

Estudio de la prevención del daño isquémico tisular en el músculo esquelético mediante la administración de un antagonista del factor de activación plaquetaria

I. del Blanco-Alonso^a, J. Agudo-Bernal^b, J. Nuño-González^a,
 J.A. González-Fajardo^a, V.M. Gutiérrez-Alonso^a,
 M.V. Diago-Santamaría^a, C. Vaquero-Puerta^a

A STUDY OF THE PREVENTION OF ISCHEMIC TISSUE DAMAGE IN SKELETAL MUSCLES BY ADMINISTRATION OF A PLATELET ACTIVATION FACTOR ANTAGONIST

Summary. Aim. To determine the possible protective effects of a platelet activation factor (PAF) antagonist, WEB 2086, in the ischemia-reperfusion of striated muscle tissue. Materials and methods. Our study involved the use of 54 rats, sorted into three groups: control, with no action; witness, which were submitted to ischemia-reperfusion; and experimental, which were submitted to an ischemia-reperfusion in a limb, with WEB 2086 treatment prior to revascularisation. Animals were assessed by evaluating the general appearance, trophic state, vitality, functional examination of the hind limbs and a histological and morphometric study of the soleus muscles. A statistical analysis of the quantifiable variables was performed using the SPSS statistical software package. Results. No modifications were observed between the three different groups involved in the study from a functional point of view nor were any macroscopic or histological changes noted in the subjective evaluation. The histological morphometric study revealed tissue damage in the ischemic group, which did not appear with the administration of the PAF antagonist, WEB 2086. Conclusions. First, we considered the effects that ischemia-reperfusion had on the experimental model used, and it was shown that the damage can be evidenced by objective, quantifiable appreciations as regards its extent and progression. This can be demonstrated by quantifiable morphometric studies of the damage to muscle tissue, where, in addition to appreciating the effects of ischemia-reperfusion in extremities, the protective effect of the PAF antagonist, WEB2086, has also been proved. [ANGIOLOGÍA 2004; 56: 469-80]

Key words. Histology. Ischemia. Platelet activation factor. Rat. Reperfusion. Revascularisation.

^a Laboratorio de Investigación Quirúrgica y Técnicas Experimentales. Departamento de Cirugía. ^b Departamento de Histología y Biología Celular. Facultad de Medicina. Universidad de Valladolid. Valladolid, España.

Correspondencia:

Dra. Isabel del Blanco Alonso. Servicio de Angiología y Cirugía Vascular. Hospital Clínico Universitario. Avda. Ramón y Cajal, s/n. E-47005 Valladolid. E-mail: cvaquero@med.uva.es

© 2004, ANGIOLOGÍA

Introducción

En determinadas situaciones clínicas con procesos de isquemia y posterior revascularización tisular, como el in-

farto de miocardio y posterior tratamiento revascularizador, traumatismos con procesos isquémicos, trasplantes de órganos con isquemia fría y revascularización postrasplante, accidentes vas-

culares cerebrales y situaciones de revascularización de los miembros en la práctica de la cirugía vascular de procesos isquémicos, se dan estados hemodinámicos de falta de perfusión sanguínea y posterior revascularización que generan una secuencia de situaciones fisiopatológicas englobadas en el denominado síndrome de isquemia-reperfusión (SIR) [1,2].

En la secuencia fisiopatológica del síndrome de isquemia-reperfusión, se conoce que el proceso se inicia con una serie de cambios nocivos tisularmente, con daño y muerte celular, para posteriormente complementarse la destrucción y las alteraciones de forma paradójica en la lógica fisiológica, en el proceso de revascularización; precisamente es en esta segunda situación cuando en muchas ocasiones se producen las más graves alteraciones [3].

Se describen en el SIR lesiones con desarrollo histológico, que conducen en muchas ocasiones a la muerte celular, apreciables bajo microscopia óptica y que las mismas pueden acontecer en el contexto de los fenómenos, entre otros, de necrosis o apoptosis [4,5].

Por otro lado, las repercusiones que se pueden constatar en el SIR, bioquímicamente, se centran en la disminución de producción de ATP. Esta disminución de ATP suele producir un aumento de AMPc, que se cataboliza en compuestos como adenosina, inosina e hipoxantina de gran relevancia metabólica.

Durante la reperfusión, la presencia de oxígeno, junto con la xantina oxidasa y la hipoxantina, va a generar radicales libres de oxígeno como anión superóxi-

do (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y radical hidroxilo (HO) [6].

