

EL APÓSITO DE CHITOSÁN INDUCE LA HEMOSTASIA EN EL MODELO PORCINO DE LESIÓN DE LA ARTERIA FEMORAL

UNA CAUSA FRECUENTE de muerte en pacientes politraumatizados es la hemorragia incontrolada. La aplicación de torniquetes en aquellas zonas donde es posible o la compresión manual, no siempre han sido efectivos y por eso la industria farmacéutica ha desarrollado diferentes productos hemostáticos. Uno de ellos es el apósito de acetato de quitosán (ACH).

Estudios experimentales para probar la eficacia de apósitos elaborados con ACH, realizados en modelos animales sobre lesiones con hemorragia grave, han dado resultados muy variables.

Los investigadores pretenden a través de un estudio experimental en cerdos anestesiados en los que se induce una lesión en arteria femoral de 2, 7 mm de diámetro, demostrar la eficacia hemostática de los apósitos de ACH comparados con los apósitos de gasa. Para ello asignan aleatoriamente a uno u otro grupo las femorales de 14 cerdos.

Los resultados no dejan lugar a dudas y muestran que el 100 % de las aplicaciones de ACH mantuvieron la hemostasia durante los primeros 30 minutos y el 84 % continuaban siendo eficaces a los 240 minutos, frente al 21 % y al 7 % respectivamente en los apósitos de gasa.

Los autores concluyen que los apósitos de ACH son una buena opción terapéutica prehospitalaria para conseguir hemostasia en pacientes con lesiones hemorrágicas arteriales graves.

Especial interés tienen las reflexiones que a través de su experiencia en el desarrollo del estudio hacen en relación con el preparado comercial. Consideran que el buen resultado obtenido se debe a la mejora que supone la flexibilización producida por la manipulación digital del apósito. El preparado comercial es excesivamente rígido y no se adapta a la herida.

Otro factor importante es la adaptación del tamaño del apósito a las dimensiones de la herida recortándolo y dejándolo en el tamaño adecuado (se comercializan en tamaño de 10 x 10 cm.).

El tercer aspecto en que insisten consiste en sustituir la presión digital que recomienda el fabricante directamente sobre el apósito de ACH, por la presión con un rollo de gasa que se interpone entre los dedos y el apósito de ACH.

Consideran asimismo que hay un período crítico correspondiente a los primeros 3 minutos de la aplicación en los que es muy importante evitar que se mueva el apósito para facilitar su adherencia.

En EEUU se encuentra comercializado como HemCon Bandage (HemCon Medical Technologies Inc., Portland, OR).

Wedmore relata los resultados preliminares de la eficacia hemostática del quitosán usado en víctimas de combate (68 apósitos empleados). Se emplearon cuando fracasó la hemostasia convencional con apósitos de gasa obteniendo resultados óptimos.

Otro estudio de Brown MA (J Emerg Med. 2007 Nov 14), titulado "Experience with chitosan dressings in a civilian ems system" muestra resultados similares.

No hay referencias sobre el empleo a nivel nacional de este tipo de apósitos hemostáticos.

Sería interesante en nuestro medio y en el contexto de un Servicio de Urgencias Extrahospitalario la realización de un ensayo clínico aleatorizado y controlado (ECA) que proporcionara resultados de la mayor calidad en relación con la eficacia de los apósitos de quitosán para cohibir hemorragias, y **con una metodología** estadística multivariante que nos controlase factores de confusión (regresión logística) se podría establecer la eficacia clínica de dichos apósitos.

Tomás Belzunegui Otano

Médico Adjunto del Servicio de Urgencias. Hospital de Navarra. Pamplona. España.

Profesor Asociado Doctor del Departamento de Salud de la Universidad Pública de Navarra. Pamplona. España.

EL APÓSITO DE CHITOSÁN INDUCE LA HEMOSTASIA EN EL MODELO PORCINO DE LESIÓN DE LA ARTERIA FEMORAL

ANTECEDENTES

- La causa principal de fallecimiento en los pacientes que sufren traumatismos, tanto en el contexto civil como en el militar, es la **hemorragia incontrolada**.
- Históricamente, el 30-40% de los fallecimientos debidos a traumatismo y más del 90% de todos los fallecimientos que tienen lugar en acciones de guerra se producen en el contexto prehospitalario.
- En la actualidad, la **Food and Drug Administration (FDA)** estadounidense ha aprobado dos productos hemostáticos para el control de la hemorragia grave, productos que están comercializados: el apósito HemCon Bandage (HemCon Inc., Tigard, OR), elaborado con chitosán, y el apósito QuickClot (Z-Medica, Newington, CT) elaborado con zeolita granular.

OBJETIVO

- Comparar la **eficacia hemostática** de un apósito elaborado con chitosán y un de apósito convencional de gasa, en un modelo porcino de lesión arterial femoral grave.

MÉTODOS

- La **herida de la arteria femoral** se realizó en una localización proximal debido a que en ella es difícil o imposible aplicar un torniquete temporal. En cada una de las 2 arterias femorales de 14 cerdos anestesiados se creó una lesión arterial proximal mediante un instrumento de sacabocado vascular de 2,7 mm de diámetro.
- En el momento de la **colocación los apósitos** para una evaluación rigurosa de su eficacia y aplicabilidad las condiciones existentes eran las de una hemorragia de presión y flujo elevados.

RESULTADOS

- Las 25/25 (100%) aplicaciones del ACH y 3/14 (21%) aplicaciones del AG48 mantuvieron la hemostasia durante los primeros 30 min. A los 240 min, mantenían todavía la hemostasia 21/25 (84%) aplicaciones del ACH y 1/14 (7%) aplicaciones del AG48.

CONCLUSIONES

- En nuestro estudio, la flexibilidad del material (adaptación a la herida) mejoró de manera importante y fue posible evitar la aparición de grietas en él mediante la flexión/enrollamiento del apósito sobre un rollo rígido de apósito.
- Pusateri et al. sugirieron que no es posible dejar de lado el factor representado por el diámetro de la herida debido a que, en su estudio, los ACH ofrecieron resultados mejores en las aortotomías de 4,4 mm que en las lesiones femorales de 6,0 mm.
- El material del parche de chitosán no dio lugar a efectos morfológicamente visibles sobre la capa íntima ni sobre el trombo de fibrina intravascular, aunque sí indujo aparentemente alteraciones en los tejidos conjuntivos adventicial y periadventicial.
- Los ACH pueden constituir una opción adicional en el tratamiento de las heridas hemorrágicas graves en el contexto prehospitalario.

