

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

TRABAJO REALIZADO COMO REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS

Título: *“PUENTE CARDIOPULMONAR CON HIPOTERMIA MODERADA Y ESTASIS CIRCULATORIO EN OVINOS DE EXPERIMENTACIÓN”.*

Tesista Doctoral: MARCOS, MARTÍN ALEJANDRO

Director: Dr. DURANTE, EDUARDO JOSÉ

Codirector: Dr. PRESA, CARLOS ALBERTO

Jurados: Dra. LASCANO, ELENA C.

Dr. ESCUDERO, EDUARDO

Dr. RAIMONDI, CLEMENTE

Lugar de trabajo: *SERVICIO CENTRAL DE CIRUGÍA- FCV/UNLP*

Año 2012

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	<i>Página</i>
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Antecedentes de la cirugía a corazón abierto y la circulación extracorpórea.....	1
<i>1.1.1. Los primeros pasos.....</i>	<i>1</i>
<i>1.1.2. El concepto del flujo ácidos.....</i>	<i>3</i>
<i>1.1.3. Circulación cruzada.....</i>	<i>4</i>
<i>1.1.4. Cirugía cardíaca con circulación extracorpórea.....</i>	<i>5</i>
1.2. Cardiocirugía en Medicina Veterinaria.....	6
1.3. Fisiología de la circulación extracorpórea.....	10
<i>1.3.1. Oxigenación con membranas artificiales.....</i>	<i>10</i>
<i>1.3.2. Oxigenación Pulmonar Autóloga (OPA).....</i>	<i>11</i>
<i>1.3.3. Hemodilución.....</i>	<i>12</i>
<i>1.3.4. Manejo ácido base.....</i>	<i>15</i>
<i>1.3.5. Arresto circulatorio en hipotermia.....</i>	<i>18</i>
<i>1.3.5.1. Bases fisiológicas.....</i>	<i>18</i>
<i>1.3.5.2. Fundamentos técnicos.....</i>	<i>19</i>
<i>1.3.5.3. Descripción de la técnica (D.H.C.A.).....</i>	<i>20</i>
<i>1.3.5.4. Tiempo de arresto circulatorio.....</i>	<i>21</i>
1.4. Fisiopatología de la hipotermia.....	23
1.5. Respuesta pulmonar post C.E.C.....	30
1.6. Efectos del puente cardiopulmonar en el cerebro.....	35
<i>1.6.1. Autorregulación del flujo sanguíneo cerebral y metabolismo.....</i>	<i>35</i>
<i>1.6.2. Relación entre (CO₂) y (FSC).....</i>	<i>37</i>

1.6.3. Relación entre (O ₂) y (FSC).....	38
1.6.4. Injuria cerebral.....	38
1.7. Isquemia cerebral y neuroprotección.....	41
1.8. Relevancia de la investigación propuesta.....	46
1.9. Objetivos e hipótesis.....	47
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	48
2.1. Modelo experimental.....	48
2.2. Materiales y equipo.....	48
2.2.1. Anestesia y analgesia.....	48
2.2.2. Drogas de apoyo.....	49
2.2.3. Drogas vasoactivas.....	49
2.2.4. Fluidos, Hemoderivados y Cardioplégicos.....	49
2.2.5. Accesos Vasculares.....	50
2.2.6. Materiales de sutura.....	50
2.2.7. Circuito de circulación extracorpórea.....	50
2.2.8. Aparatos y equipos.....	51
2.2.9. Área de esterilización.....	51
2.2.10. Métodos complementarios.....	51
2.3. Instrumentación y monitorización.....	52
2.3.1. Monitoreo intraoperatorio.....	52
2.3.2. Laboratorio de análisis clínicos.....	52
2.3.3. Parámetros de monitorización.....	53

2.4. Diseño experimental	56
2.5. Tiempos de recolección de datos	57
2.6. Desarrollo experimental	59
2.6.1. <i>Preparación preoperatoria</i>	59
2.6.2. <i>Montaje del circuito de circulación extracorpórea</i>	59
2.6.3. <i>Anestesia</i>	60
2.6.4. <i>Ventilación asistida</i>	60
2.6.5. <i>Heparinización</i>	61
2.6.6. <i>Canulación</i>	61
2.6.7. <i>Enfriamiento y mantenimiento</i>	62
2.6.8. <i>Recuperación de temperatura y desconexión de la bomba</i>	63
2.6.9. <i>Decanulación</i>	63
2.6.10. <i>Recuperación</i>	63
2.7. Procedimientos empleados para evaluar los objetivos	64
2.7.1. <i>Análisis estadístico</i>	65
2.8. Figuras descriptivas de los materiales y procedimientos	66
3. RESULTADOS	85
3.1. Desarrollo de la experiencia	85
3.2. Evaluación estadística	88
3.3. Score Glasgow Modificado para animales	108
3.4. Recuento leucocitario circulante	110
3.5. Imágenes histopatológicas	111
4. DISCUSIÓN	116

4.1. Inducción de hipotermia.....	117
4.2. Manejo ácido base.....	119
4.3. Asistencia cardiocirculatoria.....	122
4.4. Fibrilación ventricular.....	126
4.5. Hemodilución.....	129
4.6. Arresto circulatorio y neuroprotección.....	131
4.7. Función pulmonar.....	139
5. CONCLUSIONES.....	152
6. BIBLIOGRAFÍA.....	154

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

°C: grados centígrados

Ai: aurícula izquierda

ARI: aflicción respiratoria aguda

ATP: adenosín trifosfato

Ca: calcio

CEC: circulación extracorpórea

ClK: cloruro de potasio

CMRO₂: metabolismo cerebral

CO₂: dióxido de carbono

CtO₂: contenido total de oxígeno

DCI: descarga cardíaca interna

DHCA: arresto circulatorio bajo hipotermia profunda

DI: diámetro interno

DO₂: entrega de oxígeno

DS: desvío estándar

EB: exceso de bases

ECG: electrocardiograma

ECMO: oxigenación de membrana extracorpórea

ETCO₂: concentración de dióxido de carbono al final de espiración

F: arteria femoral

FC: frecuencia cardíaca

FF: femoro-femoral

FiO₂: fracción inspirada de oxígeno

Fr.: French

FR: frecuencia respiratoria

FSC: flujo sanguíneo cerebral

FV: fibrilación ventricular

GC: gasto cardíaco

h: horas

Hb: hemoglobina

HCO₃: bicarbonato

HLFB: Bypass con bajo flujo e hipotermia profunda

Hto.: hematocrito

IC: intracardiaco

IOx: índice de oxigenación

IV: endovenoso

K: potasio

Kg.: kilogramo

LVEDV: volumen ventricular izquierdo a fin de sístole

LVESP: presión ventricular izquierda fin de sístole

m²: metro cuadrado

mg.: miligramo

MHCA: arresto circulatorio en hipotermia moderada

min: minuto

ml.: mililitro

mmHg: milímetros de mercurio

Na: sodio

NIRS: espectroscopia infrarroja cerebral

NTG: nitroglicerina

O₂ER: índice de extracción de oxígeno

OPA: oxigenación pulmonar autóloga

Pa/Fi: relación PaO₂/FiO₂

PaCO₂: presión arterial de dióxido de carbono

PAM/D/S: presión arterial media, diastólica y sistólica

PaO₂: presión arterial de oxígeno

PAP: presión de arteria pulmonar

Paw: presión media de vía aérea

PCP: puente cardiopulmonar

PEEP: presión positiva al final de espiración

PIC: presión intracraneana

PIM: presión inspiratoria máxima

PNA: péptido natriurético auricular

PPC: presión de perfusión coronaria

PVC: presión venosa central

Q₁₀: coeficiente de relación temperatura/metabolismo

RVC: resistencia vascular cerebral

RVS: resistencia vascular periférica

SatO₂: saturación de oxihemoglobina

SDRA: síndrome de distress respiratorio agudo

SIRS: síndrome inflamatorio de respuesta sistémica

SV: stroke volumen

SyO₂: saturación venosa del bulbo yugular

T: tiempo

TCA: tiempo coagulación activada

TR/E/A: temperatura rectal, esofágica, agua

ug.: microgramo

Ui: unidad internacional

VA: venoarterial

VD: ventrículo derecho

VI: ventrículo izquierdo

VM: volumen minuto

VO₂: consumo de oxígeno

VT: volumen tidal

VV: venovenoso

“PUENTE CARDIOPULMONAR CON HIPOTERMIA MODERADA Y ESTASIS
CIRCULATORIO EN OVINOS DE EXPERIMENTACION”

Palabras clave: *hipotermia, circulación extracorpórea, ovinos, isquemia, oxigenación autóloga.*

Resumen: *la presente Tesis se enfocó en desarrollar una técnica híbrida con aplicabilidad en Medicina Veterinaria, basada en los conocimientos antiguos y actuales sobre cirugía cardíaca y circulación extracorpórea. Para ello se utilizó un sistema de circulación extracorpórea sin oxigenador de membrana junto a la inducción de hipotermia moderada en dos grupos de ovinos (GI: tórax cerrado) y (GII: tórax abierto y arresto circulatorio). Los principales objetivos fueron: reducir a 25°C la temperatura corporal de los animales utilizando este sistema, evaluar el efecto de la circulación extracorpórea sobre la función pulmonar y determinar la correlación entre hipotermia y oxigenación. En el grupo I se utilizó un bypass venoso arterial (femoro-femoral), para inducir la hipotermia y el recalentamiento. En el grupo II se utilizó un bypass desde aurícula izquierda a la arteria femoral. En este grupo al alcanzar los 25°C se realizó arresto cardíaco mediante la administración de solución cardioplégica. Luego de 12 minutos de estasis circulatorio se reanudó el flujo del bypass y el recalentamiento de los animales. En ambos grupos fue posible conducir a temperaturas de 25°C sin evidenciar arritmias y con valores hemodinámicos adecuados. Pudo evidenciarse los efectos de la hipotermia sobre la compresión de los gases en sangre. En el grupo II, la reperfusión se asoció a mayor alteración en la difusión de los gases, aunque en ambos grupos la saturación de oxihemoglobina fue superior al 98% durante toda*

la experiencia. La presente técnica es factible de aplicarse para realizar reparaciones intracardíacas en animales de compañía, exigiendo un detallado manejo ácido-base y ventilatorio de los animales. No obstante es adecuado un siguiente estudio para la optimización de la misma junto a la evaluación de drogas neuroprotectoras que permitan extender el tiempo de isquemia en el período de estasis circulatorio.

“CARDIOPULMONARY BYPASS UNDER MODERATE HYPOTHERMIA
AND CIRCULATORY ARREST IN SHEEP”

Keywords: hypothermia, extracorporeal circulation, sheep, ischemia, autologous oxygenation.

SUMMARY

This thesis focuses on the development of a hybrid technique applicable in Veterinary Medicine, based on past and current knowledge about cardiac surgery and cardiopulmonary bypass. An extracorporeal circulation system without a membrane's oxygenator was used to help with the induction of a moderate hypothermia. The experience was carried out in two groups of sheep: GI (thorax closed) and GII (thorax open and circulatory arrest). The main objectives were: to reduce- using this system- the body temperature of the animals down to 25°C, to evaluate the effects of a cardiopulmonary bypass on the pulmonary function and to determine the correlation between hypothermia and oxygenation. An arterial venous bypass (femoro-femoral) to induce hypothermia and re-warming was used in Group I. In group II a bypass from the left atrium to the femoral artery was created and a cardioplegic solution was administered when the temperature reached 25 °C, to cause cardiac arrest. After 12 minutes of circulatory stasis, the circulatory bypass was resumed and the re-warming of the animals started. In both groups it was possible to drop the temperatures to 25°C, without evidence of arrhythmias and with adequate hemodynamic values. The effects of the hypothermia on the compression of blood gases became evident. The procedure of reperfusion was associated with a greater change in the diffusion of gases in Group II, although both groups of animals showed, throughout the experience, oxyhemoglobin saturation values above 98%. This

technique can be useful to treat some intra-cardiac pathologies occurring in dogs and cats, although it requires detailed acid-base and ventilation management of the animals. However, further studies will be necessary to improve it, and to evaluate the effects of the neuro-protective drugs that can extend the time period of circulatory stasis.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes de la cirugía a corazón abierto y la circulación extracorpórea

1.1.1. *Los primeros pasos*

En la actualidad miles de cirugías a corazón abierto se realizan todos los días en el mundo, con un riesgo aceptable tanto en neonatos como octogenarios. No obstante, 50 años atrás, las paredes de un corazón humano eran una barrera impenetrable para los cirujanos cardiovasculares. Este gran adelanto fue considerado como uno de los avances más importantes de la medicina del siglo pasado, siendo la circulación extracorpórea (CEC) la llave que inicio este asombroso progreso.

En los comienzos de 1950, el Departamento de Cirugía de la Universidad de Minnesota fue responsable de la transición del laboratorio de investigación a la aplicación clínica. Tras un período de evaluación experimental en caninos, el 2 de Septiembre de 1952, el Dr. F. John Lewis realizó con éxito el cierre de una comunicación interauricular en una niña de cinco años, bajo visión directa del defecto, utilizando “inflow occlusion” (oclusión del flujo de entrada de las venas cavas) e hipotermia moderada corporal (*Lewis et al 1953*). Este constituyó un hito histórico, dado que fue la primera operación en el mundo de un corazón humano, bajo visión directa del defecto anatómico. El Dr. Lewis se inspiró en los estudios experimentales de Bigelow utilizando la hipotermia para reparaciones intracardiacas (*Bigelow et al 1950 a, b*).

Estos procedimientos fueron noticia rápidamente en el mundo médico, y el Dr. Swan fue el siguiente en realizar una reparación intracardiaca bajo visión directa utilizando hipotermia y oclusión del flujo de entrada. (*Swan et al 1953, 1954 a, b, 1956*).

Esta técnica fue excelente para la época y permitió reparar lesiones de septum atrial del tipo ostium secundum y estenosis pulmonares o aórticas. Sin embargo, mostró limitaciones cuando se intentaron reparaciones más complejas como ostium primum, comunicaciones atrioventriculares, o defectos interventriculares. Ello impulsó a la necesidad de utilizar sistemas de perfusión extracorpórea.

El primer intento de utilizar una máquina de corazón pulmón para circulación extracorpórea total en humanos, lo llevo a cabo el Dr. Dennis, el 5 de abril de 1951 (*Dennis et al 1951*). En ese mes se realizaron dos cirugías y ambos pacientes fallecieron en la sala de operaciones. En el primero se realizó un diagnóstico erróneo, enfrentando los médicos una patología inesperada en aquella época, y el segundo pereció como consecuencia de un embolismo gaseoso masivo. En ambas operaciones el flujo de perfusión considerado necesario fue muy alto, habiéndose reportado una importante salida de sangre desde el seno coronario, que dificultaba la visión del campo operatorio.

La siguiente operación con CEC fue realizada por el Dr. John H. Gibbon Jr., quien comenzó con sus trabajos de laboratorio en circulación extracorpórea en 1937(*Gibbon et al 1937*). Tras realizar experimentalmente técnicas de reparación de defectos de septum ventricular en 20 caninos, con supervivencia del 60%(*Gibbon et al 1954 a*), decide incursionar en el área clínica.

Su primer paciente de 15 meses de vida falleció debido a un diagnóstico erróneo, no encontrando durante la operación ningún defecto septal. La autopsia relevó la presencia de un gran conducto arterioso no reconocido. El segundo caso operado el 6 de Mayo de 1953 fue una mujer de 18 años con un defecto auricular tipo ostium secundum; esta intervención fue exitosa (*Gibbon et al 1954 b*). No obstante, los cuatro siguientes pacientes operados fallecieron, lo que generó una sorpresiva pérdida de entusiasmo en los cardiólogos y cirujanos de la época.

Contemporáneamente, los Dres. Lewis y Swan realizaban con sorprendente éxito, numerosas reparaciones de defectos auriculares, sometiendo sus pacientes a hipotermia y oclusión de venas cavas sin la necesidad de CEC. El Dr. Gibbon solo pudo realizar con CEC una reparación de septum auricular exitoso, sin poder repetirla con igual resultado, además de fracasar en el tratamiento de otras patologías más complejas. Esto lo llevó a abandonar este tipo de cirugía.

Entre 1951 y 1954 se reportaron 18 operaciones con CEC, con un solo sobreviviente (*Clowes et al* 1954). Todos estos fracasos tenían un escenario en común: alentadores resultados experimentales en animales, y fallas cuando eran aplicados humanos. Esta evidencia los llevó a concluir que el corazón humano enfermo no tiene posibilidades de recuperarse inmediatamente con un adecuado volumen minuto frente a la magnitud de estas operaciones, a diferencia de un corazón sano animal. En esta etapa de la historia, el pesimismo invadió el futuro de la cirugía a corazón abierto con CEC.

1.1.2. *El concepto del flujo ácigos*

En una serie de experimentos en caninos donde las venas cavas fueron ocluidas temporalmente para evaluar la tolerancia del cerebro y el corazón a la isquemia (*Cohen et al* 1952), se descubrió que si la vena ácigos no era ocluida, mantenía un volumen minuto cardíaco de 8 a 14 ml/K/min, permitiendo sostener los signos vitales durante 30 minutos en normotermia. (*Cohen et al* 1954). Esto permitió discernir entre el flujo sanguíneo corporal *considerado* necesario con el *realmente* necesario.

En aquellos días el flujo teórico de perfusión aceptado universalmente era de 100 a 165 ml/Kg/min. en animales y humanos. Este descubrimiento mostró una marcada tolerancia del organismo frente a una drástica reducción de flujo a tan solo el 10% del retorno venoso.

Se identificaron una serie de ajustes fisiológicos que ocurren en respuesta a la reducción del flujo sanguíneo que permitió sobrevivir a los animales con una correcta protección de sus órganos vitales (cerebro, corazón, hígado y riñón).

Este nuevo concepto llamado *flujo fisiológico o flujo "ácigos"*, trajo beneficios inmediatos, reconociendo que la causa de los fracasos de las experiencias de Dennis, Gibbon y Helmsworth fué el enorme retorno venoso en el corazón abierto que generaba una visión casi imposible de los defectos, a causa de los altos flujos de perfusión que se utilizaban (*Helmsworth et al 1954*).

1.1.3. *Circulación cruzada (cross-circulation)*

La circulación cruzada fue desarrollada experimentalmente en caninos. La introducción del concepto *de flujo fisiológico* permitió poner a punto la misma, lográndose mantener por una hora a corazón abierto a los animales, con una completa recuperación posterior. Se conectó el sistema venoso arterial de un paciente (niños) a otro organismo de mayor superficie corporal (madre o padre), mediante tubuladuras extracorpóreas y la asistencia de una bomba reguladora de flujo. Esto permitió mantener la oxigenación y perfusión del paciente durante la intervención.

El Dr. Lillehei realizó la primera operación con esta técnica el 26 de Marzo de 1954 para el cierre de un defecto de septo ventricular en un niño de 12 meses. Tras el obtenido se realizaron desde esa fecha al 9 de Julio de 1955 un total de 45 operaciones, sin registrarse muertes ni secuelas en ninguno de los familiares voluntarios (*Lillehei et al, 1955 a,b*).

1.1.4. *Cirugía cardíaca con circulación extracorpórea*

En 1958, sólo cinco años después de la primera operación exitosa realizada por *Gibbon* en 1953 con circulación extracorpórea, la Clínica Mayo reportó el éxito del bypass cardiopulmonar en una serie de 245 pacientes, a través del uso del aparato “Mayo-Gibbon” (*Kirklin et al* 1984). El Dr. *Kirklin* logró modificar el diseño de la bomba corazón-pulmón de *Gibbon*, logrando una técnica segura y práctica para realizar el puente cardiopulmonar total. Es así que la misma termina sustituyendo definitivamente a las técnicas de hipotermia y a la circulación cruzada controlada, transformándose en el método de elección para las reparaciones intracardiacas hasta la actualidad.

1.2. Cardiocirugía en Medicina Veterinaria

Las cirugías cardíacas, consideradas anteriormente como esporádicas en Medicina Veterinaria, son practicadas actualmente con suma frecuencia. Ciertos procedimientos terapéuticos o paliativos son realizados en forma rutinaria, con pronósticos altamente favorables. La ligadura del ductus arterioso, la pericardiectomía, la sección de los anillos vasculares anómalos, la dilatación de las estenosis pulmonares y la cirugía paliativa de la tetralogía de Fallot, constituyen algunos ejemplos demostrativos.

La cirugía a corazón abierto es uno de los nuevos desafíos que se presenta actualmente para la resolución de patologías complejas. *Bigelow et al* (1950), describió la técnica de hipotermia con oclusión de flujo venoso o “inflow occlusion”, posibilitando la realización de este tipo de operaciones en el hombre.

Actualmente los cirujanos veterinarios enfrentan el problema de cómo operar un corazón abierto en normotermia, sin pérdida excesiva de sangre, y por un período superior a los seis minutos que permite la técnica de “inflow occlusion”. La circulación extracorpórea, desarrollada hace décadas en cirugía de humanos es la respuesta a esta necesidad.

En el Departamento de Cirugía Veterinaria de Davis California (USA), el Dr. Klement, et al., describe en 1987 el uso y manejo post operatorio del puente cardiopulmonar en caninos para su aplicación clínica.

En 1997, el Dr. Orton reporta el cierre de un defecto septal auricular de tipo ostium primun en dos caninos bajo circulación extracorpórea en la Universidad de Colorado (USA).

Desde ese momento se realizaron en la última década distintos tipos de operaciones intracardiacas en caninos, ayudando a consolidar la cirugía cardiovascular en pequeños animales, como una opción terapéutica efectiva.

En la actualidad existen diversos programas de cirugía cardíaca en animales de compañía en Facultades de Medicina Veterinaria de renombre mundial, como Davis California, Texas A & M, Pensilvania, Cambridge, Alfort, Tokyo y Sidney. Estos centros realizan operaciones de reemplazo valvular, estenosis subaórticas, defectos de tabique auricular y ventricular, corrección de tetralogía de Fallot y estenosis aórticas y pulmonares (*White et al 1997, White et al 1995, Monnet et al 1996, Monnet et al 1997, Lew et al 1998, Klement, et al 1987*)

Latinoamérica, se encuentra liderada por el grupo del Dr. Stopiglia de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de San Pablo (Brasil), donde funciona desde el año 2000 un Laboratorio de Cirugía Cardíaca y Torácica. En él, se han puesto a punto las técnicas convencionales de circulación extracorpórea, empleadas para la realización de cirugías de reemplazo valvular mitral por vía transeptal, y ventriculectomías izquierdas para el tratamiento de la cardiomiopatía dilatada (operación de Batista).

En la actualidad el crecimiento del área es exponencial, tal como se desprende de las publicaciones de los distintos grupos de investigación descriptos. Los reportes de reemplazo o plastias de la válvula tricúspide y mitral son habituales. En Alfort (Francia), describieron la cirugía cardíaca con (CEC) y a corazón latiendo (*Behr et al 2007*), para realizar un reemplazo valvular mitral en un canino con degeneración mixomatosa, por una bioprótesis de pericardio bovino.

Aunque menos frecuentemente, se ha descrito la resolución quirúrgica de estenosis mitral mediante comisurotomía, en un paciente canino bajo puente cardiopulmonar. (*Borenstein et al 2004*). Otra patología poco habitual, el *cor triatrium dexter* también fue reportado con su resolución quirúrgica en un canino (*Yoshihisa et al 2003*)

Midori et al (2005), describe el cierre de un defecto septal atrioventricular con lesión concomitante de la valva septal de la válvula mitral de un canino. Este grupo estudio además, reportó la evaluación comparativa de abordaje por vía atrial o ventricular derecha para el cierre de defectos de septum ventricular.

Otro grupo (*Isamu et al 2010*) está desarrollando técnicas para utilizar en razas toy, (menores de 3 kg), con patologías mitrales o tricúspides displásicas. Este trabajo combina el uso de hipotermia de superficie con la técnica de perfusión de bajo flujo en hipotermia (HLFB), mediante canulación por la vía cervical, habiéndose reportado actualmente su uso clínico con éxito en seis pacientes.

En 2002, *Bourman* en Quebec (Canadá) documentó la aplicación del puente cardiopulmonar en felinos domésticos, demostrando la adaptación de la especie a estas técnicas.

En líneas generales, las técnicas de circulación extracorpórea emplean, en mayor o menor medida, hipotermia como método de descenso del metabolismo y protección de órganos. Aunque se pueden utilizar diferentes niveles, en la actualidad se trabaja en los protocolos de cirugía cardíaca veterinaria con hipotermia moderada de 28° C, arresto cardíaco cardioplégico y circulación extracorpórea con oxigenación artificial de membrana. (*Orton EC 1996*)

Es claro que todos estos reportes, son escasos en relación a la elevada incidencia en caninos y felinos de patologías cardiovasculares de resolución quirúrgica. Además, los mismos

son originados en países pertenecientes al primer mundo, quedando claramente relegada la participación de Universidades de América del Sur.

La apertura de nuevos caminos en la cardiocirugía veterinaria en la Argentina, que posibilite la aplicación masiva de estas técnicas debe considerarse hoy una premisa fundamental. Las implicancias económicas constituyen el principal obstáculo, seguido de cerca por factores sociales

Solo a través de la formación de grupos de trabajos especializados e interdisciplinarios, y con fuerte apoyo institucional se logrará este elevado objetivo.

1.3. Fisiología de la circulación extracorpórea

1.3.1. Oxigenación con membranas artificiales

La utilización de oxigenadores artificiales de membrana permite remover el dióxido de carbono producido por el cuerpo y oxigenar la sangre, reproduciendo así la función pulmonar.

En el pulmón nativo la sangre llega a los capilares, donde los eritrocitos se desplazan de a uno, permitiendo una difusión de gases eficaz. La diferencia de presión gaseosa alveolo-capilar mantiene el intercambio con un bajo gradiente. Este ritmo de transferencia puede verse afectado en patologías pulmonares severas que afecten la difusión.

En las membranas artificiales la diferencia de presión entre el gas y la sangre es significativamente mayor. El área de la superficie de intercambio es solo el 10%, es decir, menor que la pulmonar. El gas que se difunde en los alveolos de un adulto humano, atraviesa membranas de 10 μm , sobre una superficie de 70 m^2 . En contraste las membranas artificiales tienen una pared de 25-50 μm con una superficie de intercambio variable de 0,8 a 5 m^2 .

Para compensar este punto técnico, se aumentan la longitud de contacto sangre-gas de las membranas, incrementando así el tiempo de exposición de la sangre con la superficie de intercambio gaseoso.

Estas membranas pueden ser ventiladas con oxígeno 100%, maximizando la diferencia de presión, sin los efectos tóxicos que ocurrirían en un pulmón natural.

Pueden también ser ventiladas con alto flujo de gases frescos para aumentar la eficacia de remoción de CO₂. El concepto básico de su uso, es controlar la oxigenación mediante la FiO₂ de

gases que ingresa, y la ventilación de CO₂ mediante el control del flujo de gases frescos medido en litros por minuto.

Aunque ninguna membrana puede hoy igualar la performance de un pulmón, los anestésicos, los despolarizantes neuromusculares y la hipotermia disminuyen el metabolismo y la producción de CO₂, colaborando con la eficacia de la misma.

Inicialmente, los oxigenadores eran de burbujas. Estos producían un importante efecto deletéreo en la sangre y su uso limitado a perfusiones de menos de una hora de duración. Actualmente están en franco desuso.

