

# TRABAJO PILOTO EN CONEJOS INDUCIENDO EL SÍNDROME ISQUEMIA/REPERFUSIÓN PARA EL ENSAYO DE DOS PROTOCOLOS TERAPEÚTICOS

## PILOT WORK ON RABBITS INDUCING ISCHEMIA/ REPERFUSION TO TEST TWO THERAPEUTIC PROTOCOLS

José Ramón Martínez Aranzales <sup>1</sup>  
Piedad Cristina Rivas López <sup>2</sup>

### RESUMEN

Con el fin de establecer parámetros comparativos sobre el efecto de dos alternativas terapéuticas para el tratamiento del síndrome isquemia y reperfusión en medicina veterinaria, 30 conejos de la raza Nueva Zelanda, de aproximadamente 300 g. de peso, fueron sometidos a isquemia mediante clampeo de dos segmentos del intestino delgado (yeyuno), uno comprometiendo el riego venoso y otro con compromiso arterio-venoso. Después de una hora de isquemia, se aplicaron los tratamientos en prueba, ozono y glucosa+insulina+potasio (GIP), dejando un grupo control sin tratar, para luego permitir el reestablecimiento del flujo sanguíneo dos horas después de la isquemia. Se tomaron muestras de los segmentos intestinales de cada grupo antes de la isquemia, y después de una y dos horas del periodo isquémico y una hora del periodo de reperfusión. Para valorar lesiones post-reperfusión a las 12 horas, se practicó eutanasia a todos los animales y se tomaron muestras del intestino manipulado. Se empleó un análisis estadístico descriptivo y una prueba basada en rachas (Wald-Wolfowitz)

debido a que la variable respuesta no es continua. Se encontró daño epitelial e inflamación transmural en los intestinos muestreados de mayor intensidad en aquellas en las que el tiempo de isquemia aumentó y mayor en las que no tuvieron tratamiento, encontrándose diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).

Palabras clave: isquemia, reperfusión, conejos, ozono, GIP.

### SUMMARY

In order to establish comparative parameters of the effect of two alternative therapies for the treatment of the ischemia and reperfusion syndrome in veterinary medicine, 30 New Zealand rabbits were subjected to ischemia by clamping of two segments of the small intestine, one affecting the venous irrigation and the other one with arterial-venous compromise. After one hour of ischemia two treatments were tested, ozone and glucose + insulin + potassium (GIP), the control group was not treated. The reestablishment of the circulatory flow was permitted two hours after the ischemia. Samples of the intestinal segments were taken before and one and two hours after the ischemia and one hour after the reperfusion period. To evaluate injuries at 12h post – reperfusion, euthanasia of all animals was practiced and samples of the manipulated intestine taken. A descriptive statistic

<sup>1</sup> M.V.Z., M.Sc., Universidad del Tolima.  
jrramonmartinez@yahoo.com

<sup>2</sup> M.V., M.Sc., Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A CI 222 No. 55-37, Bogotá D.C.  
privas@udca.edu.co

analysis and a test based on aleatory (Wald – Wolfowitz) was used, since the variable response is not continuous. Epithelial damage and transmural inflammation of the intestine sampled was found, with higher intensity of those samples with longer ischemia time and higher in those with no treatment, showing significant differences ( $p \leq 0.05$ ).

Key words: ischemia, reperfusion, rabbits, ozone, GIP.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente en medicina, el síndrome de isquemia/reperusión (I/R) es considerado como el fenómeno responsable de la disfunción orgánica que se observa en pacientes que han recibido lesiones mayores (Moore *et al.* 1995). La falla multiorgánica (síndrome de disfunción orgánica múltiple, (S.D.O.M.), es la principal causa de muerte de los pacientes críticos; por eso, se hace necesario la investigación de nuevos protocolos terapéuticos bajo la óptica de limitar el tiempo isquémico, preservar las reservas de ATP y mantener la integridad estructural (Raffan & Klin, 2000).