También suelen ser ostensibles en el proceso de isquemia-reperfusión las alteraciones microcirculatorias. Estas lesiones ocurren a los 30 minutos de comenzada la isquemia. Se produce una interacción endotelio-neutrófilo en la que participan, por una parte, los leucocitos –los neutrófilos activados son los que expresan moléculas de adhesión (CD11/CD18), se adhieren y migran a través del endotelio y causan destrucción local por la liberación de radicales libres y enzimas proteolíticas– [3]; aparece el fenómeno de *no-reflow*, que se debe al depósito de fibrina y formación de trombo, edema celular, colapso capilar, daño celular endotelial, disfunción celular e incremento de viscosidad; por último, participa el endotelio con sus múltiples funciones de control del flujo sanguíneo, permeabilidad microvascular, contractilidad del vaso, angiogénesis, coagulación, circulación de leucocitos e inmunidad.

Por tanto, durante la isquemia-reperfusión el endotelio desempeña un papel fundamental con la producción de una serie de sustancias; una de ellas es el factor de activación plaquetaria (PAF), cuya producción, por otra parte, no es exclusiva de la célula endotelial y puede originarse procedente de otras células [7].

En cuanto a las acciones del PAF, se encuentran la activación y degranulación de plaquetas, la contracción de fibras musculares lisas, la estimulación de la agregación, quimiotaxis y degranulación de neutrófilos y monocitos, aumento de la permeabilidad vascular y

alteración del tono vascular, situaciones extremadamente nocivas para la viabilidad celular, y, por lo tanto, implicadas directamente con el daño tisular en general [8].

Teniendo conocimiento que durante la isquemia-reperfusión en el músculo estriado se produce PAF, el objetivo de este estudio ha sido valorar los posibles efectos benefactores de la utilización de un antagonista del PAF del músculo esquelético tras procesos de isquemia.

Materiales y métodos

Para la realización del estudio experimental se han empleado 54 ratas macho de la raza Wistar-Lewis, procedentes del Animalario Central de la Universidad. Se ha respetado en todo momento en la realización de los experimentos las directrices de la directiva de la Comunidad Europea de 1986 y la legislación española de 1988, sobre la utilización de animales de laboratorio con fines científicos.

De los 54 animales empleados, 18 se han utilizado como controles –no se les provoca isquemia–, 18 como testigos –se realiza isquemia arterial y su posterior reperfusión– y 18 como experimentales –se realiza isquemia y reperfusión e inyección del WEB 2086 previa a esta última situación–, y se evalúan sus efectos con la siguiente sistemática:

- Seis animales de cada grupo a las 3 horas de la conclusión del proceso experimental.
- Seis animales de cada grupo a las 24 horas de la conclusión del proceso experimental.

- Seis animales de cada grupo a los 7 días de la conclusión del proceso experimental.

Diseño experimental en el grupo control

Bajo anestesia general inducida mediante inyección intraperitoneal de clorhidrato de ketamina (Ketolar®) en dosis de 60 mg/kg de peso corporal.

Se realiza una intervención quirúrgica simulada, previo rasurado de la piel, abordaje longitudinal de la región inguinal derecha, con sección de piel, tejido celular subcutáneo y disección de vasos femorales. Se procede posteriormente al cierre de la herida quirúrgica.

Diseño experimental en el grupo testigo

Al igual que en el grupo control, se abordan los vasos femorales derechos, y se realiza un pinzamiento de la arteria femoral común durante 2 horas. Después de las 2 horas, se procede a la revascularización del miembro por la liberación del vaso. Se administra en el momento de retirar el pinzamiento, por vía intraarterial por punción del vaso, un bolo de 0,2 mL de suero fisiológico, y se realiza posteriormente hemostasia de la punción por compresión. A continuación, se cierran las incisiones.

Diseño experimental en el grupo experimental

Igualmente, bajo anestesia general se disecan los vasos femorales derechos y se ocluye la arteria femoral común por pinzamiento durante 2 horas. Posteriormente, se despinza y se reinstaura el flujo

sanguíneo y se procede a la infusión intraarterial mediante punción arterial, de una solución de WEB 2086 en dosis de 1 mg/kg de peso en suero fisiológico (volumen total de 0,2 mL). Posteriormente, se cierra la herida quirúrgica.

En ningunos de los grupos de estudio se utilizó anticoagulantes.

Protocolo experimental

Después de transcurrido el período establecido (3 horas, 24 horas y 7 días) se realiza la evaluación de los tres grupos de estudio mediante la valoración de los siguientes parámetros:

- Valoración del aspecto general del animal.
- Valoración del trofismo de los miembros posteriores.
- Aspecto de la vitalidad del animal.
- Valoración funcional del animal mediante la deambulación del mismo por un corredor laberíntico sencillo.
- Valoración macroscópica corporal y de las extremidades posteriores de los animales.