La tecnología de membranas, ha evolucionado notablemente, encontrándose disponibles oxigenadores que permiten realizar cirugías de muchas horas de duración con gran margen de seguridad y eficacia. Tienen integrado un reservorio de drenaje de la sangre venosa y de las líneas de aspiración, y un intercambiador de temperatura para acondicionar la sangre mediante un sistema de agua recirculante. Los diseños actuales tienden a su miniaturización, para disminuir el volumen del cebado o “priming”, de fundamental importancia en la cardiocirugía de neonatos y pacientes pediátricos.

1.3.2. *Oxigenación Pulmonar Autóloga (OPA)*

Este interesante concepto, se basa en utilizar a los pulmones como oxigenadores autólogos, eliminando la necesidad de oxigenadores artificiales durante el período de puente cardiopulmonar. Se ha propuesto la utilización de bypass cardíaco con Oxigenación Pulmonar Autóloga (OPA) para atenuar los efectos antes mencionados y mejorar la función pulmonar.

El *Dr. Mendler (2000)* evaluó la función pulmonar luego del Bypass Bi-Ventricular (BVB) y (OPA) en un modelo experimental en caninos, comparándolo con otro grupo de CEC con oxigenación de membrana. El autor concluyó que el grupo (BVB y OPA) tuvo mayor preservación mecánica y funcional en pulmones sanos. Se destacó la disminución de las microembolias y de la respuesta inflamatoria.

También es posible realizar un bypass parcial o total uni-ventricular. En el lado izquierdo se comporta como una asistencia circulatoria mecánica y se ha indicado para cirugías de bypass coronario, a corazón latiendo. *Marques et al. (2002)*, describe su uso con bomba centrífuga, en 30 caninos con corazón fibrilado sometidos a asistencia izquierda durante 60 minutos. Esto le permitió mantener controlados los parámetros hemodinámicos y los gases sanguíneos durante la perfusión. El campo operatorio y la movilidad del corazón fue similar a los proporcionados por la (CEC) convencional en cirugías de revascularización de miocardio.

En el bypass total de derecho, la OPA puede comportarse como una asistencia en caso de fallas de dicho ventrículo y también utilizarse para cirugías a corazón abierto de válvula tricúspide y válvula pulmonar.

1.3.3. Hemodilución

La dilución de la sangre es un procedimiento utilizado rutinariamente en el bypass cardiopulmonar, debido a que la conexión de un paciente a un circuito de circulación extracorpórea se encuentra sujeta al purgado total del sistema con una solución. Distintos aspectos, fisiológicos, económicos, sociales y religiosos, han determinado el empleo de soluciones no sanguíneas, para practicar el cebado o “priming” de los circuitos.

El cálculo del volumen del priming y su repercusión sobre el hematocrito se basa en una ecuación entre volumen y concentración. La ecuación que se utiliza es

$$V_p = (H_t/H_f \times V) - V$$

donde V_p es el *volumen del priming*, H_t el *hematocrito inicial*, H_f *hematocrito final deseado* y V es la *volemia*.

Con esta simple ecuación se puede predecir si el volumen de priming es adecuado para llenar el circuito de CEC, y en qué valor final quedará el hematocrito por efecto de la hemodilución.

El uso de soluciones cristaloides como el Ringer Lactato o Normosol, con o sin la adición de coloides, es una práctica habitual. Si el volumen calculado para el llenado total del circuito genera un descenso mayor al hematocrito deseado, es necesario anexar concentrados de glóbulos rojos. En la tabla 1, se detallan algunos de los componentes que pueden anexarse al priming.

<i>Componente</i>	<i>Dosis</i>	<i>Acción</i>
Heparina	10-25 mg/lit. de priming	Si la heparinización sistémica es inadecuada
Manitol	1 gr./Kg.	Inducción de diuresis y protección renal
Corticoides	Varios tipos y dosis	Atenúa la activación del sistema inmune frente a la C.E.C.

Tabla 1. Componentes anexados frecuentemente a las soluciones de priming del circuito de CEC.

El grado de hemodilución debe evaluarse según la relación de entrega de oxígeno y demanda de los órganos, la cual variará según la temperatura en que sea llevada a cabo la cirugía, de acuerdo con el concepto teórico de Q_{10} (ver capítulo 1.4. fisiopatología de la hipotermia).

Los fluidos como el agua, la solución salina y el plasma cuya viscosidad es constante, son denominados Newtonianos. La sangre es un fluido no Newtoniano, ya que su viscosidad decrece cuando se incrementa la fuerza de resistencia de la columna del fluido. Esto se produce por los cambios que generan las fuerzas en partículas deformables como los glóbulos rojos ubicados en las líneas de flujo.

El descenso del hematocrito generado por la hemodilución tiene como efecto predominante la disminución de la agregación de glóbulos rojos en la zona capilar, precisamente en las vénulas post capilares. Esta disminución de la resistencia pre-post capilar permite el desplazamiento de fluido intersticial, el incremento del retorno venoso y un aumento compensatorio del volumen minuto. Por otro lado, la hemodilución disminuye la resistencia en el lecho arterial, generando una disminución de la post carga. (*Chien et al 1972, Messmer et al 1972, Nadjmabadi et al 1978*)

Existe una relación exponencial entre hematocrito y viscosidad aparente de la sangre (*Hint et al 1968*), donde la concentración de oxígeno es lineal con el hematocrito, y salvo en los casos de extrema hemodilución o hemoconcentración, el descenso del hematocrito se corresponde con el incremento global del transporte de oxígeno (*Race et a 1967, Brazier et al 1974, Buckberg et al 1975*)

La tabla 2 enumera las características reológicas de la sangre y su influencia en el transporte de oxígeno.

- La sangre es no Newtoniana, y su viscosidad varía según la presión que se ejerce sobre ella.
- La presión sobre los glóbulos rojos varía en el sistema circulatorio, siendo alta en los capilares.
- Los glóbulos rojos tienen capacidad de deformación y de agregación.
- Existe una correlación lineal entre hematocrito y contenido de oxígeno.
- Existe una correlación exponencial entre hematocrito y viscosidad.
- El descenso fraccional de hematocrito aumenta el transporte de oxígeno.
- A bajos flujos el hematocrito ideal es menor al fisiológico.

Tabla 2. Características reológicas de la sangre y transporte de oxígeno

1.3.4. Manejo ácido base

Las estrategias para el manejo de los gases en sangre y del estado ácido-base en condiciones diferentes a las de normotermia, utilizadas en circulación extracorpórea, tienen fundamentos teóricos reflejados sobre especies de animales ectotermos y poiquilotermos.

La base de estas estrategias es el manejo de los valores de CO₂ a distintas temperaturas, denominados *alfa-stat* y *ph-stat*, cada uno con características diferentes. La *alfa-stat*, constituye una estrategia de manejo de los gases en sangre similar a los cambios fisiológicos que ocurren en los animales poiquilotermos (ej. insectos) durante la hipotermia.

El nombre proviene de los grupos alfa-imidazol de la histidina, que tienen un rol de importancia como agentes alcalinizantes bajo condiciones de hipotermia. Es un estado caracterizado por una alcalosis respiratoria inducida por la hipotermia, y aunque el contenido de CO₂ de la sangre permanece en valores similares a los hallados durante normotermia, la presión parcial de CO₂ es inferior, en razón del efecto que produce el frío.

Como regla general se podría decir que la presión parcial de CO₂ (PCO₂) debe ser similar o igual a la temperatura del paciente, a medida que este es enfriado.

En contrapartida, la *pH-stat* es una estrategia del manejo de los gases en sangre similar a los cambios fisiológicos que ocurren en los animales ectotermos (hibernadores) durante la hipotermia. Obtiene su nombre de su objetivo principal, que consiste en mantener el CO₂ en igual valor promedio que al comienzo del procedimiento. Está caracterizado por que la (PCO₂) se incrementa cuando el paciente es enfriado.

Para comprender estos cambios es preciso hacer referencia a la ley de los gases conocida como *Ley de Henry*. La misma establece que un gas se disuelve en un líquido sin combinarse y que la absorción depende de la naturaleza del líquido y del gas, como así también de la temperatura y de la presión de este último. El coeficiente de absorción disminuye con el aumento de la temperatura. Por lo tanto:

- Cuando la temperatura disminuye, la solubilidad de los gases aumenta.
- Cuando la temperatura aumenta, la solubilidad de los gases disminuye.
- Cuando la solubilidad disminuye hay menos gas en solución

- Cuando la solubilidad aumenta hay más gas en solución.
- Cuando mayor sea la solubilidad de un gas en un líquido, menor será su presión parcial y por el contrario a menor solubilidad mayor será su presión parcial.
- La solubilidad y la presión parcial de un gas varían en forma opuesta según los cambios de la temperatura.
- La disminución de la presión parcial del CO_2 es de un 5% menos por cada grado de descenso térmico en sangre con un hematocrito de 20%, mientras que en el O_2 la variación es del 7 %.

En un paciente bajo anestesia y con hipotermia inducida, disminuye su tasa metabólica y por ende su producción de CO_2 .

El primer paso que ejecutan los aparatos analizadores de gases en sangre consiste en elevar la temperatura de la muestra a 37°C . A esta temperatura, disminuye la solubilidad y aumenta la presión parcial del gas. El resultado debe expresarse como “no corregido a la temperatura del paciente”. Estos equipos expresan los resultados en dos columnas, a 37°C y a la temperatura ingresada en la que está el paciente en ese instante. De esa manera puede interpretarse claramente la estrategia empleada y el efecto de la temperatura en la presión parcial de los gases.

1.3.5. Arresto circulatorio en hipotermia

1.3.5.1. Bases fisiológicas

El objetivo del arresto circulatorio se encuentra fundamentado en la necesidad de realizar cirugías cardíacas complejas, que requieren la detención de la perfusión sistémica en forma temporaria. La consecuencia de la reducción o cese de flujo sistémico desencadena una cascada de eventos celulares ampliamente estudiados.

La isquemia genera a nivel celular la depleción de adenosíntrifosfato (ATP) y de reservas de oxígeno, activándose la glucólisis anaeróbica con caída del pH intracelular y acumulación de lactato. Las bombas de las membranas celulares pierden la capacidad de mantener el gradiente iónico generando movimiento de agua dentro de la célula. Las mitocondrias se deforman y pierden su capacidad de producir energía, mientras que la entrada de calcio en la célula interfiere con las funciones enzimáticas intracelulares. Se liberan proteolasas y lipasas que inducen un proceso de autólisis. (*Grum et al*, 1990).

La hipotermia permite proteger los órganos, especialmente los vitales, de los efectos isquémicos por períodos de tiempo variables. El tiempo total de resguardo diferirá de la temperatura en que se produzca la isquemia y del tipo de parénquima involucrado.

El período de isquemia tolerable a nivel neuronal, es determinado principalmente por el efecto del descenso de temperatura sobre el metabolismo cerebral (CMRO₂). Cada 10°C de reducción en la temperatura corporal interna, el CMRO₂ desciende por un múltiplo de 3.6. Se determinó que en niños a 37°C el cerebro puede tolerar períodos isquémicos de 3 a 5 minutos; a 27 °C se puede estimar una tolerancia a la isquemia de 18 minutos, y a 17°C el tiempo aumenta a 60 minutos. Las dos últimas (27°C y 17°C), son opciones de arresto circulatorio para reparaciones intracardíacas rápidas o más prolongas.

Mientras que en estado de normotermia, el 50 a 75% de los fosfatos cerebrales de alta energía son usados para mantener el gradiente iónico de la membrana celular, el descenso de la temperatura disminuye progresivamente el consumo de los mismos. Al llegar a 17 °C las reservas de ATP se preservan durante 40 minutos de isquemia (*Greeley et al 1991, Konai et al 1994*). *Norwod et al (1979)*, comprobó en cerebros de rata la recuperación completa de los niveles de ATP tras una isquemia de 20 minutos a 20°C, contrastando con el grupo normotérmico que solo recuperó menos del 50%.

Otro punto interesante es el comportamiento de las reservas energéticas frente a un período de isquemia de miocardio en el período neonatal. En las primeras semanas de vida, el corazón es un órgano inmaduro, con una importante reserva de glucógeno y con cardiomiocitos que contienen elevadas reservas de ATP. Esta característica le permite tener mayor capacidad anaeróbica para combatir períodos de isquemia (*Barrat-Boyes et al 1986*).

1.3.5.2. Fundamentos técnicos

Las distintas patologías cardíacas congénitas, asociadas a neovascularización con drenaje en las venas pulmonares, con vasos colaterales aortopulmonares, con incremento del drenaje en el atrio izquierdo, alteran la excelente visualización del campo quirúrgico necesaria para llevar a cabo estas correcciones. Otras, con variaciones del retorno venoso sistémico, como la hipoplasia del corazón izquierdo, requieren múltiples canulaciones que complican y prolongan el procedimiento.

Frente a estos casos, se emplea habitualmente la técnica de arresto circulatorio en hipotermia profunda (DHCA). La misma permite el uso de una sola cánula venosa y una arterial, realizar el enfriamiento a 18°C, para ejecutar el arresto circulatorio y la remoción temporaria de

las cánulas. De esta manera, y por un período ideal no superior a los 60 minutos se realizan reparaciones cardíacas en un campo totalmente libre de sangre.

1.3.5.3. Descripción de la técnica (D.H.C.A.)

Aunque la forma de enfriamiento popularmente usada es mediante el puente cardiopulmonar, algunos centros la realizan a través de hipotermia de superficie mediante la colocación de hielo o inmersión del paciente en bañeras heladas. A continuación se describe el enfriamiento con CEC.

Durante la etapa de inducción anestésica el paciente es ubicado sobre un colchón de agua fría recirculante, se le coloca una vía arterial, un acceso venoso periférico y otro central. Es importante que el quirófano se mantenga a 20°C, y la utilización de iluminación de fibra óptica para evitar el calor sobre el miocardio. El paciente es heparinizado a razón de 300Ui/Kg, manteniéndose el tiempo de coagulación activada (TCA) en un valor superior a 400 segundos. Se inserta una cánula en la aorta ascendente y una cánula venosa simple de atrio derecho, conectando a continuación el paciente al circuito, para iniciar el puente cardiopulmonar. En esta etapa el sistema de intercambio de temperatura de agua circulante es fijado a 5°C. Idealmente, se registra la temperatura esofágica, rectal y timpánica. Según los grupos de trabajo, se utilizan el manejo ácido base ph-stat o alfa-stat. Se aconseja la administración de metilprednisolona a una dosis de 30 mg/Kg, al inicio del bypass.

Llegado a los 18°C se clampea la aorta y se administra la solución cardioplégica para suspender la actividad cardíaca y se detiene el bypass cardiopulmonar. La sangre del paciente es drenada en el reservorio venoso y la cánula venosa es clampeada y removida temporalmente.

Durante el período de arresto, la sangre y el priming son recirculados en el circuito extracorpóreo.

Una vez finalizada la reparación, el corazón es purgado con solución salina y la cánula venosa reinsertada. Se reinicia el bypass y comienza la etapa de recalentamiento, manteniendo la presión arterial media (PAM) entre 40 y 70 mmHg con la ayuda de vasodilatadores o fenilefrina según el caso. En este período la temperatura del agua recirculante no debe superar en 10-12°C la temperatura del paciente.

Los protocolos de perfusión de referencia internacional de ésta técnica pertenecen al Boston Childrens Hospital y al Sick Children Hospital Great Ormond Street, London.

1.3.5.4. Tiempo de arresto circulatorio

La duración del tiempo de arresto está sujeta además de la temperatura y tipo de procedimiento quirúrgico, a variables biológicas individuales. El normograma desarrollado por *Kirklin y Barrat-Boyes* (1986), fue creado sobre estadísticas de distintos centros y diferentes patologías, para evaluar en forma tentativa la seguridad de conservar la integridad neurológica y el desarrollo cognitivo, frente a un arresto circulatorio a distintas temperaturas.

Del mismo se desprende la posibilidad de realizar el cese de circulación a temperaturas superiores y por menor tiempo. La posibilidad de detener el flujo a temperaturas de 27-25°C, es mencionado como arresto circulatorio en hipotermia moderada (MHCA).

Cooley et al (1982), describió la reparación de un arco aórtico en un adulto con hipotermia moderada de 25°C y arrestos circulatorio de 27 minutos, con éxito y sin secuela neurológica evidente.

La ventaja de no disminuir tanto la temperatura, encuentra su justificación en los efectos adversos de la hipotermia profunda. La dinámica de las curvas de enfriamiento comparativas entre nasofaringe, recto, cerebro y miocardio, fue evaluada experimentalmente en cerdos

(*Stefaniszyn et al 1983, Davis et al 1993*). Estos trabajos muestran que para llegar a temperaturas cerebrales de 18°C el miocardio tiene que enfrentar temperaturas cercanas a los 10°C, mientras que en hipotermia moderada la brecha de temperatura de estos dos órganos se estrecha.

Uno de los potenciales efectos adversos del arresto circulatorio en hipotermia es la convulsión, descrita en el 4-10% de los pacientes en período postoperatorio inmediato (*Ehyai et al 1984*).

1.4. Fisiopatología de la hipotermia

La utilización de la hipotermia local o sistémica ha sido empleada en el último siglo en el afán de combatir el cáncer, infecciones, trauma, enfermedades del sistema nervioso central y como método anestésico en amputaciones. Fue en el año 1950 cuando *Bigelow*, demuestra la tolerancia a la oclusión prolongada del flujo venoso de las venas cavas (inflow occlusion) en animales hipotérmicos.

Los efectos de la hipotermia han sido ampliamente estudiados en los últimos 60 años, y sigue siendo en la actualidad un tema vigente en el área de la hipotermia terapéutica neuroprotectora.

La disminución de la temperatura corporal en forma controlada es utilizada para lograr el descenso del metabolismo de los tejidos (Figura 1), lo cual permite la recuperación funcional, una vez finalizada una injuria de hipoperfusión o arresto circulatorio temporal, gracias a la disminución del consumo de oxígeno (VO_2).

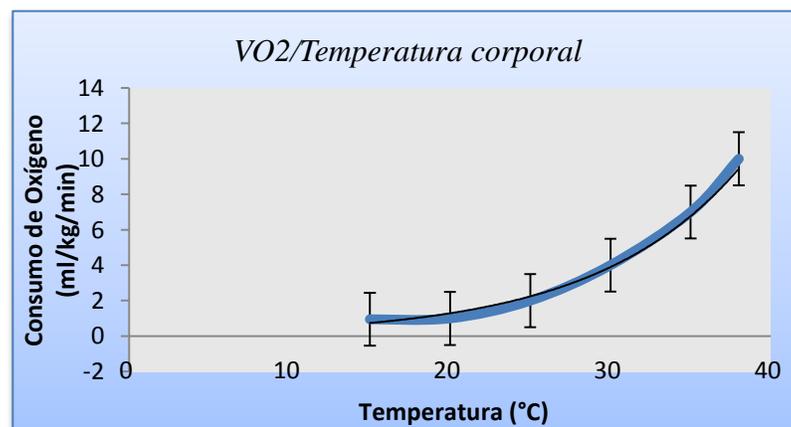


Figura 1. Curva de consumo de O₂ en relación a la temperatura corporal

Las variaciones del VO₂ frente a distintas temperaturas, permite modificar los flujos de perfusión. *Hickey et al* (1983), reportaron que la reducción del flujo de perfusión de 2,1 a 1,2 litros/min/m² en humanos a 25°C, no afecta el VO₂.

El coeficiente que expresa la relación entre la temperatura y la actividad metabólica es denominado *Q10*. Este coeficiente cambia de valor cada vez que la temperatura corporal interna desciende 10°C. A su vez, el valor del *Q10* es diferente para los distintos órganos, a nivel celular y en los procesos enzimáticos de cada célula (*Greeley et al* 1991). De esta manera se explica el aumento progresivo de tolerancia de los distintos órganos a la isquemia, por ejemplo el cerebro, que a 37°C muestra una tolerancia de 3 a 5 minutos sin sufrir alteraciones, mientras que a 18°C se observa un incremento significativo a una hora de tolerancia a los efectos de la privación de oxígeno.

Aunque la hipotermia ayuda a tolerar la isquemia, sus efectos adversos deben ser considerados, ya que ciertos procesos biofísicos, como la ósmosis y la difusión de agua son afectados por la profundidad de la misma.

El volumen celular es regulado por la bomba de Na-K (*MacKnight et al* 1970) cuyo funcionamiento es afectado por la disminución de la temperatura, determinando la entrada de agua a la célula. Estos cambios ocurren a temperaturas inferiores a 15°C, mientras que a mayor temperatura se mantiene la capacidad de prevenir la disrupción de la distribución iónica (*Hearse et al* 1976).

El efecto de la hipotermia a nivel enzimático es dispar. Esta variabilidad de la actividad enzimática fue utilizada para describir el concepto de transición de temperatura, ejemplificado por el hecho de que la actividad enzimática de la Na-K-ATPasa del corazón se ve afectada a los 22°C y a 17°C en el hígado. Esto es atribuido a la fase de transición de los lípidos de membrana

de fluido a gel, la cual es variable a distintas temperaturas en los órganos descritos (*Hearse et al 1981*).

A nivel neuronal la enzima calcio/calmodulin Proteinkinasa, cumple varias funciones importantes, regulando la función celular, la síntesis de neurotransmisores, la movilización de vesículas sinápticas y la conductancia iónica. La isquemia cerebral afecta severamente dichas funciones. Un evento isquémico en normotermia produce un descenso del 39% de la actividad de esta enzima, mientras que si se produce a 32°C, su actividad no es afectada (*Churn et al 1990*). Otra enzima neuronal intracelular, la protein/kinasa C (PKC), regula la liberación de neurotransmisores pero su actividad no es afectada por la isquemia, si se produce a 27°C de temperatura corporal interna (*Cardell et al 1991*).

El aumento de los niveles de neurotransmisores, llamado excitotoxicidad, se observa luego de la isquemia cerebral en normotermia, y ha sido postulado como causa de injuria cerebral (*Cardell et al 1990*).

A nivel cardíaco la alteración de la bomba Na-K por la hipotermia, genera un aumento del calcio libre del sarcolema miocárdico, generando disturbios de la conducción. Hay sensibilidad a las arritmias, traducidas en complejos prematuros ventriculares, bloqueo auriculo-ventricular, fibrilación atrial o ventricular y asistolia. Esto se asigna a disturbios iónicos y la inestabilidad del sistema nervioso autónomo.

Ya en la década del 50, se compararon los efectos de la hipotermia aguda en los caninos, observando que el mecanismo de muerte en los perros adultos fue la fibrilación ventricular y en los jóvenes la asistolia (*Maguire et al 1955*).

El 85% del O₂ que consume el corazón está destinado a la actividad electromecánica del mismo (Figura 2), por lo que el efecto de la hipotermia en disminuir su metabolismo basal es relativamente bajo (*Chitwood et al 1979*).

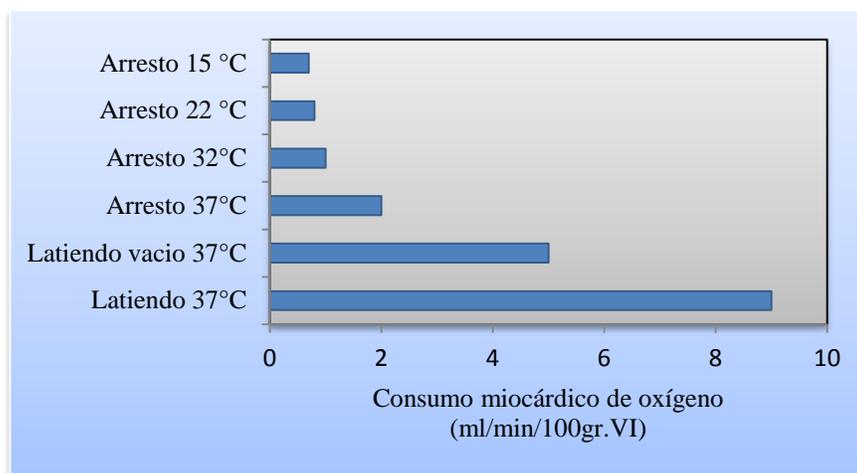


Figura 2. Consumo miocárdico de oxígeno en distintas situaciones no fisiológicas

En un estudio experimental se evaluó la recuperación del flujo aórtico luego del arresto cardíaco causado por soluciones cardioplégicas durante 60 minutos, con rangos de hipotermia corporal de 4 a 37°C, demostrándose el beneficio de las temperaturas inferiores a 25°C (*Jonas et al 1979*). *Balderman et al* (1983), estudió los efectos de la isquemia durante 2 horas en corazones de caninos a diferentes temperaturas. El autor destacó la preservación de la ultra estructura mitocondrial y de las reservas de los fosfatos de alta energía, a temperaturas inferiores a 18°C. *Buckberg et al* (1977), documentó el aumento de la fuerza de contracción cardíaca, el aumento del consumo de oxígeno por latido y la disminución de la compliance diastólica del ventrículo izquierdo como respuesta a la hipotermia.

Aoki et al (1993) comparó la relación entre enfriamiento de miocardio preischemia y niveles de calcio ionizado, en un modelo experimental realizado en corderos. Su estudio demuestra que la disminución de los niveles calcio en el priming del circuito de circulación extracorpórea debido a la presencia del anticoagulante citrato en las unidades de sangre, disminuye los efectos negativos de la hipotermia

En los protocolos de perfusión con arresto circulatorio e hipotermia profunda (DHCA), se requiere exponer al corazón, latiendo a temperaturas muy bajas hasta llegar el momento de administración del cardioplégico, cuando el paciente está a 18°C en nasofaringe.

Presumiblemente, esta duración en el enfriamiento, generaría el aumento de calcio libre intracelular del sarcolema miocárdico. El enfriamiento rápido, en corazón de neonatos, genera un aumento de la tensión de pared, aumento de la presión ventricular diastólica, y en el posquirúrgico se asocia con disminución del gasto cardíaco. En un estudio retrospectivo sobre 497 infantes menores de 10 Kg. de peso, la eliminación de la perfusión fría rápida del miocardio, en el estadio de no arresto, y el uso de cardioplegía sanguínea normotérmica, demostró un marcado aumento en el porcentaje de supervivencia (*Williams et al* 1990).

A nivel pulmonar, la hipotermia disminuye la ventilación a medida que desciende la temperatura, y los espacios muertos fisiológicos y anatómicos se incrementan por la dilatación bronquial debida al frío. Temperaturas inferiores a 26°C aumentan la resistencia vascular periférica y pulmonar. (*Davies et al* 1993)

Los cambios en transporte y difusión de oxígeno que pueden ocurrir, serán determinados por el grado de hemodilución, la estrategia acido base empleada, y el efecto de la temperatura en la compresión de los gases y en la curva de disociación de hemoglobina. Aunque se mantenga una oxigenación y saturación de oxihemoglobina adecuada, la hipotermia y la alcalosis

consecuente, desviarán la curva hacia la izquierda, disminuyendo la oferta de oxígeno a los tejidos.