EL APÓSITO DE CHITOSÁN INDUCE LA HEMOSTASIA EN EL MODELO PORCINO DE LESIÓN DE LA ARTERIA FEMORAL

Scott B. Gustafson, DVM, MS, Pam Fulkerson, DVM, Robert Bildfell, DVM, MSc,
Lisa Aguilera, MS, AHT, Timothy M. Hazzard, PhD, DVM

RESUMEN

Objetivo. En un modelo porcino y en el tratamiento prehospitalario de víctimas de combates de guerra se ha demostrado que los apósitos de chitosán son efectivos para incrementar la supervivencia de los individuos con lesiones parenquimatosas graves. El objetivo de nuestro estudio ha sido el de evaluar la eficacia de los apósitos de acetato de chitosán (ACH) para conseguir una hemostasia duradera en un modelo animal con lesión de una arteria de flujo elevado. **Métodos.** En cada una de las 2 arterias femorales de 14 cerdos anestesiados se creó una lesión arterial proximal mediante un instrumento de sacabocado vascular de 2,7 mm de diámetro. Con un diseño de grupos cruzados, se colocaron sobre la herida apósitos de gasa de grosor 48 (AG48) o de ACH HemCon Bandage, con aplicación de compresión y durante un período de 3 min, después del cual se retiraron. Si la hemostasia no se mantuvo durante 30 min, se llevó a cabo un segundo intento idéntico utilizando el mismo tipo de apósito que en el primer intento. En los casos en los que después del segundo intento todavía no se produjo la hemostasia, se consideró que el apósito había presentado un fallo agudo y se aplicó el apósito alternativo. En los casos en los que el fracaso de la hemostasia tuvo lugar entre los 30 y los 240 min después de la aplicación del apósito, se consideró que éste había presentado un fallo crónico y se realizó la ligadura de la arteria. **Resultados.** Las 25/25 (100%) aplicaciones del ACH y 3/14 (21%) aplicaciones del AG48 mantuvieron la hemostasia durante los primeros 30 min. A los 240 min, mantenían todavía la hemostasia 21/25 (84%) aplicaciones del ACH y 1/14 (7%) aplicaciones del AG48. En este modelo, el análisis estadístico realizado mediante la prueba exacta de Fischer demostró una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$) en la eficacia hemostática entre los grupos AG48 y ACH, tanto a los 30 como a los 240 min. **Conclusión.** El control de la hemorragia me-

dante apósitos de ACH dio lugar a una hemostasia superior a la conseguida con los apósitos de AG48 en lesiones de la arteria femoral inguinal alta. Los ACH pueden representar una buena opción terapéutica prehospitalaria para conseguir la hemostasia en pacientes con lesiones arteriales hemorrágicas graves. **Palabras clave:** hemorragia; hemostasia; chitosán; cerdos; apósitos; arterias

PREHOSPITAL EMERGENCY CARE 2007;11:172-8

INTRODUCCIÓN

La causa principal de fallecimiento en los pacientes que sufren traumatismos, tanto en el contexto civil como en el militar, es la hemorragia incontrolada¹. Históricamente, el 30-40% de los fallecimientos debidos a traumatismo² y más del 90% de todos los fallecimientos que tienen lugar en acciones de guerra se producen en el contexto prehospitalario³. En estas situaciones, la hemorragia se trata mediante la aplicación de compresión manual o con la colocación de un torniquete temporal. Sin embargo, estos métodos no siempre son apropiados o efectivos. La compresión manual requiere la dedicación de profesionales y de tiempo. El uso de un torniquete sólo es posible en las lesiones localizadas en las extremidades; además, en una lesión que se produce en la parte proximal de un miembro puede ser imposible aplicar un torniquete^{4,5}. Los tratamientos hemostáticos alternativos eficaces y de aplicación sencilla en el contexto prehospitalario tendrían que incrementar sustancialmente la supervivencia de los pacientes que han sufrido un traumatismo y que presentan una hemorragia incontrolada.

A lo largo del último decenio se han evaluado numerosos agentes y apósitos hemostáticos, con resultados variables⁶⁻⁹. En la actualidad, la Food and Drug Administration (FDA) estadounidense ha aprobado 2 productos hemostáticos para el control de la hemorragia grave, productos que están comercializados: el apósito HemCon Bandage (HemCon Inc., Tigard, OR), elaborado con chitosán, y el apósito QuickClot (Z-Medica, Newington, CT) elaborado con zeolita granular. El apósito de chitosán (ACH) es un carbohidrato complejo desacetilado derivado de la sustancia natural quitina (N-acetil D-glucosamina)¹⁰. Es biodegradable y biocompatible. La zeolita granular presenta una transformación intensamente exotérmica en contacto con la sangre y puede causar una lesión térmica en los tejidos¹¹. Por ello, su utilización sólo se recomienda como último recurso, únicamente después de que hayan fallado el apósito de gasa (AG) o el ACH^{10,12}.

Original recibido el 25 de agosto de 2006, procedente del Department of Clinical Sciences, Oregon State University College of Veterinary Medicine, Corvallis, OR (SBG, PF, RB, LA, TMH). Revisión recibida el 8 de noviembre de 2006; aceptada para publicación el 12 de noviembre de 2006.

Presentado en la U.S. Army Tissue Replacement and Repair Annual Review, en diciembre de 2004.

Este estudio ha sido financiado a través de una ayuda de investigación ilimitada en el tiempo y ofrecida por HemCon, Inc. Esta ayuda constituyó el 8% del salario del Dr. Gustafson.

Dirección para correspondencia y solicitud de separatas: Scott Gustafson, 105 Magruder Hall, College of Veterinary Medicine, Oregon State University, Corvallis, OR 97331. e-mail: <scott.gustafson@oregonstate.edu>.

doi: 10.1080/10903120701205893

Hasta el momento, los apósitos elaborados con chitosán han dado lugar a resultados intermedios en la provisión de la hemostasia en un modelo de lesión hepática grave de grado V¹³, pero no han disminuido la pérdida de sangre ni han incrementado la supervivencia en un modelo porcino de lesión femoral arterial y venosa mixta con hemorragia grave^{11,14}. En un estudio reciente, el ACH incrementó la supervivencia en un modelo porcino de arterotomía aórtica, en comparación con el AG como control, pero la hemorragia recidivó en todos los animales al cabo de 2 h¹⁴. La variabilidad en los resultados se ha atribuido a las diferencias en el tamaño de la herida¹⁰, en la presión arterial y en la tasa de flujo sanguíneo en la zona de la herida¹⁰, en la presión arterial en el momento de la aplicación del apósito^{10,15} y en la cantidad de apósito utilizada^{10,15}, así como a la incapacidad de adaptación de la estructura rígida del ACH a las heridas complejas¹⁶.

