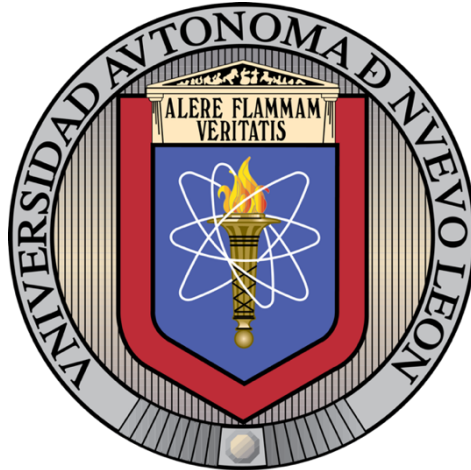


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE MEDICINA**



**EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LA APLICACIÓN TÓPICA  
DE LA NITROGLICERINA EN CREMA CADA 12 HORAS VERSUS  
LA APLICACIÓN CADA 24 HORAS SOBRE LOS COLGAJOS  
CUTÁNEOS CON COMPROMISO VASCULAR EN RATAS WISTAR.**

**Por**

**DR. DANIEL EDUARDO SALDÍVAR MARTÍNEZ**

**Como requisito parcial para obtener el grado de**

**Especialista en**

**CIRUGÍA PLÁSTICA, ESTÉTICA Y RECONSTRUCTIVA**

**EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LA APLICACIÓN TÓPICA  
DE LA NITROGLICERINA EN CREMA CADA 12 HORAS VERSUS  
LA APLICACIÓN CADA 24 HORAS SOBRE LOS COLGAJOS  
CUTÁNEOS CON COMPROMISO VASCULAR EN RATAS WISTAR.**

**Aprobación de la tesis:**



---

**Dr. med. Yanko Castro Govea**  
**Director de la Tesis**



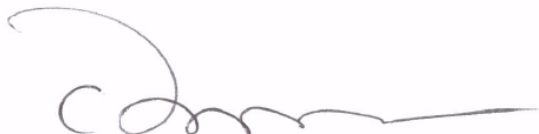
---

**Dra. Cinthia Minerva González Cantú**  
**Co-director de Tesis**



---

**Dr. med. Yanko Castro Govea**  
**Jefe del Servicio de Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva**



---

**Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez**  
**Subdirector de Estudios de Posgrado**

## **AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA**

**A mi esposa,  
A mis padres,  
A mis maestros.**

## TABLA DE CONTENIDO

|                       | Pagina |
|-----------------------|--------|
| CAPITULO I            |        |
| 1.RESUMEN             | 7      |
| CAPITULO II           |        |
| 2. INTRODUCCION       | 8      |
| CAPITULO III          |        |
| 3. HIPOTESIS          | 13     |
| CAPITULO IV           |        |
| 4. OBJETIVO           | 14     |
| CAPITULO V            |        |
| 5. MATERIAL Y METODOS | 15     |
| CAPITULO VI           |        |
| 6. RESULTADOS         | 24     |
| CAPITULO VII          |        |
| 7. DISCUSION          | 29     |
| CAPITULO VIII         |        |

|                            |    |
|----------------------------|----|
| 8. CONCLUSIONES            | 32 |
| CAPITULO IX                |    |
| 9. REFERENCIAS             | 34 |
| CAPITULO XI                |    |
| 10. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO | 40 |

## LISTA DE TABLAS E IMAGENES

| TABLA E IMAGEN  | Pagina |
|---|--------|
| Figura 1. Diseño y forma de realización del colgajo de 2x8 cm en dorso de rata wistar (posoperatorio inmediato).              | 17     |
| Figura 2. Nitroglicerina al 2% empelada en el estudio.  | 18     |
| Figura 3. Fotografía en el 7mo día posoperatorio, valoración de área de necrosis y toma de biopsias.                          | 20     |
| Tabla 1. de Resultados. media y desviación estándar para las variables de estudio de cada grupo y la comparación entre ellos. | 25     |
| Tabla 2. Resultados de comparación individual por grupos para las variables de interés del colgajo                            | 26     |
| Figura 4. Diagrama de cajas y bigotes para el porcentaje de necrosis del colgajo de cada grupo                                | 27     |
| Figura 5. Valores individuales del porcentaje de necrosis de cada grupo.  | 28     |

# CAPITULO 1

## RESUMEN

**Introducción:** Los colgajos cutáneos son una herramienta indispensable para la reconstrucción de heridas causadas por traumatismos, resección de tumores o resección de alguna alteración congénita o úlceras. Un problema clínico al realizar un colgajo es la posibilidad del desarrollo de necrosis isquémica causando la pérdida de este. La nitroglicerina es un potente vasodilatador que se puede aplicar por vía tópica u oral y actúa directamente en las arterias y las venas de los colgajos, aumentando su viabilidad sin alcanzar niveles sistémicos.

**Objetivo:** En este estudio buscamos determinar si el efecto local con una administración cada 12 horas (2 veces al día) podría ser mejor que la aplicación de este medicamento cada 24 horas, sin llegar a causar un efecto sistémico negativo en la viabilidad de los colgajos.

**Metodología:** se formaron 5 grupos de 5 ratas Wistar cada uno, se les realizó un colgajo de 2x8 cm en el dorso a cada rata, al grupo 1 (control); se le aplicó vaselina, Grupo 2; 0.8 mg de nitroglicerina crema al 2% cada 12 horas, Grupo 3; 0.8 mg de nitroglicerina crema al 2% cada 24 horas, Grupo 4; 0.2 mg de nitroglicerina crema al 2% cada 12 horas y Grupo 5; 0.2 mg de nitroglicerina crema al 2% cada 24 horas. Posterior a ello se aplicó eutanasia a las ratas y se tomarán fotografías para ser analizadas mediante software y determinar el área de necrosis.

**Resultados:** se obtuvieron un total de 25 ratas de las cuales 2 murieron previo a la terminación del estudio, una perteneciente al Grupo 1 (Control) y otra al Grupo 2. En el Grupo 1 (Control) se observó el mayor área y porcentaje de necrosis,  $612.90\text{mm}^2 \pm 194.80$  y 36.96% respectivamente. Así mismo, el grupo al que se administró 0.8mg c/24 h presentó una menor área de necrosis  $279.94\text{mm}^2 \pm 162.64$  y 19.32%. Además, se observó una reducción en el área de necrosis en el grupo al que se le administro 0.8mg c/ 12 horas ( $612.90 \pm 194.80$  vs  $292.19 \pm 91.83$ ;  $p < .05$ ) en comparación con el grupo control. Así mismo, también existió una reducción en el área de necrosis en el grupo al que se le administro 0.8mg c 24 h ( $612.90 \pm 194.80$  vs  $279.94 \pm 162.64$ ;  $p < .05$ ) contra el grupo control.

**Conclusión:** La nitroglicerina en crema al 2% presenta un beneficio al ser aplicada dentro de los colgajos cutáneos aleatorios con compromiso vascular., En este estudio, pudimos comprobar que una dosis de 0.8 mg de nitroglicerina al 2% es segura y efectiva para la viabilidad de colgajos aleatorios en ratas, con una frecuencia de aplicación ya sea de cada 24 h y cada 12 h frente a una dosis de 0.2 mg cada 12 y cada 24 h o el placebo..