A nivel renal la hipotermia genera un incremento en la resistencia vascular, disminuyendo su flujo y la entrega de oxígeno. Se afecta entonces el transporte de sodio, agua y cloro, junto a la capacidad de concentración y a la reabsorción tubular. La hemodilución, colabora en mejorar estos aspectos y mantener la integridad tubular en el postquirúrgico (*Davies et al 1993*). En el hígado, la disminución de las funciones metabólicas y excretoras son temporarias y reversibles (*Davies et al 1993*). En ocasiones, se puede observar hiperglucemia, debido a la reducción de la producción endógena de insulina desde los 32°C de temperatura. (*Davies et al 1993*).

La curva de descenso térmico debe ser suave, idealmente de 1°C cada 1-2 minutos, para obtener un enfriamiento uniforme. Generalmente el tiempo para conducir a DHCA lleva unos 15-30 minutos de perfusión, y el mismo varía según los protocolos de perfusión de cada centro de referencia.

La figura 3 muestra que a medida que se produce el mismo, se registra un rango diferencial entre las temperaturas del miocardio, rectal, esofágica y de la cánula arterial de circulación extracorpórea.

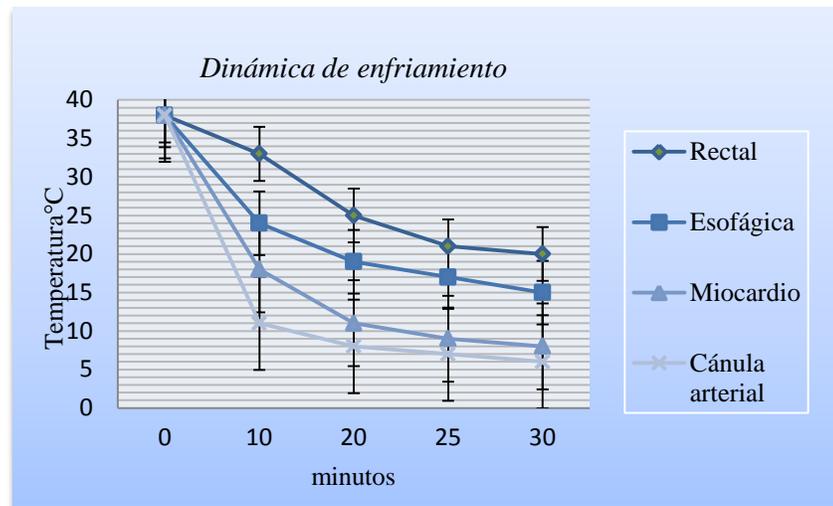


Figura 3. Gradientes entre temperatura miocárdica, rectal, esofágica y de la cánula arterial.

1.5. Respuesta pulmonar post CEC

En el año 1977 Pennock, escribió: “aún los problemas pulmonares, son la causa más frecuente de morbi-mortalidad después de un puente cardiopulmonar”. Esto se acentuaba en pacientes con patología pulmonar preexistente o cirugía con CEC superior a las tres horas. Todos los pacientes que sean sometidos a una toracotomía sufren las consecuencias del colapso pulmonar y de la lesión pleural. Estos cambios de la mecánica pulmonar, impactarán en base a la reserva funcional previa que posean. Si sumamos el impacto de la circulación extracorpórea con su respuesta inflamatoria asociada, tenemos otro factor de injuria pulmonar aguda, que puede ir desde un cuadro clínicamente imperceptible hasta un síndrome de distress respiratorio. Por otro lado, las importantes funciones metabólicas del pulmón, son suspendidas durante el tiempo que dure la CEC, debido a la falta de flujo pulmonar.

La atelectasia, es la complicación pulmonar más común luego de una cirugía cardíaca. Durante el período de CEC o de arresto circulatorio, los pulmones no son perfundidos y se colapsan por completo. Al ser re expandidos, un grado variable de atelectasia permanece remanente, desde microatelectasia hasta colapso lobar completo. Según su magnitud, el impacto en la mecánica pulmonar varía en distintos porcentajes de alteración en la capacidad residual funcional, la compliance pulmonar, la relación ventilación-perfusión (V-Q) y el gradiente alveolo arterial de oxígeno (*Sladen R et al 1993*).

Además, durante el puente cardiopulmonar se produce una respuesta inflamatoria e inmunológica, debida al contacto de la sangre con superficies extrañas (Figura 4), produciendo una afección pulmonar aguda, conocida como pulmón de bomba, de intensidad variable (*Konai et*

al 1994). Debido al contacto de la sangre con el circuito de circulación extracorpórea, se genera una combinación de reacciones que impactan en la función de los distintos órganos, siendo el pulmón el órgano primariamente afectado. El sistema de proteínas plasmáticas (contacto, coagulación intrínseca y extrínseca, fibrinólisis y complemento), es activado, generando una respuesta inflamatoria e inmunológica sistémica (*Edmunds et al 1998*). A nivel celular se activan las plaquetas, células endoteliales, neutrófilos, monocitos y linfocitos. En caso de existir disfunción endotelial previa, como en los pacientes con hipertensión pulmonar, hay mayor reactividad del pulmón frente a la CEC y menor capacidad de substracción de catecolaminas (*Greeley et al 1988*).

En niños, la utilización de volúmenes de cebado de los circuitos de circulación extracorpórea relativamente elevados, genera mayor respuesta inmunológica y de coagulación. Además el tiempo de isquemia y el descenso de temperatura son factores que agravan la función pulmonar (*Konai et al 1994*).

En el posquirúrgico, la administración de protamina, utilizada para neutralizar la acción de la heparina, permite el pasaje de la albúmina (normalmente rechazada por su carga negativa) hacia el intersticio pulmonar, favoreciendo la producción de edema (*Konai et al 1994*).

Los complejos de adhesión plaquetaria junto a filamentos de actina generan la migración leucocitaria. Estos mecanismos de injuria pulmonar son atribuidos a la activación del complemento, y esta, principalmente causada por los oxigenadores y a la protamina.

Kirklin (1983) evaluó los niveles de C3 (factor de complemento) luego de 3 horas de puente cardiopulmonar. Tanto C3a y C5a se elevan por activación de la cascada. Estas potentes anafilotoxinas, permiten la agregación de leucocitos circulantes y la liberación de mediadores

bioquímicos y sustancias citotóxicas. También estimulan a los mastocitos, liberando histamina, lo que genera broncoespasmo.

Asimismo los neutrófilos generan injuria pulmonar (*Fountain et al 1980*). Cuando la circulación pulmonar es aislada durante el puente cardiopulmonar, se produce neutropenia transpulmonar. Esta activación neutrofílica debida al factor C5a por medio de receptores específicos, genera radicales libres, enzimas proteolíticas y péptidos catiónicos, todos causantes de daño endotelial. La adhesión endotelial es estimulada por las citoquinas, el factor de necrosis tumoral, interleukinas e interferón alfa (*Kirklin et al 1983, Konai et al 1994*).

En el año 1986, se describieron las primeras evidencias de radicales libres en el pulmón debido a la CEC. La interacción del neutrófilo con el endotelio pulmonar activa la enzima NADPH generando dichas moléculas. También los neutrófilos liberan enzimas lisosómicas, responsables de injuria pulmonar (*Konai et al 1994*). Finalmente, aparecen las endotoxinas, provenientes de la membrana celular de las bacterias Gram negativas. Su aumento se observa desde la remoción del clamp aórtico y la finalización del puente cardiopulmonar. Los niveles son inferiores a los encontrados en pacientes con shock séptico.

En el pulmón de bomba se evidencia atelectasia difusa por cambios en la actividad del surfactante. Esto genera disminución en la compliance pulmonar. Las células del epitelio pulmonar tipo II son las más resistentes a la injuria. La vasculatura pulmonar es afectada por mediadores vasoactivos. Un potente vasoconstrictor, la endotelina, es liberada con posterioridad al inicio del puente cardiopulmonar, debido al estrés quirúrgico, al shock y a la hipoxia alveolar. El endotelio pulmonar sintetiza normalmente sustancias vasoactivas. Una es la prostaciclina, vasodilatador e inhibidor de agregación plaquetaria y la otra, el tromboxano, vasoconstrictor y

promotor de la agregación plaquetaria. Ambas se encuentran en equilibrio en su formación a nivel endotelial. El puente cardiopulmonar genera la alteración de este balance eicosanoide, a favor del tromboxano, y también cambios en la extracción de prostaciclina, provocando hipertensión pulmonar en el tiempo posquirúrgico (*Greeley et al 1988*). Esta respuesta inflamatoria e inmunológica puede ser atenuada gracias a técnicas de ultrafiltración, que por medio de hemofiltros ubicados en el circuito de circulación extracorpórea, tiene la capacidad de filtrar moléculas de bajo peso molecular, respetando la osmolaridad del suero (*Portela et al 1999*). En este filtrado se encuentran sales, glucosa y moléculas pro-inflamatorias como interleukinas, leucotrienos, factor de necrosis tumoral, etc., con la subsiguiente mejora de los parámetros postoperatorios de ventilación y coagulación (*Elliot et al 1993, Portela et al 1999*).

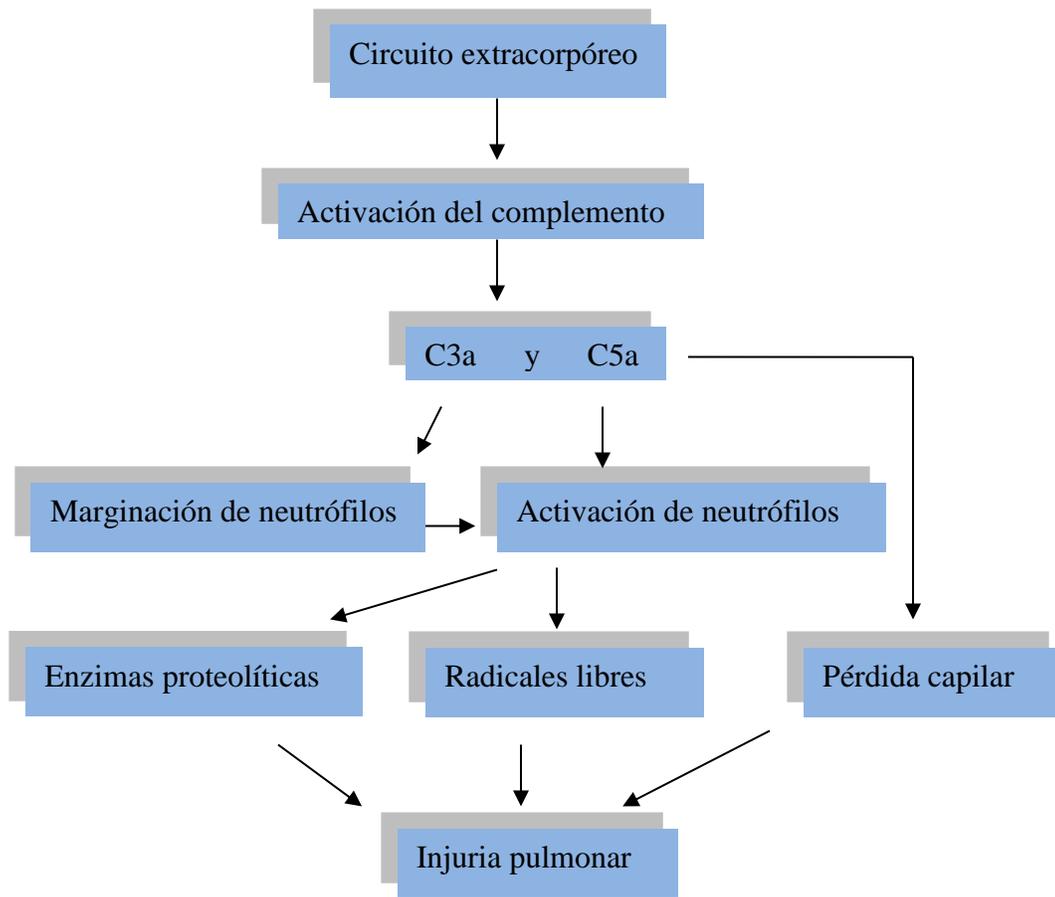


Figura 4. Fisiopatología del pulmón de bomba

1.6. Efectos del puente cardiopulmonar en el cerebro

La posibilidad en medicina humana de realizar reparaciones cardíacas complejas, expone a los pacientes a situaciones biológicas extremas. Estas incluyen hipotermia profunda de 15 a 20°C, hemodilución, presiones de perfusión de 30mmHg, variaciones en el flujo de perfusión de 200 ml/kg/min hasta el arresto circulatorio total, y distintos esquemas de manejo de ph (*Souza et al 2006*). Estos parámetros no fisiológicos alteran la autorregulación del flujo sanguíneo cerebral con un posible impacto neurológico en la evolución a largo plazo. Los pacientes adultos rara vez son expuestos a estas situaciones extremas, con temperaturas de hipotermia moderada de 25°C, leve hemodilución, presiones de perfusión de 40 a 80 mmHg y flujos de 60 ml/kg/min.

1.6.1. Autorregulación del flujo sanguíneo cerebral y metabolismo.

La hipotermia es claramente el factor que más afecta la hemodinamia y el metabolismo del cerebro. Produce una reducción en el flujo sanguíneo cerebral (FSC) y del metabolismo cerebral (CMR_{O₂}). La relación flujo/metabolismo es vital para asegurar una adecuada entrega de oxígeno. En las figuras 5 y 6, puede observarse que el comportamiento del (FSC) y el (CMR_{O₂}) es distinto frente a la hipotermia, mostrando un descenso lineal y exponencial respectivamente. Esta brecha que se genera entre ambas, aumenta el margen de neuroprotección frente al descenso lineal del (FSC) en hipotermia.

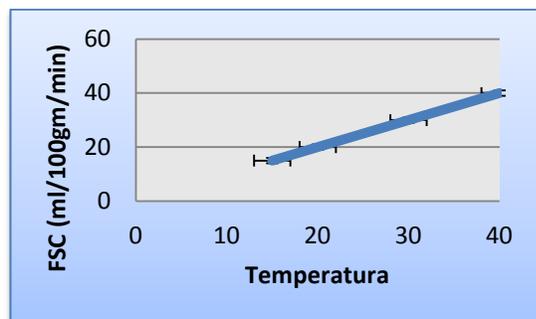


Figura 5. Relación temperatura / FSC

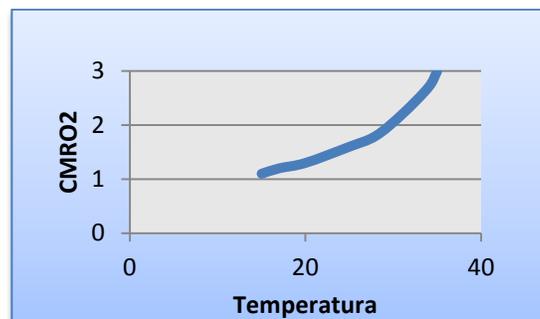


Figura 6. Relación temperatura/CMRO2

El (FSC) tiene su capacidad de autorregulación intacta independientemente de la presión arterial media (PAM) en hipotermia moderada, mientras que se ve alterada en hipotermia profunda, por lo que una baja (PAM) significa descenso del (FSC) (*Greeley et al* 1988, 1991)

La autorregulación de la relación flujo/presión con la capacidad de mantener el (FSC) constante frente a cambios de temperatura de hasta 26°C, y de (PAM), fue descrita en adultos por *Murkin et al* (1987). Esto explica porque la vasculatura cerebral conserva en hipotermia moderada (25°C) sus propiedades de dilatarse durante bajas presiones de perfusión y de contraerse en situaciones inversas.

Greeley et al (1991), demostraron que a temperaturas más bajas, 15 y 20°C, la autorregulación del flujo/presión se pierde. A estas temperaturas la resistencia vascular cerebral (RVC) aumenta, y se mantiene alta frente a la reducción del flujo y la presión de perfusión.

Como ya se mencionó, el metabolismo cerebral se altera cuando se producen variaciones de temperatura del orden de los 10°C (coeficiente de temperatura o Q10). En estudios experimentales, se evaluó el *Q10* en distintas especies animales. En perros, el coeficiente fue de

2,2, en monos fue calculado en 3,5 y en el hombre adulto 2,8. Mientras tanto en neonatos y niños su cálculo es de 3,7. (*Greeley et al 1991*). Pese a las diferencias inter e intra-especie, y a las de edad, caracterizada por una menor masa cerebral y mayor susceptibilidad de neuronas inmaduras, resulta claro que estos son valores orientativos para evaluar el período de seguridad frente a una reducción o cese de flujo a bajas temperaturas.

1.6.2. Relación entre (CO₂) y (FSC).

El CO₂ es un potente cerebrovasodilatador, habiéndose demostrado que su aumento, incrementa el (FSC) (*Govier et al 1991, Murkin et al 1987*). Esta acción es más marcada con el incremento de la edad, tanto en el hombre como en animales. Es fundamental comprender entonces, que el manejo del CO₂ y su acción, estará sujeto a la estrategia de pH seleccionada. Una de las estrategias de pH se denomina *alfa-stat*, y se caracteriza por mantener los valores de PaCO₂ en un valor cercano al de la temperatura del paciente. Por otro lado, la estrategia *ph-stat* mantiene los valores de PaCO₂ en valores cercanos a 45mmHg corregidos a la temperatura del paciente. La primera, *alfa-stat*, mantiene la neutralidad electroquímica intracelular, las funciones enzimáticas, el acople (FSC /CMR₀₂) y disminuye el (FSC). La segunda estrategia, *ph-stat*, aumenta el (FSC) y, aunque se menciona que podría tener mayor potencial de distribuir material embolizante (aire o partículas), muchos grupos de trabajo la aplican para la técnica (DHCA), ya que permite un enfriamiento uniforme y disminuye la incidencia de convulsiones postquirúrgicas.

Según explica la ley de Henry, la diferencia potencial del efecto de estas estrategias en cuanto a PaCO₂ y pH, se expresará más, cuanto menor sea la temperatura.

La tabla 3 muestra que a 30°C la diferencia de PCO₂ entre ambas es de 7mmHg y de pH 0,06, a 18°C, la diferencia de PCO₂ es de 80 mmHg, y del pH 0,24. (Swan H 1984)

Estrategia acido-base	PaCO ₂ a 28°C (mmHg)	PaCO ₂ a 37°C (mmHg)
Ph-stat	40	60
Alfa-stat	28	40
	<i>Corregido</i>	<i>No corregido</i>

Tabla 3. Niveles de PaCO₂ en Alfa-stat y Ph-stat, en hipotermia moderada

1.6.3. Relación entre (O₂) y (FSC)

La hipoxemia genera un aumento del (FSC), mientras que la hiperoxia lo disminuye. Esto explica el mecanismo de seguridad de entrega de oxígeno al cerebro. El manejo *alfa-stat* mantiene la respuesta del cerebro a estos cambios, permitiendo que frente a altos niveles de PaO₂ se reduzca el (FSC) un 15 %.

1.6.4. Injuria cerebral

La injuria cerebral generada por la hipoperfusión o el arresto circulatorio, pese a los distintos niveles de hipotermia neuroprotectora, es un punto crítico de las secuelas postquirúrgicas. En normotermia, las consecuencias del descenso de flujo de perfusión, son

cambios celulares con depreciación de la reserva de oxígeno y del (ATP), aumento de la glucólisis anaeróbica y del lactato, descenso del pH celular, edema celular, aumento Ca^{+} intracelular y disfunción enzimática (*Kirklin et al 1983, Kern et al 1993*)

La duración del tiempo máximo de arresto circulatorio fue evaluada, para determinar la probabilidad de recuperación de función neurológica luego del arresto circulatorio total o reducción de flujo en hipotermia (*Bretschneide et al 1980*). Las técnicas de CEC con disminución de flujo de perfusión (HLFB) o de cese de flujo de perfusión (DHCA), están destinadas a generar protección cerebral (*Kenneth et al 1998*), respaldadas por los conocimientos de la fisiología del flujo y metabolismo antes descriptos.

En trabajos experimentales de (HLFB), en caninos, llevados a una temperatura corporal de 20°C, el flujo cerebral óptimo (FSC) se conserva con un flujo de perfusión de 30 ml/Kg/min (*Molina et al 1985*). Otro estudio experimental, comparó un grupo de caninos sometidos a (DHCA) a 18°C durante 60 minutos, con otro grupo sometido a (HLFB) a 18°C durante el mismo período de tiempo. Se compararon las técnicas por medio de muestras comparativas de sangre venosa yugular de la enzima CK-BB, para evaluar injuria cerebral, no hallando diferencias significativas entre ambas. Es así, que durante un puente cardiopulmonar, a medida que se descende la temperatura corporal interna, disminuye el flujo necesario para mantener la perfusión de los tejidos. El flujo descende de 2,2 L/min/m² a 37°C, a 1,2 L/min/m² a 20°C (*Kern et al 1993*).

Las causas generales que desencadenan la injuria cerebral son: la isquemia por hipoperfusión o arresto circulatorio, los micros o macroémbolos, el posicionamiento erróneo de las cánulas y la respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) generada por el contacto de la sangre con superficies extrañas extracorpóreas. Aunque el flujo cerebral tiene mecanismos de autorregulación, es influenciado por la técnica anestésica, la temperatura y la PaCo₂. La estrategia de manejo ácido-base utilizadas en el periodo de hipotermia también influencia esta regulación (*Kenneth et al 1998*). La respuesta inflamatoria en el cerebro se debe a la interacción entre las células del endotelio y los leucocitos. Estos, normalmente circulan en flujo axial, pero ante la respuesta inflamatoria, la activación de selectinas genera cambios de este movimiento, determinando que los leucocitos comiencen a rodar sobre la superficie endotelial. Luego las integrinas, moléculas de adhesión, fijan las células blancas a las endoteliales y, finalmente, sucede la transmigración de los leucocitos al cerebro (*Kern et al 1993*)

1.7. Isquemia cerebral y neuroprotección

La isquemia cerebral es un proceso originado por una disminución del FSC, suficiente como para interferir con la función del sistema nervioso central. (*Castillo et al*, 2000). Esta disminución del FSC puede conducir, según su intensidad, a la aparición de necrosis celular a través de una serie de reacciones metabólicas y bioquímicas (*Siesjö et al*, 1984). El descenso del FSC puede ser completo o incompleto, global o focal y transitorio o permanente. La evaluación de métodos y drogas neuroprotectoras, previa o posteriormente a un insulto isquémico, es de gran interés para las ciencias básicas, y se refleja en los trabajos de investigación publicados.

Los grupos de intensivistas que se desempeñan en esta área, evalúan distintos métodos de enfriamiento neuroprotectivo, posterior a un insulto isquémico, para ser aplicado en pacientes que responden a las maniobras de resucitación tras un paro cardíaco o fibrilación ventricular. A su vez, se dispone hoy de un arsenal terapéutico farmacológico para atenuar los efectos de la cascada de eventos desatados por la isquemia, que va desde las primeras horas de producida hasta la semana de la misma. Según el trabajo presentado por *Muñoz et al* (2000), se dispone de una clasificación de fármacos neuroprotectores en base a su acción:

- Acción sobre los canales iónicos voltaje-dependiente
- Acción sobre la neurotransmisión nerviosa
- Acción sobre la síntesis de óxido nítrico
- Antioxidantes
- Moduladores de respuesta inflamatoria
- Moduladores de la expresión de genes

Pese a los numerosos trabajos publicados en relación a la hipotermia, el tiempo ideal de enfriamiento, la duración, los métodos y sus efectos en los distintos órganos se encuentran en constante revisión. La experimentación con protocolos de arresto cardíaco y resucitación en animales, permitió administrar estos fármacos en forma previa al insulto isquémico, con resultados neuroprotectivos. (*Kuboyama et al 1993, Margraf et al 2001*). Tras un evento cerebral isquémico, en los protocolos de hipotermia terapéutica clínica, se mantiene al paciente a temperaturas de 32-33°C, por 12 a 24 horas, extendiéndose a 72 hs en la asfixia neonatal (*Shah et al 2007, Shankaran et al 2005*).

En contraste a lo descrito hasta aquí, la hipotermia neuroprotectiva en pacientes cardioquirúrgicos tiene la ventaja de ser aplicada estratégicamente y en forma previa a la isquemia que pueda sufrir el cerebro, según el protocolo de perfusión seleccionado y la cirugía planificada. Las técnicas de (LFB) y (DHCA), son las que llevan a valores de hipotermia profunda a 18°C, para luego ser recalentado a 37°C al finalizar la cirugía. Existe también la técnica de arresto circulatorio en hipotermia moderada (MHCA) a 25°C, donde el tiempo de isquemia cerebral permitido es menor.

La explicación biológica simple de que la hipotermia puede proporcionar protección contra la lesión cerebral anóxica, reduciendo los requerimientos cerebrales de oxígeno, no explica su funcionamiento de forma plena. La hipotermia interrumpe diferentes vías metabólicas y bioquímicas que participan en la génesis del daño cerebral isquémico, previene la lesión por radicales libres, el daño de membrana celular y el producido por neurotransmisores (*Chopp et al 1989, Dempsey et al 1987, Kramer et al 1968, Busto et al 1989*). Aunque ningún fármaco logre

hoy igualar el efecto neuroprotector de la hipotermia, se está intentando combinarlos en distintos protocolos para bloquear las reacciones a diferentes niveles bioquímicos. (*Ebmeyer et al 2000*).

Se realizaron evaluaciones en animales en forma experimental, mediante neuroprotección conjunta, combinando el protocolo de arresto circulatorio en hipotermia con la suma de algún fármaco. Se describió para tal propósito el uso de la eritropoyetina recombinante, la ciclosporina A, ácido valproico, allopurinol, metilprednisolona, arginina, aprotinina (*Romsi et al 2002, Clancy et al 2001, Tatton et al 2001, Ywata et al 2010, Hagl et al 2001*). Todas estas referencias fueron asociadas a protocolos clínicos o de investigación animal utilizando la técnica de arresto circulatorio e hipotermia profunda a 18°C (DHCA). Según *Clancy (2001)*, el allopurinol provee una cardio-neuro-protección significativa en pacientes pediátricos con hipoplasia de ventrículo izquierdo que deben ser sometidos a cirugía utilizando DHCA. No se observaron efectos adversos por su administración.

En el año 2001 (*Hagl et al*), describieron los efectos neuroprotectores potenciales de la ciclosporina, como potente inhibidor de la vía de la apoptosis neuronal, en un modelo crónico de arresto circulatorio e hipotermia profunda en porcinos. En el trabajo realizado en porcinos sometidos a 90 minutos de arresto circulatorio bajo temperatura de 18°C (*Tatto AA 2001*), utilizando grupos placebo y otros con distinta dosis de *Ciclosporina A v. Cicloheximida*, se evaluó la apoptosis celular en la zona CA1, CA2 y CA3 del hipocampo. En un trabajo reciente, (*Hwang et al 2010*), describe la actividad de bloqueo transicional de la permeabilidad de la membrana mitocondrial, y evalúa, en roedores recién nacidos, el efecto neuroprotector de la Ciclosporina vía intraperitoneal, en un modelo de insulto isquémico de 2 horas con oxígeno al 8 % y ligadura unilateral de carótida.

En un modelo in vitro de cultivo celular de astrocitos de ratón (*Iwata et al* 2010), y sobre las bases teóricas de que la aprotinina disminuye la exitotoxicidad mediante neuroprotección directa, se afectó el contenido del medio de crecimiento durante 7 días simulando una afección isquémica. Los cultivos con aprotinina redujeron la muerte celular por apoptosis de 84,4% a 51,8%.