Nuestro estudio se diseñó para determinar la eficacia de un ACH aprobado por la FDA, utilizando para ello una técnica de aplicación estándar en un modelo de lesión arterial femoral proximal compleja que no seguía los planos tisulares. En este estudio se comparó el apósito de acetato de chitosán (HemCon Bandage; HemCon Inc., Tigard, OR), que en la actualidad ha sido aprobado para su uso por parte de las fuerzas armadas estadounidenses en forma de apósito hemostático en las heridas externas, con el AG estándar en lo relativo al control de la hemorragia arterial grave.

MÉTODOS

Animales

En el estudio se utilizaron 14 cerdos domésticos de crianza mixta, con un peso de 36 a 48 kg y con una edad aproximada de 90 días. Los cerdos fueron criados y albergados en la Oregon State University. Todos los cerdos estaban sanos, según los resultados obtenidos de la exploración física y de distintas evaluaciones. El protocolo del estudio se aprobó por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la State University. Todos los animales recibieron un trato humanitario, según las recomendaciones recogidas en la *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (National Research Council, 1996).

Apósitos experimentales

El apósito control fue un AG de grosor 48 (AG48) constituido por 2 cuadrados plegados de gasa de 7,6 × 7,6 cm y grosor 12 (Medline Industries, Inc., Mundelein, IL); para la compresión y adaptación de este apósito se utilizó un apósito enrollado de gasa (Kerlix Lite; Kendall, Mansfield, MA). El apósito experimental (ACH) consistió en la cuarta parte de un apósito estándar de 10 × 10 cm elaborado con chitosán (HemConTM Ban-

dage, HemCon, Tigard OR), con 2 cuadrados plegados de gasa de grosor 12 y 7,6 × 7,6 cm; para la compresión y adaptación de este apósito se utilizó un AG enrollado. El rollo de gasa utilizado para la compresión de los apósitos y como elemento de adaptación de éstos se consideró adecuado para distribuir uniformemente la presión sobre los apósitos y para ampliar la herida, de manera que hubiera un contacto óptimo entre el vaso sangrante y el apósito. Los ACH estándar que se comercializan son rígidos y difícilmente adaptables. Estos apósitos se hicieron más flexibles mediante su preablandamiento mediante la manipulación con los dedos y del enrollamiento del envase que contenía el apósito sobre un rollo de venda elástica autoadherente (Co-Flex, Andover, 5,5 cm de diámetro). La predistensión del apósito mediante este método pretende la fractura de parte de la estructura cristalina del propio apósito, con objeto de incrementar su capacidad de adaptación a la herida. Inmediatamente antes de la cirugía, el apósito se cortó en cuadrados de aproximadamente 4,8 × 4,8 cm, lo que permitió su colocación en las zonas profundas de la parte proximal de la lesión realizada en la ingle.

Procedimiento experimental

Todos los animales fueron inmovilizados mediante la administración de tiletamina-zolazepam (Telazol®, 3 mg/kg por vía intramuscular), seguida de la inducción mediante mascarilla con administración de isoflurano en oxígeno. La anestesia se mantuvo con isoflurano (1,5-2,5%) en oxígeno administrado mediante ventilación mecánica durante todo el período de estudio. Se utilizaron la arteria antebrachial y la vena cefálica para la introducción de catéteres que permitieran la monitorización de la presión arterial y la administración de líquidos, respectivamente. Se administró una solución cristaloide fisiológica (solución de lactato sódico compuesta) con una dosis de 10 ml/kg/h. Para intentar mantener la presión arterial media en un valor objetivo de 65 mmHg, se administraron bolos adicionales de LRS con grandes volúmenes (aproximadamente, 3 veces superiores a la pérdida de sangre estimada) además de suero salino hipertónico hasta una cantidad de 4 ml/kg. Durante el período de estudio, en todos los cerdos se realizó la monitorización de la frecuencia cardíaca, la frecuencia respiratoria, la presión arterial, la concentración de CO₂ al final del volumen corriente y la saturación de oxígeno.

Las 28 arterias femorales de los 14 cerdos fueron distribuidas a uno de los 2 grupos de tratamiento mediante un diseño de muestreo aleatorio estratificado (diseño de asignación aleatoria de bloques o subgrupos homogéneos), con distribución de las 2 arterias de cada animal en el mismo subgrupo con objeto de minimizar los efectos individuales de cada animal. Los animales fueron colocados en decúbito supino y se realizó una sección en la parte interna de ambos muslos, con prepara-

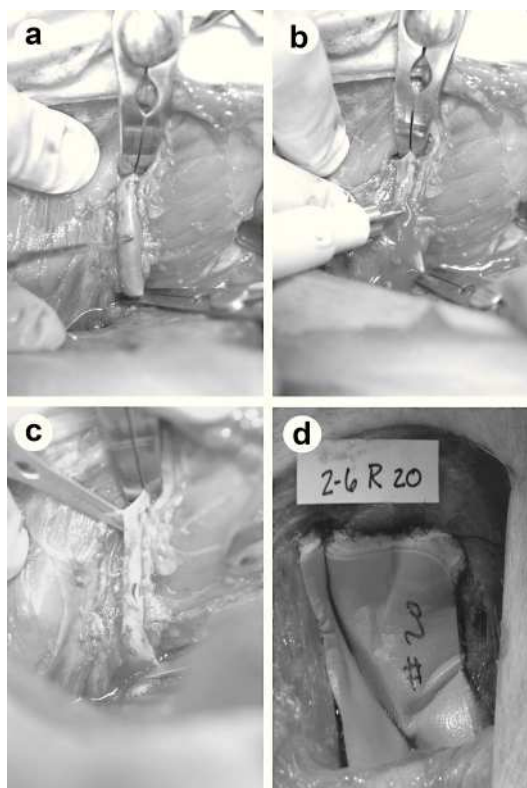


FIGURA 1. Modelo de arteria femoral con detalle (a) del corte transversal en la pared del vaso, con las pinzas vasculares colocadas, (b) del sacabocados aórtico de 2,7 mm colocado en el vaso para la creación de la herida, (c) del vaso con la pinzas vasculares y el sacabocados de 2,7 mm en su posición y (d) del vaso lesionado con el apósito de chitosán colocado, adaptado y adherido al lecho de la herida.