Posteriormente, se anestesia al animal en las mismas condiciones que en el primer procedimiento con la administración intraperitoneal de clorhidrato de ketamina en dosis de 60 mg/kg de peso y se secciona, previo abordaje de la pata del animal en donde se actuó experimentalmente, un segmento del músculo sóleo para su procesamiento y posterior valoración histológica y morfométrica. Se evaluó desde el punto de vista morfológico el aspecto del músculo.

El procesamiento histológico siguió la sistemática habitual de fijación con

formol tamponado al 35%, deshidratación, inclusión en parafina, formación de bloques, corte, montaje en portaobjetos, desparafinación de los cortes, rehidratación, tinción hematoxilina-eosina, y montaje para su observación bajo microscopia óptica con microfotografía de las preparaciones a diferentes aumentos.

Con las preparaciones histológicas se realizó un estudio morfométrico con la utilización de un analizador de imágenes semiautomático Vids III (Analytical Measuring Systems), de forma aleatorizada, de tres cortes por preparación histológica y tres portas de cada muestra de material.

Los parámetros que se midieron en el estudio morfométrico fueron los siguientes:

- Área de la fibra muscular.
- Perímetro de la fibra muscular.
- Número de núcleos celulares de la célula muscular.
- Factor de forma de la fibra muscular.
- Número de fibras por fascículo muscular.
- Número de fascículos por campo.
- Porcentaje de la masa muscular por campo.
- Diámetro de la esfera celular.
- Volumen de la esfera celular.

Con los datos obtenidos de cada grupo y cada parámetro estudiado, se procedió a su introducción en forma de base de datos en un fichero dBase III. La valoración de la relación existente entre las distintas variables se ha realizado mediante un paquete estadístico SPSS.

Se calculó la *t* de Student-Fisher cuando la comparación se establecía entre

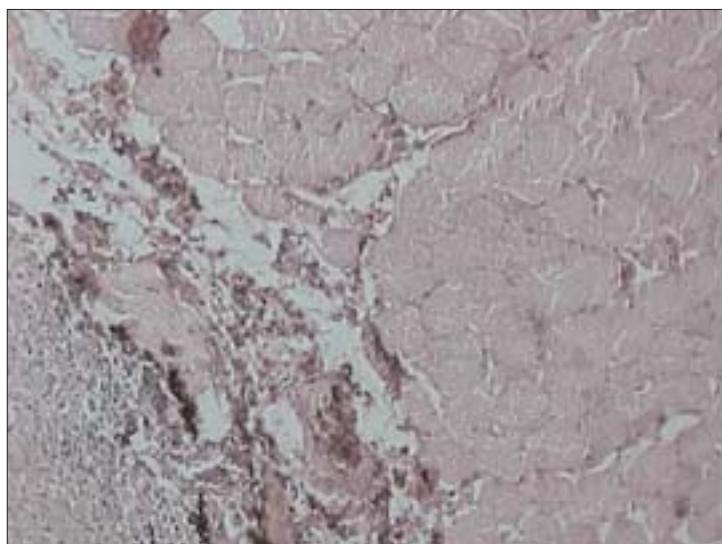


Figura 1. Imagen histológica de los fascículos musculares correspondientes al grupo testigo evaluado a las 24 horas (HE 200x)

una variable cuantitativa de dos categorías con análisis de grupos frente al control.

Se estudió el coeficiente de correlación de Pearson. Cuando este coeficiente resultaba ser estadísticamente significativo, se procedía al cálculo de la ecuación lineal de la recta de regresión.

Se calculó el análisis de la varianza y se determinó la significación estadística comparando los grupos entre sí.

Resultados

De los parámetros subjetivos evaluados y especialmente en lo que se refiere al aspecto general del animal, trofismo de los miembros posteriores, estudio funcional del animal y aspecto de la masa muscular, no mostraron grandes diferencias entre los diferentes grupos estudiados.

En la valoración del tejido estudiado y de la pieza extraída para su procesamiento histológico, en algunos animales del grupo testigo y en menor cuantía en el grupo experimental, se pudo detectar discreto edema interfascicular, manifestado por un mayor contenido acuoso, que le confería al músculo un aspecto más pálido y húmedo.

En cuanto a la valoración histológica en el grupo control, la estructura muscular en lo que se refiere a la comparación con respecto al patrón de referencia, en este grupo de animales se mostró como normal.

Los animales del grupo testigo de evaluación a las tres horas de provocado el proceso de isquemia-reperfusión, las preparaciones mostraron desde el punto de vista histológico, un aspecto del tejido de coloración más tenue y difumina- da, un mayor predominio picnótico desde el punto de vista celular, y se mostró de una manera más intensa la captación de la tinción de los paquetes vasculares.