Kawata (2006) evaluó el efecto neuroprotectivo de la eritropoyetina en un modelo de arresto circulatorio en hipotermia en caninos. Administró a un grupo una dosis de 5000 Ui/k de Eritropoyetina recombinante humana, y solución salina al grupo placebo. Posteriormente se conectaron a circuito de circulación extracorpórea y fueron enfriados a 18°C para el posterior arresto circulatorio durante 120 minutos. Subsecuentemente fueron evaluados los niveles de proteína *tau* y las características histopatológicas del cerebro y la médula espinal. Los niveles de proteína *tau* y la evaluación histopatológica de cambios por isquemia neuronal o apoptosis de la zona CA1 del hipocampo, fueron significativamente menores en el grupo pre-tratado con eritropoyetina.

Existen estudios similares describiendo el uso del ácido valproico, en caninos sometidos a 120 minutos de arresto circulatorio a 18°C. Se evaluaron los niveles de N-acetyl-aspartato mediante espectrofotometría de masa y Score histopatológico (*Pittsburgh CanineNeurologicScoringSystem*) de evaluación de muerte neuronal total en corteza, cerebelo e hipocampo. Como con la eritropoyetina, el ácido valproico mostró efectos de protección cerebral respaldados por bioquímica e histopatología, demostrando ser una droga promisorio para su uso en protocolos de cirugía cardíaca.

Los corticoesteroides, también integran los protocolos de rutina de arresto circulatoria en hipotermia. La metilprednisolona se ha descrito como un neuroprotector anexo en modelos de experimentación. Algunos autores (*Abdul-Khaliq et al 2000*, *Shum-Tim et al 2001*), mencionan que los efectos neuroprotectivos de los esteroides sistémicos, se manifiestan a través de la reducción del edema cerebral con índices inmunohistoquímicos alentadores. En la evaluación de injuria neurológica luego de arresto circulatorio a 15°C durante 120 minutos en cerdos pre-tratados con altas dosis de metilprednisolona (30mg/k), administradas 24 horas antes (*Wehsack et al 2005*), describe la falla en la inhibición de la apoptosis y además necrosis en las regiones de la corteza, cerebelo, hipocampo y núcleo caudado.

1.8. Relevancia de la investigación propuesta

La cardiocirugía con circulación extracorpórea en Medicina Humana, ha recorrido una vasta historia en 60 años, y requirió de la investigación constante para extrapolar técnicas aplicables en el hombre.

Valiéndose de los resultados experimentales en animales a lo largo de este tiempo, la Medicina Veterinaria dispone hoy, de numerosos resultados que pueden ser aplicados a las especies domésticas. Este proceso se desarrolló por distintos frentes, donde la fisiología, las técnicas quirúrgicas y de perfusión, junto al desarrollo biotecnológico, fueron sus principales pilares. Hoy disponemos de ellos para concebir opciones terapéuticas en animales de compañía que décadas atrás pertenecían al terreno de las utopías.

No obstante esta simbiosis, permite que nuevas investigaciones puedan generar o confirmar conceptos y mantener la retroalimentación entre estas disciplinas.

La presente Tesis se inspiró en las numerosas investigaciones desarrolladas en todo este tiempo, pero teniendo siempre la premisa de buscar desarrollar una técnica de cardiocirugía con los principios de la circulación extracorpórea y de aplicabilidad en Medicina Veterinaria.

Esta necesidad, llevó a guiar el diseño del plan de Tesis que permitiese su desarrollo y posterior perfeccionamiento, con la intención de lograr una técnica de factible aplicabilidad en animales domésticos. Para cumplir con este desafío se seleccionaron los conceptos de hipotermia, oxigenación pulmonar autóloga, arresto circulatorio y asistencia circulatoria, como ejes del desarrollo de esta Tesis Doctoral.

1.9. Objetivos e hipótesis

Objetivos

- Determinar la viabilidad de la técnica de hipotermia moderada y estasis circulatorio en ovinos.
- Evaluar el efecto de la circulación extracorpórea sobre la función pulmonar.
- Determinar la correlación entre hipotermia y difusión de oxígeno pulmonar.

Hipótesis

- Por medio de bypass veno-arterial parcial con oxigenación pulmonar autóloga es posible producir hipotermia moderada en ovinos.
- El intercambio, transporte y difusión de oxígeno no son afectados significativamente por el efecto de la circulación extracorpórea y la hipotermia

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Modelo experimental

Se utilizaron ovinos (n=10), seleccionados de majadas en buen estado orgánico general, previamente desparasitados y libres de enfermedades infecto contagiosas, de ambos sexos, menores de 5 años de edad y de (25 Kg. +- 5). Los animales fueron alojados individualmente en el tinglado de internación del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, disponiendo de agua ad-libitum y recibiendo alfalfa seca dos veces por día. El manejo de los animales se realizó bajo las normas exigidas en la “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, National Institute of Health”, publicación 86-23.

2.2. Materiales y equipos

2.2.1. Anestesia y analgesia

- Atropina sulfato 1‰ (Atropina®, Fadan).
- Acepromacina 1% (Acedan®, Holliday).
- Tiopental Sódico 1gr. (Bensulf®, Fada)
- Fentanilo Citrato 0,05mg/ml (Nafluvent®, Fada)
- Pancuronio Bromuro 2% (Plumberg®, Fada)
- Neostigmina Metilsulfato 0,5 ‰ (Fadastigmina®, Fada)
- Isoflurano (Abbott Laboratories)
- Tubos endotraqueales (Rüsch Germany)

2.2.2. *Drogas de apoyo*

- Dexametasona 0,4 % (Fadametasona®, Fada)
- Metilprednisolona (Solumedrol®)
- Heparina 500Ui/ml. (Sobrius®)
- Protamina (Denpru®)
- Furosemida (Viafrux®)
- Manitol (Manitol®, Rivero)
- Gluconato de Calcio 10% (Gluconato de Calcio®, Fada)
- Cloruro de Potasio (Cloruro de potasio®, Fada)
- Bicarbonato de sodio (Bicarbonato Sódico Molar®, Rivero)

2.2.3. *Drogas vasoactivas*

- Dopamina 400mg/5ml. (Megadose®, Fada)
- Dobutamina (Duvig®)
- Fenilefrina (Fadalefrina®, Fada)
- Adrenalina 1% (/Adrenalina®, Fada)
- Fentolamina (Regitina®)
- Nitroglicerina (Enetege®, Fada)

2.2.4. *Fluidos, Hemoderivados y Cardioplégicos.*

- Ringer Lactato (Ringer Lactato®, Rivero)
- Solución Salina Cl Na 0,9% (Solución Salina Cl Na 0,9%®, Rivero)
- Dextrosa 5% (Dextrosa 5%®, Rivero)

- Poligelina (Haemacell®)
- Solución cardioplégica cristalóide (Plegisol®, Abbott Laboratories)
- Solución de cebado del circuito (Normosol-R pH 7,4®, Abbott Laboratories)
- Unidades de sangre.

2.2.5 Accesos Vasculares

- Catéter 16G (Abbocath®, Abbott Laboratories)
- Catéter 18G (Abbocath®, Abbott Laboratories)
- Angiocath 14G
- Llave de tres vías (Omega®)
- Jeringas de 1, 5, 10, 20, 50 ml (Plastipak®)

2.2.6 Materiales de sutura

- Nylon monofilamento 3/0, 4/0 (Ethilon®, Ethicon, Johnson & Johnson)
- Polipropileno 5/0, 6/0 (Prolene®, Ethicon, Johnson & Johnson)
- Ethibon 3/0 (Ethibon Excel®, Ethibon, Johnson & Johnson)

2.2.7 Circuito de circulación extracorpórea

- Cánula arterial (Femoral Percutaneous Kits®, Medtronic Bio-Medicus) (Figura 13/ 14)
- Cánula venosa (Bio-Medicus Pediatric Venous Cannulae®, Medtronic) (Figura 12)
- Cánula aurícula izquierda (DLP- Pacífico ®) (Figura 15)
- Conectores ¼, 3/8 (Olson Medical Sales, Inc.)
- Tubuladuras para C.E.C. de ½, ¾.

2.2.8 Aparatos y equipos

- Equipo de anestesia inhalatoria con circuito circular (Figura 7)
- Vaporizador termocompensado para Isoflurano (Abbott® Laboratories)
- Unidad electroquirúrgica modelo D2000 (Bico®)
- Desfibrilador externo-interno
- Respirador Volumétrico (Kimura Med®) (Figura 8)
- Colchón térmico de agua recirculante
- Equipo portátil de gases en sangre Osmetech *Optic CCA*® (Figura 9)
- Monitor Multiparamétrico (Multipar®, Feas, Electrónica, Argentina) (Figura 10)
- Bomba de perfusión a rodillos (Sarns® inc., Arbor, Michigan) (Figura 11)

2.2.9 Área de esterilización

- Paños de Campo
- Camisolines
- Gasas
- Instrumental Quirúrgico

2.2.10 Métodos complementarios

Radiología

Equipo de rayos X fijo Siemens Heliophos 4 canal, potencia 240 miliamperes, 140 kilovolts.

Servicio de Radiología de la F.C.V. / U.N.L.P..

Ecocardiografía

Ecotomógrafo Toshiba CoreVision Pro

Servicio de Cardiología de la F.C.V. / U.N.L.P.

Laboratorio

Autoanalizador de aeroset (Lab. Abbot).

Contador celular semiautomático Sysmex F-820

Laboratorio de análisis clínicos de la F.C.V. / U.N.L.P.

Histopatología Software específico-Instituto de Patología F.C.V. / U.N.L.P.

2.3. Instrumentación y monitorización

2.3.1. Monitoreo intraoperatorio

Se utilizó monitorización electrocardiográfica, oximetría de pulso y capnografía (Figura 17). Por medio del cateterismo de la arteria digital palmar (Figura 16), se registró la presión arterial invasiva (PAM) y se tomaron muestras para analizar gases en sangre. Mediante cateterismo de vena yugular (Figura 18) se midió la presión venosa central (PVC). Se colocaron sensores de temperatura a nivel esofágico y a nivel rectal; un tercer sensor se empleó para controlar la temperatura del sistema de recirculación de agua.

2.3.2. Laboratorio de análisis clínicos

Se evaluó por medio de análisis de laboratorio: Hto, Hg, pH, Na, K, Ca, PaCo₂, PaO₂, glucemia y lactato. La determinación del tiempo de coagulación activada (TCA) se realizó en el

momento previo a la administración de heparina y tres minutos post heparinización. El tiempo seleccionado para el (TCA) fue superior a 400 segundos, siendo el valor basal de 70 segundos.

2.3.3. *Parámetros de monitorización*

Evaluación de la oxigenación: se determinó la (PaO₂). Las muestras fueron recolectadas a través del catéter de presión invasiva en el intra y pos operatorio. Esta determinación se realizó con analizador de gases portátil. Por medio de oxímetro de pulso del monitor multiparamétrico, se determinó la saturación parcial de oxihemoglobina en forma continua.

Evaluación de la ventilación: se determinó la presión parcial de dióxido de carbono arterial (PCO₂). Se procedió de igual forma que en la “evaluación de oxigenación”. La determinación se realizó con analizador de gases portátil. Por medio de un capnógrafo del monitor multiparamétrico, se determinó la concentración espiratoria final de dióxido de carbono (ETCO₂) del sistema respiratorio.

Equilibrio ácido-base: se determinaron pH y bicarbonato (HCO₃), recogiendo las muestras de la línea arterial invasiva. La determinación se realizó con analizador de gases portátil.

Electrolitos séricos: se evaluó Na, K, Ca en las muestras arteriales con equipo portátil.

Evaluación de perfusión: se realizó mediante medición de Hto, Hb, PAM, SatO₂.

Metabolismo: fue controlada a través de muestras de glucemia y lactato.

Frecuencia cardíaca: la (FC) y ritmo cardíaco fueron evaluadas por medio de electrocardiografía con monitor multiparamétrico.

Frecuencia respiratoria: se evaluó con monitor multiparamétrico.

Temperaturas: se registraron por medio de termómetro digital colocado a nivel esofágico, rectal y del circuito de enfriamiento de agua re-circulante.

Presión venosa central (PVC) se evaluó por medio de catéter colocado en vena yugular conectado al monitor multiparamétrico.

Presión arterial media (PAM) se evaluó por medio de catéter arterial conectado a sensor de presión del monitor multiparamétrico.

Presión de línea de perfusión pos bomba: fue medido con reloj de presión conectado al circuito.

Score Glasgow modificado para animales: el monitoreo neurológico post CEC se realizó de acuerdo a los indicadores y criterios resumidos en la tabla 4.

<i>Indicador</i>	<i>Criterio de respuesta</i>	<i>Score</i>
Actividad motora	Movimientos normales, reflejos espinales normales	6
	Hemiparesis, tetraparesis	5
	Recumbencia, rigidez extensora intermitente	4
	Recumbencia, rigidez extensora permanente	3
	Recumbencia, rigidez extensora permanente y opistótonos.	2
	Recumbencia, hipotonía muscular, reflejos deprimidos o ausentes	1
	Reflejos pupilares	Reflejo pupilar y oculocefálicos normales
Reflejo pupilar lento y oculocefálicos normales o reducidos		5
Miosis bilateral sin repuesta con oculocefálicos normales o reducidos		4
Pupila puntiforme con oculocefálicos ausentes o reducidos		3
Midriasis unilateral sin respuesta con oculocefálicos ausentes o reducidos.		2
Midriasis bilateral sin respuesta con oculocefálicos ausentes o reducidos.		1
Nivel de conciencia		Períodos de alerta y respuesta al medio
	Depresión o delirio, respuesta inapropiada al medio	5
	Semicomatoso, responde a estímulo visual	4
	Semicomatoso, responde a estímulo sonoro	3
	Semicomatoso, responde a repetidos estímulos de dolor	2
	Comatoso, sin respuesta a repetidos estímulos de dolor.	1

Tabla 4. Score Glasgow modificado para animales

2.4. Diseño experimental

Los animales fueron divididos en dos grupos: Grupo I (n=5) utilizados en la fase experimental de inducción de hipotermia moderada con circulación extracorpórea y oxigenación pulmonar autóloga, y el Grupo II (n=5), para la de inducción de hipotermia moderada con circulación extracorpórea y oxigenación pulmonar autóloga, seguida de infusión de solución cardioplégica en la raíz aórtica y arresto cardiaco.

Fase experimental I.

Los animales del grupo I fueron sometidos a hipotermia moderada por medio de un shunt veno-arterial (V-A) utilizando como método de enfriamiento la circulación extracorpórea. El descenso de temperatura se realizó hasta alcanzar 25°C de temperatura corporal interna. En estas condiciones fueron mantenidos hemodinámicamente estables durante 45 minutos.

Posteriormente se inició el procedimiento de recalentamiento para elevar la temperatura corporal interna a 35°C, momento en que se los desconectó del circuito de circulación extracorpórea. Posteriormente fueron trasladados al tinglado de hospitalización donde fueron monitoreados durante los siguientes 7 días.

Fase experimental II.

Los animales del grupo II fueron sometidos a hipotermia moderada por medio de un shunt auriculo-femoral (Ai-F) utilizando como método de enfriamiento la circulación extracorpórea. Se hizo descender la temperatura corporal interna hasta alcanzar 25°C de temperatura corporal interna. Seguidamente se procedió a detener la actividad cardíaca por medio de la infusión de una solución cardioplégica cristaloide inyectada en la raíz aórtica. El estasis circulatorio se prolongó

por 12-15 minutos. Una vez restaurada la actividad cardiaca se comenzó el proceso de recalentamiento del animal hasta alcanzar 38°C de temperatura corporal interna, momento en que fueron desconectados del circuito extracorpóreo. Posteriormente los mismos fueron trasladados al tinglado de internación donde fueron monitoreados durante los siguientes 7 días.

2.5. Tiempos de recolección de datos.

Toma de muestras y monitorización durante la experiencia

Las determinaciones se realizaron por medio de muestreos practicados en los siguientes tiempos

T 0: 48h previas se realizó la evaluación pre quirúrgica de los animales.

T 1: luego de la inducción anestésica FC, FR, TR/E/A, PVC, PP, VM, PAM, Hto, Hb, PCO₂, PO₂, HCO₃, ph, Na, K, Ca, glucemia y lactato.

T 2: luego de la heparinización y cada 5°C de descenso térmico; FC, FR, TR/E/T, PVC, PAM, Hto, Hb, PCO₂, PO₂, HCO₃, ph, Na, K, Ca, glucemia.

T 3: En hipotermia moderada 25°C, FC, FR, TR/E/T, PVC, PAM, Hto, Hb, PCO₂, PO₂, HCO₃, ph, Na, K, Ca., glucemia.

T 4: en etapa de recalentamiento a los 28/37 °C; FC, FR, TR/E/T, PVC, PAM, Hto, Hb, PCO₂, PO₂, HCO₃, ph, Na, K, Ca, glucemia.

T5: Dos horas de terminado el procedimiento quirúrgico: FC, FR, TR, PVC,PAM, PCO₂, PO₂, HCO₃, ph, Na, K, Ca, Hto, Hb, glucemia .

T6: Seis horas de terminado el procedimiento quirúrgico: FC, FR, TR, PVC, PAM, PCO₂, PO₂, HCO₃, ph, Na, K, Ca, Hto, Hb, glucemia.

T7: Doce horas de terminado el procedimiento quirúrgico: FC, FR, TR, PVC, PAM, PCO₂, PO₂, HCO₃, ph, Na, K, Ca, Hto, Hb, glucemia.

T8: Veinticuatro horas de terminado el procedimiento quirúrgico: FC, FR, TR, Hto, Hb, glucemia. Urea, creatinina. Radiografía de tórax y ecocardiografía.

T9: Cuarenta y ocho horas de terminado el procedimiento quirúrgico: FC, FR, TR, Hto, Hb, urea, creatinina.

T10: Setenta y seis horas de terminado el procedimiento quirúrgico: FC, FR, TR

**Desde la etapa T8 y hasta el séptimo día posoperatorio se realizó el examen neurológico de Glasgow modificado para animales*

***Se tomaron muestras para histopatología pulmonar y miocárdica en los animales que no superaron la etapa de recuperación.*

¥ No se remitió tejido cerebral a histopatología por imposibilidad técnica de su extracción, procesamiento y conservación.

2.6. Desarrollo experimental

La preparación de los animales fue la misma para los *grupos I y II* hasta la etapa de colocación de cánulas. En el primer grupo el procedimiento se realizó a tórax cerrado con canulación (VA) periférica. En el segundo grupo el procedimiento requirió toracotomía, con canulación (AI-AF) y administración de solución cardioplégica en la raíz aórtica.

2.6.1 Preparación preoperatoria

A todos los animales se les extrajo, 48h antes de la intervención, una muestra de sangre por punción de vena cefálica, para hemograma, bioquímica sérica (urea, creatinina, albúminas, globulinas), ionograma y recuento plaquetario. La restricción dietaria consistió en un ayuno de 24 horas de alimentos sólidos y de 12 horas de agua. En ese período, se administró con criterio profiláctico, 1ml/10 Kg, vía IM de amoxicilina/ácido clavulánico. El día de la intervención se preparó para cirugía aséptica según rutina (Figura 19), la región del cuello, tórax izquierdo y triángulo femoral derecho e izquierdo.

2.6.2 Montaje del circuito de circulación extracorpórea

Previo a la inducción anestésica se procedió al montaje y purgado del circuito de circulación extracorpórea. La elección de los distintos componentes y longitudes fue ajustada a la superficie corporal del paciente (Figuras 20,21, 22 y 23).

2.6.3 Anestesia

La pre-medicación consistió en sulfato de atropina (0,04 mg/Kg.) y xilazina (0,1 mg/Kg.) IM. Se colocó un catéter 18 G en la vena cefálica y se inició una fluidoterapia de mantenimiento con Ringer Lactato (10 ml/Kg./h). Se realizó la inducción anestésica con tiopental sódico (10 mg/Kg/IV), seguida de la intubación endotraqueal y la conexión del animal al equipo de anestesia inhalatoria de circuito circular. El mantenimiento en plano quirúrgico se logró con una combinación de oxígeno e isoflurano. El protocolo fue complementado con citrato de fentanilo (10ug/Kg/IV) como analgésico y bromuro de pancuronio (0,05 mg/Kg/IV) como bloqueante neuromuscular, repitiendo las dosis de acuerdo a la situación anestésica.

2.6.4 Ventilación asistida

La asistencia ventilatoria se controló con un respirador volumétrico programado con los siguientes valores :

- volumen tidal , 10ml/Kg
- frecuencia respiratoria, 14 x minuto
- relación inspiratoria/espíratória, 1/2
- presión positiva al final de espiración (PEEP), 3mmHg
- presión inspiratoria máxima (PIM), 20mmHg

2.6.5. Heparinización

Como requisito previo a la canulación los animales recibieron 300 U_i/Kg/IV de Heparina sódica. Tres (3) minutos después se tomó una muestra de sangre venosa y se determinó el TCA, el cual debió ser superior a 400 segundos.

2.6.6. Canulación

Grupo I. Se realizó primero la canulación de la arteria femoral derecha por medio del abordaje quirúrgico del triángulo femoral (Figura 24, 25 y 29). Se utilizó una cánula para arteria femoral 10 Fr, seleccionada en base a la superficie corporal del animal y al flujo de perfusión previsto. Luego, por abordaje quirúrgico, se colocó una cánula de acuerdo con la superficie corporal en la vena femoral izquierda (Figura 26)

Grupo II. Se realizó primero la canulación de la arteria femoral derecha por medio del abordaje quirúrgico del triángulo femoral (Figura 24, 25 y 29), utilizando una cánula arterial de tamaño acorde con la superficie corporal. Luego, se realizó una toracotomía en el 5to espacio intercostal izquierdo (Figuras 30 y 31), seguida de la creación de una carpa pericárdica (Figuras 32 y 33) para posibilitar la canulación de la aurícula izquierda (Figura 34).

Una vez purgadas las cánulas, fueron conectadas al circuito de circulación extracorpórea y se inició el puente parcial con un flujo de 30 % del volumen minuto en ambos grupos.

2.6.7. Enfriamiento y mantenimiento

La temperatura del quirófano se mantuvo en 20°C. El TCA fue superior a 400 seg. Colocadas las cánulas se comenzó con el puente cardiopulmonar y el enfriamiento. Las figuras 27 y 28 ilustran el inicio del bypass femoro-femoral del grupo I. El descenso paulatino de temperaturas (Figura 35) en ambos grupos se logró por enfriamiento con hielo del agua recirculante mediante contacto con las tubuladuras de CEC. El flujo de bomba de enfriamiento fue del 30% del volumen minuto, el mismo que se utilizó para el recalentamiento. La presión de perfusión asistió al corazón para mantener la PAM en 50mmHg o mayor. Se continuó el enfriamiento hasta los 25°C de temperatura corporal interna. Durante la etapa de descenso se evaluó para casos de inestabilidad hemodinámica, la posibilidad de administrar soporte vasomotor o inotrópico, (Dopamina, Dobutamina) con el objetivo de mantener la PAM en 50mmHg. La precarga, evaluada por la PVC fue controlada permanentemente.

Habiendo alcanzado los 25°C, los animales del *grupo I* fueron conservados durante 40 minutos, manteniendo la actividad cardíaca, parámetros hemodinámicos y respiratorios estables por medio de soporte intensivo.

Al llegar a la misma temperatura en los animales del *grupo II*, se realizó el clampeo aórtico (Figura 36), y mediante infusión de 20ml/Kg en la raíz aórtica de una solución cardioplégica cristalóide a 5°C, se detuvo la actividad cardíaca electromecánica (Figuras 37, 38 y 39). Luego de 12 minutos se restauró la bomba de CEC y la actividad cardíaca con masaje directo y/o desfibrilación interna según necesidad (Figura 40).

Las muestras de sangre se tomaron cada 5°C de descenso hasta la etapa de mantenimiento de hipotermia moderada en ambos grupos.

2.6.8. *Recuperación de temperatura y desconexión de la bomba.*

La temperatura del agua recirculante fue mantenida a 10°C por sobre la temperatura de retorno de la sangre venosa. El máximo incremento de la temperatura del agua llegó a los 42 °C. La PAM fue mantenida entre 50-70mmHg durante esta etapa. Al alcanzar los 34°C en ambos *grupos*, se comenzó con el descenso del flujo de perfusión, aumentando así la eyección pulsátil del ventrículo izquierdo (VI), hasta suspender la asistencia circulatoria. En este tiempo, se constató que la desconexión de la CEC no produjera inestabilidad hemodinámica evidenciada por caída de la PAM.

2.6.9. *Decanulación*

Una vez apagada la bomba, y tras de 20 minutos de monitorización para constatar la estabilidad de los animales, la heparina fue revertida con (1mg./IV) de Protamina por cada (1 mg/IV) de Heparina administrada y se retiraron las cánulas venosa y arterial, para la posterior sutura continua de los vasos con polipropileno 6-0 o ligadura de los mismos.

2.6.10. *Recuperación*

Durante el posoperatorio inmediato (Figura 41) se controlaron intensivamente los parámetros hemodinámicos, respiratorios y se procedió a la recolección de muestras de sangre de acuerdo al protocolo. Los catéteres arteriales se mantuvieron colocados por 12 hs. Posteriormente (Figura 42), los animales fueron alojados individualmente en el tinglado de internación del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, disponiendo de agua *ad-libitum* y recibiendo alfalfa seca dos veces por día, para su seguimiento

clínico según protocolo. Se realizó examen neurológico de Glasgow modificado para animales hasta el día 7.

2.7. Procedimientos empleados para evaluar los objetivos.

- *Función pulmonar.*

Se utilizaron los datos recogidos entre los tiempos T1 a T6

-*gasometría arterial*

-*recuento leucocitario.*

-*índice Pa/FiO₂*

-*índice de Oxigenación*

-*radiología de tórax.*

- *Difusión, transporte y entrega de oxígeno en hipotermia.*

Se utilizarán los datos recogidos entre los tiempos T1 a T4, resultantes de la aplicación de los siguientes procedimientos

-*gasometría arterial*

- *FC, PAM, PVC, Hto. y Hb..*

-*oximetría*

- *ph arterial*

- *Inducción de hipotermia moderada y recalentamiento*

Se utilizaron los datos de temperatura esofágica, del quirófano y del agua recirculante en los tiempos T1 a T4.

2.7.1. Análisis estadístico.

La información obtenida se analizó con el programa *SPSS 12.0*, evaluándose la media, el desvío estándar y análisis de varianza (ANOVA).

2.8. Figuras descriptivas de los materiales y procedimientos.



Figura 7. Circuito anestésico circular con vaporizador de isoflurano termo-barocompensado



Figura 8. Ventilador mecánico Kimura Med ®



Figura 9. Equipo de gases en sangre portátil Opti CCA- TS®



Figura 10. Monitor multiparamétrico Feas®



Figura 11. Roller arterial para CEC. Sarns®



Figura 12. Cánulas venosas Biomedicus® utilizadas para la vena femoral en el grupo I.