En medicina veterinaria, las investigaciones en I/R han sido concentradas en el campo de la gastroenterología equina, donde los disturbios acompañados de isquemia poseen gran importancia debido a su elevada ocurrencia, aunque todos los pacientes animales son susceptibles a presentarla (Tello & Torres, 2001). En este sentido, las lesiones de reperusión tiene una gran importancia, principalmente en las afecciones intestinales estrangulantes y tromboembólicas, así como también en otras situaciones clínicas como el shock hipovolémico, torsiones gástricas y uterinas, trombosis vascular, infecciones miocárdicas, lesiones musculares y, en procedimientos quirúrgicos, de menor y alto nivel, como en el transplante de órganos, injertos de piel y torniquetes (Vatistas *et al.* 1996).

Dada la complejidad del evento clínico; existen actualmente esfuerzos para clarificar y dilucidar detalles relacionados con la fisiopatología y, por ende, sobre aspectos terapéuticos tanto en medicina como en medicina veterinaria (Vinay *et al.* 2004).

El estudio de estas lesiones en conejos, como biomodelos es importante pues los resultados obtenidos pueden

servir para posteriores estudios en equinos, de manera que aporten al manejo terapéutico del síndrome; pues a pesar de los recientes avances en el tratamiento y en la clínica quirúrgica, la mortalidad en equinos que presentan el síndrome no ha sido controlada, sin encontrarse disponible, hasta el momento, una terapia eficiente para el tratamiento de la lesión de reperusión en la rutina clínica del abdomen agudo en equinos (Dabareiner *et al.* 1998).

El presente trabajo pretendió evaluar la eficacia de dos protocolos terapéuticos en la prevención y la disminución de lesiones por isquemia y reperusión en segmentos intestinales de conejos a través de escalas de gravedad y descripciones histomorfológicas de las alteraciones, en modelos experimentales venosos y arteriovenosos, buscando ofrecer alternativas en el manejo del síndrome en equinos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 30 conejos, de la raza Nueva Zelanda, aproximadamente de 300g de peso, distribuidos en tres grupos de 10 conejos cada uno: Grupo 1: tratados con ozono, vía endovenosa, mezcla de ozono, diluido en 30mL. de solución salina isotónica (NaCl 0.9%) (Alves, 2004); grupo 2: tratados con una mezcla de insulina (10UI), potasio (3,6mL de KOH) y glucosa (30mL de dextrosa) (GIP) (Angelos *et al.* 2002) y grupo 3: no tratados o grupo control. Los animales fueron sometidos a sedación con acepromacina (0,5mg/kg) y xilacine (1mg/kg), como preanestésico y anestesia general con ketamina (2,2-2,4mg/kg I.V.). Luego, se procedió al acto quirúrgico para la obtención de isquemia mediante clampeo de tres segmentos del intestino delgado (ye-yuno); uno comprometiendo el riego venoso, otro con compromiso arterio-venoso y un tercero, tomado como segmento control.

Después de una hora de isquemia, se tomaron muestras de intestino cerca al lugar en donde la isquemia había interrumpido el flujo arterio-venoso y otra más cerca al lugar en donde sólo se había interrumpido el flujo venoso. La isquemia, se mantuvo por una hora más, luego de lo cual se procedió a tomar dos muestras más ubicadas en sitios cercanos de las primeras. Faltando cinco minutos para cumplir la última hora de isquemia, se administraron los tratamientos en prueba (ozono y

GIP). Luego de esto, se procedió a eliminar el clampeo y, después, se tomaron dos muestras ubicadas de igual forma que las anteriores. Todas las muestras fueron marcadas y conservadas en formol tamponado al 10% por 48 horas para someterlas a su posterior imbibición en bloques de parafina y la posterior obtención de láminas coloreadas con Hematoxilina y Eosina. Finalizados los tiempos seleccionados a evaluar y tomadas las muestras, se realizó la síntesis de la cavidad abdominal y posterior recuperación anestésica. Doce horas después de finalizada la intervención quirúrgica, los animales fueron sacrificados mediante la técnica de dislocación atlanto-occipital y sometidos a necropsia, en la cual se procedió a tomar dos muestras finales de intestino en zonas similares a las contempladas durante la cirugía, este protocolo se basó en el realizado por Faleiros (1997), en equinos.