En el grupo testigo evaluado a las 24 horas, los cortes histológicos mostraron un aspecto más o menos pálido en la captación de colorante, apareció un discreto edema interfascicular, evidenciado por el incremento del tamaño de estos espacios y, en su conjunto, el aspecto general se mostró más alterado con respecto a los patrones de referencia y de las imágenes observadas en el grupo testigo evaluado a las 3 horas (Fig. 1).

El grupo testigo evaluado a los 7 días mostró datos similares a los obtenidos en el grupo evaluado a las 24 horas, pero con alteraciones más leves y la constatación de la presencia de un teji-

do areolar poco denso con componentes vacuolares en el interior del tejido. Las fibras musculares se mostraron aparentemente de menor tamaño, con presencia de núcleos periféricos. Existió una retracción tisular con marcado componente atrófico y un incremento del tejido graso. Se pudo apreciar cierto perfil de desestructuración o desintegración, con signos de indicios de recuperación tisular (Fig. 2).

Los grupos experimentales evaluados a las 3, 24 horas y 7 días de realizado el experimento, fueron los grupos tratados con antagonistas del PAF a las 24 horas y las preparaciones mostraron un aspecto con discretísimas alteraciones y semejantes al grupo control. En los animales del grupo tratado con WEB 2086 y evaluado a los 7 días, mostró una total recuperación estructural (Fig. 3).

El estudio morfométrico mostró datos cuantificables con relación a los diferentes parámetros (Tabla).

Con respecto al área de la fibra muscular se pudo constatar que en la evaluación a las 24 horas y a los 7 días en el grupo testigo, el área es mayor y esta diferencia es estadísticamente significativa con relación al control. En la valoración del grupo de isquemia de 2 horas y posterior revascularización, sin tratamiento y evaluado a las 24 horas de la revascularización y a los 7 días, las fibras musculares miden más, son más grandes, que se ha interpretado como edema, con diferencias estadísticamente significativas. En la valoración del grupo experimental, no se evidenció incremento de la misma, y los datos se equiparaban al grupo control.

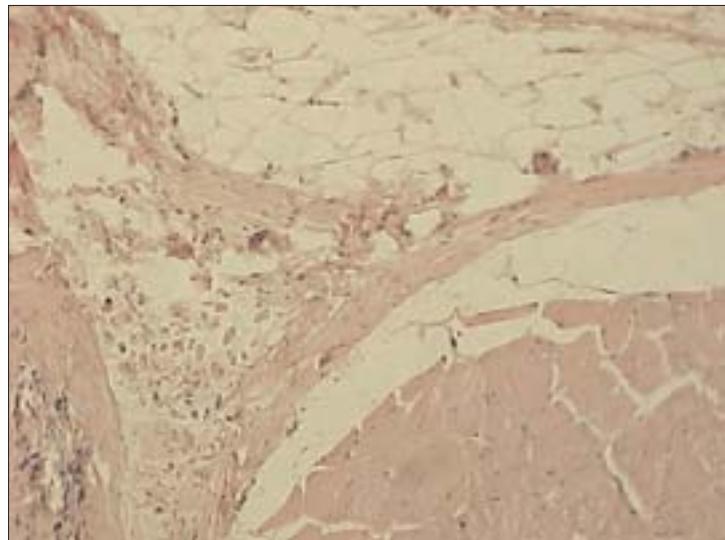


Figura 2. Fotomicrografía del músculo esquelético del grupo testigo evaluado a los 7 días (HE 200x).

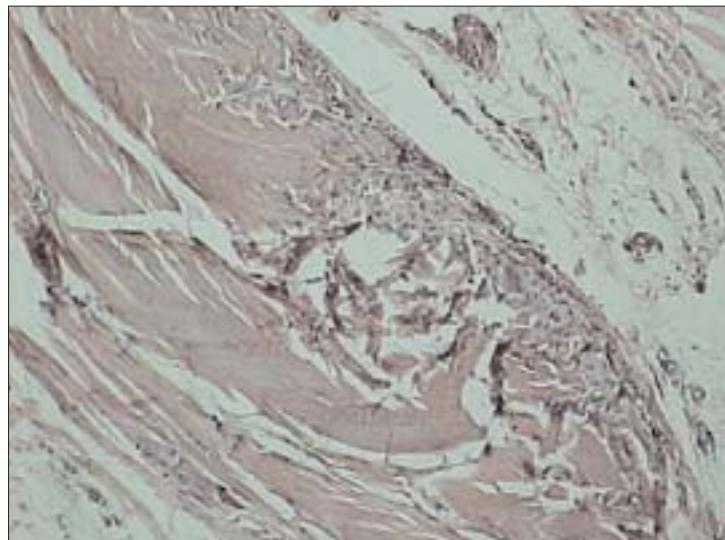


Figura 3. Imagen histológica del grupo experimental evaluado a las 24 horas (tinción con HE 200x).