Figura 13. Cánulas arteriales Biomedicus® utilizadas en la arteria femoral en ambos grupos



Figura 14. Imágenes detalladas de la cánula arterial



Figura 15. Cánulas DLP Pacífico® utilizadas para canular la aurícula izquierda en el grupo II



Figura 16. Colocación en sala de preparación de catéter en arteria digital palmar



Figura 17. Animal en quirófano intubado y con sensores de capnografía (A) y oximetría (B)

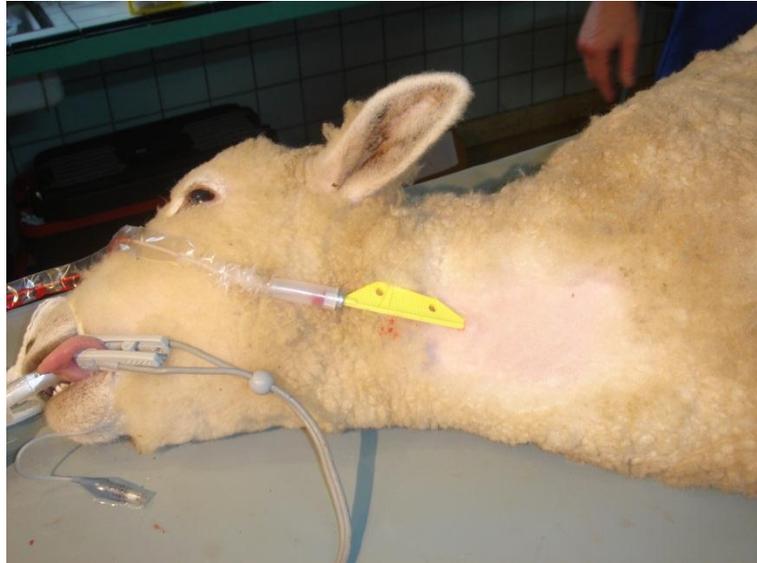


Figura 18. Colocación de catéter venoso central (Angiocath[®]) en vena yugular izquierda



Figura 19. Preparación y posicionamiento del animal



Figura 20. Presentación del circuito de CEC esterilizado con óxido de etileno, junto al recipiente para el purgado



Figura 21. Montaje del circuito de CEC a la bomba arterial, y colocación de tubuladuras en espiral para enfriamiento con hielo



Figura 22. Detalle de la tubuladura en espiral para intercambio térmico por convección



Figura 23. Purgado del circuito de CEC con Ringer Lactato



Figura 24. Disección del triángulo femoral derecho.

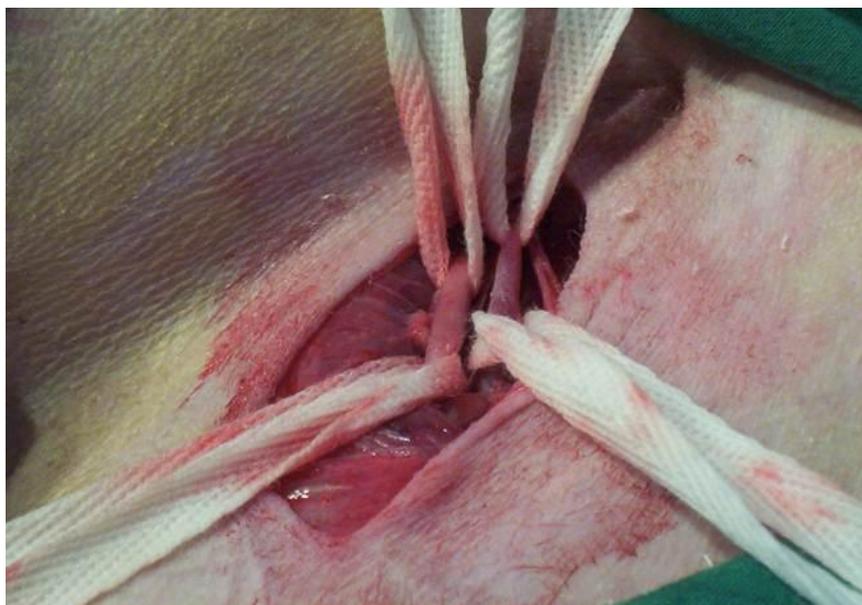


Figura 25. Reparó de arteria y vena femoral para canulación (Grupo I).

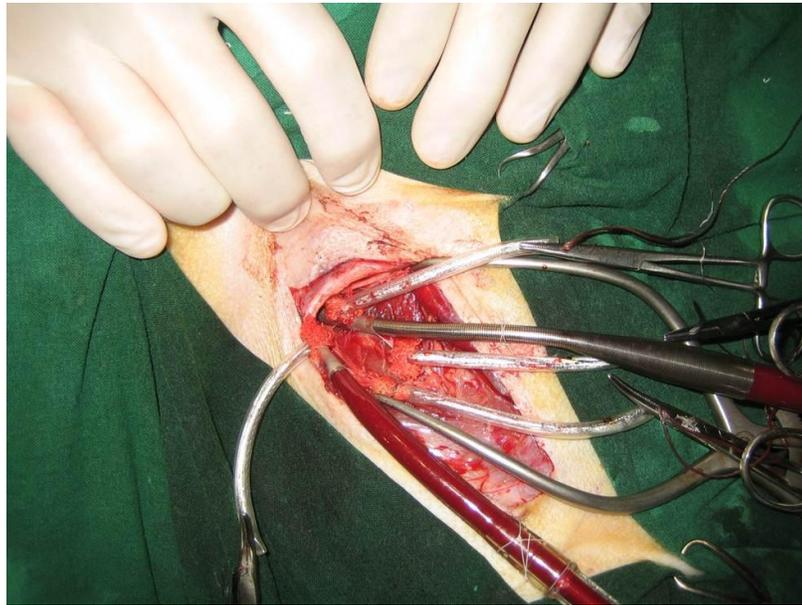


Figura 26. Detalle de la canulación femoro-femoral en el grupo I



Figura 27. Inicio del bypass femoro-femoral. (Grupo I)



Figura 28. Vista ampliada del bypass femoro-femoral. (Grupo I)

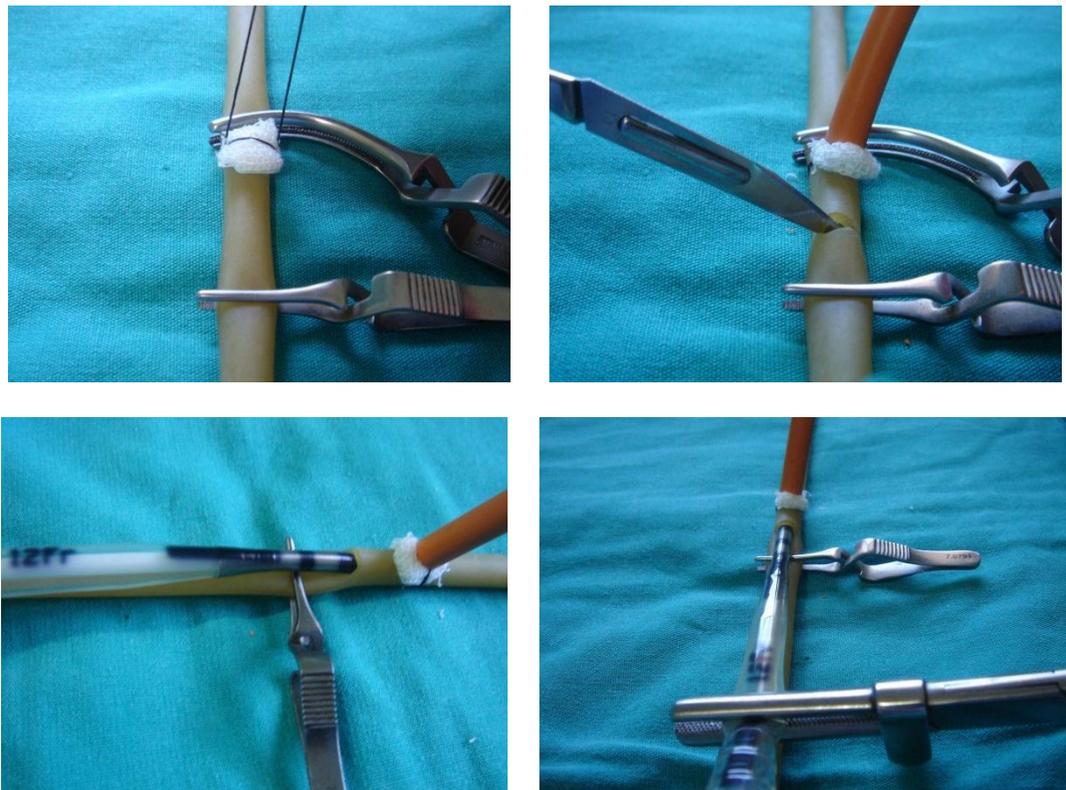


Figura 29. Representación en maqueta de la técnica de canulación femoral.



Figura 30. Inicio de toracotomía en quinto espacio intercostal izquierdo (Grupo II)



Figura 31. Toracotomía (Grupo II)

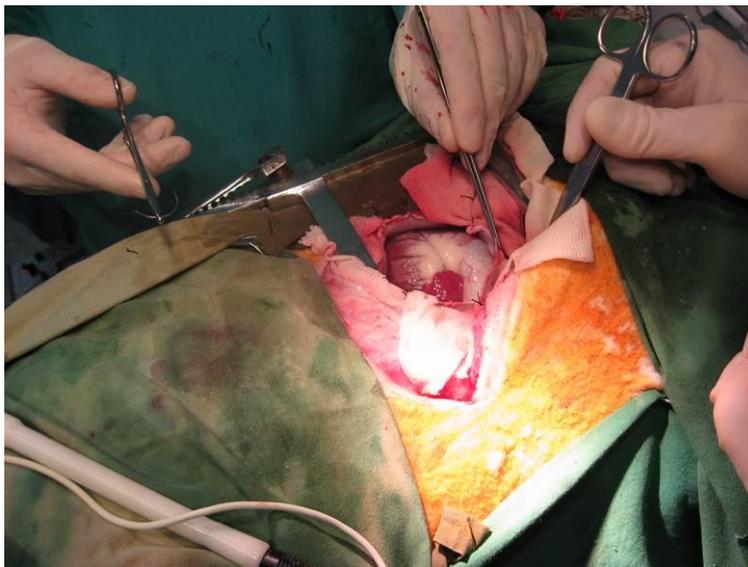


Figura 32. Realización de la "carpa pericárdica" (Grupo II)

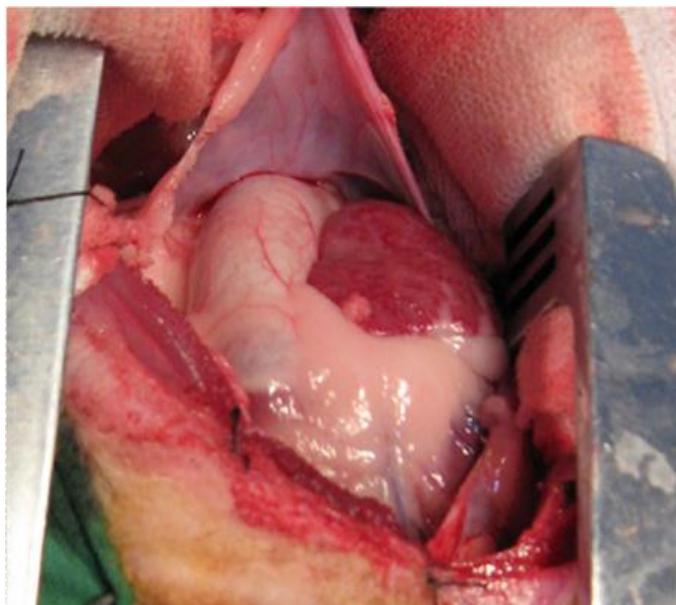


Figura 33. Detalle de la "carpa pericárdica"(Grupo II)

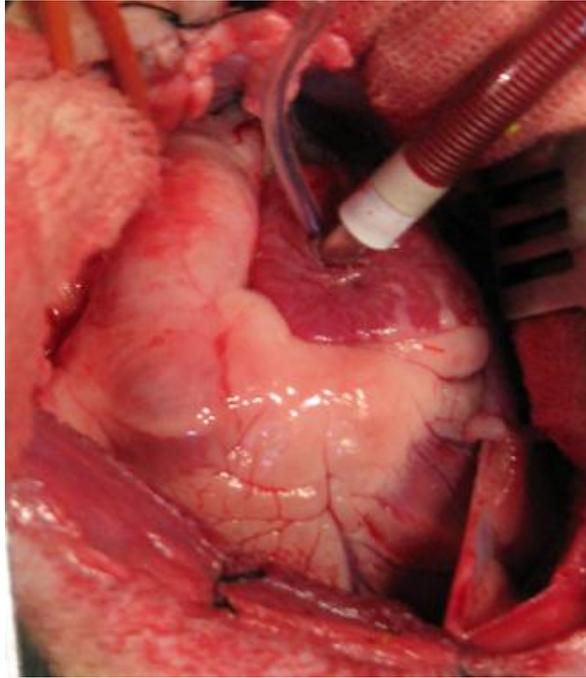


Figura 34. Canulación de la aurícula izquierda (Grupo II)



Figura 35. Monitorización de inducción de hipotermia (Grupo I y II)

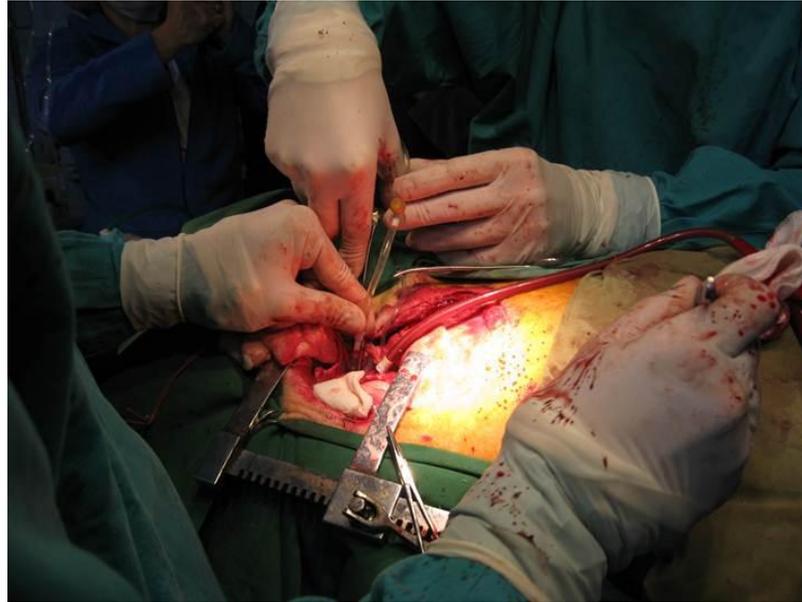


Figura 36. Colocación de clamp aórtico a 25°C (Grupo II)

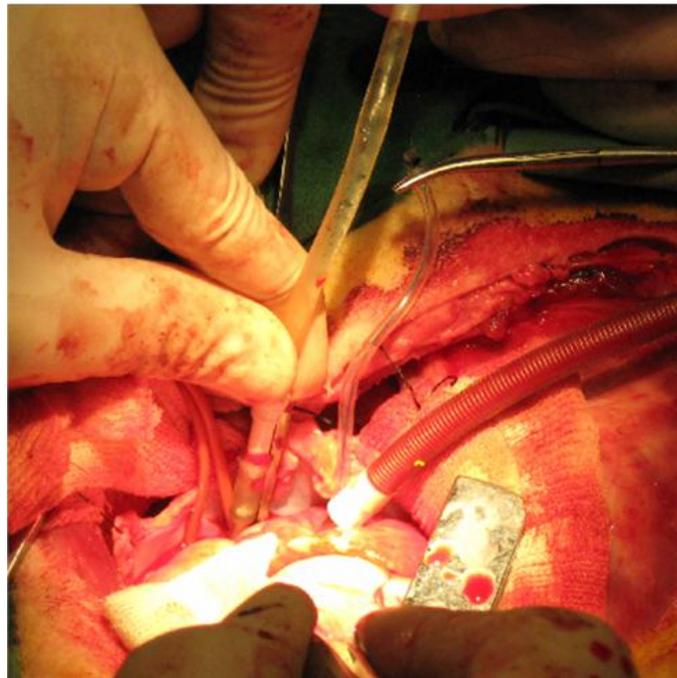


Figura 37. Infusión de cardioplegia en raíz de aorta (Grupo II)

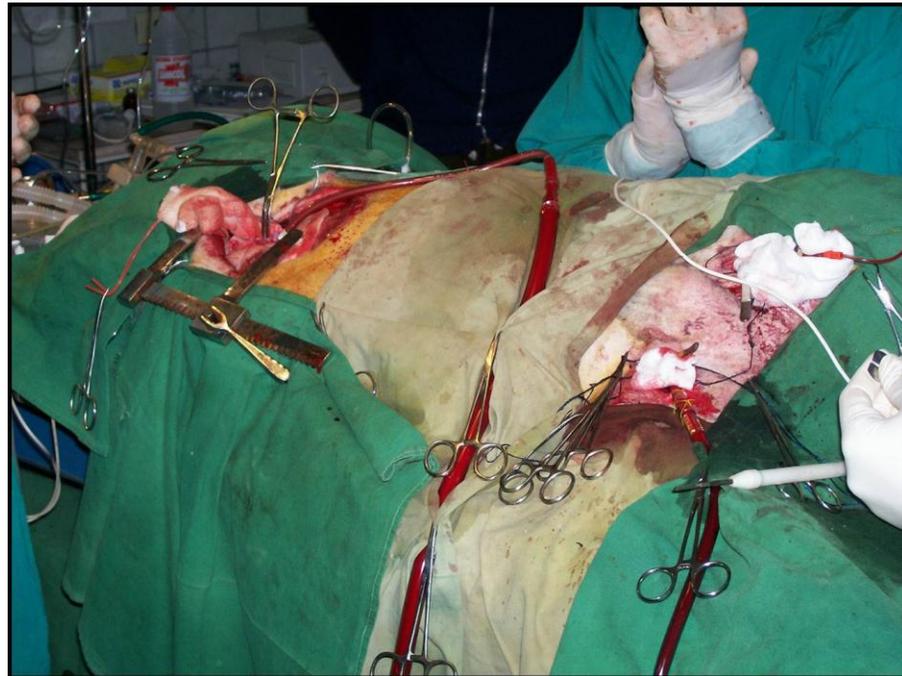


Figura 38. Período de arresto circulatorio. Puede observarse el bypass aurículo-femoral (Grupo II)

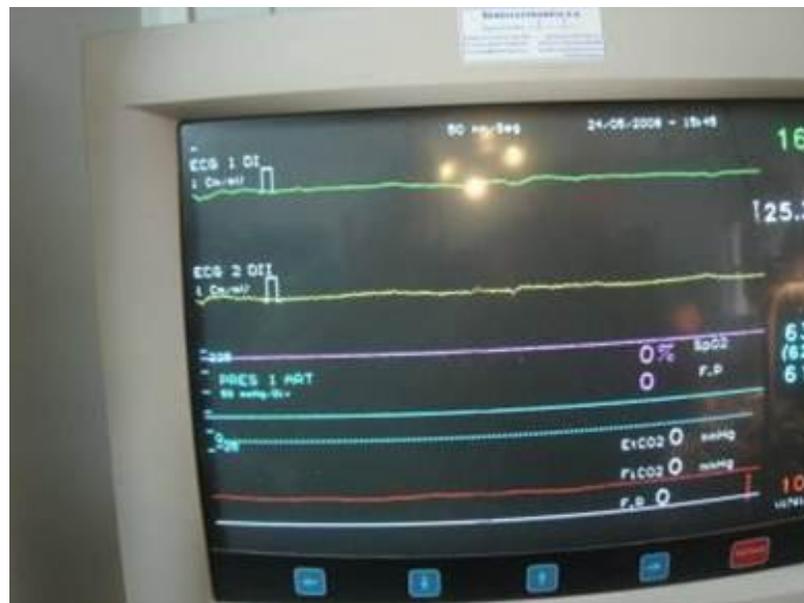


Figura 39. Monitorización del período de arresto circulatorio (Grupo II)

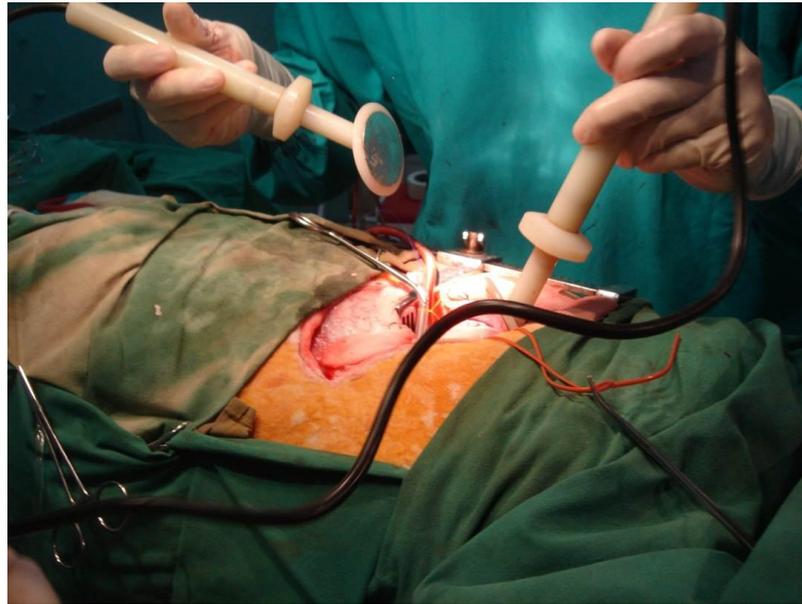


Figura 40. Desfibrilación interna en uno de los animales (Grupo II)



Figura 41. Etapa posterior al recalentamiento. Extubación de los animales



Figura 42. Recuperación en corral 24 horas posteriores a la cirugía.

3. RESULTADOS

Se describirán los resultados detallando el desarrollo de la experiencia, la evaluación estadística, el examen de Score Glasgow Modificado para animales, el recuento leucocitario circulante e imágenes histopatológicas.

3.1. Desarrollo de la experiencia

Los ovinos son considerados animales dóciles, lo cual permitió un adecuado manejo en las etapas pretendidas por este protocolo, máxime tratándose de un modelo crónico con 7 días de evaluación. En la preparación se consideró su fisiología digestiva por ser poligástricos. En este sentido se requirió de un riguroso ayuno de 24 a hs, para evitar episodios de timpanización, generada por la parálisis del rumen frente al efecto de los anestésicos. En cuanto a su instrumentación inicial en prequirófano para ambos grupos, no se hallaron inconvenientes en las maniobras de intubación orotraqueal, en la colocación de sonda oro-ruminal y en la canalización de la vena cefálica con catéter 20.

La vía de monitorización arterial, fue la más compleja. Aunque inicialmente en los modelos pilotos canalizamos la arteria carótida derecha por disección, se consideró que la afeción del flujo cerebral podría afectar los resultados de *Score Glasgow Modificado* a realizarse al final de la experiencia. Por tal motivo se decidió utilizar la arteria digital palmar con el propósito de realizar la medición de presión arterial invasiva y la recolección de muestras arteriales seriadas. Luego de diversos intentos fallidos de acceso percutáneo, la misma fue abordada por disección quirúrgica en la etapa de preparación del paciente en prequirófano, encontrándose por debajo a la fascia antebraquial de la cara palmar metacarpiana lateral.

En el desarrollo de las experiencias de ambos grupos, fue determinante la coordinación y concentración de todos los integrantes del equipo de trabajo, dado las múltiples tareas requeridas, tales como monitorización multiparamétrica, recolección de muestras y datos, manejo de anticoagulación, perfusión, ventilación mecánica, manejo anestésico, control de enfriamiento y recalentamiento, sumado a los procedimientos quirúrgicos y posibles maniobras de reanimación y/o desfibrilación.

Los sensores de medición de presiones venosas y arteriales, temperatura, oximetría, capnografía, E.C.G. y temperatura de quirófano, fueron calibrados previamente y rechequeados para su correcta medición ya con el animal en quirófano en el tiempo (T1) inmediato al inicio de la experiencia. La preparación y purgado de la bomba de (CEC) y la canulación quirúrgica de los animales del *grupo I* y *II* requirieron entrenamiento especial, llevándose a cabo sin afectar el protocolo de trabajo y promediando los 60 minutos en el *grupo I* y los 90 minutos en el *grupo II*.

Dado la falta de circuitos de CEC comerciales apropiados para esta experiencia, se diseñó un circuito simple de tipo cerrado y sin reservorio venoso, con tubuladuras de PVC de 3/8 y 1/4 de diámetro interno (DI) y pista de 3/8 de silicona para bomba roller arterial (*Sarns roller pump*®), interponiéndose en la línea post-bomba, una tubuladura en espiral sumergida en un sistema cerrado frío-calor (hielo-agua caliente) para realizar el intercambio de temperatura. Posteriormente un conector en “Y” para medir por un lado la presión de línea y por el otro la línea de perfusión para conectar con la cánula arterial. Para el diseño del mismo, se consideró rigurosamente la superficie corporal de los animales, el flujo de perfusión propuesto para la investigación, y las cánulas que se utilizarían.

La superficie corporal promedio de los animales fue de $0,95\text{m}^2$. Dado que el flujo de perfusión teórico es de $2,4$ litros/ m^2 y que se proponía realizar un bypass del 30% del volumen minuto, el rango del flujo de perfusión en las experiencias fue $700\text{-}900\text{ml/min}$.

La elección de las cánulas venosas elegidas variaron entre el *grupo I* a tórax cerrado y con canulación periférica, y el *grupo II* a tórax abierto y canulación central. Además el tamaño se ajustó al flujo propuesto para la experiencia, constatando en las tablas de flujo-presión para cánulas, (que no excedieran los 100 mmHg. En el *grupo I* se utilizaron cánulas para vena femoral de 50cm de largo / 17Fr , y cánula para arteria femoral $12/14$ Fr. Este grupo recibió una asistencia veno-arterial con canulación periférica femoro-femoral. En el *grupo II* se utilizaron cánulas con ángulo de 90° que fue colocada en aurícula izquierda (AI), de 16 Fr, y cánula para arteria femoral $12/14$ Fr. Este grupo recibió una bypass venosa pulmonar-arterial con canulación mixta aurículo-femoral.

En ambos se utilizó el mismo circuito, con la clara diferencia que la cánula venosa del *grupo I*, llevaba sangre desaturada del sistema venoso sistémico al arterial, mientras que la cánula venosa pulmonar del *grupo II*, llevaba sangre saturada del sistema venoso pulmonar al arterial. Dado el sitio de la canulación arterial en ambos grupos (F), se realizó un flujo de perfusión bidireccional, con una parte anterógrada y otra retrograda.

Con el flujo de bypass del circuito extracorpóreo del 30% del volumen minuto, el tiempo de enfriamiento desde los 38°C a 25°C , promedió los 100 minutos en el *grupo I* y los 60 minutos en el *grupo II*. El promedio de descenso ($^\circ\text{C}/\text{min}$) para el *grupo I* fue de ($0,13^\circ\text{C}/\text{min}$) o de ($0,65^\circ\text{C}/ 5$ min) mientras que para el *grupo II* fue de ($0,21^\circ\text{C}/\text{min}$) o de ($1^\circ\text{C}/ 5$ min). Aunque

estos son valores promedio, la dinámica de las experiencias mostró, en forma más acentuada en el *grupo II*, un aumento en la velocidad de descenso desde los 30°C a los 25°C. El tiempo total de CEC promedio los 200 minutos en ambos grupos, dado que la etapa de recalentamiento fue más prolongada (130 min +-20) para el *grupo II*. El promedio total de horas de trabajo desde la preparación del animal hasta la desconexión de bomba fue de 9 h y desde el inicio del cuidado crítico hasta el alojamiento en corrales fue de 11 h.