**Evaluación microscópica:** Las láminas se evaluaron histomorfológicamente, describiendo las lesiones según los grados de extensión y de gravedad, según la escala descrita por Stallion *et al.* (2005). Los datos obtenidos en esta evaluación fueron consignados en una tabla diseñada para tal fin y sometidos a un análisis descriptivo con relación a la frecuencia de las lesiones dentro los grados de gravedad establecidos para cada grupo experimental. Análisis no paramétricos de comparación de efecto de tratamiento sobre la gravedad de las lesiones, a través de una prueba basada en rachas (Wald-Wolfowitz) (debido a que la variable respuesta no es continua), para ello se utilizó un paquete estadístico computarizado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al provocar la interrupción del flujo vascular intestinal, se pudo observar que todos los grupos estudiados mostraron cambios drásticos en los tejidos intestinales ( $p \geq 0.05$ ), acompañados siempre de reacción inflamatoria de variable intensidad (figura 1); estos cambios demuestran la severidad de las lesiones ocasionadas tanto por la interrupción del flujo sanguíneo como por la liberación de factores injuriantes durante la reperfusión, ya que como otros autores lo reportan, la falta de oxígeno es más severa en la mucosa intestinal y el signo temprano de la injuria isquémica es la descamación de la línea epitelial (Chiu *et al.* 1970; Haglund & Bergquist, 1999).

Al estudiar las lesiones intestinales de los animales ubicados en los diferentes grupos experimentales, se notó que durante la isquemia arteriovenosa y venosa de duración una hora, así como durante la isquemia arteriovenosa y venosa de duración dos horas, las lesiones no presentaron diferencias significativas entre los grupos ( $p \leq 0.05$ ), lo cual es de esperar, pues los protocolos terapéuticos sólo fueron administrados luego de las dos horas de isquemia y, por lo tanto, no tendría que presentarse diferencia alguna entre las unidades experimentales (figura 2), pues cuando se provoca la hipoperfusión que conlleva a la injuria isquémica sobre los enterocitos y sus estructuras de sostén, lo que resulta es daño de

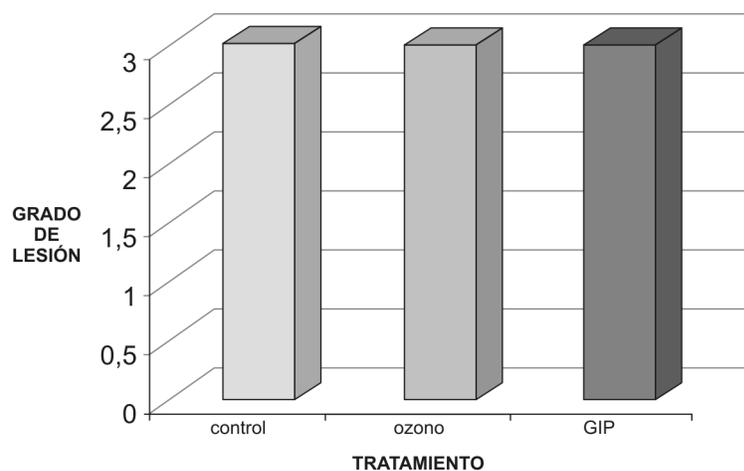


Figura 1. Grado de lesión en el intestino de conejos sometidos a isquemia durante una hora.