El perímetro de la fibra muscular ofrece datos parejos a los del área. De la misma forma, en este parámetro entre el grupo control y el testigo a las 24 horas ($p < 0,05$) y a los 7 días ($p < 0,05$), existieron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla. Valores de los parámetros estudiados en el estudio morfométrico.

	Control			Testigo			Experimental		
	3 h	24 h	7 días	3 h	24 h	7 días	3 h	24 h	7 días
Área	67,45 ± 17,25	63,78 ± 17,72	65,89 ± 20,89	62,56 ± 27,89	89,46 ± 39,78 ^a	129,34 ± 37,77 ^a	59,89 ± 19,99	88,91 ± 38,89	82,66 ± 36,69
Perímetro	17,35 ± 7,35	19,43 ± 8,36	19,35 ± 6,98	19,36 ± 8,38	32,35 ± 9,78 ^a	49,44 ± 17,76 ^a	19,33 ± 9,35	23,76 ± 8,77	26,63 ± 10,18
N.º núcleos	4 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	4 ± 1	4 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	3 ± 1
Factor forma	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,1
N.º fibras	17 ± 6	17 ± 5	18 ± 8	15 ± 8	13 ± 6	14 ± 6	15 ± 6	16 ± 6	14 ± 6
N.º fascículos	7 ± 3	7 ± 4	8 ± 3	5 ± 3	3 ± 2 a	4 ± 2 a	5 ± 4	6 ± 3	4 ± 3
% masa	97 ± 16	87 ± 14	89 ± 13	65 ± 13 ^a	53 ± 26 ^a	54 ± 28 ^a	85 ± 26	86 ± 31	87 ± 23
Diámetro esfera	77 ± 21	81 ± 16	83 ± 15	75 ± 19	53 ± 26	54 ± 18	84 ± 17	83 ± 16	84 ± 18
Volumen esfera	265 ± 72	263 ± 45	254 ± 39	278 ± 58	276 ± 66	279 ± 48	243 ± 57	244 ± 53	253 ± 68

^a Valores estadísticamente significativos $p < 0,05$.

En el análisis del número de núcleos celulares por fibra, no se detectaron grandes variaciones entre los distintos grupos, y las leves variaciones no fueron estadísticamente significativas.

En cuanto al factor de forma, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos.

Con respecto al número de fibras por fascículo, no se detectaron variaciones estadísticamente significativas.

Con relación a la valoración del número de fascículos por campo, se detectó que su número disminuía de una forma estadísticamente significativa si se

comparaba con los datos del grupo control y el testigo a la evaluación a las 24 horas ($p < 0,05$) y a los 7 días ($p < 0,05$). Estas diferencias no existieron en el grupo experimental, cuyos valores fueron similares al del grupo control.

Con respecto a la masa muscular, existieron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y testigo a las 3 horas ($p < 0,01$) a las 24 horas ($p < 0,01$) y a los 7 días ($p < 0,01$).

El parámetro diámetro de la esfera de la fibra no mostró diferencias estadísticamente significativas y, de la misma manera, esta situación se pudo constatar en la valoración del volumen de la esfera.

Discusión

Se ha empleado la rata como animal de laboratorio, por la similitud en la vascularización y estructura muscular con la humana. Por otro lado, existe experiencia previa en su utilización en estudios de isquemia y posterior reperfusión, en otros modelos experimentales tanto renal como intestinalmente [9,10], aunque se han descrito otros modelos considerados como válidos en la literatura y desarrollados fundamentalmente en el conejo [11] y el perro [12]. Sin embargo, el conejo presenta, a pesar de su fácil manejo y bajo costo, la servidumbre de su labilidad y al perro, a la ventaja de su manejabilidad, se opone el costo y especialmente su arraigo social; aunque legalmente utilizables, cada vez se cuestiona más su empleo [11,12].

El modelo experimental de isquemia se realizó con una oclusión arterial mediante un pinzamiento selectivo de la arteria femoral y posterior valoración de sus posibles repercusiones en un músculo considerado diana por su especial desarrollo en la rata, como es el sóleo. Es un modelo que previamente lo han desarrollado Racz et al [13], quienes usaron un modelo de músculo sóleo en ratas de raza Wistar, con la diferencia que la isquemia se realizó mediante torniquete. La crítica al modelo de Racz et al [13] es que con este tipo de isquemia se produce no sólo compresión arterial, sino también venosa, y se provoca, además, una lesión muscular al realizar el torniquete.