La recuperación y movimientos bruscos de los animales, imposibilitó mantenerlos con monitorización intensiva, por lo cual se los alojó en corrales de recuperación para continuar con su seguimiento según protocolo hasta el día 7.

3.2. Evaluación estadística

La evaluación estadística abarcó los valores recogidos desde T1 a T8. Los datos son expresados en valores medios, desvío estándar y el valor p^* de análisis de varianza (ANOVA). Se asignó significancia estadística a un valor $p \leq 0,05^*$.

Las tablas 5 y 6 expresan los valores del *grupo I* y del *grupo II* divididos a su vez, para una comprensión más clara, en períodos de T1 a T5 y de T1 a T8. Cabe mencionar que en T1-T5 se producen los cambios más importantes de las variables, posiblemente por ser la etapa que involucra el enfriamiento y recalentamiento de los animales.

Variable	T1/T5			T1/T8		
	Media	DS	ANOVA	Media	DS	ANOVA
Temp.	31,97	4,54	0.00	33,08	4,412	0.00
PAM	77,7	19,13	0.00	78,3	17,2	0.00
PVC	12,06	2,37	0,612	11,75	2,28	0,518
PaCO2	53	10,65	0,84	55,32	10,34	0.00
Fr	11,53	1	0,989	13,1	3,357	0.00
PaO2	307,86	96,49	0.00	294,15	100,74	0.00
SatO2	99,2	0,406	0,478	99,2	0,4	0,004
HCO3	25,66	0,844	0.00	29,1	3,97	0.00
ph	7,33	0,1	0.059	7,31	0,93	0,16
FC	101,66	21,77	0,18	107	21,7	0,01
Hto	26,1	5,67	0,87	26,92	5,37	0,52
Hb	8,06	1,91	0,155	8,34	1,83	0,104
Na	139,4	9,06	0,16	140,35	8,459	0,014
K	3,07	0,78	0.00	3,16	0,75	0.00
Ca	3,43	0,64	0.00	3,48	0,62	0,002

Tabla 5. Media, DS y ANOVA / Grupo I

Variable	T1/T5			T1/T8		
	Media	DS	ANOVA	Media	DS	ANOVA
Temp.	31,83	4,37	0.00	32,52	4,11	0.00
PAM	65,03	16,7	0,287	66,28	15,83	0,219
PVC	10,43	0,93	0,215	10,44	0,89	0,346
PaCO2	54,36	13,26	0,004	56,42	14,49	0,26
Fr	11,6	0,8	1	12,31	1,71	0.00
PaO2	227,06	116,87	0.00	210,39	111,05	0.00
SatO2	98,46	3,21	0,551	98,46	3,21	0,551
HCO3	29,79	4,57	0,045	29,75	4,47	0,958
ph	7,33	0,93	0,045	7,32	0,094	0,036
FC	86	48,78	0,414	103,51	30,66	0,518
Hto	24,7	6,15	0,589	25,15	6,08	0,704
Hb	8,22	2,06	0,594	8,33	2,01	0,75
Na	147,2	5,35	0,013	147,26	5,33	0,829
K	3,48	1,34	0,004	3,47	1,23	0,005
Ca	2,77	0,78	0,835	2,81	0,73	0,902

Tabla 6. Media, DS y ANOVA / Grupo II

En la tabla 7 puede observarse que la temperatura de los animales de ambos grupos presentó una media y desvío estándar (DS) similar, siendo significativo estadísticamente.

Tiempo	T1/T5			T1/T8		
Valor	Media	DS	ANOVA	Media	DS	ANOVA
Temp.GI	31,83	4,37	0.00*	32,52	4,11	0.00*
Temp.G2	31,97	4,54	0,00*	33,08	4,41	0.00*

Tabla 7. Temperatura para los Grupos I y II

Esto se debió a que el enfriamiento y recalentamiento de los animales fue igual para ambos grupos. El valor (p 0,00*) es acorde al rango de temperaturas que se manejaron, desde los 39 °C a 25°C, para todos los animales de ambos los grupos. El comportamiento de las curvas de enfriamiento y recalentamiento, en relación al tiempo para ambos grupos puede verse en la Figura 43.

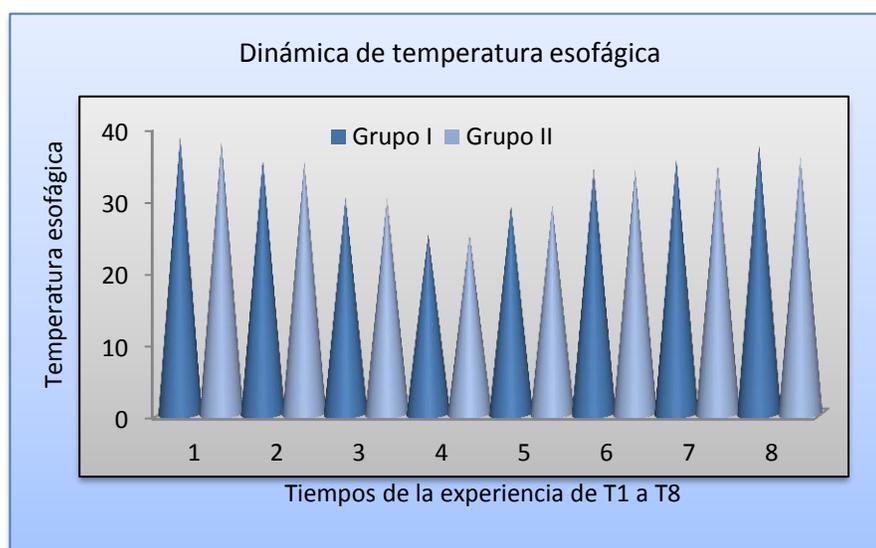


Figura 43. Relación de la temperatura y tiempos en ambos grupos

El comportamiento hemodinámico de ambos grupos se midió mediante las variables FC, PAM y PVC. La FC en el *grupo I* presentó valores medios más altos en el período T1/T5 y un DS menor, mientras que en el *grupo II*, la media fue menor y el DS el doble con respecto al *grupo I*. (Tabla8)

Tiempo	T1/T5			T1/T8		
	Valor	Media	DS	ANOVA	Media	DS
FC GII	86	48,78	0,414	103,51	30,66	0,518
FC GI	101,66	21,77	0,18	107	21,7	0,01*

Tabla 8. Frecuencia cardíaca para los Grupos I y II

Estas variaciones pueden verse en la figura 44, y se debieron a que el *grupo II* presentó oscilaciones más marcadas posiblemente producto del mayor plano de profundidad anestésica requerido para la toracotomía y manipulación de estructuras mediastínicas. Además, ha influido que dos de los animales que recibieron cardioplegia con isquemia y reperfusión del órgano, tuvieron fibrilación ventricular. Uno respondió a la desfibrilación y el otro debió ser mantenido con asistencia circulatoria hasta el recalentamiento. Por ende, los valores de FC de ese animal desde T4 a T6 fue de cero (0), influenciando fuertemente en la tendencia lineal de este grupo.

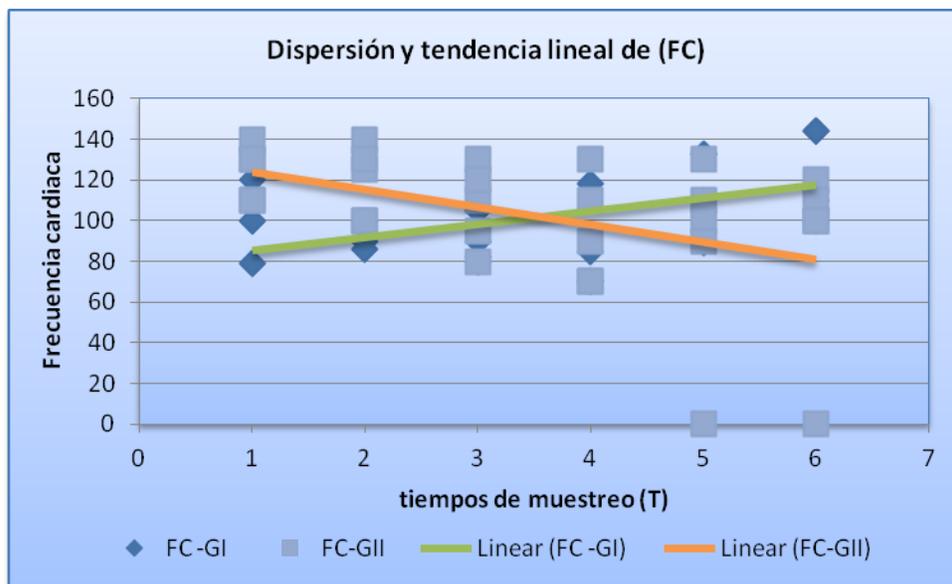


Figura 44. Dispersión y tendencia lineal para FC

Los valores de media, desvío estándar y valor p^* para la variable PAM se expresan en la tabla 9.

Tiempo	T1/T5			T1/T8		
	Media	DS	ANOVA	Media	DS	ANOVA
PAM GI	77,7	19,13	0,00*	78,3	17,2	0,00*
PAM GII	65,03	16,7	0,287	66,28	15,83	0,219

Tabla 9. Presión arterial media en mmHg para los grupos I y II

Estadísticamente el análisis de varianza de la PAM fue significativo para el grupo I en todos los tiempos de muestreo analizados. Sin embargo, puede observarse que los valores medios y desvío estándar fueron biológicamente aceptables, para ambos grupos y tiempos considerados,

dado que se consideró válido para este protocolo un valor mínimo de PAM de 50mmHg en los períodos críticos de la experiencia, con corazón latiendo a 25°C y en la etapa de recuperación post cardioplegia a 25°C. Esto predice que el método de asistencia circulatoria fue efectivo.

El *grupo II* presenta valores menores de la media respecto al *grupo I*, lo cual puede estar asociado a mayor plano de profundidad anestésica requerido para la toracotomía y manipulación de estructuras mediastínicas y al atontamiento cardíaco post isquémico (Figura 45).

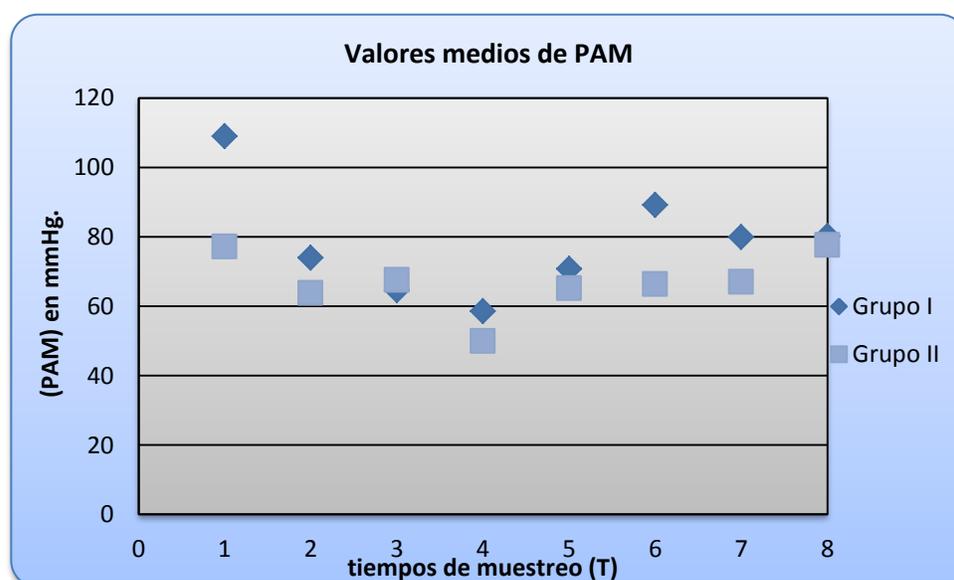


Figura 45. Dispersión de la PAM

La PVC fue la variable hemodinámica más homogénea en ambos grupos. Puede verse en la tabla 10, que no se hallaron cambios estadísticamente significativos.

Tiempo	T1/T5			T1/T8		
	Valor	Media	DS	ANOVA	Media	DS
PVC GI	12,06	2,37	0,612	11,75	2,28	0,518
PVC GII	10,43	0,93	0,215	10,44	0,89	0,346

Tabla 10. Presión venosa central para los grupos I y II

Los resultados de la estrategia ácido-base, por medio del pH, CO₂ y bicarbonato (HCO₃) fueron diferentes. El *ph* arterial fue uno de los valores de más difícil manejo, dado que estaba supeditado principalmente a los valores de CO₂ arterial. Es importante recordar que la hipotermia produce el aumento de la solubilidad de los gases y el descenso en su presión parcial y un aumento “relativo” del *ph*. La tabla 11 representa los valores de *ph* y CO₂ corregidos a la temperatura del paciente en el momento de la toma de muestra.

Tiempo	T1/T5			T1/T8		
	Valor	Media	DS	ANOVA	Media	DS
ph GI	7,33	0,1	0,059	7,31	0,93	0,16
ph GII	7,33	0,93	0,045*	7,32	0,094	0,036*

Tabla 11. *ph* arterial para los grupos I y II

Sólo el *grupo II* presenta valores significativos estadísticamente, aunque las medias para ambos grupos son similares. Esta diferencia estadística del *grupo II* puede ser explicada por la influencia de dos animales de este grupo que presentaron (FV) xen la etapa de resucitación (T4).

Los valores de ph que presentaron fueron de 7,3 y 7,26. El primer animal se desfibriló exitosamente, mientras que el segundo mantuvo (FV) refractaria, con ph de 7,25 en T5 y T6.

Los valores de CO2 registrados en la experiencia pueden observarse en la tabla 12, y se encuentran representados en las figuras 46 y 47.

Tiempo	T1/T5			T1/T8		
Valor	Media	DS	ANOVA	Media	DS	ANOVA
PaCO2 GI	53	10,65	0,84	55,32	10,34	0,00*
PaCO2 GII	54,36	13,26	0,004*	56,42	14,49	0,26

Tabla 12. PaCO2 para los grupos I y II

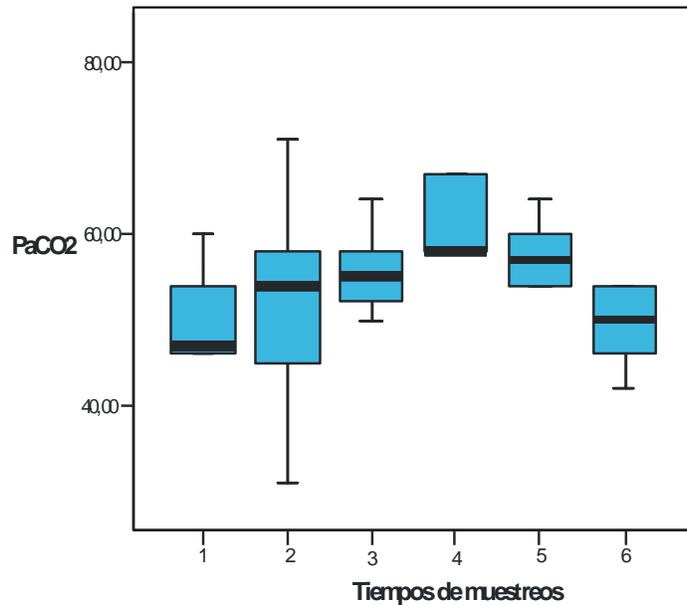


Figura 46. PaCO2 Grupo I

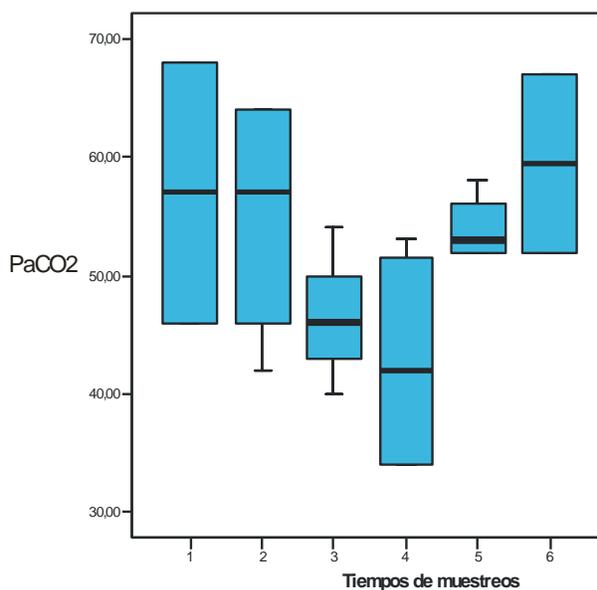


Figura 47. PaCO2 Grupo II

La CO₂ fue manejada con ventilación pulmonar. Es importante considerar, que no existían datos bibliográficos que respaldaran el uso de la estrategia *ph-stat* con oxigenación pulmonar autóloga.

Se pretendió mantener los valores de CO₂ a fin de espiración (ETCO₂) permanentemente entre 45 y 55 mmHg, en los valores de capnografía. No obstante su relación con la PaCo₂ pudo haberse alterado por variaciones de ventilación-perfusión (V-Q) pulmonar.

El valor $p \leq 0,05^*$ para el *grupo I* evaluado en los períodos T1-T8 y para el *grupo II* en los períodos T1-T5, es atribuible a diferencias intragrupo de los animales, dado que es una variable altamente sensible a la ventilación, la hipotermia y el desarrollo de atelectasias pulmonares.

El buffer bicarbonato (HCO₃) tuvo las variaciones expresadas en la tabla 13 y en el figura 48.

Tiempo	T1/T5			T1/T8		
Valor	Media	DS	ANOVA	Media	DS	ANOVA
HCO ₃ GI	25,66	0,84	0,00*	29,1	3,97	0,00*
HCO ₃ GII	29,97	4,57	0,045	29,75	4,47	0,958

Tabla 13. HCO₃ para los grupos I y II

Los valores individuales de HCO₃ en el *grupo I* muestran una tendencia mayor al descenso desde el inicio del bypass venoarterial lo que fue significativo estadísticamente. No se encontraron diferencias estadísticas para el *grupo II* (T1-T8). Debe considerarse que la asistencia ventricular izquierda del *grupo II* generó menos episodios de inestabilidad hemodinámica y por tratarse de bypass con sangre oxigenada, requirió menor consumo de buffer que el grupo I (en la etapa de enfriamiento).

Sin embargo, el desvío estándar (DS) y el valor p^* de HCO₃ que presenta el *grupo II* pudo deberse a que el animal con (FV) tuvo en el período (T4) un valor de 14,8 mEq, requiriendo suplementación. En el tiempo (T5) su valor fue de 20,3 mEq.

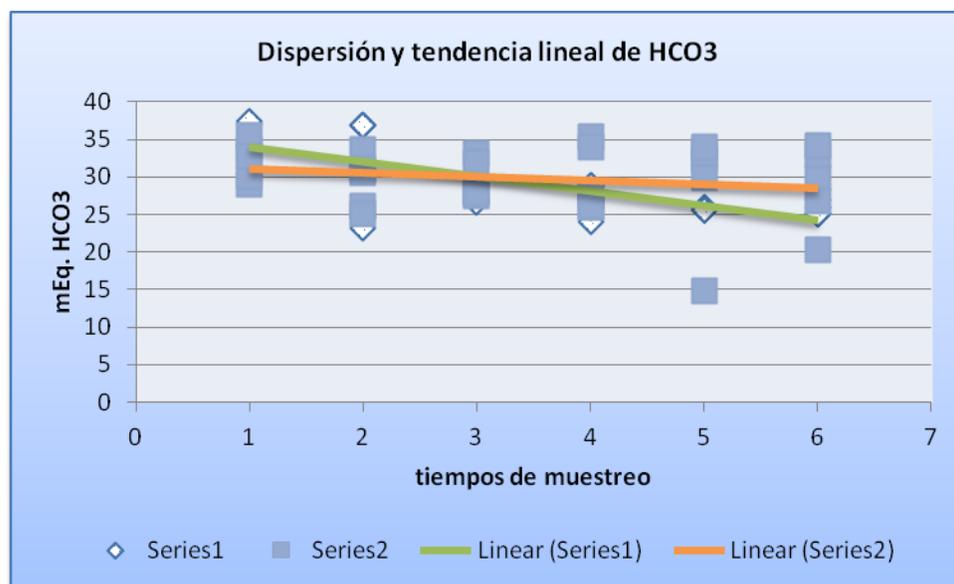


Figura 48. Dispersión y tendencia lineal del HCO₃

Las variables relacionadas con la oxigenación fueron agrupadas en “medidas” y “calculadas” para su mejor interpretación. De este modo se consideró PaO₂ y SatO₂ como medidas y como calculadas al índice Pa/fiO₂, el índice de oxigenación (Iox) y el contenido total de oxígeno (CtO₂).

Variables medidas:

La PaO₂ se encuentra supeditada al efecto compresivo de los gases generado por la hipotermia al igual que lo descrito con la CO₂, por ende todos los valores cargados fueron “corregidos” a la temperatura del animal.

La tabla 14 muestra que los valores de PaO₂ tienen significancia estadística en ambos grupos.

Tiempo	T1/T5			T1/T8		
	Media	DS	ANOVA	Media	DS	ANOVA
PaO2 GI	307,86	96,49	0,00*	294,15	100,74	0,00*
PaO2 GII	277,06	116,87	0,00*	210,39	111,05	0,00*

Tabla 14. PaO2 para los grupos I y II

El gráfico 48 muestra la dispersión con tendencia de los valores PaO2 en el período de T1 a T5, donde se observa un descenso progresivo. Luego del tiempo (T4), el *grupo I* presenta una tendencia positiva en los valores de PaO2 producto del recalentamiento corporal, mientras que el *grupo II* exhibe un *plateau* en dichos valores. En el gráfico 49 se puede observar una tendencia a la caída en la faz de hipotermia y un suave ascenso en la de recalentamiento. Esto último se condice con los bajos valores de PaO2 en el tiempo T8, donde los animales fueron extubados y pasaron a respirar oxígeno ambiental con valores de FiO2 de 0,21.

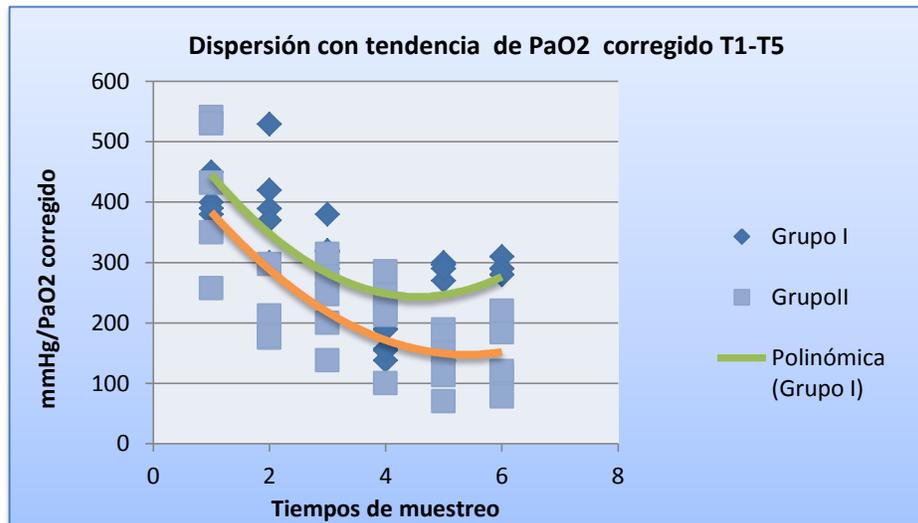


Figura 48. Dispersión y tendencia de la PaO2 desde T1 a T5

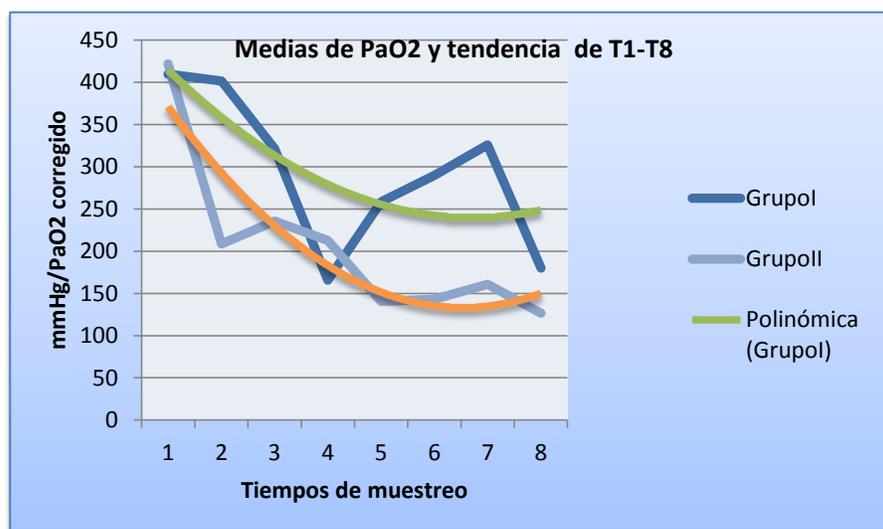


Figura 49. Valores medios y tendencia para PaO2 desde T1 a T8.

La tabla 15 muestra que la variable saturación de oxihemoglobina (SatO2) presentó medias y desvíos estándar similares en ambos grupos y tiempos analizados. Sin embargo, se encontraron diferencias estadísticas en el *grupo I* respecto a los tiempos (T1-T8). Desde el punto de vista fisiológico, en la curva de disociación de oxihemoglobina, PaO2 de 100 mmHg son suficientes para saturar en el 99% al menos de la hemoglobina.

Tiempo	T1/T5			T1/T8		
Valor	Media	DS	ANOVA	Media	DS	ANOVA
SatO2 GI	99,2	0,406	0,478	99,2	0,4	0,004*
SatO2 GII	98,26	0,551	0,551	98,46	3,21	0,5

Tabla 15. SatO2 para el grupo I y II

La figura 50 muestra la dispersión y la tendencia lineal de los valores de SatO₂, evidenciando una distribución homogénea, y una tendencia lineal negativa en el *grupo II*. Esto puede ser explicado por la influencia de un animal que presentó hipoxemia leve, bajos valores de PaO₂ (78mmHg) y 86% de SatO₂.