ción y cobertura de la zona con paños quirúrgicos para la realización de una cirugía aséptica. Para determinar el tratamiento de la primera arteria utilizada en cada animal, se utilizó un sistema informatizado de asignación aleatoria (ZRandom, versión 1.2). El cirujano no tuvo conocimiento de la asignación correspondiente a los grupos hasta después de colocar el apósito. La disección de la arteria femoral se realizó mediante incisiones transversales cutánea y muscular de 6 cm efectuadas en la parte proximal interna de la ingle, con objeto de imitar una lesión o laceración traumática. Tras la identificación de la arteria femoral, se llevó a cabo su exposición parcial en una longitud aproximada de 3 cm, centrada aproximadamente a 1,5 cm del anillo inguinal en dirección distal. Sobre la arteria se realizó la aplicación de bupivacaína (2 ml) en forma de salpicadura, manteniendo el contacto de este fármaco con la arteria durante 5 min para reducir el vasospasmo arterial. La arteria se ocluyó mediante pinzas vasculares en las zonas proximal y distal a la herida. Después, entre las pinzas se realizó una incisión con la hoja de un bisturí Bard-Parker n.º 11 (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ). A través de la incisión se aplicó un dispositivo de sacabocados aórtico Meuller de 2,7 mm (Cardinal Health, McGaw Park, IL) con creación de un orificio redondo en la pared arterial (fig. 1). Luego, se retiraron las pinzas vasculares y se permitió que la arteria sangrara libremente durante 5 s. A continuación, se colocaron durante 1 min los fragmentos cuadrados

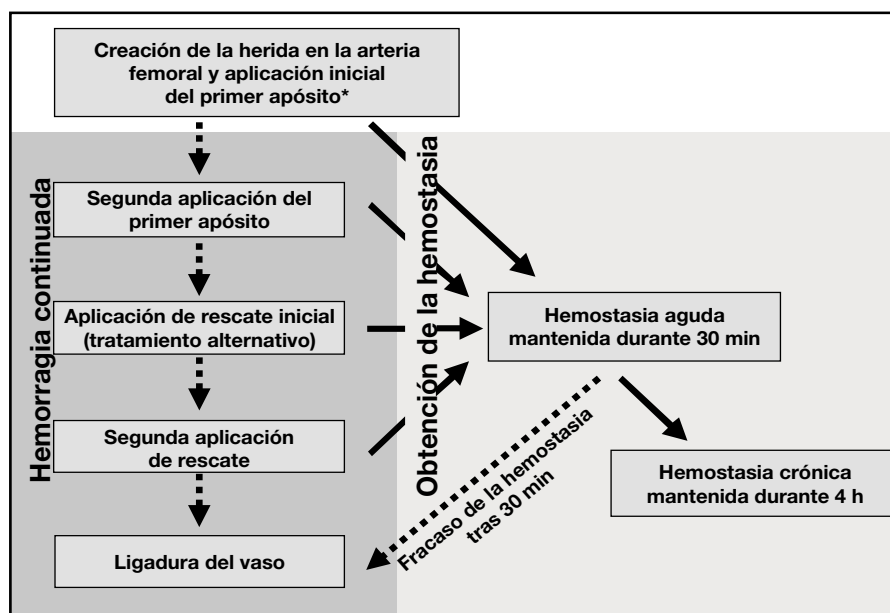


FIGURA 2. Tras la creación de la lesión en la arteria femoral, se aplican apósitos AG48 o ACH. Cada aplicación se puede realizar hasta en 2 ocasiones si se produce el fallo de la hemostasia en la primera aplicación (flecha de puntos). Solamente cuando el tratamiento primario falla en 2 ocasiones, se aplica un apósito de rescate (el tratamiento alternativo), en hasta 2 ocasiones, con objeto de conseguir la hemostasia. La hemostasia aguda adecuada (flecha continua) se define como la mantenida durante 30 min después de la aplicación. La hemostasia crónica se define como la hemostasia mantenida durante 3,5 h después que la hemostasia aguda. Se realiza la ligadura de los vasos si las aplicaciones primaria y de rescate de los apósitos fracasan en lo relativo a la obtención de la hemostasia aguda, o bien si se produce el fracaso de la hemostasia crónica. El fracaso de la hemostasia se define como la recidiva de la hemorragia con flujo libre de sangre.

*Todos los tratamientos se realizan con aplicación de una compresión manual sobre la herida durante 3 min.

de gasa sobre la herida con aplicación de una compresión manual para conseguir una hemostasia temporal, lo que permitió confirmar si la hemorragia se mantenía tras esta compresión de duración breve. El mantenimiento de la hemorragia se confirmó visualmente tras la retirada de la gasa. De nuevo, se permitió el sangrado libre de la herida arterial durante 5 s y, a continuación, se colocó directamente el apósito de tratamiento sobre la herida arterial, en la zona de acumulación de la sangre que rellenaba rápidamente la incisión inguinal. En muchos casos, la hemorragia impidió la visualización directa de la herida arterial, lo que obligó a la detección digital de la localización de la hemorragia mediante la percepción del chorro de sangre arterial con la yema del dedo, con el objetivo de dirigir la aplicación del parche. Una vez que se colocó el apósito, se mantuvo aplicado durante 3 min mediante el uso de 4 dedos de una de las manos para conseguir una presión suficiente que impidiera la hemorragia, retirando después la presión. La presión aplicada fue suficiente para eliminar el pulso en la arteria safena, una rama importante de la arteria femoral distal a la lesión efectuada en la propia arteria femoral. Tras la liberación de la presión, y todavía con el apósito colocado en su sitio, se realizó la evaluación de la zona respecto a la hemostasia. La hemostasia aguda se definió como el mantenimiento de la hemostasia durante 30 min. Con el apósito primario (experimental o control) se efectuaron 2 aplicaciones (consideradas como un único tratamiento) para conseguir una hemostasia aguda adecuada (fig. 2). Si el apósito presentó fallo durante los primeros 30 min posteriores a la primera aplicación, se llevó a cabo una segunda aplicación con el mismo tipo de apósito. Si el apósito no indujo o mantuvo la hemostasia durante 30 min tras la segunda aplicación, se aplicó el apósito alternativo como método de rescate, para ello se utilizó el mismo protocolo de las 2 aplicaciones iniciales. En los casos en los que no se consiguió una hemostasia aguda, según se ha definido en este estudio, se realizó la ligadura del vaso. La hemostasia crónica se definió como el mantenimiento de la hemostasia durante 4 h. Todas las heridas en las que se consiguió una hemostasia aguda se monitorizaron durante 3,5 h adicionales para comprobar el resultado de la hemostasia crónica. El fracaso de la hemostasia crónica se definió como la recidiva de la hemorragia con salida libre de sangre. En los casos de fracaso de la hemostasia crónica no se aplicaron más apósitos y se llevó a cabo la ligadura de los vasos para realizar la observación continuada de la herida arterial contralateral.