Se ha optado por dos horas de isquemia, como tiempo de isquemia del modelo, por experiencia adquirida en otros

estudios realizados mesentérica y renalmente y los datos recogidos en la literatura [10,13].

El tiempo de isquemia tiene importancia para determinar la viabilidad de la masa muscular revascularizada. Brunelli y Brunelli consideran que hasta con 4-5 horas de isquemia se puede reimplantar una extremidad con buen resultado funcional posterior [14].

Datos previos de Silver et al aportan que se producen cambios adversos en el músculo esquelético tras una isquemia de 3 horas o más [15]. No obstante, Homer-Vanniasinkam et al consideran que se necesita un tiempo de isquemia relativamente largo –mínimo 6 horas– para producir edema y necrosis [16].

En nuestro estudio con 2 horas de isquemia y los distintos períodos de revascularización no hemos observado alteraciones funcionales en las extremidades del animal, y concuerda con los datos aportados en la literatura que con dos horas de isquemia no provoca lesiones irreversibles. La selección de este tiempo de isquemia en nuestro estudio se basaba en la intención de valorar el protector del WEB 2086 en una lesión no destructiva y, por lo tanto, reversible de la célula muscular.

En el estudio histológico bajo microscopía óptica se pudo detectar cierto grado de picnosis y ésta se considera característica de la necrosis. En la literatura reciente existen datos donde se asegura que el daño que sigue a la isquemia puede atribuirse más bien a necrosis que a apoptosis [2,17].

La necrosis se caracteriza por pérdida del balance sodio-calcio de la mem-

brana plasmática, seguido de acidosis, shock osmótico, agrupamiento de cromatina y picnosis nuclear. Por otra parte, la apoptosis también se conoce como muerte celular programada o suicidio celular y se produce con una fragmentación del ADN. Las células apoptóticas se ingieren por macrófagos, sin liberación de enzimas proteolíticos o derivados tóxicos del oxígeno, y este proceso no se acompaña de inflamación [4,5,18].

No hemos podido demostrar la ausencia de fenómenos apoptóticos, al no ser objetivo del estudio y no utilizar técnicas especiales para el estudio de fragmentos de ADN, etiquetando los extremos de los fragmentos del ADN y la valoración posterior de su presencia.

Las alteraciones histológicas se pueden catalogar como discretas. Las alteraciones histológicas, evidentemente dependen de la duración de la isquemia y del tiempo de restablecimiento de la vascularización y también del tejido u órgano afectado; unos son más resistentes y otros más sensibles a la isquemia.

Según Dahlbäck y Rais, la isquemia en el músculo estriado se caracteriza por depósito de fibrina, reacción de células inflamatorias, edema, degeneración hialina, granular, de Bowman y vacuolización, seguida de necrosis, entre otros fenómenos [19].

En nuestro estudio hemos utilizado un tiempo de isquemia de 2 horas. Los cambios máximos aparecen en el grupo testigo a las 24 horas, es decir, con isquemia de dos horas y reperfusión de 24 horas, y a los 7 días de reperfusión ya existe alto grado de recuperación.

Quizás con el desarrollo de posibles mecanismos de compensación desarrollados, como la circulación colateral, las repercusiones no han sido muy ostensibles. En primer lugar, el tiempo de isquemia se ha limitado a 2 horas y, en segundo lugar, en el modelo utilizado en la rata, realizar una limitada isquemia selectiva de un vaso arterial mediante pinzamiento de la arteria femoral, ponen en marcha los mecanismos de compensación, como es la circulación colateral.

En el estudio morfométrico, en todos los parámetros estudiados, los indicadores de lesión tisular y de la célula, como las alteraciones de los núcleos o de la forma celular, no han tenido significación estadística, lo que interpretamos que una isquemia limitada a 2 horas con revascularización tiene un carácter reversible, pero no produce modificaciones estructurales muy ostensibles en la célula; por ello, no es posible reproducir en este modelo un SIR relevante si se quiere disponer de un modelo con perfil de reversibilidad.

No obstante, la valoración de otros aspectos y variables, como las que nos miden el tamaño de la fibra muscular, son las que han demostrado diferencias con significación estadística; se interpreta que el incremento del espacio se debe a la presencia de edema como expresión indirecta de sufrimiento tisular. Por otro lado, en el estudio morfométrico de este parámetro en el grupo experimental, es decir, con proceso isquemia-reperfusión y tratamiento con un antagonista del PAF, este edema no aparece; se interpreta qué signo de sufrimiento se ha paliado con el tratamiento.