## CAPITULO II

### 2. INTRODUCCIÓN

Los colgajos cutáneos son una herramienta indispensable para la reconstrucción de heridas causadas por traumatismos, resección de tumores o resección de alguna alteración congénita o úlceras (1). Un problema clínico al realizar un colgajo es la posibilidad del desarrollo de necrosis isquémica, ya sea un



colgajo cutáneo de patrón aleatorio, el cual tiene irrigación del plexo subdérmico, un colgajo pediculado o incluso un colgajo libre(2). Cuando ocurre la necrosis de un colgajo el principio fundamental del procedimiento se pierde, dejando un área cruenta sin cobertura, lo que puede ocasionar complicaciones graves para el paciente.

Algo que tienen en común todos los tipos de colgajos utilizados para la cobertura de un defecto ya sea un colgajo aleatorio, pediculado, axial, o un colgajo libre, es que todos tienen una longitud máxima de supervivencia que está determinada por el equilibrio entre la presión de perfusión y la resistencia vascular (3). Entre las técnicas existentes para mejorar la viabilidad de los colgajos se encuentra el retraso quirúrgico y vascular que consiste en diseñar el colgajo de piel en el sitio donante y se realizan 2 cortes solo en los lados longitudinales, creando un colgajo bipediculado, el cual se diseña por debajo del colgajo bipediculado para que viva solo por la nutrición de ambos pedículos, este se deja esperar un lapso de 2 a 3 semanas y al cabo de ese tiempo se corta el extremo distal o tercer lado, el cual puede variar en cortarlo completo o la mitad y esperar 2 a 3 días más para cortarlo completo.(4) esta técnica la cual es efectiva para aumentar la viabilidad tiene la gran desventaja de que consume mucho tiempo y es costosa (5). Motivo por el cual es de difícil aplicación en la práctica clínica.

En cuanto a la fisiología de los colgajos, es bien sabido que los cambios fisiológicos microvasculares tales como la liberación de sustancias vasoconstrictores y protrombóticas en la zona donadora por el traumatismo

quirúrgico causan vasoespasmo y trombosis (6). Durante la formación y estabilización de un colgajo estos procesos pueden llegar a influir en la aparición de isquemia en la zona distal del colgajo(6,7).

Una de las sustancias vasoactivas mediada por las células endoteliales es el óxido nítrico, un fuerte vasodilatador, el cual aumenta el flujo de la microcirculación (7) a través de la óxido nitro sintetasa para mantener la presión sanguínea y el flujo sanguíneo; actúa sobre el músculo liso vascular al promover la angiogénesis y ocasionando una mejor supervivencia del colgajo isquémico debido a su importante factor vasodilatador arteriolar, disminuyendo la incidencia de trombosis en vasos pequeños (8).

Distintas investigaciones con vasodilatadores tales como la nitroglicerina, fentolamina, hidralazina, reserpina, isoxsuprina, guanetidina, dimetilsulfóxido y fenoxibenzamina; han mostrado resultados controversiales en la tasa de supervivencia de los colgajos (9).

La nitroglicerina es un éster de poliol derivado del ácido nítrico (10). Es un vasodilatador directo, tanto venoso como arterial, ampliamente conocido y descrito por William Murrell desde 1879 como tratamiento para la angina de pecho estable (11).

La nitroglicerina es un potente vasodilatador que se puede aplicar por vía tópica u oral. Estudios recientes sobre viabilidad de colgajos la han usado de forma

tópica, lo que le permite actuar directamente en las arterias y las venas, evitando su aumento en niveles sistémicos lo que evita los efectos adversos, tales como náuseas, mareos, e hipotensión (12). Otro beneficio de usar la nitroglicerina de forma tópica es que el uso ambulatorio es posible y de fácil aplicación (8)(9).

El efecto máximo de la nitroglicerina tópica es entre 4 – 6 horas, con una media de menos de 24 horas (13), por lo que determinar una frecuencia adecuada sin causar efectos sistémicos sería muy útil para la práctica clínica, aumentando la seguridad de su uso con los pacientes y mejorando la viabilidad de los colgajos cutáneos.

Recientemente, se ha reportado que posiblemente el efecto local o sistémico en modelos murinos de la aplicación de medicamentos que intenten mejorar el aporte vascular promoviendo la vasodilatación de los colgajos puedan causar hipotensión, lo que no permite una mejor perfusión de estos. Sin embargo, se ha sugerido que optimizar el ajuste de dosis y periodicidad podría ser beneficioso para mejorar la barrera de la hipotensión local o sistémica y aumentar la viabilidad. (14) por lo que probando diferentes dosis y periodicidad de aplicación podríamos obtener mejores resultados en la viabilidad de los colgajos.

Reportes previos han analizado el uso de nitroglicerina en colgajos. Rohrich *et al.* demostró en un modelo murino la supervivencia de los colgajos usando nitroglicerina posoperatoria (10). Estudios previos no determinan una recomendación en la forma del empleo de la nitroglicerina más efectiva, a pesar de

reportar efectos beneficiosos (14). Sin embargo, en algunos otros estudios clínicos y en animales informan un efecto negativo en la supervivencia de los colgajos con compromiso vascular con el empleo de nitroglicerina tópica (15). En investigaciones para mejorar la viabilidad de los colgajos con el pre-acondicionamiento en conjunto con el uso de espermina/óxido nítrico ha sido positivo, pero depende de la dosis seleccionada como del tipo de aplicación(16) (17). En la mayoría de los estudios, las dosis de aplicación o forma de aplicar una crema es muy subjetiva, indicando solamente la aplicación de una capa fina en la superficie del colgajo sin especificar algún tipo de medida (18), el uso con seguridad y modo de empleo en la práctica clínica no está consensado.

Por otra parte, existen estudios clínicos dónde la aplicación de nitroglicerina se asoció de manera significativa e independiente con menor necrosis de los colgajos cutáneos (12) incluso existen meta análisis que demuestran su posible beneficio en los colgajos cutáneos (19). A pesar de las ventajas que se ha reportado sobre la nitroglicerina, su uso como agente para mejorar la viabilidad de los colgajos con compromiso vascular no se aplica comúnmente en la práctica clínica por la incertidumbre sobre la evolución de los colgajos (14).

Es posible que lo anterior se deba a que no hay datos específicos de la frecuencia y forma de aplicación, así mismo no existe una guía de tratamiento para darle una aplicación clínica.

En este estudio buscamos demostrar que un efecto local con una administración cada 12 horas (2 veces al día) podría ser mejor que la aplicación de este medicamento cada 24 horas, sin llegar a causar un efecto negativo en la viabilidad de los colgajos. En un estudio previo realizado por nuestro grupo de investigación (20) la aplicación de 30 mg nitroglicerina cada 24 horas fue superior a la aplicación de 30 mg cada 12 horas para preservar la viabilidad. Por lo que, en este estudio, se busca optimizar la dosis y frecuencia de aplicación para mejorar la viabilidad de los colgajos.