la mucosa y de las células epiteliales, acompañado de pérdida de las microvellosidades intestinales, así como de su función absortiva; además, ocurre apoptosis en estas células permitiendo la pérdida de la integridad de la membrana basal y, por tanto, pérdida de la función de defensa del intestino, lo cual podría permitir proliferación bacteriana y producción local de citocinas (Grotz *et al.* 1995; Ohri, 1996; Deitch & Goodman, 1999). El

daño intestinal varía dependiendo de la severidad de la injuria isquémica en la mucosa; así, la interrupción de la protección del epitelio, es un portal potencial para la entrada de bacterias y sus productos en la circulación sistémica. Esta pérdida de la integridad de las células epiteliales puede muy bien ser la promotora del proceso de inflamación sistémica (Stallion *et al.* 2004).

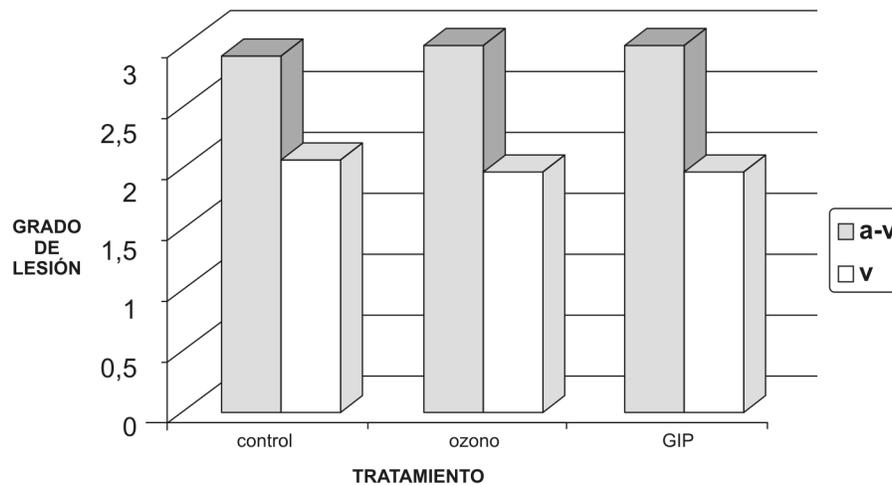


Figura 2. Comparación entre las lesiones ocasionadas por períodos isquémicos arteriovenosos (a-v) y venosos (v), en conejos durante una hora.

Durante la reperfusión arteriovenosa y venosa (post-tratamiento), las lesiones ocurridas tanto en las muestras tomadas cerca de la isquemia arteriovenosa como las cercanas a la isquemia venosa, fueron muy similares a las observadas en las anteriores muestras, luego de aplicado el tratamiento en todos los grupos a estudiar (figura 3).

Durante la reperfusión ocurre la producción de especies reactivas al oxígeno, las cuales causan fuertes daños en la mucosa y en las vellosidades (Yasim, 1996). Es por esto que en todos los animales incluidos en este estudio al realizar las necropsias, se observaron cambios inflamatorios que, según el tratamiento utilizado, variaron en intensidad ( $p \leq 0,05$ ).

Este daño resulta en una injuria tanto macroscópica como microscópica que podría estar relacionada directamente con la supervivencia. Como se esperaba, en este trabajo, cuando el suplemento vascular del intestino se interrumpió, se indujo un alto grado de injuria intestinal.

Además, la evaluación histológica mostró que luego de la isquemia, en todos los casos, se presentó la inflamación y áreas visibles de daño epitelial, tal y como lo reportan Stallion *et al.* (2005).

Las lesiones encontradas después de la reperfusión en todos los animales de los diferentes grupos experimentales tanto en las muestras tomadas durante la cirugía como durante la necropsia, doce horas después, evidenciaron inflamación acompañada de zonas necróticas, y al estudiar las muestras tomadas durante la necropsia a los animales del grupo control, se observó mayor severidad de las lesiones; estas lesiones se originaron, debido a que con la reperfusión del intestino isquémico, los productos del prolongado metabolismo anaeróbico se liberan, contribuyendo posiblemente a la subsecuente inflamación local y sistémica que es proporcional al grado de isquemia. Estos resultados en la hipoperfusión intestinal continua, incrementa el daño local y amplifica la inflamación sistémica (Stallion *et al.* 2004).