A partir del estudio histológico morfométrico hemos constatado que durante el proceso de isquemia-reperfusión se produce edema que se previene con el WEB 2086, es decir, con un antagonista del PAF. El PAF produce edema por el aumento de la permeabilidad vascular, hecho bien conocido y totalmente definido en la literatura [8].

No se conoce bien el mecanismo exacto de la acción del PAF para producir ese aumento de la permeabilidad vascular, pero en últimas publicaciones señalan que parece mediarse por una interacción entre radicales libres de oxígeno y óxido nítrico [20].

Por lo tanto, el WEB 2086 disminuye el edema, y éste tiene relevancia des-

de el punto de vista clínico, enlazando la fisiopatología del denominado síndrome compartimental, que por otra parte se alivia mediante la descompresión con la liberación del músculo edematizado mediante la fasciotomía.

Como conclusión final y sobre la base de la constatación de hechos objetivables mediante morfometría tisular, podemos considerar que la administración de antagonista del PAF, administrado de forma intraarterial tras la revascularización, previene determinados efectos adversos, tanto del proceso de isquemia como del de reperfusión en los desarrollos de un daño tisular limitado.

Bibliografía

1. Carter WO, Bull C, Bortolon E, Yang L, Jesmok GJ, Gundel RH. A murine skeletal muscle ischemia-reperfusion injury model: differential pathology in BALB/c and DBA/2N mice. *J Applied Physiol* 1998; 85: 1676-83.
2. Crowle PA, Leonardos L, Millard SH, Fitr ridge RA. Apoptotic cell death makes a minor contribution to reperfusion injury in skeletal muscle in the rat. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2001; 21: 28-34.
3. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994; 81: 637-47.
4. Anderson BO, Bensard DD, Harken AH. The role of platelet activating factor and its antagonists in shock, sepsis and multiple organ failure. *Surg Gynecol Obstet* 1991; 172: 415-24.
5. Bowen ID, Bowen SH. Programmed cell death in tumours and tissues. London: Chapman & Hall; 1990. p. 1-268.
6. McCord JW. Oxygen-derived free radicals in post-ischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 313: 159-63.
7. Ascer E, Mohan C. Skeletal muscle ischemia-reperfusion: pathophysiology and therapeutic interventions. In Veith FJ. Current critical problems in vascular surgery. Vol 6. St Louis: Quality Medical Publishing; 1994.
8. Summers JB, Albert DH. Platelet activating factor antagonists. *Adv Pharmacol* 1995; 32: 67-168.
9. Vaquero C, Rodríguez-Tovés LA, Vaquero A, Diago MV, Gutiérrez V. Histologic changes of chronic intestinal ischemia in rats. *Span J Surg Res* 1999; 2: 5-10.
10. Herreros J, Diago MV, Rodríguez-Tovés A, Vaquero C. Regeneration of small bowel mucosa following ischemia/reperfusion injury in rats. *Span J Surg Res* 1999; 2: 24-6.
11. Hickey MJ, Hurley JV, Morrison WA. Temporal and spatial relationship between no-reflow phenomenon and postischemic necrosis in skeletal muscle. *Am J Physiol* 1996; 271: 1277-86.
12. Jerome SN, Kong L, Korthuis JJ. Microvascular dysfunction in postischemic skeletal muscle. *J Invest Surg* 1994; 7: 3-16.
13. Racz IB, Illyes G, Sarkadi L, Mar J. The functional and morphological damage of ischemic reperfused skeletal muscle. *Eur Surg Res* 1997; 29: 254-63.
14. Brunelli GA, Brunelli GR. Tissue changes at different periods of ischemia. *Int Angiol* 1995; 14: 253-63.
15. Silver D, Dhar A, Slocum M, Adams JG, Shu-

- kla S. Role of platelet activating factor in skeletal muscle ischemia-reperfusion injury. *Adv Exp Med Biol* 1996; 416: 217-21.
16. Homer-Vanniasinkam S, Rowlands TE, Hardy SC, Gough MJ. Skeletal muscle ischemia-reperfusion injury: further characterisation of rodent model. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2001; 22: 523-7.
 17. Knight KR, Messina A, Hurley JV, Zhang B, Morrison WA, Stewart AG. Muscle cells become necrotic rather than apoptotic during reperfusion of ischaemic skeletal muscle. *Int J Exp Path* 1999; 80: 169-75.
 18. Carson DA, Rivero JM. Apoptosis dead disease. *Lancet* 1992; 341: 1251-4.
 19. Dahlbäck LO, Rais O. Morphologic changes in striated muscle following ischemia. *Acta Chir Scand* 1966; 131: 430-40.
 20. Klabunde RE, Anderson DE. Role of nitric oxide and reactive oxygen species in platelet-activating factor-induced microvascular leakage. *J Vasc Res* 2002; 39: 238-45.