## **CAPITULO III**

### **3. HIPOTESIS**

#### **Hipótesis de investigación (Hi)**

Existe una mayor supervivencia del colgajo con la aplicación cada 12 h de 0.2 mg nitroglicerina en crema al 2% de forma tópica cada 12 h contra la aplicación cada 24 horas 0.8 mg sobre los colgajos cutáneos.

#### **Hipótesis nula: (H0)**

**No existe** una mayor supervivencia del colgajo con la aplicación cada 12 h de 0.2 mg nitroglicerina en crema al 2% de forma tópica cada 12 h contra la aplicación cada 24 h 0.8 mg sobre los colgajos cutáneos.

## **CAPITULO IV**

### **4. OBJETIVOS**

#### **Objetivo general:**

Evaluar en la supervivencia de los colgajos cutáneos con patrón vascular aleatorio según la frecuencia (12 y 24 h) y dosis de aplicación (0.2 y 0.8mg) en ratas Wistar.

#### **Objetivos específicos:**

- Definir el porcentaje cutáneo necrosado en cada grupo.

- Determinar los cambios histológicos, neovascularización, cambio en el calibre de los vasos sanguíneos, epidermólisis en los colgajos tratados con distintas dosis y frecuencia de aplicación de nitroglicerina.
- Determinar la presencia de CD31 por inmunohistoquímica para elucidar cuantitativamente la generación de nuevos vasos sanguíneos.

## **CAPITULO V**

### **5. MATERIAL Y MÉTODOS**

Se realizó un estudio de tipo experimental y analítico, con modelo murino.

#### *Modelo murino de colgajo cutáneo*

Se utilizaron un total de 25 ratas Wistar entre machos y hembras, de 3 a 5 meses de edad, y con un peso corporal de 200 a 350 gramos. El estudio fue realizado en el laboratorio de investigación en el departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina, cumpliendo con las recomendaciones de la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio, 8ª edición. Los animales fueron distribuidos en 5 grupos con 5 animales cada uno, se pesaron individualmente en

una balanza digital con una precisión de  $\pm 0.1$  gramos. Todos los animales se mantuvieron en cajas de acrílico cristal (43cm x 53cm x 20cm), con un área de 2279 cm<sup>2</sup> con tapa de rejilla de acero inoxidable en pequeños grupos del mismo sexo (5 animales por caja). Los animales se mantuvieron durante 5 días previos al inicio del estudio para permitirle su aclimatación a las condiciones estándar de laboratorio, ciclo luz-obscuridad de 12 horas, temperatura  $22 \pm 3$  °C, con agua, alimento *ad libitum* y cambio de encamado 3 veces por semana. La calidad del alimento utilizado fue de Rodent Laboratory Chow 5001<sup>®</sup> de PMI Richmond, IN. U.S.A balanceado y libre de antibióticos.

Para llevar a cabo los procedimientos quirúrgicos, primeramente, se les aplicó a las ratas una sedación aplicando Ketamina (75 mg/kg; vía intraperitoneal) y Xilacina (10 mg/kg; intraperitoneal) para brindar anestesia preoperatoria. Posteriormente, se comprobó que se mantenían en plano anestésico mediante un pinchazo en la oreja y cola, y se evaluó el reflejo corneal. Una vez en plano anestésico, se les afeitó el dorso con una máquina eléctrica y se les realizó un colgajo con medidas de 2 x 8 centímetros con la base craneal el cual estuvo compuesto de piel y tejido celular subcutáneo. Una vez disecados los colgajos se suturaron inmediatamente a su posición original con sutura continua de nylon 4-0.

Después de la realización de los colgajos cutáneos se continuo con el manejo de analgesia ya establecido (Tramadol 0.5mg/kg cada 12 horas vía intramuscular y Meloxicam 1mg/kg cada 12 horas vía Subcutánea). En caso de que hubiese detección de algún indicador de dolor (como liberación de porfirinas, pelo hirsuto,



apatía, anorexia, deshidratación e inflamación de la herida) se planeó la aplicación de Meloxicam 1mg/kg vía Subcutánea como agente analgésico, sin embargo, no fue necesario. Además, en caso de que los signos de dolor no hubiesen desaparecido en algún animal del estudio, se planeo la aplicación del criterio de terminación para dicho animal y se procedería a realizar eutanasia conforme las recomendaciones de la NOM-062-ZOO-1999 pág. 40-41 (9.4.2.2.2) con pentobarbital sódico a dosis de 120-210 mg/kg intraperitoneal diluyendo con solución salina a 1 mL. Comprobando la muerte con la interrupción de signos vitales (latidos y respiración). Se verificaría la muerte con dislocación cervical. A continuación, serian colocadas en bolsa amarilla y se llevara al sitio de contención de RPBI de la institución en donde se les daría disposición final de acuerdo con la normativa interna.



Figura 1. Diseño y forma de realización del colgajo de 2x8 cm en dorso de rata wistar (posoperatorio inmediato).

Al término de las cirugías, los animales ya distribuidos aleatoriamente en 5 grupos (n=5 por grupo) cada uno se procedió a aplicarles de manera tópica el tratamiento correspondiente en el colgajo por 7 días.

**Grupo 1: (Grupo control)** Aplicación postoperatoria de vaselina (0.5 mL) en el colgajo cada 12 horas.

**Grupo 2: (Grupo cada 12 h - 0.8 mg)** Aplicación postoperatoria en todo el colgajo de nitroglicerina crema al 2% 0.8 mg (4 microlitros) cada 12 horas.

**Grupo 3: (Grupo de cada 24 h - 0.8 mg)** Aplicación postoperatoria en todo el colgajo de nitroglicerina crema al 2% 0.8 mg (4 microlitros) cada 24 horas.

**Grupo 4: (Grupo de cada 12 h - 0.2mg)** Aplicación postoperatoria en todo el colgajo de nitroglicerina crema al 2% 0.2mg (1 microlitro) cada 12 horas.

**Grupo 5: (Grupo de cada 24 h - 0.2mg)** Aplicación postoperatoria en todo el colgajo de nitroglicerina crema al 2% 0.2mg (1 microlitro) cada 24 horas.



Figura 2. Nitro-Bid ® (Nitroglicerina tópica al 2%)

Estudios previos han demostrado la tendencia de la rata al auto canibalismo de la porción necrosada distal del colgajo.(21) Para prevenir esto, todos los colgajos fueron cubiertos con un parche oclusivo en toda su extensión el cual fue sujetado con tela adhesiva, esto se realizó posterior a cada aplicación del medicamento de acuerdo con la frecuencia correspondiente a cada grupo.