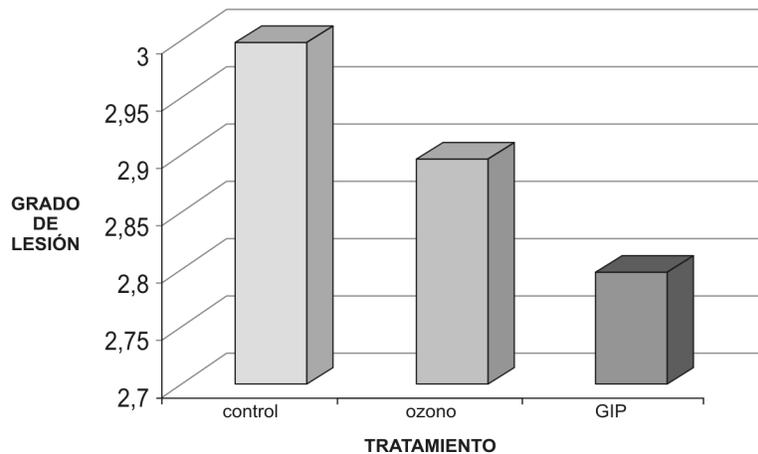


Figura 3. Grado de lesión ocurrida en el intestino de conejos, tratados con dos alternativas terapéuticas, durante el período de reperfusión.

Si el flujo sanguíneo y de oxígeno retorna a los tejidos antes de la muerte celular ocurren severos eventos bioquímicos inmediatamente durante la reperfusión. La injuria resultante es llamada injuria de reperfusión y puede ser iniciada por severos mecanismos que crean una respuesta inflamatoria. Así la injuria por reperfusión, se observa más comúnmente después de isquemia parcial o total (Stallion *et al.* 2002; Park *et al.* 1990), como se observó en este estudio, en donde las lesiones post-reperfusión en el grupo control, mostraron mayor severidad que aquellas de los grupos tratados (figura 4).

Muchos estudios han documentado injurias significativas después de la reperfusión del intestino delgado en caballos y otros animales (Gianotti *et al.* 1994; Park *et al.* 1990; Jarrar *et al.* 1999). Sin embargo, algunos estudios no han demostrado fuerte deterioro de la función celular después de la reperfusión del colon en los equinos (Reeves *et al.* 1990), pero, por lo menos en las condiciones de este estudio, las lesiones después de la reperfusión fueron significativamente más severas que las observadas durante la isquemia, al parecer por los eventos bioquímicos involucrados, que se han reportado con anterioridad (Stallion *et al.* 2002).

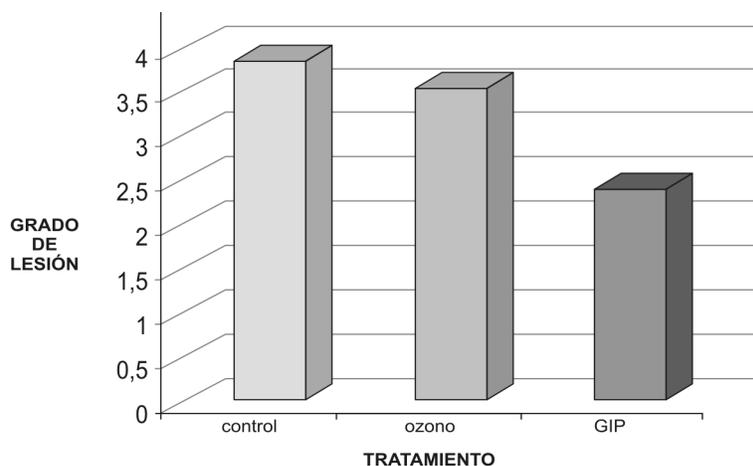


Figura 4. Grado de lesión encontrada en el intestino de conejos tratados con dos protocolos y un control, luego de doce horas.