**ESTUDIO DE LA PREVENCIÓN
DEL DAÑO ISQUÉMICO TISULAR
EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO
MEDIANTE LA ADMINISTRACIÓN
DE UN ANTAGONISTA DEL FACTOR
DE ACTIVACIÓN PLAQUETARIA**

Resumen. Objetivo. Valorar los posibles efectos protectores de un antagonista del factor de activación plaquetaria (PAF), WEB 2086, en la isquemia-reperfusión del músculo estriado. Materiales y métodos. Se emplearon en el estudio 54 ratas, distribuidas en tres grupos: control, sin actuación alguna, testigo, al que se le practica isquemia y reperfusión, y experimental, al que se le realiza una isquemia y reperfusión de la extremidad, con tratamiento previo a la revascularización, con WEB 2086. La evaluación de los animales se efectuó mediante valoración del aspecto general, estado trófico, vitalidad, exploración funcional de los miembros posteriores y estudio histológico y morfométrico del músculo sóleo. Se realizó el análisis estadístico de las variables cuantificables con la utilización del programa estadístico SPSS. Resultados. No se evidenciaron modificaciones desde el punto de vista funcional ni cambios macroscópicos o histológicos en la valoración subjetiva, entre los diferentes grupos de estudio, y se constató en el estudio morfométrico histológico alteraciones de daño tisular en el grupo isquémico, que no han aparecido con la administración del antagonista del PAF, WEB 2086. Conclusiones. Se han considerado, primeramente, los efectos que la isquemia reperfusión desarrolla en el modelo experimental utilizado, y se ha constatado que los

**ESTUDO DA PREVENÇÃO DA
LESÃO ISQUÉMICA TISSULAR
NO MÚSCULO ESQUELÉTICO
ATRAVÉS DA ADMINISTRAÇÃO
DE UM ANTAGONISTA DO FACTOR
DE ACTIVAÇÃO PLAQUETÁRIO**

Resumo. Objectivo. Avaliar os possíveis efeitos protectores de um antagonista do factor de activação plaquetário (PAF), WEB 2086, na isquemia-reperfusão do músculo estriado. Materiais e métodos. Utilizaram-se 54 ratos no estudo, distribuídos em três grupos: controlo, sem qualquer actuação, teste-munho, em que se realiza a isquemia e reperfusão, e experimental, em que se realiza uma isquemia e reperfusão da extremidade, com tratamento prévio à revascularização, com WEB 2086. A avaliação dos animais foi efectuada através da avaliação do aspecto geral, estado trófico, vitalidade, exame funcional dos membros posteriores e estudo histológico e morfométrico do músculo solhar. Realizou-se a análise estatística das variáveis quantificáveis com a utilização do programa estatístico SPSS. Resultados. Não se evidenciaram alterações sob o ponto de vista funcional nem alterações macroscópicas ou histológicas na avaliação subjetiva, entre os diferentes grupos de estudo, e constatou-se no estudo morfométrico histológico alterações de lesão tissular no grupo isquémico, que não apareceram com a administração do antagonista do PAF, WEB 2086. Conclusões. Consideraram-se, em primeiro lugar, os efeitos que a isquemia e reperfusão condicionam no modelo experimental utilizado, e constatou-se que as le-

daños se han evidenciado mediante apreciaciones objetivas y cuantificables en relación con el grado y el desarrollo evolutivo de los mismos; se evidencian mediante estudios cuantificables morfométricos del daño tisular muscular; donde, además de apreciar los efectos de la isquemia-reperfusión extremitariamente, se ha podido constatar el efecto protector del antagonista del PAF, WEB 2086. [ANGIOLOGÍA 2004; 56: 469-80]

Palabras clave. Factor de activación plaque-taria. Histología. Isquemia. Rata. Reperfusión. Revascularización.

sões evidenciaram-se mediante apreciações objectivas e quantificáveis em relação ao grau e ao desenvolvimento evolutivo dos mesmos; evidenciam-se mediante estudos quantificáveis morfométricos da lesão tissular muscular; onde, para além de avaliar os efeitos da isquemia-reperfusão nas extremidades, foi possível constatar o efeito protector do antagonista do PAF, WEB 2086. [ANGIOLOGÍA 2004; 56: 469-80]

Palavras chave. Factor de activação plaque-tário Histologia. Isquemia. Rato. Reperfusão. Revascularização.