A las 4 h de que se consiguiera la hemostasia, se retiraron los apósitos (AG48 o ACH) y se evaluó su integridad y adherencia tisular mediante la escala siguiente: 0 = ausencia de adherencia del apósito al tejido; 1 = adherencia parcial del apósito al tejido, con posibilidad de su retirada completa mediante una tracción mínima; 2 = adherencia del apósito al tejido con necesidad de una

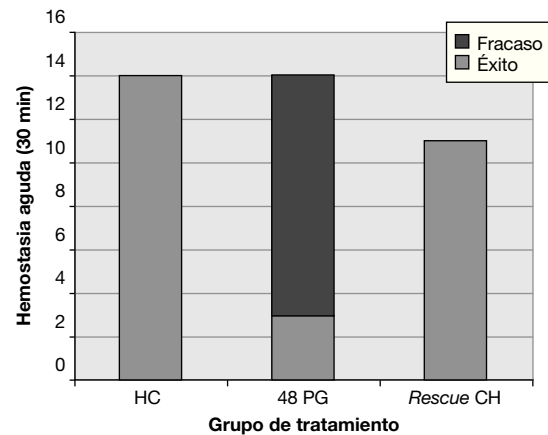


FIGURA 3. Número (n) de éxitos y fracasos de la hemostasia a los 30 min de la aplicación de los apósitos sobre las heridas. HC: apósito *hemorrhage control*; AG48: apósito de gasa de grosor 48. Los apósitos ACH (*rescue HC*) se utilizaron para el rescate de 11 aplicaciones AG48 que fallaron.

tracción de intensidad moderada para su retirada y con una cierta desestructuración del apósito durante su retirada, y 3 = adherencia del apósito al tejido con necesidad de una tracción moderada a intensa para su retirada y con desestructuración parcial de éste. La retirada del apósito se grabó en una cinta de vídeo y se revisó de manera independiente por 2 evaluadores. En los casos de desacuerdo entre estos 2 revisores, participó un tercer revisor que permitió que se alcanzara un consenso.

Estudio histológico de los tejidos

Tras la retirada del parche, se obtuvo un fragmento de la arteria femoral en el que se incluía la herida provocada, y se introdujo en formol para su estudio histopatológico. Los tejidos se procesaron de manera convencional, incluidos en parafina, seccionados en cortes

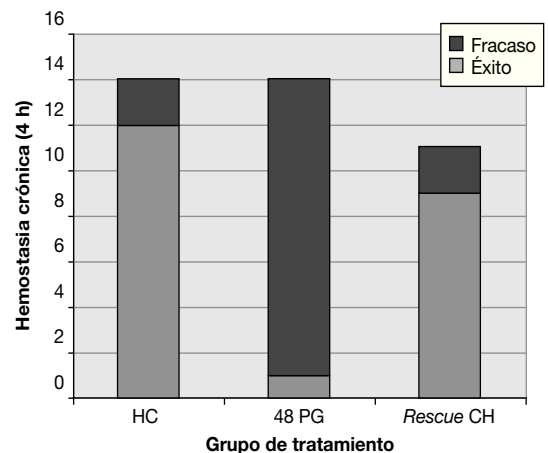


FIGURA 4. Número (n) de éxitos y fracasos de la hemostasia a las 4 h de la aplicación de los apósitos sobre las heridas. HC: apósito *hemorrhage control*; AG48: apósito de gasa de grosor 48. Los apósitos HC (*rescue HC*) se utilizaron para el rescate de 11 aplicaciones AG48 que fallaron.

de 6 μ m y teñidos con hematoxilina y eosina para su estudio microscópico. Aparte de evaluar cualquier otra modificación histológica, se realizó una valoración del grado de inflamación en el tejido conjuntivo periarterial, según la escala siguiente: 1 = acumulación focal de un pequeño número de leucocitos y de cantidades escasas de fibrina, detectados únicamente con grandes aumentos; 2 = identificación de leucocitos en múltiples campos, con grandes aumentos; 3 = identificación de abundantes leucocitos en múltiples campos, con aumentos bajos, y 4 = cantidades muy elevadas de leucocitos visibles con el menor aumento del microscopio. Todas las valoraciones las realizaron patólogos con certificado de especialidad, que desconocían los tratamientos aplicados.

Análisis estadístico

El diseño del estudio fue el de muestreo aleatorio estratificado (diseño de asignación aleatoria de bloques o subgrupos homogéneos). Los datos se obtuvieron tanto respecto a los apósitos primarios como a los de rescate, lo que dio lugar a 25 pruebas ACH y 14 pruebas AG48. Para la comparación de los tratamientos se realizó la prueba exacta de Fisher mediante el programa informático SigmaStat (versión 2.0), la significación se definió como un valor $p < 0,05$. Los valores medios de la presión arterial en el momento de la creación de la herida y de la aplicación del parche se compararon entre los grupos mediante la prueba t a través del programa informático SigmaStat (versión 2.0), y se presentaron en forma de valores medios \pm desviación estándar (DE).

RESULTADOS

Hemostasia

Entre los grupos AG48 y ACH no había diferencias en la presión arterial media en el momento de la creación de la herida ($62 \pm 9,7$ y $62,5 \pm 7,6$ mmHg, respectivamente) ni en el momento de la aplicación del tratamiento ($62 \pm 9,6$ y 62 ± 7 mmHg, respectivamente). En el grupo de tratamientos AG48, 3/14 (21%) aplicaciones permitieron alcanzar una hemostasia aguda (con mantenimiento durante 30 min) y 1/14 (7%) aplicaciones permitieron alcanzar una hemostasia crónica (con mantenimiento durante 4 h) (fig. 3). Los 14 tratamientos ACH iniciales dieron lugar a una hemostasia aguda. Por tanto, no hubo posibilidad de aplicar el tratamiento AG48 en forma de rescate. Dado que 11 tratamientos AG48 no permitieron obtener la hemostasia durante los primeros 30 min, se aplicaron 11 apósitos ACH de rescate, todos los cuales dieron lugar a una hemostasia aguda. No hubo diferencias estadísticamente significativas con respecto a la presión arterial media entre los 14 tratamientos ACH iniciales y los 11 trata-

mientos ACH de rescate (62 ± 7 y $56 \pm 13,3$; $p = 0,166$), de manera que todos ellos fueron agrupados con objeto de incrementar el tamaño de la muestra hasta 25. En el conjunto de los tratamientos ACH, 25/25 (100%) aplicaciones dieron lugar a hemostasia aguda a los 30 min y 21/25 (84%) dieron lugar a hemostasia crónica a las 4 h (fig. 4). Los 2 tratamientos AG48 que dieron lugar a hemostasia aguda pero que fallaron antes del límite de las 4 h, lo hicieron a los 44 y 92 min de la creación de la lesión. Los 3 apósitos ACH que dieron lugar a hemostasia aguda pero que fallaron antes del límite de las 4 h lo hicieron a los 130, 210 y 235 min de la lesión. En 9 de los 11 tratamientos AG48 que no dieron lugar a hemostasia aguda, el fallo se produjo inmediatamente después de liberar la presión; en las 2 aplicaciones restantes, la hemostasia se mantuvo durante 10 y 20 min, respectivamente. El apósito ACH dio lugar a una hemostasia significativamente superior al AG48 tanto a los 30 min ($p < 0,01$) como a las 4 h ($p < 0,01$). Aparte del tratamiento aplicado, no hubo otras variables que influyeran en la eficacia del apósito. El único apósito AG48 que dio lugar a hemostasia durante 4 h recibió una puntuación de adherencia de 0. En conjunto, la adherencia se evaluó en 19 de 21 apósitos ACH, y en 15 de ellos la puntuación fue de 3; los 4 restantes recibieron una puntuación de 2. Dos apósitos ACH no fueron evaluados respecto a la adherencia debido a que los autores del estudio intentaron demostrar la continuación del flujo sanguíneo a través de la arteria lesionada mediante la inyección de material radiopaco en un punto proximal a la zona de lesión. Estas manipulaciones con presión alta dieron lugar a una desestructuración del apósito, lo que hizo imposible la valoración precisa de la adherencia.