Investigaciones acerca de la patogenia y respuesta al tratamiento para la injuria por reperfusión sugieren que la intervención terapéutica puede ser benéfica (Abbas *et al.* 2000). En este trabajo se encontró que las muestras obtenidas de animales tratados con GIP, luego de doce horas de transcurrida la reperfusión, mostraron una reducción significativa en las lesiones del tejido intestinal al compararlas con los cortes de intestinos tomados de animales tratados con ozono o no tratados. La reparación del epitelio intestinal comienza muy pronto, luego de ocurrida la injuria, por la vía de la restitución, un proceso que depende de la migración de las células epiteliales del intestino, que rodean el área denudada, de manera que pueden cubrirla y así repararla. Una injuria profunda puede repararse por medio de la proliferación de células epiteliales de las criptas, la cual antecede a la migración de éstas hacia la zona denudada. Este proceso está mediado por una compleja interacción entre hormonas, factores de crecimiento y citocinas (Fukai *et al.* 2005). En este proceso interviene el factor de crecimiento epidermal, unido a la heparina (HB-EGF), que es una glicoproteína miembro de la familia EGF que fue aislada inicialmente de un cultivo de macrófagos humanos y ha demostrado ser un potente agente citoprotector (De Maio *et al.* 1998). Igual que los otros miembros de esta familia, este factor actúa uniéndose al receptor de membrana de su célula blanco. El HB-EGF, al igual que el EGF, induce la proliferación y la migración celular, además es mitogénico en las células musculares, fibroblastos y en las células epiteliales (De Maio *et al.* 1998; Trentzsch *et al.* 2003). Estas propiedades se demostraron por medio de estudios *in Vitro*, en los que pudo observarse la acción protectora sobre las células epiteliales expuestas a la hipoxia (Trentzsch *et al.* 2003).

Además, se ha demostrado que HB-EGF disminuye la producción de niveles nocivos de óxido nítrico (NO) y de la óxido nítrico sintasa, en su forma inducible (iNOS), en las células epiteliales del intestino expuestas a las citocinas proinflamatorias (Shenkar & Abraham, 1993). El HB-EGF también disminuye la producción del dañino peroxinitrito (ONOO-) después del síndrome I/R *in vivo*. Estas acciones juntas sugieren que el tratamiento con GIP podría acelerar la aparición del HB-EGF, el cual podría estar ayudando a recuperar los daños ocasionados por I/R (Balk, 2000).

Estos hallazgos indican si la lesión intestinal, a causa de la injuria progresiva permanece, existencia de lesiones

severas que podrían comprometer la vida del paciente. Pero nuestros conocimientos son limitados en cuanto al papel directo o indirecto de la injuria intestinal en la iniciación de la inflamación sistémica, así como en cuanto a la identificación de aquellas citocinas involucradas en la cascada sistémica responsable de la falla multisistémica y de la muerte que plantean Stallion *et al.* (2005); además, nos falta por comprobar a cabalidad la efectividad de los tratamientos recomendados, pues los animales tratados con ozono, aunque mostraron leve disminución de las lesiones intestinales, no mostraron diferencias significativas al compararlos con los del grupo control. De igual forma, falta por saber si estos tratamientos pueden tener efectos colaterales indeseados en otros órganos como hígado, corazón, pulmón o riñón, pues éstos se ven seriamente involucrados en los proceso de reperfusión post-isquémica y podrían afectarse como resultado de la terapéutica.