El período de observación experimental fue de 7 días. En el séptimo día postoperatorio de acuerdo con las recomendaciones de la NOM-062-ZOO-1999 pág. 40-41 (9.4.2.2.2) se llevo a cabo la eutanasia con pentobarbital sódico a dosis de 120-210 mg/kg intraperitoneal diluyendo con solución salina a 1 mL. Posteriormente, se realizó un método de corroboración de eutanasia donde se realizó con una dislocación cervical, y finalmente se comprobó la muerte con la interrupción de signos vitales (latidos y respiración). Inmediatamente se midió el área del colgajo viable por una persona ajena al estudio con una plantilla de plástico semirrígida marcada en milímetros, tomando en cuenta como tejido viable el área que no presente necrosis franca entendida como sequedad, endurecimiento, epidermólisis y cambios de coloración. (figura 3)

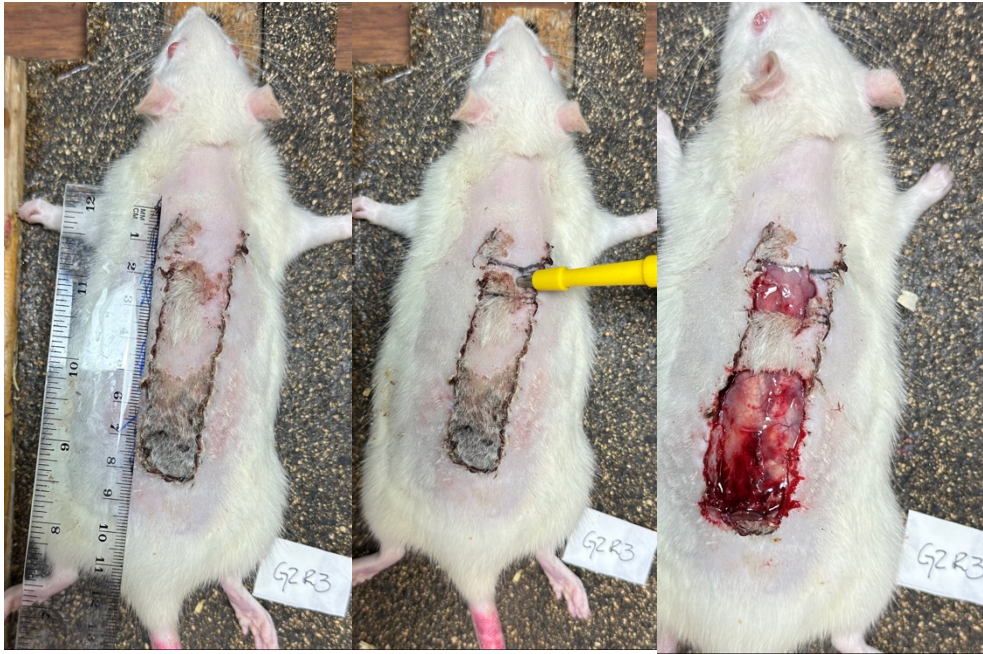


Figura 3. . fotografía en el séptimo día posoperatorio, valoración de área de necrosis y toma de biopsias.

Se tomaron fotografías y las imágenes que se digitalizaron, fueron evaluadas cuantitativamente con el programa Image J® para Windows versión 1.54 (National Institutes of Health, EE. UU.) para determinar el porcentaje cuantitativo del área de viabilidad.

Posteriormente, se tomaron muestras de tejido del colgajo para su estudio histológico en la zona proximal del mismo ente el primer y segundo centímetro del colgajo, así mismo se recabo una segunda muestra en sacabocado de 3mm en el área antes mencionada para determinar la aparición de neovascularización hacia el tejido profundo. Complementariamente, se tomo la muestra de tejido del área de transición de los colgajos. (figura 3)

Las muestras histológicas fueron colocadas en formol al 10% y se enviaron al departamento de histología donde se realizó tinción de hematoxilina y eosina, para determinar las características morfológicas, de la epidermis, dermis, vasos sanguíneos, presencia de células inflamatorias, epidermólisis. Además, se realizaron pruebas de inmunohistoquímica de la proteína CD31 con la intención de identificar si existe diferencia entre las muestras células de origen vascular. Por último, las muestras histológicas fueron sometidas a un análisis cuantitativo con el programa Image J® para Windows versión 1.54 (National Institutes of Health, EE. UU.) para la medición del calibre de los vasos sanguíneos presentes en las muestras histológicas y de las diferencias de las tinciones de inmunohistoquímica.

## Criterios de Eliminación

Como regla general del estudio se determino que se practicaría eutanasia de acuerdo con las recomendaciones de la NOM-062-ZOO-1999 pág. 40-41 (9.4.2.2.2) en cualquier momento del estudio si se detectase alguna de las ratas lo siguiente: indicador de dolor no controlable, con evidencia de liberación de porfirinas, pelo hirsuto, apatía, anorexia, deshidratación e inflamación de la herida. De lo cual lo anterior no fue necesario ya que los animales no presentaron dichos signos.

### Variables

| Nombre de la variable      | Tipo de variable | Definición operacional   | Valor de la variable      |
|----------------------------|------------------|--|---------------------------|
| Viabilidad de los colgajos | Cuantitativa     | Determinado por tamaño del tejido sin necrosis                   | Milímetros                |
| Formación de neovasos      | Cualitativa      | Presencia de nuevos vasos observados por microscopia electrónica | Presentes<br>No presentes |
| Calibre de los vasos       | Cuantitativa     | Medición del calibre de los vasos                                | Milímetros                |
| Epidermólisis              | Cualitativa      | Presencia de necrosis en la epidermis                            | Presente<br>No presente   |

**Captura de datos:** Se recabo por una sola persona en Excel para MAC OS X MOJAVE y se realizará un análisis estadístico en SPSS IBM SPSS Statistics for Windows, Versión 25.0.

### Análisis estadístico

Las variables cuantitativas (área viable, área con necrosis, porcentaje de área viable y porcentaje de necrosis) se reportaron como media y desviación estándar.

Debido a la baja cantidad de observaciones por grupo, para comparar variables cuantitativas (área viable, área con necrosis, porcentaje de área viable y porcentaje de necrosis) para muestras independientes se realizó la prueba U de Mann Whitney. Para comparar variables cuantitativas (área viable, área con necrosis, porcentaje de área viable y porcentaje de necrosis) para múltiples muestras independientes se utilizó la prueba de Kruskal Wallis. Un valor de p menor a .05 se tomó como estadísticamente significativo.

El análisis estadístico se realizó en el paquete SPSS versión 25.0 (IBM, Armonk, NY, USA). Los gráficos se realizaron en el software R (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

### **Cálculo de tamaño de muestra**

Se utilizó la fórmula de método de la ecuación de recursos basada en la prueba ANOVA, se calculó el número de animales necesario para cada grupo:

$E = \text{Número total de animales} - \text{Número total de grupos}$

el valor de E debe situarse entre 10 y 20. asumiendo 5 grupos y 5 animales por grupo:

$E = (5 \times 5) - 5$

$E = 20$

Por lo que se necesitaron 5 ratas de estudio por grupo.