Análisis histológico

Los cambios observados en la única muestra tisular de control fueron edema segmentario en la capa íntima y tumefacción del endotelio en la luz vascular adyacente a la laceración, con desaparición de las células endoteliales en el área de la incisión parietal. Se observaron unos pocos neutrófilos en la placa de fibrina y en la capa media yacente, alrededor de la zona de fragmentación de la lámina elástica interna. No se detectaron modificaciones en las capas media o adventicia más allá de la zona lesionada. El tejido conjuntivo (TC) laxo que rodeaba al vaso presentó hemorragia con cantidades pequeñas de fibrina y unos pocos neutrófilos dispersos (grado 1). En este TC se observaron 2 acumulaciones de material intensamente eosinofílico correspondiente al parche, lo que posiblemente fue reflejo de la aplicación de un ACH en esta zona en el período posterior al estudio.

Las alteraciones microscópicas observadas en la capa íntima arterial de la zona del parche en el miembro contralateral de este animal, así como las laceraciones tratadas con el parche de chitosán, en términos gene-

rales, fueron similares a las del control. Las cantidades de neutrófilos y linfocitos atrapados en el trombo de fibrina fueron muy variables y en 3 de los 26 especímenes se observaron fragmentos pequeños de material del parche en el tapón de fibrina que rodeaba a la zona de la herida. En la capa media se detectaron alteraciones inflamatorias significativas. En todas las muestras tratadas se observaron alteraciones en la adventicia, a menudo limitadas a modificaciones ligeras en la tinción de la parte externa de esta capa, con una tonalidad hipereosinofílica en la superficie que estableció contacto con el parche. En las áreas hipereosinofílicas se observaron alteraciones más pronunciadas, tal como picnosis nuclear y disminución de la sustancia de la matriz intercelular. En aproximadamente la tercera parte de las muestras se visualizó acumulaciones de material amorfo hipereosinofílico; en 2 muestras, estas acumulaciones llegaban hasta la capa media. En la parte externa de la adventicia de 4 de 26 muestras también se observó un infiltrado leve por neutrófilos. En estas 4 muestras, el infiltrado representaba la extensión de un proceso inflamatorio más grave localizado en los tejidos periadventiciales. La inflamación existente en el tejido conjuntivo que rodeaba a la arteria se caracterizaba por hemorragia, cantidades variables de fibrina y un infiltrado predominantemente neutrofílico con escasos eosinófilos y con linfocitos ocasionales. En la valoración de la inflamación, 5 (19%) de las 26 muestras presentaron un grado 1 (similar al control); 8 (31%) de las 26 muestras un grado 2; 8 (31%) de las 26 muestras un grado 3, y 5 (19%) de las 26 muestras un grado 4.

DISCUSIÓN

En este estudio se ha comparado la eficacia hemostática de un apósito elaborado con quitosán y un de apósito convencional de gasa, en un modelo porcino de lesión arterial femoral grave. El ACH es un apósito hemostático diseñado para interrumpir la hemorragia que no se puede controlar con un torniquete debido a la localización de la lesión. Este apósito se aprobó por la FDA para su uso externo en seres humanos y, en la actualidad, se ha utilizado con buenos resultados en soldados heridos y atendidos en un contexto prehospitalario de guerra¹⁶.

Para este estudio se seleccionó un modelo porcino de hemorragia arterial debido a varios factores, incluyendo el gran diámetro del vaso, la facilidad en la aplicación del apósito y la sencillez en la evaluación de la hemostasia^{5,7,8,13}. La herida de la arteria femoral se realizó en una localización proximal debido a que en ella es difícil o imposible aplicar un torniquete temporal. La arteria femoral se puede abordar quirúrgicamente con facilidad y en este modelo la visualización es sencilla, tanto de la hemorragia como de la hemostasia. Por otra parte, la laceración de la arteria femoral induce una hemorragia arterial de grado suficiente como para que se pueda

evaluar el control de la hemorragia. De manera deliberada, la incisión inicial no siguió los planos tisulares con el objetivo de imitar, en la mayor medida posible, una lesión traumática. El sacabocados aórtico genera una lesión uniforme que no llega a seccionar completamente la arteria y que evita la retracción del vaso hacia el conducto inguinal. La aplicación de bupivacaína impide el vasospasmo arterial e induce una vasodilatación persistente, lo que potencia la hemorragia. Estas lesiones arteriales dieron lugar, en todos los casos, a una hemorragia persistente y grave, demostrada por la recidiva de la hemorragia intensa tras la eliminación del AG temporal. En los casos en los que no se obtuvo respuesta terapéutica durante la primera aplicación, y con objeto de descartar los errores o dificultades en la aplicación, se volvió a utilizar por segunda vez el mismo apósito, sin que ello conllevara ninguna connotación negativa en la evaluación. En los casos en los que falló la segunda aplicación, se aplicó el tratamiento alternativo como medida de rescate. El diseño de este modelo permite evaluar el buen resultado del tratamiento alternativo en un modelo en el que el tratamiento inicial no ha tenido éxito. En nuestro estudio, los ACH dieron lugar al rescate adecuado de todos los tratamientos con AG que habían fallado, lo que demostró la eficacia de los ACH en las mismas heridas en las que los AG no habían sido capaces de inducir hemostasia.