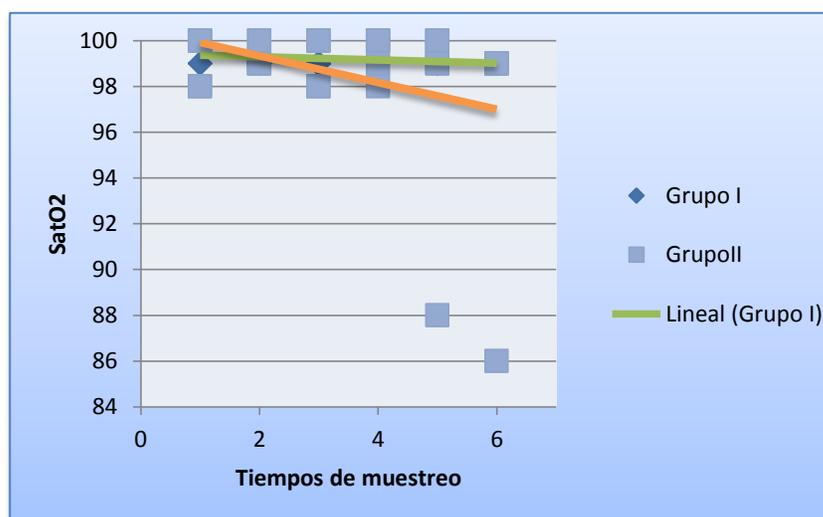


Figura 50. Dispersión y tendencia lineal de la SatO₂

Variables calculadas:

El cálculo de indicadores relacionados con la oxigenación se llevó a cabo mediante diferentes ecuaciones. Para el índice (Pa/FiO₂), se utilizó la relación PaO₂/fracción inspirada de oxígeno (FiO₂). Dado que el protocolo utilizó una (FiO₂=1), la ecuación equivale a los valores de PaO₂ dividido 1. Por ende, el índice (Pa/FiO₂) calculado a temperatura corregida del paciente presenta el mismo gráfico que el de PaO₂. En la figura 51 se puede observar una tendencia lineal negativa de los valores de Pa/ FiO₂ para ambos grupos y tiempos analizados.

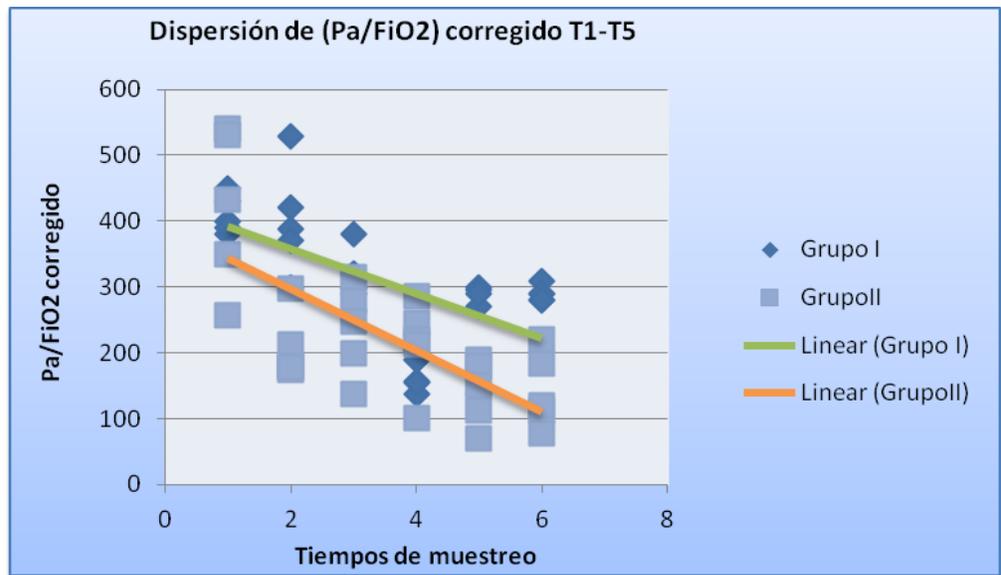


Figura 51. Dispersión de Pa/FiO₂- Grupo I y II

La variable Pa/FiO₂, al tener denominador igual a 1, puede interpretarse como la PaO₂.

El índice de oxigenación (I_{ox}) fue calculado con la siguiente fórmula:

$$I.Ox. = P_{aw} \times FiO_2 \times 100 / PaO_2$$

Este índice requiere medir la presión media de vía aérea (PAW), calculable con la siguiente ecuación:

donde (P_{aw}) es la presión media de vía aérea; (P_{IM}) la presión inspiratoria máxima; (T_i) el tiempo inspiratorio; (PEEP) la presión positiva al final de la espiración y (T_e) el tiempo espiratorio.

$$Paw = \frac{(PIM \times Ti) + (PEEP \times Te)}{Ti + Te}$$

- El rango de valores (Paw) calculados fue (3,3 a 7,9) en ambos grupos.
- El valor más alto de (IOx) calculado para el grupo I fue (4,82) en T3.
- El valor más alto de (IOx) calculado para el grupo II fue (5,62) en T4.

Para evaluar el “transporte” de oxígeno, se calculó el contenido total de O₂ (CtO₂) mediante la siguiente ecuación.

$$CtO_2 = 1,34 \times Hb \times SatO_2 + (PO_2 \times 0,0031)$$

Es importante resaltar que el resultado de la PaO₂ multiplicada por 0,0031 (coeficiente de solubilidad), tiene una baja influencia en el resultado final de esta ecuación.

De esta forma se puede observar que en base a los cálculos realizados sobre las medias de (SatO₂) y (Hb) el comportamiento del CtO₂ para ambos grupos fue uniforme en ambos grupos (Figura 52), con un efecto claro de descenso de la (Hb) producto de la hemodilución

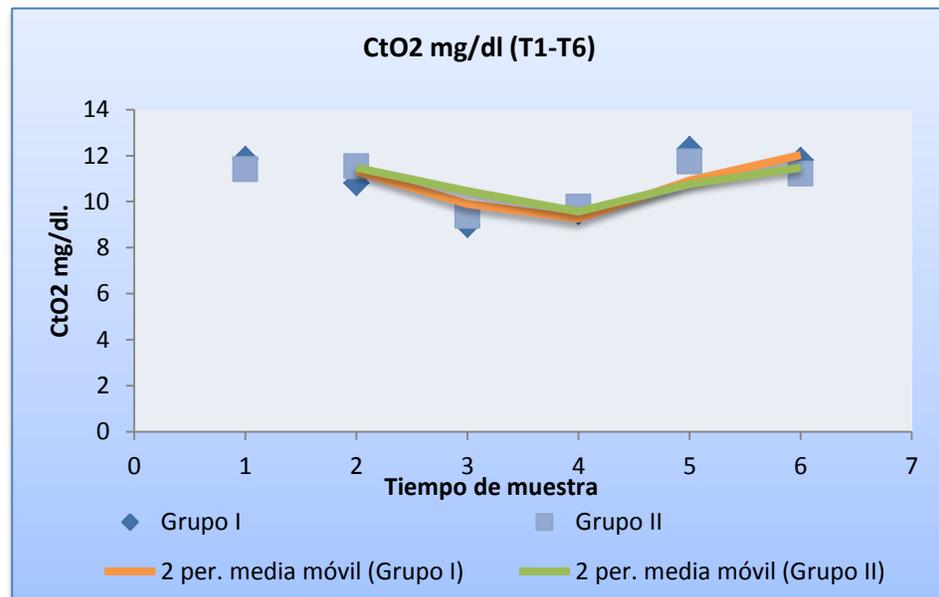


Figura 52. Dispersión y media para CtO2 de los grupos I y II

En las figuras 53 y 54, es posible observar un comportamiento similar de las variables Hto y Hb en relación al CtO2 para los tiempos analizados.

Aunque estadísticamente no presentaron diferencia significativa, el comportamiento anteriormente mencionado tiene relevancia producto de la hemodilución que se visualiza en los valores de Hto y Hb.

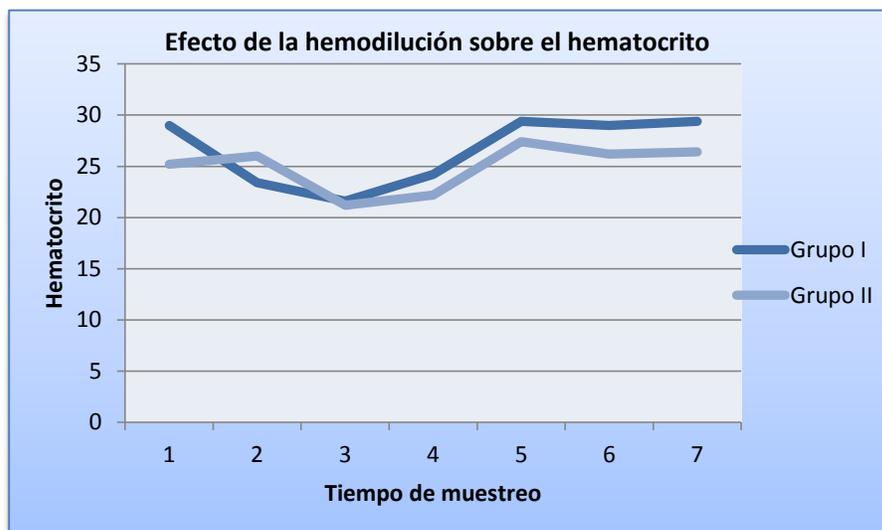


Figura 53. Efecto de la hemodilución sobre el hematocrito

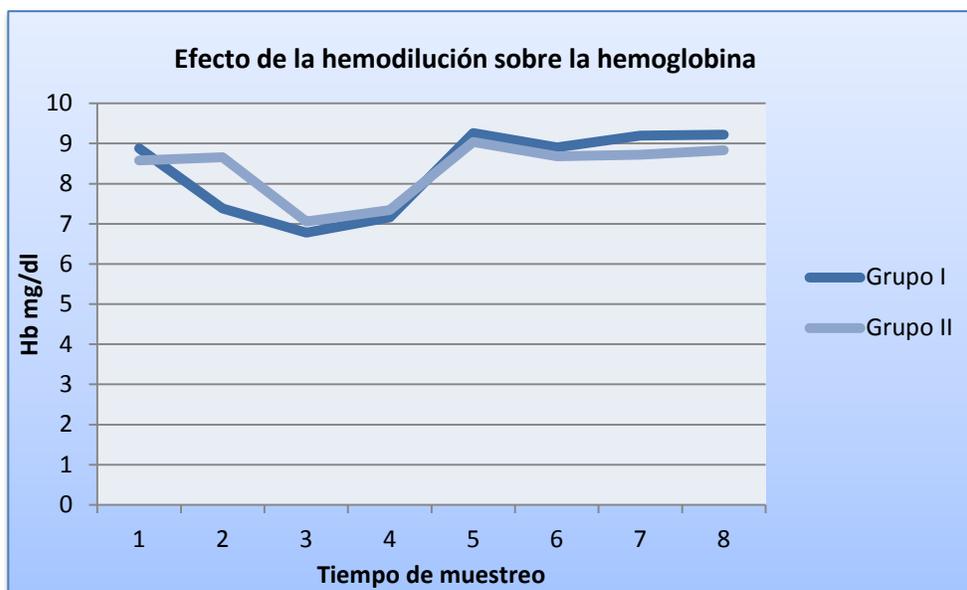


Figura 54, Efecto de la hemodilución sobre la hemoglobina

La figura 55 evidencia registros de glucemia diferentes entre ambos grupos, sin superar en el *grupo II* los 200mg/dl. Este es uno de los puntos de estrategia sugerida previo a un arresto circulatorio. En los animales poligástricos, la interpretación de glucemia está sujeta a la influencia del lactato, el cual se transforma en el hígado entre (20-45%) en glucosa mediante la ruta de gluconeogénesis. Los complejos mecanismos de metabolismo hepático de ácidos grasos y lactato en rumiantes son una especialidad *per se* y escapan a los objetivos de esta presentación.

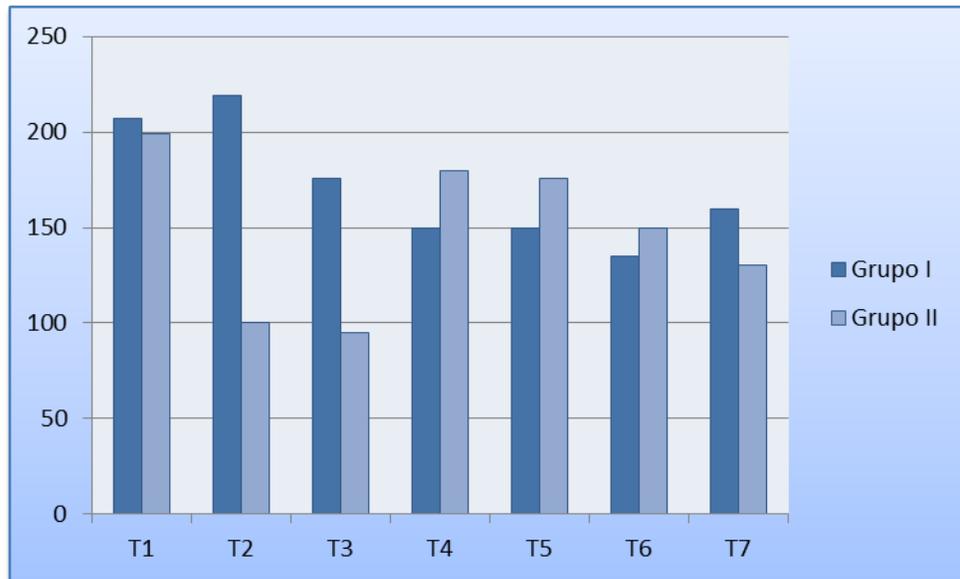


Figura 55. Valores de glucemia (mg/dl)



Figura 56. Tendencia del lactato durante las experiencias

Los cambios en los valores promedio de lactato (figura 56) pueden estar sujetos al cese de la actividad ruminal durante el acto anestésico y a la disminución del metabolismo hepático por la hipotermia.

3.3. Score Glasgow Modificado para animales

Sobre la escala presentada del Score, los puntos identificados más frecuentemente dentro de las primeras cuatro (4) horas post quirúrgicas en ambos grupos pueden verse en la tabla 16.

Indicador	Criterio de respuesta	Score
Actividad motora	Movimientos normales, reflejos espinales normales	6
	Hemiparesis,tetraparesis	5
	Recumbencia, rigidez extensora intermitente	4
	Recumbencia, rigidez extensora permanente	3
	Recumbencia, rigidez extensora permanente y opistótonos.	2
	Recumbencia, hipotonía muscular, reflejos deprimidos o ausentes	1
Reflejos pupilares	Reflejo pupilar y oculocefálicos normales	6
	Reflejo pupilar lento y oculocefálicos normales o reducidos	5
	Miosis bilateral sin repuesta con oculocefalicos normales o reducidos	4
	Pupila puntiforme con oculocefálicos ausentes o reducidos	3
	Midriasis unilateral sin respuesta con oculocefálicos ausentes o reducidos.	2
	Midriasis bilateral sin respuesta con oculocefálicos ausentes o reducidos.	1
Nivel de conciencia	Períodos de alerta y respuesta al medio	6
	Depresión o delirio, respuesta inapropiada al medio	5
	Semicomatoso, responde a estímulo visual	4
	Semicomatoso, responde a estímulo sonoro	3
	Semicomatoso, responde a repetidos estímulos de dolor	2
	Comatoso, sin respuesta a repetidos estímulos de dolor.	1

Tabla16. Resultados frecuentes hallados en el Score Glasgow modificado

a las 4 hs post- quirúrgicas

El Score pasó de (7/10) puntos a (18) puntos a las 12 horas post quirúrgicas en todos los animales que llegaron a esa etapa, mostrando un cuadro neurológico transitorio y completamente reversible.

3.4. Recuento leucocitario circulante

La figura 57 detalla los valores promedio del recuento leucocitario y de neutrófilos durante las experiencias. La oscilación fue atribuida a la hemodilución, no observándose depleción neutrofílica severa. En la etapa de recalentamiento y post arresto, se acentuó el ascenso de los neutrófilos circulantes. Es preciso recordar que la especie ovina tiene una porcentaje normal de neutrófilos en la fórmula leucocitaria relativa que oscila entre el 20-40 %

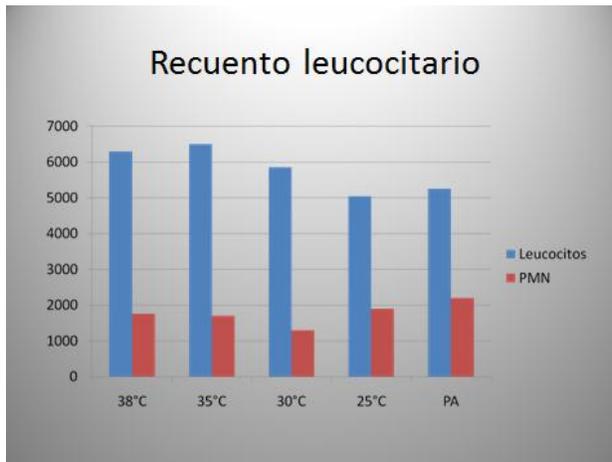


Figura 57. Recuento leucocitario y de neutrófilos

3.5. Imágenes histopatológicas

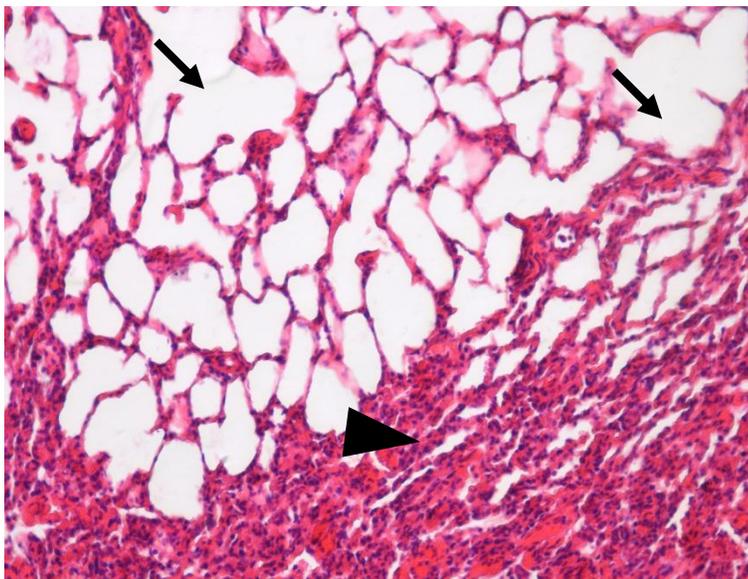


Figura 58. Pulmón: se observan áreas de enfisema (->) y una zona de atelectasia (▶) H&E, Obj. 20X.

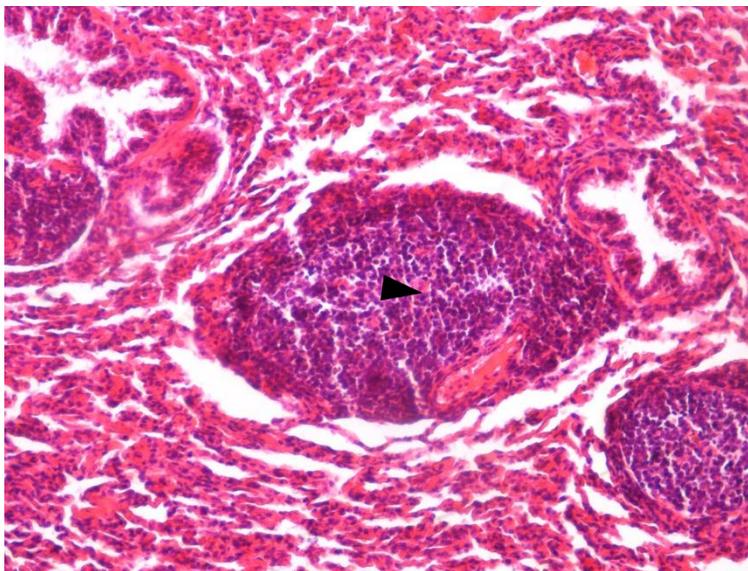


Figura 59. Pulmón: leve respuesta del tejido linfoide(▶) asociado a bronquios y bronquiolo (BALT) H&E, Obj. 20X.

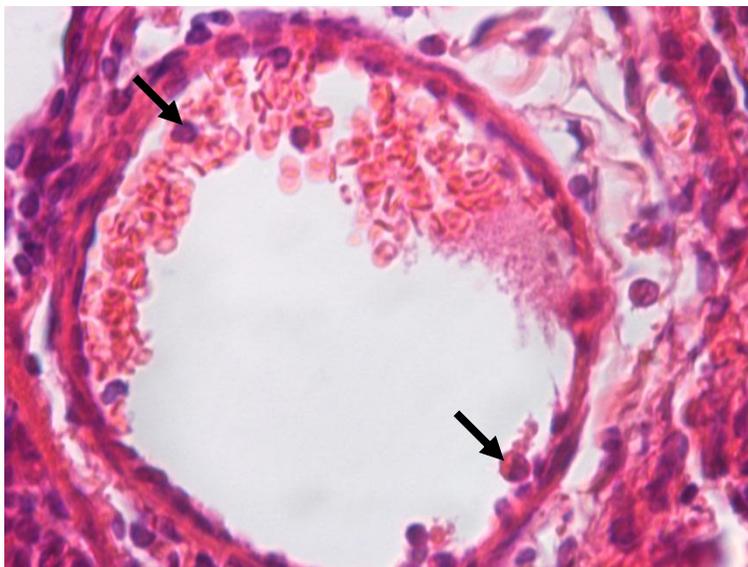


Figura 60. Pulmón: escasos leucocitos marginándose hacia la pared del vaso. (→) H&E, Obj. 100X.

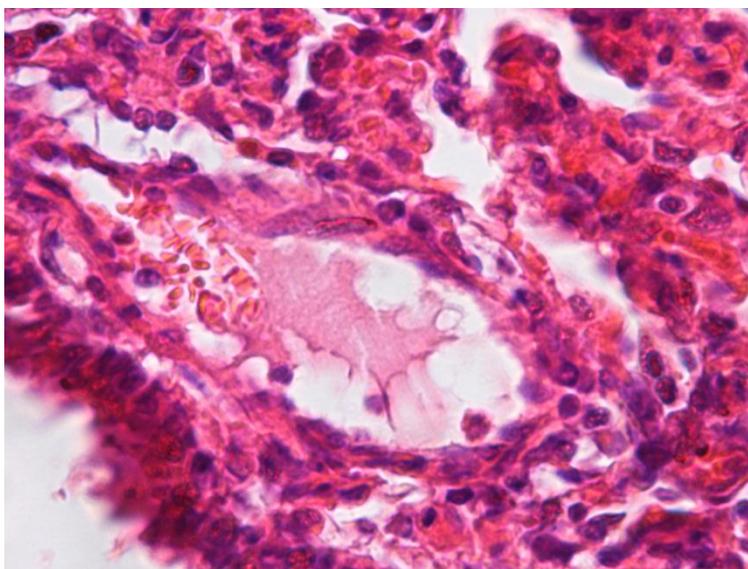


Figura 61. Pulmón: ligera infiltración de neutrófilos en el intersticio alveolar. H&E, Obj. 100X.

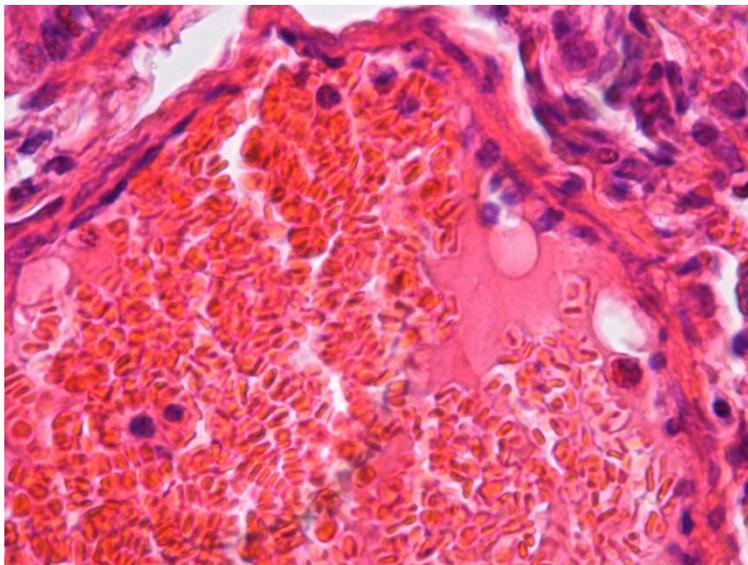


Figura 62. Pulmón: escasos neutrófilos en la periferia de un vaso sanguíneo. H&E, Obj. 100X.

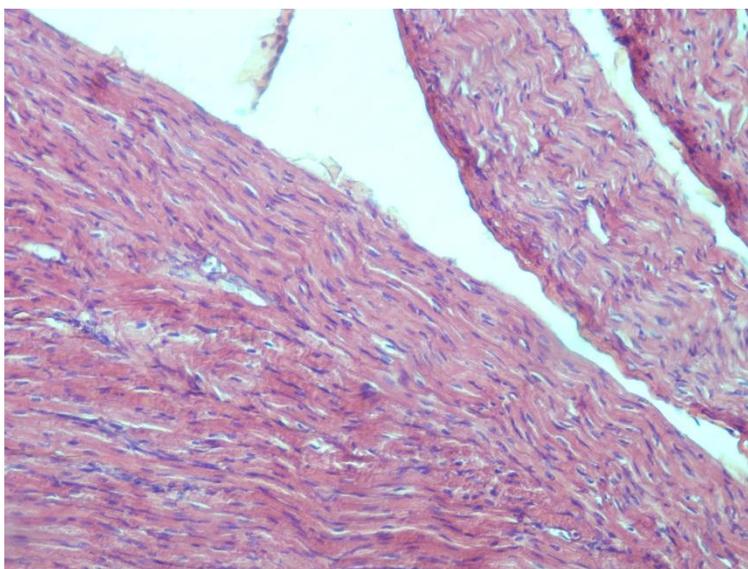


Figura 63. Corazón: se observa el tabique sin alteración. H&E, Obj. 20X.

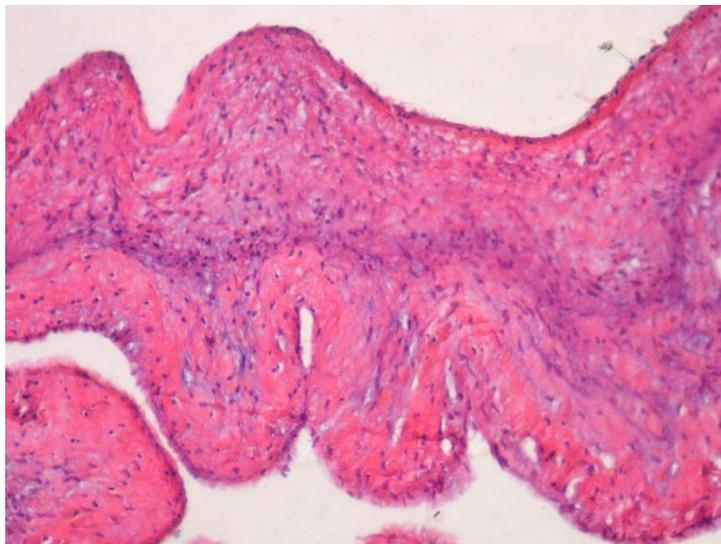


Figura 64. Válvula Auriculoventricular derecha: se observa sin alteración. H&E, Obj. 20X.

