base en esto, describieron tres formas de conexión entre estas dos arterias.²⁴

Mathes y Nahai clasificaron el músculo recto anterior del abdomen como tipo III por tener dos vasos dominantes.²⁵

En el presente estudio se demostró que la eritropoyetina mejoró la supervivencia de las áreas de circulación aleatoria en un 80%, grupo I zonas II extendidas. Se registraron menos complicaciones en los casos de colgajos en los cuales se administraron 50 UI/kg de eritropoyetina humana recombinante en comparación con los del grupo II a los cuales se aplicó una dosis mayor (100 UI/kg). Por esta razón, se determinó que el efecto es independiente de la dosis y no directamente proporcional, ya que en las ratas a las que se les administró una dosis mayor no se presentó un mayor efecto protector.

CONCLUSIONES

En modelos experimentales, la eritropoyetina humana recombinante ha mostrado ser útil como: a) cito-protector del endotelio vascular, b) antioxidante, c) en la reducción de la apoptosis celular mediante la inhibición de moléculas como la proteincinasa y las cisteinproteasas conocidas como caspasas (en específico la 8, 1 y 3), modulando la despolarización de la membrana mitocondrial, d) protección celular a nivel cardíaco, cerebral y pulmonar mediante la reducción de los niveles de óxido nítrico y e) hormona eficaz en la protección de los colgajos con circulación aleatoria. En el presente estudio, el efecto de la eritropoyetina fue comprobado mediante el aumento

de la supervivencia de las áreas extendidas de los colgajos, siendo ésta independiente a la dosis. Se comprobó que con la dosis de 50 UI/kg se obtuvo una supervivencia del 80%, mientras que con la dosis de 100 UI/kg, sólo se logró una supervivencia final del 60%, reduciendo el área efectiva útil del colgajo. Estos resultados pueden deberse a diferentes causas y no a un aumento de la viscosidad sanguínea. Por esta razón, es necesario realizar nuevos estudios para determinar cuál es la dosis óptima y conseguir el máximo beneficio. También deberán efectuarse estudios de fase clínica en los que se pueda emplear a la eritropoyetina, la cual parece ser una nueva opción en la cirugía plástica para la prefabricación de colgajos o aumentar su tamaño en aquéllos con circulación aleatoria al maximizar su utilidad y supervivencia.

BIBLIOGRAFÍA

1. McCarthy J. *Plastic surgery, general principles*. USA: Lipckot, 1990; 275-328.
2. McCarthy J. *Plastic surgery. Territorios vasculares (angiosomas)*. USA: Lipckot, 1990; 329-378.
3. Von Doersten P, Cruz RM, Selby JV, Hilsinger RL. Transfusion, recurrence and infection in head and neck cancer surgery. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1992; 106: 60-67.
4. Eschbach JW, Kelly MR, Haley NR et al. Treatment of the anemia of progressive renal failure with recombinant human erythropoietin. *N Engl J Med* 1989; 321: 158-163.
5. Hillman RS. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 8a ed. USA: MacGraw-Hill, 1991; 123.
6. Jacobsen LO, Goldwasser E, Freed W et al. Role of the kidney in erythropoiesis. *Nature* 1957; 179: 633-634.
7. Osgood E. A unifying concept of the etiology of the leukaemias, lymphomas and cancers. *J Natl Cancer Inst* 1957; 18: 155-166.
8. Wu A, Till J, McCulloch E. A cytological study of the capacity for differentiation of normal haemopoietic colony forming cells. *J Cell Physiol* 1967; 69: 177-184.
9. Bradley T, Metcalf D. The growth of mouse bone marrow cells *in vitro*. *Aust J Exp Biol Med Sci* 1966; 44: 287-300.
10. Carnot P, Deflandre C. Sur l'activité hémopoïétique du sérum au cours de la régénération du sang. *CR Acad Sci* 1906; 143: 384-386.
11. Reissmann K. Studies on the mechanism of erythropoietic stimulation in parabiotic rats during hypoxia. *Blodd* 1950; 5: 372-380.
12. Powell J, Berkner K, Lebo R, Adamson J. Human erythropoietin gene: High level expression in stably transfected mammalian cells and chromosome localization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 6465-6469.
13. Hillman RS. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 8a ed. USA: MacGraw-Hill, 1991; 1240.
14. Hillman RS. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 8a ed. USA: MacGraw-Hill, 1991; 1240-1269.
15. Chong Z, Kang J, Maiese K. Erythropoietin is a novel vascular protectant through activation of Akt1 and mitochondrial activation of cysteine proteases. *J Am Heart* 2002; 106 (23): 2973-2979.
16. Parsa CJ, Matsumoto A, Kim J et al. A novel protective effect of erythropoietin in the infarcted heart. *J Cl Invest* 2003; 112 (7): 999-1007.
17. Bany M, Fayed M, Slivka et al. Recombinant human erythropoietin: Possible role as an antioxidant in premature rabbits. *Int Ped Res Found* 1996; 40 (3): 381-387.
18. Calapai G, Marciano M, Corica F et al. Erythropoietin protects against brain ischemic injury by inhibition of nitric oxide formation. *Eur J Pharmacol* 2000; 401: 381-387.
19. Özgentas H, Shenaq S, Spira M. Study of the delay phenomenon in the rat TRAM flap model. *Plas Reconstr Surg* 1993; 94 (7): 1018-1024.
20. Robbins TH. Rectus abdominis myocutaneous flap for breast reconstruction. *Aust NZ J Surg* 1979; 49: 527-530.
21. Hartrampf CR, Scheflan M, Black PW. Breast reconstruction with a transverse abdominal island flap. *Plast Reconstr Surg* 1982; 69: 216-224.
22. Scheflan M, Dinner M. The transverse abdominal island flap part I Indications, contraindications, results and complications. *Ann Plast Surg* 1983; 10: 24-35.
23. Hamdy H, El-Mrakby, Milner R. The vascular anatomy of the lower anterior abdominal wall: A microdissection study on the deep inferior epigastric vessels and the perforator branches. *Plas Reconstr Surg* 2002; 109: 539-543.
24. Moon HK, Taylor GI. The vascular anatomy of rectus abdominis musculocutaneous flaps based on the deep superior epigastric system. *Plast Reconstr Surg* 1988; 82: 815-829.
25. McCarthy JJ. Plastic surgery. In: *Principles and physiology of skin flap surgery*. USA: Lipckot, 1990; 282-284.