Los parámetros fueron establecidos en base a esta referencia:

Charan, J., & Kantharia, N.D. (2013). How to calculate sample size in animal studies? *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*, 4(4), 303–306. <https://doi.org/10.4103/0976-500X.119726>

## CAPITULO VI

### 6. Resultados

En la Tabla 1 se muestra la media y desviación estándar para las variables de estudio de cada grupo y la comparación entre ellos. En total se estudiaron 23 ratas. 2 ratas murieron previo a la terminación del estudio, una del Grupo 1 (Control) y otra del Grupo 2. El Grupo 1 (Control) experimentó el mayor área y porcentaje de necrosis,  $612.90\text{mm}^2 \pm 194.80$  y  $36.96\%$  respectivamente. Así mismo, el grupo al que se administró 4 UI c/24 hrs fue el que experimentó una menor área de necrosis  $279.94\text{mm}^2 \pm 162.64$  y  $19.32\%$ . Además, se observó una diferencia estadísticamente significativa en el área de necrosis con respecto al grupo control versus el grupo al que se le administro 4 UI cada 12 horas ( $612.90 \pm 194.80$  vs  $292.19 \pm 91.83$ ;  $p < .05$ ). También existió una diferencia estadísticamente significativa en el área de necrosis con respecto al grupo control versus el grupo al que se le administro 4 UI cada 24 horas ( $612.90 \pm 194.80$  vs  $279.94 \pm 162.64$ ;  $p < .05$ ). En la figura 1 se representa un diagrama de cajas y bigotes para el porcentaje de necrosis del colgajo de cada grupo. A manera general, en la figura 2 se observan los



resultados de porcentaje de necrosis de las ratas de manera individual para cada grupo.

Tabla 1. . Media y desviación estándar para las variables de estudio de cada grupo y la comparación entre ellos.

|   | <b>Grupo 1<br/>Control</b> | <b>Grupo 2<br/>0.8mg c/12 hr</b> | <b>Grupo 3<br/>0.2mg c/24 hr</b> | <b>Grupo 4<br/>0.8mg c/24 hr</b> | <b>Grupo 5<br/>0.2 mg c/12 hr</b> | <b>p</b>           |
|---|----------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|--------------------|
| <b>Área viable<br/>(mm<sup>2</sup>)</b>   | 1068.26±288.80             | 1172.43±209.78                   | 1029.15±143.53                   | 1173.44±185.73                   | 1165.85±245.24                    | .63                |
| <b>Área necrosis<br/>(mm<sup>2</sup>)</b> | 612.90±194.80              | 292.19±91.83                     | 356.59±125.77                    | 279.94±162.64                    | 485.66±164.22                     | .04 <sup>1,2</sup> |
| <b>%viable</b>                            | 63.03±12.25                | 79.62±7.47                       | 74.46±6.8                        | 80.67±11.23                      | 70.19±11.21                       | .19                |
| <b>%necrosis</b>                          | 36.96±12.25                | 20.37 ±7.47                      | 25.53±6.88                       | 19.32±11.23                      | 29.80±11.24                       | .19                |

**Grupo 1 vs:**

<sup>1</sup>Grupo 2 (p=.02)

<sup>2</sup>Grupo 4 (p=.02)

\*Prueba de Kruskal-Wallis para comparación de múltiples muestras independientes

Tabla 2. Resultados de comparación individual por grupos para las variables de interés del colgajo

|               | Grupo 1<br>(Control) | 1<br>vs<br>2<br>p | 1<br>vs<br>5<br>p | 1<br>vs<br>3<br>p | 1<br>vs<br>4<br>p | Grupo 2        | 2<br>vs<br>5<br>p | Grupo 3        | 3vs<br>2<br>p | 3<br>vs<br>5<br>p | Grupo 4        | 2<br>vs<br>4 | 5<br>vs<br>4 | 3<br>vs<br>4 | Grupo 5        | 1 vs 5<br>p |
|---------------|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------------|-------------------|----------------|---------------|-------------------|----------------|--------------|--------------|--------------|----------------|-------------|
| Area viable   | 1068.26±288.80       | .38               | .46               | .80               | .46               | 1172.43±209.78 | 1                 | 1029.15±143.53 | .221          | .34               | 1173.44±185.73 | .80          | .91          | .17          | 1165.85±245.24 | 1           |
| Area necrosis | 612.90±194.80        | .02               | .22               | .05               | .02               | 292.19±91.83   | .05               | 356.59±125.77  | .624          | .17               | 279.94±162.64  | .80          | .17          | .34          | 485.66±164.22  | .05         |
| % viable      | 63.03±12.25          | .08               | .32               | .08               | .08               | 79.62±7.47     | .22               | 74.46±6.8      | .32           | .60               | 80.67±11.23    | .80          | .25          | .25          | 70.19±11.21    | .22         |
| % necrosis    | 36.96±12.25          | .08               | .32               | .08               | .08               | 20.37 ±7.47    | .22               | 25.53±6.88     | .32           | .60               | 19.32±11.23    | .80          | .25          | .25          | 29.80±11.24    | .22         |

\*Prueba U de Mann Whitney para comparar dos muestras independientes

Figura 4. Diagrama de cajas y bigotes para el porcentaje de necrosis del colgajo de cada grupo