Las lesiones arteriales son heridas de presión y flujos elevados, condiciones que ofrecen una gran dificultad para evaluar los apósitos hemostáticos. Se han efectuado estudios múltiples para evaluar modelos de arteriotomía, tal como la aortotomía en conejos¹⁶ y cerdos^{7,14}, y la laceración de la arteria femoral en cerdos^{9,11,15}. Aunque en todos estos estudios se han evaluado dispositivos hemostáticos, el tipo de herida creada ha sido variable y ha consistido en la laceración, simple con bisturí^{9,15}, la transección con anastomosis¹⁶ y el uso de un sacabocados aórtico de 4,4^{7,14} o 6,0 mm¹¹. Aparentemente, el tipo de herida en los estudios citados se seleccionó en función del objetivo de crear un modelo de lesión uniformemente mortal. En nuestro estudio no se evaluó la mortalidad del modelo debido a que la determinación del fallecimiento no constituyó un criterio de valoración en el mismo. Sin embargo, en todas las heridas se verificó la reproducibilidad de la hemorragia grave tras la aplicación de presión sobre el apósito durante 1 min, con liberación posterior de la presión. La elevada tasa de buenos resultados obtenidos con los ACH en nuestro estudio se podría haber debido al pequeño diámetro de la herida creada en la arteria femoral. Se seleccionó un sacabocados aórtico de 2,7 mm debido a que permitió la realización de una difícil herida de flujo y presión elevados, lo que nos permitió utilizar al animal como su propio control al aplicar el tratamiento "alternativo" en el miembro posterior contralateral. Pusateri et al¹⁰ sugirieron que no es posible dejar de lado el factor representado por el diámetro de

la herida debido a que, en su estudio, los ACH ofrecieron resultados mejores en las aortotomías de 4,4 mm que en las lesiones femorales de 6,0 mm.

En los modelos hemorrágicos en los que se permite la continuación de la hemorragia arterial sin aplicación de medidas de reanimación^{9,15}, los dispositivos de control de la hemorragia se aplican a heridas en condiciones de hipotensión, lo que puede representar una prueba menos rigurosa de la eficacia del apósito en comparación con las condiciones de presión y flujos elevados. En el modelo de lesión de la arteria femoral descrito en nuestro estudio, tan pronto como se creó la herida hemorrágica se iniciaron rápidamente la administración de líquidos y las medidas de reanimación. Se permitió la hemorragia durante 5 s, un período más que suficiente como para permitir el llenado del defecto con sangre, lo que garantiza la aplicación del apósito sobre una zona de acumulación de sangre. Dado que la duración de la hemorragia fue breve y que no se produjo una disminución importante de la presión arterial, en el momento de la colocación de los apósitos para una evaluación rigurosa de su eficacia y aplicabilidad las condiciones existentes eran las de una hemorragia de presión y flujo elevados. La evitación de una hipotensión intensa permitió el uso de las 2 arterias femorales de cada animal, debido a que la presión arterial era estadísticamente la misma en ambas en el momento de la creación de la herida. En nuestro estudio, a pesar de que la presión arterial media no alcanzó los valores fisiológicos en situación de conciencia, ambos tratamientos estuvieron expuestos a una presión arterial media de $61 \pm 2,6$ mmHg a lo largo de las 4 h del estudio, es decir, a una presión arterial media aproximadamente 20-25 mmHg superior a la que han estado expuestos los ACH en otros modelos publicados de lesión de la arteria femoral^{11,15}.

Hay muchos factores que influyen potencialmente en la eficacia de la aplicación del ACH, como la precisión de la colocación del apósito sobre el vaso hemorrágico, la evitación de la interposición de los tejidos, la ausencia de movimiento del animal en el momento de la aplicación y las posibilidades de desplazamiento de la sangre y los coágulos en el interior de la herida. Todos estos factores están relacionados directamente con el hecho de que el apósito se debe adherir directamente sobre la herida y el vaso, con objeto de inducir la hemostasia. Según la experiencia de los autores del presente estudio, hay un período crítico correspondiente a los primeros 3 min desde la aplicación del apósito, durante el cual el ACH se empapa de sangre y se adhiere al lecho de la herida. Durante este período crítico, es necesario aplicar una presión sobre el apósito para evitar que se mueva, así refacilita su adherencia. En los casos en los que el ACH falló en el primer intento, a menudo se pudo demostrar que la causa estuvo en la técnica de aplicación. Con frecuencia, la intensidad de la hemorragia impidió al cirujano la visualización de la

colocación directa del apósito sobre la herida, una causa de fallo que ya se ha señalado por otros autores. En la segunda aplicación, el cirujano pudo reajustar la posición del apósito para colocarlo con mayor precisión. Esta cuestión no tuvo relevancia en los casos de fallo de los AG debido a que estos apósitos no necesitan adherirse a la herida.

El ACH es de un material rígido, ligero y elaborado mediante la técnica de congelación-secado, reforzado con plástico. La falta inherente de flexibilidad de este material hace difícil su aplicación en las heridas en las que es necesario doblar el apósito para acceder al origen de la hemorragia. Durante el desarrollo inicial de este apósito no se llevó a cabo su predistensión, lo que hizo que aparecieran grietas en el biomaterial con fallo del apósito. A menudo, las razones del fallo fueron la irregularidad de la superficie de la herida y la falta de flexibilidad del ACH^{11,14}. En nuestro estudio, la flexibilidad del material mejoró de manera importante y fue posible evitar la aparición de grietas en él mediante la flexión/enrollamiento del apósito sobre un rollo rígido de apósito. La predistensión del apósito permitió que éste tuviera la flexibilidad suficiente como para que se colocara en zonas de herida pequeñas y profundas. Nuestro estudio es un primer paso en la demostración de la viabilidad y la efectividad de las maniobras controladas de prerreblandecimiento del ACH para su aplicación en las lesiones profundas de las extremidades. En la actualidad, el elevado grado de rigidez del ACH está siendo estudiado por la compañía fabricante con objeto de elaborar nuevos prototipos de ACH más finos y mecánicamente prerreblandecidos, que se puedan acoplar fácilmente a muchas lesiones complejas, incluyendo las heridas profundas de las extremidades. Sin embargo, son necesarios nuevos estudios para determinar si la predistensión del apósito mejora su capacidad de acoplamiento y su resultado respecto a la hemostasia.

Los resultados obtenidos con los ACH en estudios realizados con control en animales de experimentación han sido contradictorios^{11,13,15}. Sin embargo, en una revisión de los apósitos utilizados en pacientes lesionados en situaciones de combate de guerra se observó una tasa de buenos resultados del 97% en 62 casos¹⁶. Las diferencias en las técnicas de aplicación y en los modelos utilizados pueden explicar parcialmente la variabilidad en los resultados experimentales, aunque en los contextos de combate de guerra se deben esperar diferencias importantes en las técnicas de aplicación y en las características de las heridas tratadas. Durante el desarrollo inicial del modelo utilizado en nuestro estudio, la aplicación del apósito se llevó a cabo tal como recomiendan las instrucciones del fabricante, incluyendo la compresión de la herida "con los dedos de la mano". No obstante, observamos que esta forma de compresión fue desigual y se asoció a una adherencia insuficiente a la superficie de la herida. Nuestra opi-

nión es la de que la colocación del apósito para el control de la hemorragia mediante la aplicación de una presión sobre éste con un rollo de gasa, más que con los dedos, permite una distribución más uniforme de la presión sobre el ACH, minimiza el riesgo de fractura del propio apósito y disminuye las posibilidades de sellado de una herida hemorrágica. Por otra parte, el uso de un rollo de gasa amplía la herida y desplaza los tejidos, así impide la interposición de los éstos entre el ACH y el punto sangrante. El uso de un rollo de gasa para la aplicación de la presión, en combinación con la predistensión de los ACH, se consideraron elementos clave para el buen resultado de la aplicación del ACH en las heridas inguinales profundas.