## CONCLUSIONES

La falta de oxígeno es más severa en la mucosa y el signo temprano de la injuria isquémica es la descamación de la línea epitelial. Cuando el suplemento vascular del intestino se interrumpió, se indujo un alto grado de injuria intestinal. Además, la evaluación histológica mostró que luego de la isquemia, en todos los casos, se presentó la inflamación y áreas visibles de daño epitelial

Durante la reperfusión, ocurre la producción de especies reactivas al oxígeno, las cuales causan fuertes daños en la mucosa y vellosidades, pues con la reperfusión del intestino isquémico, los productos del metabolismo anaeróbico se liberan, contribuyendo posiblemente a la inflamación local y sistémica que es proporcional al grado de isquemia. Estos resultados en la hipoperfusión intestinal continua incrementa el daño local y amplifica la inflamación sistémica.

El daño intestinal varió dependiendo de la severidad de la injuria isquémica en la mucosa. Así, la interrupción de la protección del epitelio, puede predisponer la entrada de bacterias y sus productos en la circulación sistémica y originar lesiones de mayor severidad. Esta pérdida de la integridad de las células epiteliales puede muy bien ser la promotora del proceso de inflamación sistémica (Valiente *et al.* 2000).

Los conocimientos son limitados en cuanto al papel directo o indirecto de la injuria intestinal en la iniciación de la inflamación sistémica. Así mismo, en cuanto a la identificación de aquellas citocinas involucradas en la cascada sistémica responsable de la falla multisistémica. Hace falta conocer también aquellos factores que, como el HB-EGF induce la proliferación y la migración celular. Además, es mitogénico en las células musculares, fibroblastos y en las células epiteliales y podría estar ayudando a recuperar los daños ocasionados por I/R; por lo tanto, la utilización de este factor podría constituir una alternativa terapéutica futura.

## BIBLIOGRAFÍA

- ABBAS, A.; LICHTMAN, A.; POBE, J. 2000. Cellular and molecular immunology. Philadelphia: WB Saunders Co. p.345-387.
- ALVES, G.E.S.; ABREU, J.M.G.; FILHO RIBEIRO, J.D.; MUZZI, L.A.L.; OLIVEIRA, H.P.; TANNUS, R.J.; BUCHANAN. 2004. Efeitos do ozônio nas lesões de reperfusão do jejuno em eqüinos. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 56 (4):433-437.
- ANGELOS, M.G.; MURRIA HOLT, N.; GORSLINE, R.T.; KLAWITTER P.F. 2002. Glucose, insulin and potassium (GIK) during reperfusion mediates improved myocardial bioenergetics. Resuscitation (USA) 55(12):329-336.
- BALK, R. 2000. Pathogenesis and management of multiple organ dysfunction or failure in severe sepsis and septic shock. Crit. Care. Clin. (USA).16:337-352.
- CHIU, C.; McARDLE, A.; BROWN, R. 1970. Intestinal mucosal lesion in low flow states. Arch. Surg. (USA).101:484-488.
- DABAREINER, R.; WHITE, N.; DONALDSON, L. 1998. Evaluation of Carolina rinse as a treatment for ischemia-reperfusion of the equine jejunum. Vet. Surg. (USA).27:521.
- DE MAIO, A.; MOONEY, M.; MATESIE, L. 1998. Genetics component in the inflammatory response induced by bacterial lipopolysaccharide. Shock (USA). 10:319-323.
- DEITCH, E.; GOODMAN, E. 1999. Prevention of multiple organ failure. Surg. Clin. North Am. 79:1471-1488.
- FALEIROS, R. 1997. Isquemia e reperfusão experimental no cólon menor de eqüinos. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte (Brasil). 70p.
- FUKAI, M.; TAKAOKI, H.; YOKOTA, R. *et al.* 2005. Lipid peroxidation during ischemia depends on ischemia time in warm ischemia and refusion of rat liver. Free Rad. Biol & Med. 38: 1372-1381
- GIANOTTI, L.; NELSON, J.; ALEXANDER, J. 1994. Post injury hypermetabolic response and magnitude of traslocation: prevention by early enteral nutrition. Nutrition (USA). 10:225-228.
- GROTZ, M.; DING, J.; GUO, W. 1995. Comparison of plasma cytokine levels in rats subjected to superior mesenterio artery occlusion or hemorrhagic shock. Shock (USA). 3:362-368.
- HAGLUND, U.; BERGQVIST, D. 1999. Intestinal ischemia the basics. Langenbacks Arch. Surg. 384:233-238.
- JARRAR, D.; CHAUDRY, H.; WANG, P. 1999. Organ dysfunction following hemorrhage and sepsis: mechanisms and therapeutic approaches (review). Int. J. Mol. Med. (USA). 4:575-583.
- MOORE, R.; MUIR, W.; GRANGER, D. 1995. Mechanism of gastrointestinal reperfusión injury and potencial therapeutic interventions: A review and its implications in the horse. J. Vet Int. Médica (USA). 9:281-301.
- OHRI, S. 1996. Systemic inflammatory response and the splanchnic bed in cardiopulmonary bypass. Perfusion (USA). 11:200-212.
- PARK, P.; HAGLUND, U.; BULKLEY, G. 1990. The sequence of development of intestinal tissue injury after strangulation ischemia and reperfusion. Surgery (USA). 107:574-580.