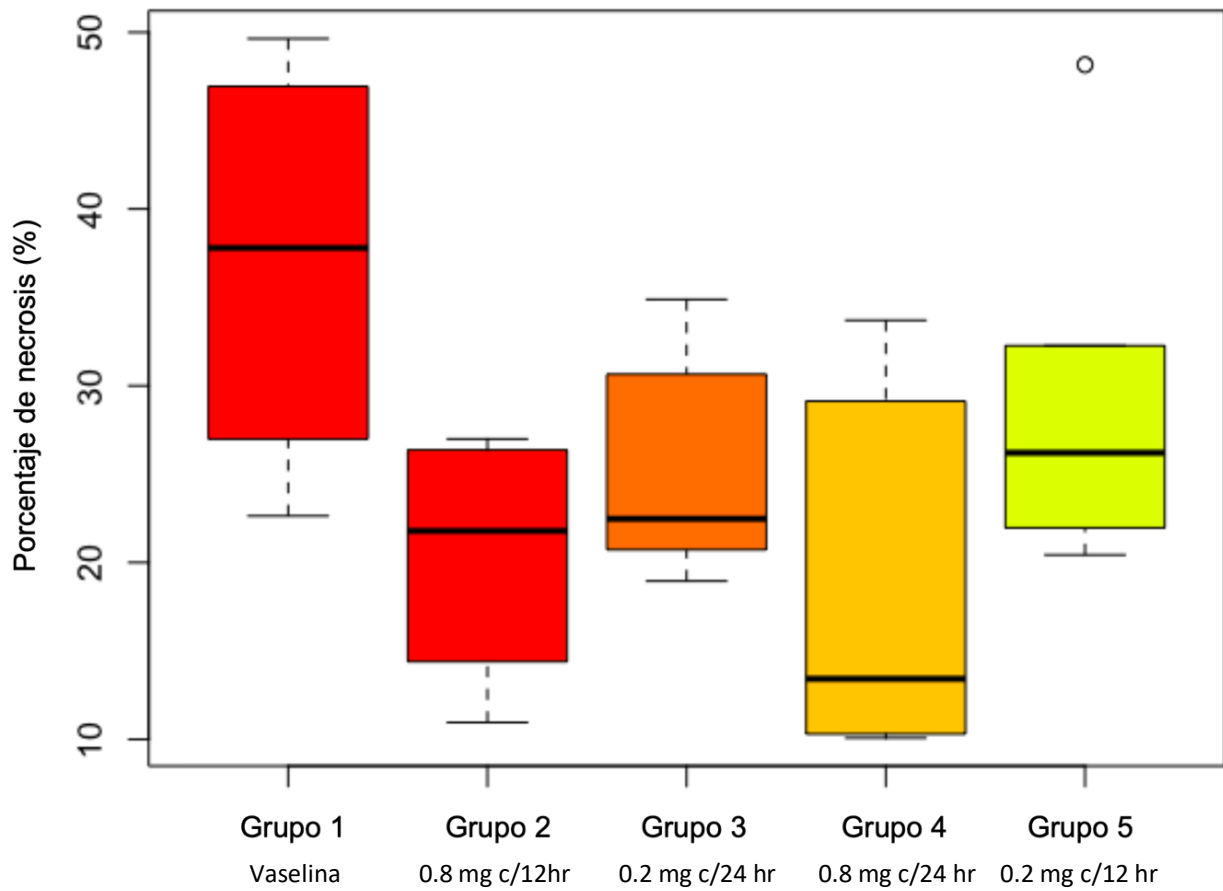
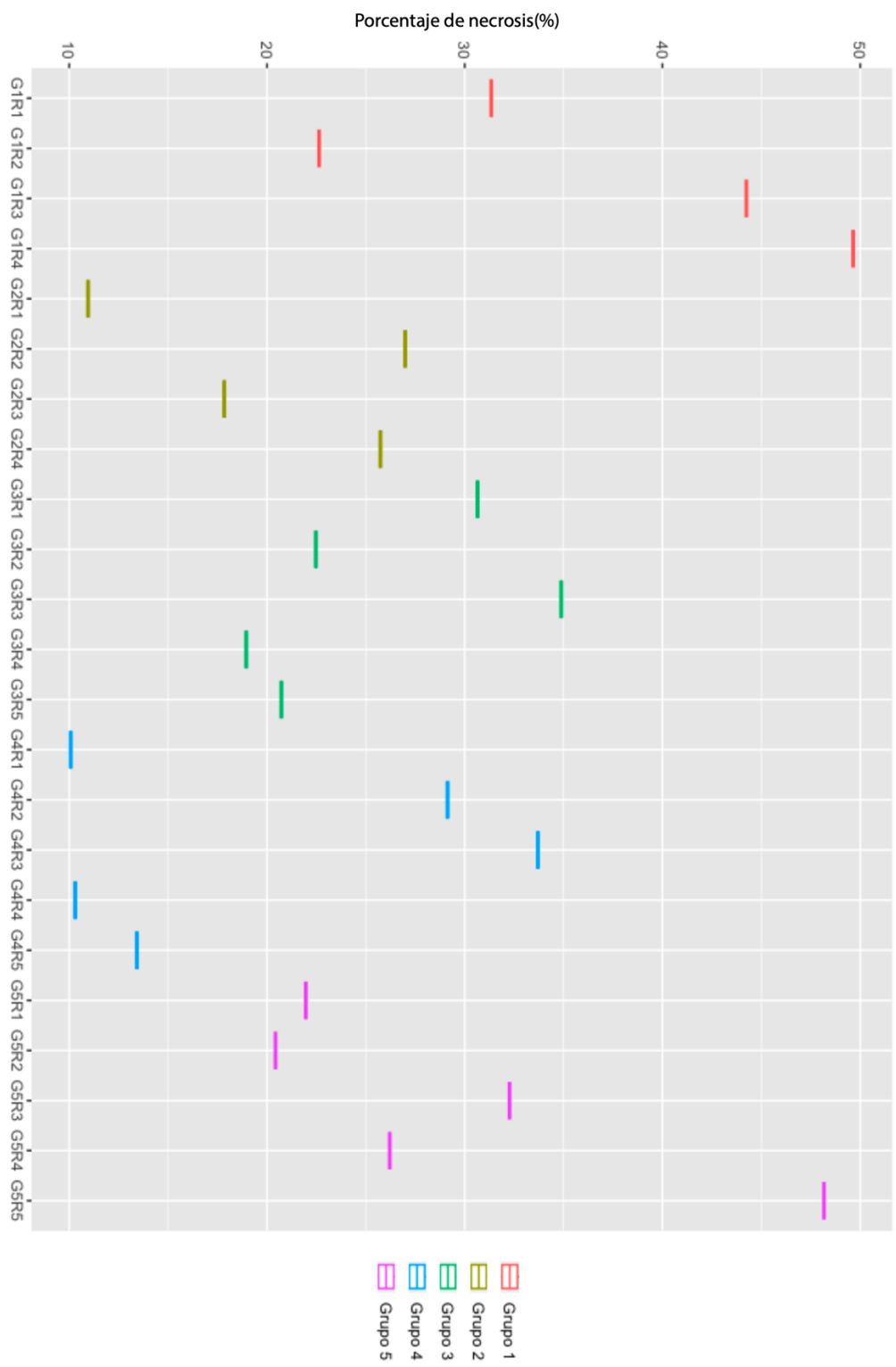


Figura 5. Valores individuales del porcentaje de necrosis de cada grupo.



## CAPITULO VII

### 7. Discusión

El óxido nítrico juega un papel fundamental evitando la lesión tisular secundaria al mecanismo isquemia reperfusión. Diferentes agentes han sido propuestos para incrementar sus concentraciones y así elevar la probabilidad de supervivencia de un colgajo. Se ha descrito que la nitroglicerina tópica de manera postoperatoria pudiera cumplir esta función debido a su acción vasodilatadora arterial y venosa, aumento de la microcirculación e inhibición en la agregación plaquetaria (22)(23)(24).

Un punto importante por considerar es que la nitroglicerina y los donadores de óxido nítrico tienen un efecto dosis-dependiente. Actualmente, no existe un protocolo de tratamiento definido tanto en dosis y régimen de aplicación para conseguir un resultado adecuado, por lo que su uso generalizado en la práctica clínica es controversial.

Recientemente, se ha descrito complicación de su uso de manera tópica, como hipotensión, dolor de cabeza y mareo o en su defecto, una actividad vasodilatadora supraóptima que cause hipotensión en el colgajo disminuyendo la presión de perfusión y por ende aumentando la probabilidad de necrosis (12) (25)(26)(27). Por esta razón, son necesarios más estudios que comparen diferentes regímenes para establecer la menor dosis efectiva.

Estudios previos han demostrado la utilidad de precursores de óxido nítrico (L-arginina) vía intravenosa en modelos porcinos para reducir la extensión de necrosis

en colgajos mucocutáneos (28)(29). En otros estudios se ha descrito el uso de donadores de óxido nítrico (complejo espermina/óxido nítrico) vía intravenosa, igualmente demostrando eficacia dosis dependiente al aplicarse de manera pre- isquémica (17). Nuestro estudio evalúa un donador de óxido nítrico (nitroglicerina) aplicada vía tópica, la cual ofrece la ventaja de ser menos invasivo e incómodo para el paciente. En los estudios previos se observó un mayor porcentaje de necrosis de los colgajos debido a la inducción de isquemia previo o posterior a la administración del donador de ON. De manera similar, en nuestro estudio, el grupo control resultó en un mayor porcentaje de necrosis y la acción del donador de ON fue dosis dependiente. Los mejores resultados obtenidos fueron con el régimen de 0.8 mg cada 24 horas por vía tópica mientras que en el estudio de Engel et. al. fue la administración I.V. local de 500 nmol/kg Sper/NO (0.02 mg).(17)