La colocación del ACH en nuestro estudio se llevó a cabo en condiciones ideales, con el animal inmóvil y con una elevada probabilidad de que el apósito quedara colocado en la zona de sangrado arterial. Además, los apósitos cuadrados de 10 × 10 cm se cortaron en cuadrados de 5 cm de lado para facilitar su colocación sobre la herida. En nuestro modelo, los apósitos convencionales de 10 × 10 cm no se podían ajustar en la lesión de 6 cm de longitud efectuada en la ingle sin que fueran doblados, con una fractura básica de la integridad estructural del apósito. En un modelo preclínico de lesión en la ingle publicado previamente fue necesario el corte de los apósitos ACH por la mitad¹¹. En los contextos de combate de guerra también se han realizado el desgarrar y el corte de los apósitos para conseguir un ajuste mejor de éstos sobre la herida¹⁶.

El material del parche de quitosán no dio lugar a efectos morfológicamente visibles sobre la capa íntima ni sobre el trombo de fibrina intravascular, aunque sí indujo aparentemente alteraciones en los tejidos conjuntivos adventicial y periadventicial. Los ejemplos más marcados de alteración adventicial son sugestivos de necrosis por coagulación y es posible que en este cambio puedan desempeñar un papel el efecto osmótico y el del pH. También se observó una respuesta inflamatoria aguda en la mayor parte de las arterias tratadas, por lo que es necesaria la evaluación de las consecuencias a largo plazo de esta respuesta.

CONCLUSIONES

El modelo utilizado en nuestro estudio ha demostrado ser un método efectivo para comparar los dispositivos de control de la hemorragia. Este buen resultado se puede deber, en parte, a la mayor flexibilidad de los apósitos tras su predistensión antes de su aplicación, al uso de un rollo de gasa para distribuir de manera más uniforme la presión durante la aplicación del apósito, a la disminución del tamaño del apósitos para que se ajustara mejor a la herida y al tamaño reducido de la arteriotomía. Los ACH utilizados para el control de la hemorragia indujeron una hemostasia significativamente superior a la obtenida con los AG48 en lesiones de la

arteria femoral inguinal. Los ACH pueden constituir una opción adicional en el tratamiento de las heridas hemorrágicas graves en el contexto prehospitalario.

Los autores agradecen a Natalie Mintz, CVT, y a Jackie Moen su ayuda en los aspectos técnicos del estudio, y a Alix Gitelman, PhD, su ayuda en los aspectos estadísticos de éste.

Bibliografía

1. Neuffer MC, McDivitt J, Rose D, King K, Cloonan CC, Vayer JS. Hemostatic dressings for the first responder: a review. *Mil Med.* 2004;169(9):716–20.
2. Sauaia A, Moore FA, Moore EE, Moser KS, Brennan R, Read RA, Pons PT. Epidemiology of trauma deaths: a reassessment. *J Trauma.* 1995;38(2):185–93.
3. Bellamy RF. The causes of death in conventional land warfare: implications for combat casualty care research. *Mil Med.* 1984;149(2):55–62.
4. Pearl JP, McNally MP, Perdue PW. Femoral vessel injuries in modern warfare since Vietnam. *Mil Med.* 2003;168(9):733–5.
5. Mabry RL, Holcomb JB, Baker AM, Cloonan CC, Uhorchak JM, Perkins DE, Canfield AJ, et al. United States Army Rangers in Somalia: an analysis of combat casualties on an urban battlefield. *J Trauma.* 2000;49(3):515–28.
6. Holcomb J, MacPhee M, Hetz S, Harris R, Pusateri A, Hess J. Efficacy of a dry fibrin sealant dressing for hemorrhage control after ballistic injury. *Arch Surg.* 1998;133(1):32–5.
7. Sondeen JL, Pusateri AE, Coppes VG, Gaddy CE, Holcomb JB. Comparison of 10 different hemostatic dressings in an aortic injury. *Trauma.* 2003;54(2):280–5.
8. Pusateri AE, Modrow HE, Harris RA, Holcomb JB, Hess JR, Mosebar RH, Reid TJ, et al. Advanced hemostatic dressing development program: animal model selection criteria and results of a study of nine hemostatic dressings in a model of severe large venous hemorrhage and hepatic injury in Swine. *J Trauma.* 2003;55(3):518–26.
9. Alam B, Uy GB, Miller D, Koustova E, Hancock T, Inocencio R, Anderson D, et al. Comparative analysis of hemostatic agents in a swine model of lethal groin injury. *J Trauma.* 2003;54(6):1077–82.
10. Pusateri AE, Holcomb J, Kheirabadi BS, Hason BA, Wade CE, Ryan KL. Making sense of the preclinical literature on advanced hemostatic products. *J Trauma.* 2006;60(3):674–82.
11. Acheson EM, Kheirabadi BS, Deguzman R, Dick EJ, Jr. Holcomb JB. Comparison of hemorrhage control agents applied to lethal extremity arterial hemorrhages in swine. *J Trauma.* 2005;59(4):865–75.
12. Alam HB, Burris DDJA, Rhee P. Hemorrhage control in the battlefield: role of new hemostatic agents. *Mil Med.* 2005;170(1):63–69.
13. Pusateri AE, McCarthy SJ, Gregory KW, Harris RA, Cardenas L, McManus AT, Goodwin Jr CW. Effect of a chitosan-based hemostatic dressing on blood loss and survival in a model of severe venous hemorrhage and hepatic injury in swine. *J Trauma.* 2003;54(1):177–82.
14. Kheirabadi S, Acheson EM, Deguzman R, Sondeen JL, Ryan KL, Delgado A, Dick Jr. EJ, et al. Hemostatic efficacy of two advanced dressings in an aortic hemorrhage model in Swine. *J Trauma.* 2005;59(1):25–345.
15. Alam B, Chen Z, Jaskille A, Querol I, Koustova E, Inocencio R, Conran R, et al. Application of a zeolite hemostatic agent achieves 100% survival in a lethal model of complex groin injury in Swine. *J Trauma.* 2004;56(5): 974–83.
16. Wedmore I, McManus JG, Pusateri AE, Holcomb JB. A special report on the chitosan-based hemostatic dressing: experience in current combat operations. *J Trauma.* 2006;60(3):655–8.