- RAFFAN, F.; KLIN, J. 2000. Síndrome de reperfusión; fisiopatología, prevención y manejo. Fundación Santa Fe de Bogotá, Universidad del Bosque (Bogotá). p.13-25.
- REEVES, M.; VASTEENHOUSE, J.; STASHAK, T. 1990. Failure to demonstrate reperfusion injury following ischaemia of the equine large colon using dimethyl sulphoxide. *Equine Vet. J. (USA)*. 22:126-132.
- SHENKAR, R.; ABRHAM, E. 1993. Effects of hemorrhage on cytokine gene transcription. *Lymphokine Cytokine Res.* 12:237-247.
- STALLION, A.; KOU, T., MILLER, K. 2002. IL-10 is not protective in intestinal ischemia reperfusion injury. *J. Surg. Res. (USA)*. 105:145-152.
- STALLION, A.; TZUYUNG, K.; BERGER, D. 2004. Intestinal production of IL-6 initiates systemic inflammation in a murine model of intestinal ischemia reperfusion. *Gastroenterology (USA)*. 116:A-933-945.
- STALLION, A.; TZUYUNG, K.; LATIFI, S. 2005. Ischemia/reperfusion: a clinically relevant model of injury yielding systemic inflammation. *J. Ped. Surg. (USA)*. 40:470-477.
- TELLO, L.; TORRES, P. 2001. Shock y síndrome isquemia reperfusión. *Rev. Anestesiología (Uruguay)*. 6:28-36.
- TRENTZSCH, H.; STEWARD, D.; PIDAS, C. 2003. The combination of polymicrobial sepsis and endotoxin results in an inflammatory process that could not be predicted from the independent insults. *J. Surg. Res. (USA)*. 111:203-208.
- VALIENTE, A.; CARBALLO, A.; PEREZ, R.; QUINTELA, A.; RABRAZA, M.; MARTINEZ, M. 2000. Modelo Isquemia reperfusión en miembros inferiores de ratas. *Rev. Cubana Angiol y Cir. Vasc.* 1(1):1-6.
- VATISTAS, N.; SNYDER, J.; HILDEBRAND, S. 1996. Effects of U-74389G, a novel 21-aminosteroid, on small intestinal ischemia and reperfusion injury in horses. *Am. J. Vet. Res.* 57:762-770.
- VINAY, K.; COTRAN, L.; ROBBINS, L. 2004. *Robbins patología humana*. Elsevier (España). Séptima edición. p.873
- YASIM, M. 1996. Mortality following lower limb ischemia reperfusion: a systemic inflammatory response? *World. J. Surg.* 20:961-967.

Recibido: Enero 26 de 2007

Aceptado: Mayo 8 de 2007