En ambos estudios se evaluó una dosis mayor de 0.8mg cada 12 horas y de 750 nmol/kg Sper/NO (0.03 mg) respectivamente en las cuales no se observaron mejores resultados que las dosis previamente mencionadas. Esto puede ser secundario a una vasodilatación excesiva que no consigue una presión de perfusión adecuada aumentando el porcentaje de necrosis de los colgajos. Otros estudios han evaluado la acción tópica de la nitroglicerina en la reducción del porcentaje de necrosis y los resultados han sido contradictorios. Algunos estudios reportan Price et al(30), Rhorich et al (10) y Waters et al(31) resultados a favor de la nitroglicerina tópica versus controles y distintos agentes aplicados tanto via intraperitoneal como intravenosa como diltiazem , hidrocloreto de isoxsuprina, metildopa, prazosin , allopurinol . En cada uno de los estudios, la nitroglicerina fue administrado a distintas dosis y regímenes. Mientras tanto, en otros estudios no se demostró una mejoría

significativa entre la aplicación de una dosis determinada tal como fue 5 mg cada 24 horas durante 7 días frente a una aplicación una capa fina de la crema sobre el colgajo cada 8 horas por 72 hr respectivamente. (16)(32)

Otra cuestión importante por considerar aparte del régimen y la dosis es el sitio de aplicación del fármaco. En los estudios donde la nitroglicerina obtuvo mayor efectividad fue aplicada en los alrededores del colgajo. (32)(17)(14)

Sin embargo, ningún estudio previamente mencionado, compara la efectividad de distintos regímenes y dosis entre ellas. I

Las limitaciones de nuestro estudio podríamos mencionar que el área de isquemia es evaluada de una forma visual, con la apreciación de un observador lo que podría dar sesgo en la interpretación entre las áreas de isquemia en los colgajos. Otra limitante que podemos observar es el tiempo de observación, si bien 7 días es un tiempo suficiente para que un tejido no vascularizado presente datos de necrosis, no es lo mismo, con los tejidos hipoperfundidos, los cuales posiblemente sería conveniente una observación por más de 7 días. Otra cosa que vemos como limitante en nuestro estudio es que no tenemos una interpretación de los posibles cambios histológicos que pudiesen haber ocurrido en los colgajos con la aplicación de las distintas dosis de la crema de nitroglicerina al 2%; además, el determinar si ocurrieron cambios en cuanto a el diámetro del calibre de los vasos sanguíneos entre los distintos grupos y a su vez tratar de determinar si existió una aparición de neo vascularización. lo que posiblemente hubiese dado mayor información relacionada a los resultados entre los distintos grupos.

## **CAPITULO VIII**

### **8. Conclusiones**

La nitroglicerina en crema al 2% presentó un efecto positivo en la preservación de los colgajos al ser aplicada dentro de los colgajos cutáneos aleatorios con compromiso vascular. Se logró comprobar que una dosis de 0.8 mg de nitroglicerina al 2% es segura y efectiva con una frecuencia de aplicación cada 24 hr y cada 12 hr frente a una dosis de 0.2 mg cada 12 y cada 24h y en comparación a los grupos control.. El uso de la nitroglicerina fue seguro y aumentó la supervivencia de los colgajos aleatorios con compromiso vascular en nuestro modelo murino. Este estudio podría dar pie a futuras investigaciones, ya que es el primer estudio donde se determinó una dosis efectiva de aplicación...



## **Consideraciones éticas**

El estudio se realizará cumpliendo las normas internacionales, y lo establecido por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Medicina de la UANL. Todos los animales serán tratados de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 de acuerdo con las Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio” y siguiendo la guía la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio, 8ª edición.

## CAPITULO IX

### 9. REFERENCIAS

1. Daniel RK, Kerrigan CL. Skin Flaps: An Anatomical and Hemodynamic Approach. Clin Plast Surg [Internet]. 1979 Apr;6(2):181–200. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0094129820320642>
2. Schusterman MA, Miller MJ, Reece GP, Kroll SS, Marchi M, Goepfert H. A single center's experience with 308 free flaps for repair of head and neck cancer defects. Plast Reconstr Surg [Internet]. 1994 Mar;93(3):472–8; discussion 479-80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8115501>
3. Milton SH. Pedicled skin-flaps: The fallacy of the length: Width ratio. Br J Surg [Internet]. 2005 Dec 7;57(7):502–8. Available from: <https://academic.oup.com/bjs/article/57/7/502/6192053>
4. MYERS MB, CHERRY G. DIFFERENCES IN THE DELAY PHENOMENON IN THE RABBIT, RAT, AND PIG. Plast Reconstr Surg [Internet]. 1971 Jan;47(1):73–8. Available from: <http://journals.lww.com/00006534-197101000-00014>
5. Jensen JA, Handel N, Silverstein MJ, Waisman J, Gierson ED. Extended Skin Island Delay of the Unipedicle TRAM Flap. Plast Reconstr Surg [Internet]. 1995 Nov;96(6):1341–5. Available from: <http://journals.lww.com/00006534-199511000-00016>

6. Pang CY, Xu H, Huang N, Forrest CR, Perréault TM, Neligan PC. Amplification effect and mechanism of action of ET-1 in U-46619-induced vasoconstriction in pig skin. *Am J Physiol Integr Comp Physiol* [Internet]. 2001 Mar 1;280(3):R713–20. Available from: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpregu.2001.280.3.R713>
7. Dunn CL, Brodland DG, Griego RD, Huether MJ, Fazio MJ, Zitelli JA. A Single Postoperative Application of Nitroglycerin Ointment Does Not Increase Survival of Cutaneous Flaps and Grafts. *Dermatologic Surg* [Internet]. 2000 May;26(5):425–7. Available from: <http://journals.lww.com/00042728-200005000-00005>
8. McDonald WS, Lo TP, Thurmond M, Jones C, Cohen R, Miller A, et al. Role of Nitric Oxide in Skin Flap Delay. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 2004 Mar;113(3):927–31. Available from: <http://journals.lww.com/00006534-200403000-00019>
9. Gatti JE, Brousseau DA, Silverman DG, LaRossa D. Intravenous Nitroglycerin as a Means of Improving Ischemic Tissue Hemodynamics and Survival. *Ann Plast Surg* [Internet]. 1986 Jun;16(6):521–6. Available from: <http://journals.lww.com/00000637-198606000-00011>
10. Rohrich RJ, Cherry GW, Spira M. Enhancement of Skin-Flap Survival Using Nitroglycerin Ointment. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 1984 Jun;73(6):943–8. Available from: <http://journals.lww.com/00006534-198406000-00016>
11. Davies BW, Lewis RD, Pennington G. The Impact of Vasodilators on Random-Pattern Skin Flap Survival in the Rat Following Mainstream Smoke Exposure. *Ann Plast Surg* [Internet]. 1998 Jun;40(6):630–6. Available from:

<http://journals.lww.com/00000637-199806000-00010>

12. Yun MH, Yoon ES, Lee B-I, Park S-H. The Effect of Low-Dose Nitroglycerin Ointment on Skin Flap Necrosis in Breast Reconstruction after Skin-Sparing or Nipple-Sparing Mastectomy. *Arch Plast Surg* [Internet]. 2017 Nov 20;44(06):509–15. Available from: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.5999/aps.2017.00934>
13. WesterX RC, Noonan PK, Smeach S, Kosobud L. Pharmacokinetics and Bioavailability of Intravenous and Topical Nitroglycerin in the Rhesus Monkey: Estimate of Percutaneous First-Pass Metabolism. *J Pharm Sci* [Internet]. 1983 Jul;72(7):745–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022354915446945>
14. Ellabban MA, Fattah IOA, Kader GA, Eldeen OS, Mehana AE, Khodeer DM, et al. The Effects of Sildenafil and/or Nitroglycerin on Random-pattern Skin Flaps After Nicotine Application in Rats. *Sci Rep* [Internet]. 2020 Feb 21;10(1):3212. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32081888>
15. Hwang CJ, Morgan P V., Pimentel A, Sayre JW, Goldberg RA, Duckwiler G. Rethinking the Role of Nitroglycerin Ointment in Ischemic Vascular Filler Complications. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg* [Internet]. 2016 Mar;32(2):118–22. Available from: <https://journals.lww.com/00002341-201603000-00010>
16. Smith DK, Dolan RW. Effects of vasoactive topical agents on the survival of dorsal skin flaps in rats. *Otolaryngol Neck Surg* [Internet]. 1999 Sep 17;121(3):220–3. Available from:

- <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/S0194-5998%2899%2970175-0>
17. Engel H, Sauerbier M, Germann G, Küntscher M V. Dose-Dependent Effects of a Nitric Oxide Donor in a Rat Flap Model. *Ann Plast Surg* [Internet]. 2007 Apr;58(4):456–60. Available from: <https://journals.lww.com/00000637-200704000-00018>
  18. Ellabban MA, Elmasry M, Abdelrahman I, Abdel Kader G, Steinvall I, Sjoberg F, et al. Experimental study of the effects of nitroglycerin, botulinum toxin A, and clopidogrel on bipediced superficial inferior epigastric artery flap survival. *Sci Rep* [Internet]. 2022 Dec 3;12(1):20891. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-022-24898-9>
  19. Wang P, Gu L, Qin Z, Wang Q, Ma J. Efficacy and safety of topical nitroglycerin in the prevention of mastectomy flap necrosis: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep* [Internet]. 2020 Apr 21;10(1):6753. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-63721-1>
  20. Flores Salazar LO. Efecto de la nitroglicerina tópica en la supervivencia de los colgajos cutáneos [Internet]. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN; 2021. Available from: <http://eprints.uanl.mx/22622/>
  21. Certel F, Bayramicli M, Serin M. Comparison of contraction rates of epigastric and extended dorsal island skin flaps in rats. *J Plast Surg Hand Surg* [Internet]. 2019 Mar 4;53(2):65–70. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/2000656X.2018.1543699>
  22. Needleman P, Corr PB, Johnson EM., Jr . Drugs used for the treatment of angina: organic nitrates, calcium channel blockers, and beta-adrenergic antagonists. In: Gilman AG, editor. *The pharmacological basis for*

- therapeutics. 7th ed. New York: Macmillan; 19.
23. Levin RI, Jaffe EA, Weksler BB, Tack-Goldman K. Nitroglycerin Stimulates Synthesis of Prostacyclin by Cultured Human Endothelial Cells. *J Clin Invest* [Internet]. 1981 Mar 1;67(3):762–9. Available from:  
<http://www.jci.org/articles/view/110093>
  24. Dawn B, Bolli R. Toward a better understanding of the metabolic effects of ischemic preconditioning in humans. *J Cardiothorac Vasc Anesth* [Internet]. 2001 Aug;15(4):409–11. Available from:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1053077001927326>
  25. Gdalevitch P, Van Laeken N, Bahng S, Ho A, Bovill E, Lennox P, et al. Effects of Nitroglycerin Ointment on Mastectomy Flap Necrosis in Immediate Breast Reconstruction. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 2015 Jun;135(6):1530–9. Available from: <http://journals.lww.com/00006534-201506000-00006>
  26. Turin SY, Li DD, Vaca EE, Fine N. Nitroglycerin Ointment for Reducing the Rate of Mastectomy Flap Necrosis in Immediate Implant-Based Breast Reconstruction. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 2018 Sep;142(3):264e-270e. Available from: <https://journals.lww.com/00006534-201809000-00004>
  27. Kutun S, Ay AA, Ulucanlar H, Tarcan O, Ay A, Aldan M, et al. Is transdermal nitroglycerin application effective in preventing and healing flap ischaemia after modified radical mastectomy? *S Afr J Surg* [Internet]. 2010 Nov;48(4):119–21. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21542401>
  28. Cordeiro PG, Santamaria E, Hu Q-Y. Use of a Nitric Oxide Precursor to

Protect Pig Myocutaneous Flaps from Ischemia-Reperfusion Injury. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 1998 Nov;102(6):2040–8. Available from:  
<http://journals.lww.com/00006534-199811000-00035>

29. Lovett JE, Fink BF, Bernard A, Ochoa J. Analysis of Nitric Oxide Activity in Prevention of Reperfusion Injury. *Ann Plast Surg* [Internet]. 2001 Mar;46(3):269–74. Available from: <http://journals.lww.com/00000637-200103000-00012>
  30. Price MA, Pearl RM. Multiagent Pharmacotherapy to Enhance Skin Flap Survival. *Ann Plast Surg* [Internet]. 1994 Jul;33(1):52–6. Available from: <http://journals.lww.com/00000637-199407000-00010>
  31. Waters LM, Pearl RM, Macaulay RM. A comparative analysis of the ability of five classes of pharmacological agents to augment skin flap survival in various models and species: an attempt to standardize skin flap research. *Ann Plast Surg* 1989;23:117-22.
  32. Nichter LS, Sobieski MW, Edgerton MT. Efficacy of Topical Nitroglycerin for Random-Pattern Skin-Flap Salvage. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 1985 Jun;75(6):847–52. Available from: <http://journals.lww.com/00006534-198506000-00016>
85. pp. 806–26.

ANEXOS

## RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

**DR. DANIEL EDUARDO SALDÍVAR MARTÍNEZ**

Candidato al grado de

Especialista En Cirugía Plástica, Estética Y Reconstructiva

**EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LA APLICACIÓN TÓPICA DE LA NITROGLICERINA EN CREMA CADA 12 HORAS VERSUS LA APLICACIÓN CADA 24 HORAS SOBRE LOS COLGAJOS CUTÁNEOS CON COMPROMISO VASCULAR EN RATAS WISTAR.**

Campo de estudio: Ciencias de la salud

Biografía:

Datos personales: Nacido en Miguel Alemán, Tamaulipas, el 4 de mayo de 1988.

Educación:

Egresado e la Universidad del Valle de México Campus Reynosa, grado obtenido

Médico Cirujano Partero en 2014. Con Mención Honorífica 1er lugar de Generación.

Cirujano General por parte del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”

con nombramiento de Jefe de Residentes 2015 -2020

Residente de el programa de Cirugía Plástica Estética y Reconstructiva en Hospital

Universitario “Dr. José Eleuterio González”