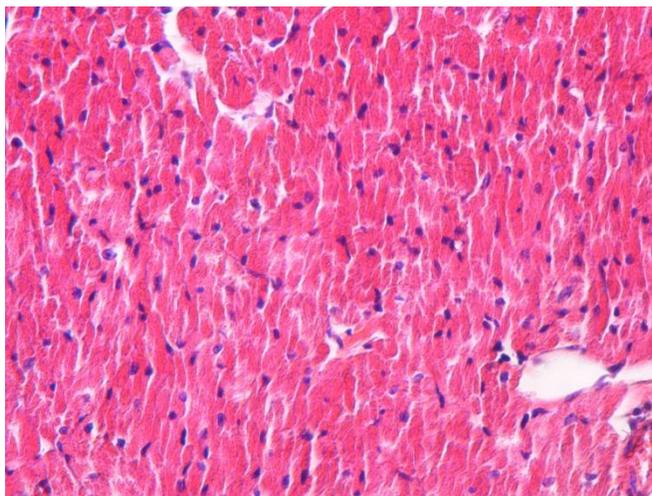


Figura 65. Ventriculo derecho: se observa sin alteración. H&E, Obj. 20X

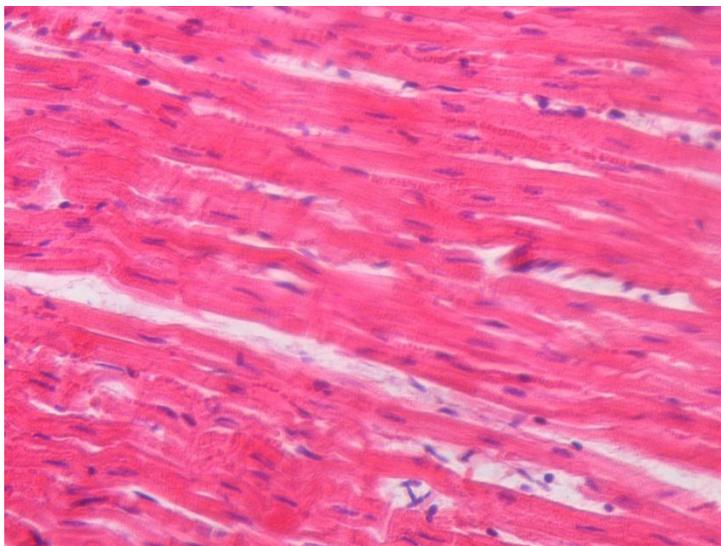


Figura 66. Ventrículo derecho: se observa sin alteración. H&E, Obj. 40X

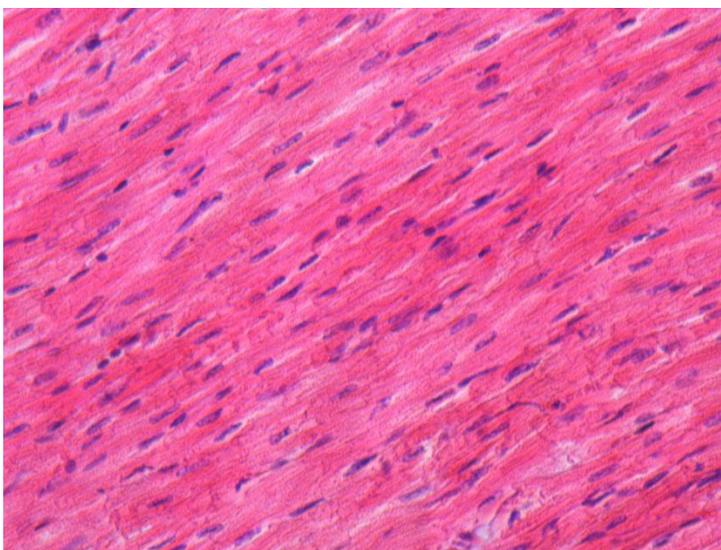


Figura 67. Ventrículo izquierdo: se observa sin alteración. H&E, Obj. 40X

4. DISCUSIÓN

Muchas han sido las especies animales elegidas para investigación en cirugía cardiovascular. Específicamente para el estudio de las técnicas de arresto circulatorio en hipotermia se ha usado el modelo porcino y el ovino. En el presente trabajo se eligió la especie ovina, en virtud a su aptitud para el manejo experimental y su uso extendido en protocolos de investigación del área de cardiología en ciencias básicas y en cirugía cardiovascular experimental. La adaptación de la especie ovina a la CEC ha tenido diferentes resultados y apreciaciones. La especie fue considerada intolerante al PCP por algunos autores (*Murray et al 1985, Razzeca et al 1979*), mientras que otros justificaron dichas observaciones basándose en la respuesta hematológica aguda, los desórdenes de sangrado y la disfunción pulmonar post bomba encontrados (*Dries et al 1984, Meyers et al 1989, Noera et al 1989*). Por otro lado, algunos investigadores la eligen como el modelo animal ideal para la evaluación a largo plazo del implante artificial de corazón. (*Harasaki et al 1993*). El correcto manejo de la anestesia en la especie acorde a las técnicas de CEC, han permitido mejorar los resultados y revertir esta tendencia de opiniones. El uso de la CEC en la especie ovina fue protocolizado y publicado en el *Journal of Veterinary Surgery (Holmber et al 1987)*.

Se ha reportado el uso de ovinos en cirugías de reemplazo valvular en posición aórtica (*Santos et al 2002, Arbustín et al. 1983, David et al 1988, Ouyang et al 1998, Salern et al 1998, Flameng et al 2001 Trantina et al. 2001*) y reemplazo valvular mitral (*Dagum et al. 1999, Vetter et al. 1995, Revuelta et al. 1992, Bernal et al. 1998*), sin evidenciar problemas graves asociados.

La amplia cantidad de datos obtenidos en el presente trabajo, obligó a interpretar el comportamiento de las distintas estrategias que se consideraron pilares de esta investigación. Las mismas fueron seleccionadas tras un detallado estudio de las bases teóricas de la circulación extracorpórea, principalmente de los protocolos de arresto circulatorio. Surgieron entonces como puntos estratégicos para llevar adelante esta experiencia, la inducción de la hipotermia, la estrategia acido-base, la asistencia cardiocirculatoria, la prevención y tratamiento de la fibrilación ventricular en hipotermia, la hemodilución, arresto circulatorio y neuroprotección y la función pulmonar.

4.1. Inducción de hipotermia

La necesidad de disminuir la temperatura corporal de los animales a 25°C constituyó en sí un desafío, considerando que no se utilizó un circuito convencional de circulación extracorpórea. Los circuitos comerciales, integran junto al oxigenador, un sistema metálico de intercambio de temperatura, por cuyo interior circula agua a la temperatura deseada y por su exterior la sangre, creando así un medio de intercambio térmico por convección. Los mismos están especialmente diseñados para este fin, y su eficacia varía según la empresa fabricante, el modelo, el flujo de perfusión y la relación flujo/temperatura del agua recirculante.

El sistema utilizado (ver la sección de materiales de asistencia circulatoria), permitió lograr el descenso de la temperatura de manera eficaz. No obstante, la velocidad con que se logró llegar a 25°C varió en ambos grupos. Claramente la diferencia de tiempos de enfriamiento entre

ambos grupos, se debió a que en el *grupo II* se realizó canulación central en la AI con toracotomía, provocando una pérdida mayor de temperatura en razón de la apertura del tórax, en un quirófano climatizado a 18°C con sistema de aire acondicionado. En ambos grupos se provocó la hipotermia cerebral local mediante el empleo de bolsas de hielo, lo que colaboró en alguna medida, con el enfriamiento global de los animales y la neuroprotección pretendida. En un trabajo realizado en ovinos bajo arresto circulatorio en hipotermia profunda (*Brooker R et al 1997*), se evaluó el efecto de la aplicación tópica de hielo sobre el cráneo, colocando sensores intracraneanos de temperatura. Los resultados demostraron que esta modalidad previene el recalentamiento cerebral en el período de arresto circulatorio (60 min.) en un rango de 2°C menos que en los animales sin hielo regional.

Se ha descrito que el enfriamiento rápido es asociado a ciertas complicaciones, como la contractura miocárdica, la fibrilación ventricular, arritmias, paro cardíaco, además de la falta de homogeneidad de distribución del frío en todos los tejidos. ((*Maguire et al 1955, Chitwood et al 1979, Buckberg et al 1977*)

El hecho de haber tenido en esta investigación curvas de enfriamiento suaves en relación al tiempo del mismo, sustenta la ausencia de dichas complicaciones en todos los animales de ambos grupos del presente trabajo. Además la asistencia circulatoria proporcionada, el monitoreo intensivo del equilibrio ácido-base y de la hemodinamia, evitaron agregar otros mecanismos que pudieron desencadenar o favorecer tales manifestaciones. Los tiempos de recalentamiento extensos, pueden fundamentarse en el hecho de que no es posible tener un gradiente (agua/sangre) superior a los 10°C, debido al riesgo potencial de desnaturalización

proteica. Siempre se realiza el recalentamiento con este gradiente térmico, hasta una temperatura máxima del agua recirculante de 42°C.

4.2. Manejo ácido base

No se hallaron referencias bibliográficas de estrategias de manejo de *ph* en hipotermia moderada y oxigenación pulmonar autóloga, que se puedan cotejar con los resultados obtenidos en esta experiencia. Sobre la base teórica de que los animales estarían en hipotermia de 25 °C, hemodilución y además en el *grupo II* con arresto circulatorio, se consideró que la estrategia a emplear debería contribuir con la neuroprotección y la entrega de oxígeno, dado que naturalmente en el enfriamiento existe un desplazamiento del *ph* sanguíneo hacia la alcalinidad. Con respecto a la neuroprotección, los fundamentos fisiológicos sobre flujo sanguíneo cerebral (FSC) y metabolismo cerebral (CMRO₂) (*Govier et al 1991, Murkin et al 1987*), pronosticaron que el descenso de temperatura, disminuiría linealmente el FSC y exponencial el CMRO₂, pudiendo mantenerse la autorregulación independientemente de los cambios de PAM propios de la hipotermia. Se consideró entonces que el enfriamiento uniforme del cerebro debía asegurarse, evitando la vasoconstricción arterial cerebral. El manejo de la acidosis y la hipercarbia en hipotermia no corregido a la temperatura del paciente, justificó este propósito. Se procuró realizar un manejo similar al *ph-stat*, con las limitantes de tener que utilizar el propio pulmón para este plan. Este manejo de *ph* en protocolos clásicos de CEC, anexa 3-5% de CO₂ al flujo de gases de entrada a la membrana artificial, para mantener un *ph* cercano a 7,40 a temperatura corregida.

El bypass ventricular izquierdo con sangre oxigenada (*grupo II*), permitió mantener valores de ph más adecuados para enfrentar la etapa de recuperación cardíaca luego del arresto circulatorio. Por otro lado, el efecto de la hipotermia en la entrega de oxígeno a los tejidos, desplaza la curva de disociación de la hemoglobina a la izquierda, aumenta la afinidad de esta al oxígeno y disminuye su entrega a los tejidos. En consecuencia un manejo más acidótico e hipercárbico, permitió redirigir este desvío hacia la derecha y mejorar la entrega de O₂ en hipotermia. Para lograrlo se procuró mantener la capnografía, durante toda la experiencia independientemente de la temperatura, en el rango de 45 y 60 ETCO₂ y corroborar con hemogasometría en los tiempos de muestreo establecidos en el protocolo, la PaCo₂ y el ph corregido a temperatura del animal.

La utilización de las distintas estrategias ofrecen ventajas y desventajas teóricas. El manejo ph- stat incrementa el FSC, permite un enfriamiento homogéneo, mayor reducción del consumo de oxígeno y desplazamiento de la curva de oxihemoglobina a la derecha, incrementando la disponibilidad de O₂. Su desventaja es la posibilidad de incrementar el riesgo de microembolismo cerebral (*Henriksen et al 1986*). *Lennart et al (2002)*, realizó un estudio comparativo entre ph-stat y alfa-stat, en cerdos sometidos a hipotermia profunda y arresto circulatorio a 18°C, sin registrar diferencias significativas en los grupos respecto a temperatura nasofaríngea, nivel de hematocrito y tensión arterial de oxígeno. Con respecto a la PAM, el grupo alfa-stat fue mayor con una significancia ($p=0,01$) a los 40 minutos de enfriamiento a 14°C. El estudio anexo fue la evaluación de los diámetros microvasculares cerebrales con fluorescencia y la oxigenación tisular de la corteza cerebral con el método de NADH autofluorescencia. Los diámetros fueron porcentualmente mayores que los de la medición basal en el grupo ph-stat, con significancia estadística, a los 10 minutos ($p \leq 0,02$) y 40 minutos ($p \leq 0,001$), y en el inicio del

recalentamiento ($p \leq 0,007$). La oxigenación tisular de la corteza fue significativamente menor en el grupo alfa-stat.

En un modelo experimental crónico en cerdos sometidos a DHCA, la recuperación del score neurológico fue superior en el grupo ph-stat. (*Priestley et al 2001*). *Pokela et al (2003)*, realizó un modelo de DHCA en porcinos con monitorización intracraneal de temperatura, tensión de oxígeno y metabolismo cerebral. El estudio demostró que luego de 75 minutos de DHCA a 18 °C, el manejo pH-stat se asocia a una menor alteración cerebral metabólica y mayor supervivencia, comparado con la estrategia α -stat. Otro estudio reciente concluyó que la estrategia ph-stat en caninos con infarto cerebral sometidos a perfusión cerebral selectiva anterógrada, promueve un aumento en la oxigenación cerebral y la reducción de la formación de ácido láctico (*Ohkura et al 2004*)

En la literatura pediátrica humana existe un respaldo general al uso de ph-stat en DHCA para mejorar la protección cerebral. Estudios clínicos mostraron que es particularmente beneficioso en pacientes neonatos cianóticos, al derivar el flujo de perfusión lejos de las colaterales aortopulmonares hacia la circulación cerebral, asegurando de esta manera el enfriamiento y el aporte de oxígeno (*Sakamoto et al 2004*). Otros autores contrastan esta tendencia. Un estudio randomizado sobre 100 neonatos e infantes, reveló que ninguna estrategia fue consistente al momento de asegurar el desarrollo neurológico normal (*Bellinger et al 2001*). Estudios llevados a cabo en adultos, revelan que el manejo ph-stat disminuye significativamente los episodios de desaturación venosa yugular en la etapa de recalentamiento y reducción del gradiente arteriovenoso de glucosa (*Shaaban-Ali et al 2004, Kiziltan et al 2003*).

4.3. Asistencia cardiocirculatoria

La circulación extracorpórea constituyó el principal pilar de esta investigación. Con el objetivo de prescindir de algunos elementos utilizados en la práctica del puente cardiopulmonar clásico, como los reservorios venosos y oxigenadores de membrana, se concibió un sistema de asistencia circulatoria simple y compatible con el desarrollo de un modelo para cirugía cardíaca en animales de compañía. La variedad de dispositivos de asistencia cardiocirculatoria disponibles en la actualidad permiten clasificarlos en dos categorías: los dispositivos de soporte circulatorio, que ayudan a mantener las condiciones hemodinámicas (flujo sanguíneo y presión) temporalmente, permitiendo contrarrestar el progreso de la falla cardíaca, y los de asistencia cardíaca, que ayudan al bombeo cuando se presenta una enfermedad cardíaca severa, llegando a sustituir al corazón nativo en la falla cardíaca terminal (*Delgado et al 2008*).

La circulación a lo largo de la experiencia fue asistida por medio de un circuito extracorpóreo de flujo lineal, junto a una bomba extracorpórea no pulsátil. Los momentos críticos donde la asistencia probó su efectividad fueron identificados: entrada de bomba con hemodilución normovolémica aguda, la etapa de hipotermia moderada y recalentamiento, y en el grupo II además asistir al corazón en la salida del arresto cardíaco y los episodios de fibrilación ventricular. Este circuito también fue utilizado, anexando un sistema de transferencia térmica por convección, para producir el enfriamiento y recalentamiento de los animales.

El objetivo de la experiencia realizada con los animales del *grupo I* fue inducir la hipotermia y evaluar el efecto de la asistencia a flujo parcial del 30% de volumen minuto, con los parámetros hemodinámicos y gasométricos. En el *grupo II*, dada la complejidad del

procedimiento planeado, con tórax abierto, arresto cardiocirculatorio cardioplégico y reanimación cardiopulmonar posterior, se utilizó una asistencia ventricular izquierda (bypass AI/F), manejando al igual que en el grupo I, un flujo parcial del 30% de volumen minuto, con evaluación de los parámetros hemodinámicos y gasométricos. En ambos grupos se logró mantener valores de perfusión aceptables con la asistencia circulatoria empleada en relación a la temperatura del paciente, a sus menores requerimientos de oxígeno y su capacidad de mantener la autorregulación de FSC. La literatura reporta distintas combinaciones de canulación, utilizadas en asistencias circulatorias y que varían según el propósito, el flujo requerido y el tamaño del paciente. Estas pueden ser veno-venosas o veno-arteriales, y utilizar o no, oxigenadores de membrana. Se encuentran descritas la canulación VV yugulo-femoral o yugular única, con catéter de doble lumen y la VA yugulo-carotidea y femoro-femoral, entre las más frecuentes (*Moulton et al 1993*)

Hace ya 50 años se afirmaba que “la utilización de un bypass venoarterial sin oxigenación, eleva y mantiene una adecuada presión en la raíz de aorta, en perros sometidos a falla cardíaca aguda” (*Connolly et al 1960*). Años después, se demostró que, si no más de 1/3 del volumen minuto es derivado desde la vena femoral a la arteria femoral de caninos, la PaO₂ en el arco aórtico puede mantenerse dentro de valores normales, hiperventilando con oxígeno al 40% (*Wayabayashi et al 1973*). A continuación de este trabajo, el mismo autor presentó la experiencia clínica del bypass-(FF) a flujo parcial sin oxigenador, para el tratamiento del shock cardiogénico agudo en 5 pacientes humanos adultos (*Wayabayashi et al 1974*), demostrando la importancia de mantener el flujo coronario en un corazón dañado, temporalmente hasta su recuperación, y

concluyendo que este bypass puede aplicarse en pacientes con infarto agudo de miocardio, falla cardíaca post-quirúrgica y edema pulmonar.

Por otro lado, las asistencias ventriculares izquierdas puras, pueden manejar volúmenes porcentuales mayores o absolutos, debido a que trabajan con sangre oxigenada. *Farrar et al* (1984) evaluó en un modelo en caninos, los efectos sobre la función ventricular derecha durante la asistencia cardíaca izquierda. En su trabajo los animales fueron canulados por toracotomía en la aurícula izquierda y la arteria femoral, y se llevó a un flujo de bypass que logró disminuir la presión ventricular izquierda por debajo de los 30 mmHg. No se hallaron evidencias de falla ventricular derecha. Los cambios más relevantes fueron la reducción del 10-30% de la presión media de la arteria pulmonar y de la presión máxima de ventrículo derecho, demostrando una caída de la poscarga derecha y de la contractilidad; esta última debido a la disminución de la fuerza del septum. Los efectos de una asistencia ventricular izquierda sobre el ventrículo se debe a que ambos operan en serie, y que se acoplan en una unión anatómicamente cerrada (*Weber et al* 1981, *Bove et al* 1981). Este enunciado de “bombas en serie” queda demostrado por la disminución de la presión pulmonar frente a la disminución de la presión de llenado ventricular izquierdo durante el bypass. La hipótesis se basa en la interdependencia mecánica entre los ventrículos a través del septum y de fibras comunes que envuelven a ambos. Otros estudios mencionan la reducción del acople ventricular cuando el ventrículo izquierdo está vacío o con menor volumen. En modelos de corazón aislado, se demostró que la disminución de la presión VI provoca un desplazamiento del septum a la izquierda y una reducción en la presión del VD (*Santamore et al* 1971, *Elzinga et al* 1980). (*Holger et al* 2001), evaluó la eficacia en un sistema de asistencia desde el atrio izquierdo a la arteria femoral, colocado por vía percutánea, para

revertir el shock cardiogénico en 18 pacientes con infarto agudo de miocardio. Pudo comprobar la reversión de la acidosis metabólica con disminución de lactato, aumento del índice cardíaco, PAM y disminución de la PCWP y PVC, con una significancia de $p \leq 0,001$ para todos los valores mencionados.

Los dispositivos de asistencia ventricular izquierda reducen el trabajo cardíaco y el consumo del miocardio al permanecer el ventrículo izquierdo con menor volumen, favoreciendo la recuperación funcional (*Noon et al 1996, Golding et al 1992*). En estudios comparativos, se evaluó la posición de la cánula en asistencias izquierdas, donde la canulación del VI tuvo la ventaja de tener menor incidencia de tromboembolismo y mayor flujo de bomba que en la canulación de la AI en pacientes con asistencia prolongada de un mes. (*Lohmann et al 1990, Holmanet et al 1995*). Una evaluación hemodinámica de asistencia izquierda con bomba centrífuga a distintos flujos de 25%, 50% y 75% de volumen minuto, fue realizada en cerdos, mediante canulación en el ápex del VI y aorta (*Saita et al 2001*). En este estudio se demostró el descenso del volumen ventricular al final de la sístole a medida que aumenta el porcentaje de asistencia, hasta ser estadísticamente significativo al 75% de asistencia. La presión al final de la sístole del ventrículo izquierdo (LVESP), desciende significativamente con flujos del 50 y 75%, y disminuye el gradiente de presión entre la AI y el VI, pudiendo mantener la válvula mitral permanentemente abierta a flujos altos.

En el *grupo II* de la presente investigación, la canulación auricular izquierda en corderos no presentó dificultades técnicas mayores, y el tiempo de permanencia de la cánula fue de tres horas, no habiendo evidencia de formación de trombos. El flujo de desvío fue bajo (30%), no

estando en el protocolo de mediciones de este trabajo la recolección de variables de función ventricular derecha e izquierda.

Los trabajos citados anteriormente sirven de referencia y muestran que estos cambios son más acentuados a medida que mayor es el flujo de asistencia. No obstante, aunque la cánula está en posición ventricular izquierda en el estudio de (*Saita et al* 2001), se comprobó que el bypass ventricular izquierdo a flujo parcial de 25 % genera disminución del SV, LVESP y LVEDV.

4.4. Fibrilación ventricular

Los resultados en la monitorización electrocardiográfica mostraron que en el *grupo I* no se presentaron arritmias desencadenadas por la hipotermia, mientras que en el *grupo II*, se presentó fibrilación ventricular (FV) en dos animales, en el período inmediato post- arresto cardíaco, al retirar el clamp de la aorta y reiniciar la asistencia circulatoria y la ventilación mecánica. Los otros tres reiniciaron su actividad cardíaca con ritmo idioventricular que duro de 1 a 2 minutos para luego pasar a ritmo sinusal, sin necesidad de tratamiento farmacológico o eléctrico. Se pudo observar que estos tres animales tuvieron valores de ph en el período (T3) a 25°C de (7,37, 7,39 y 7,47). En contraste, los animales con FV tuvieron los valores de ph más bajos del *grupo II* en el período (T3), (ph 7,3 y 7,26 y a temperatura del paciente 25°C). Ambos fueron tratados con desfibrilación cardíaca interna (DCI 0,2 Joules/Kg inicial, 0,4-0,6 Joules/Kg en las siguientes), asistencia circulatoria mecánica y masaje cardíaco interno. El primero (ph 7,3) reanudó a ritmo sinusal tras dos (2) DCI de 4 y 6 Joules.

El segundo (ph 7,26) requirió múltiples ciclos de DCI y dosis de adrenalina (1mg/IC) y bolos de lidocaína (2mg/K). Pese a lograr retornar a ritmo sinusal, presentó episodios de recurrencia de FV refractarias. Pese a esto, se pudo recalentar al paciente a 35°C y que reanude su ventilación espontánea, con una asistencia circulatoria que permitió mantener la PAM entre 42 y 50 mmHg.

En un reciente estudio sobre arritmias y electrofisiología (*Kimberly et al.* 2005), se evaluó la eficacia de la desfibrilación en cerdos con FV inducida eléctricamente con 60-Hz por cateterismo, a distintos grados de temperatura bajo un protocolo de reanimación cardiopulmonar. Los grupos fueron divididos en normotermia (N/37°C), hipotermia leve (HL/35°C), hipotermia moderada (HM/33°C) e hipotermia severa (HS/30°C). Se logró un porcentaje de desfibrilación con el primer shock de 50 Joules en el 12,5% de (N), 50% de (HL), 75% (HM) y 62,5% de (HL). Asimismo el número total de shocks por grupo y el porcentaje de refibrilación fue estadísticamente significativo menor ($p \leq 0,01$ HM, $p \leq 0,05$ HL), versus el grupo normotérmico. *Van Alem* (2003), describió en el área clínica que el porcentaje de refibrilación luego de una desfibrilación exitosa es inversamente proporcional a la sobrevida del paciente.

Existen claras diferencias en los trabajos de investigación sobre desfibrilación en hipotermia. *Tacker* (1981), describió que las mismas pueden deberse a los diferentes diseños de modelos de experimentación, modos de desfibrilación, niveles de hipotermia utilizados y el uso de diferentes especies animales. En su trabajo sobre desfibrilación transtorácica en caninos, enunció que es necesario incrementar la energía de descarga un 2,5% por cada grado °C de descenso. En contraste (*Ujhelyi et al.*2001), reportó que no es necesario variar los niveles de energía para desfibrilar a porcinos en hipotermia a 30°C por vía transvenosa, refiriendo que la

hipotermia aumenta el tiempo refractario y de repolarización ventricular, facilitando así, la desfibrilación eléctrica por enlentecimiento de la repolarización de los canales iónicos. Además, la hipotermia reduce el consumo de oxígeno, los requerimientos energéticos celulares y el consumo de ATP, resultando en menor disfunción mitocondrial e incrementando la recuperación funcional del corazón tras una isquemia. (Ning *et al.* 1999)

En la presente investigación, los dos animales del grupo II que requirieron desfibrilación, se encontraban en una condición fisiológica extrema en comparación con los trabajos descriptos, con temperatura de 25°C, asistolia previa, inducida por solución cardioplégica rica en CIK, un tiempo de arresto circulatorio de 12 minutos y los valores de ph más bajos dentro del grupo.

La evaluación hemogasométrica en el período previo a la administración de cardioplegía en el tiempo (T3) mostró que los animales con ph (corregido temperatura de paciente) $\geq 7,35$ no presentaron FV post- arresto cardioplégico. La corrección del ph a estos valores y el mantenimiento de excesos de bases (EB + - 2) en el período previo a la administración de cardioplegía, podría colaborar en inhibir la presentación de FV o facilitar la desfibrilación con menor número de descargas, menor necesidad de Joules y menor porcentaje de refibrilación.

Cuatro animales de *grupo II*, en etapa de recalentamiento a 29°C y con ritmo sinusal, presentaron ph (corregido temperatura de paciente) $\geq 7,33$, mientras que el que presentó fibrilación refractaria tuvo (ph 7,25) a 29°C y a 34°C.

4.5. Hemodilución

En el inicio del bypass la conexión de los animales a la bomba de circulación extracorpórea produjo en ambos *grupos* una hemodilución normovolémica aguda. Las dos variables que mostraron cambios directos fueron el hematocrito y la hemoglobina. Hubo una clara reducción en relación al inicio de la C.E.C., mostrando las figuras 53 y 54 una tendencia lineal de descenso y una posterior recuperación. Esto último se debe a la redistribución de una parte de los líquidos ingresados al organismo hacia el espacio intersticial y la eliminación por diuresis de otra parte, a lo largo del procedimiento. Se ha reportado que la hemodilución tiene acción protectora a nivel renal a través de la disminución, en forma relativa de los glóbulos rojos y albúminas, reduciendo la viscosidad de la sangre y aumentando el flujo de perfusión de la corteza renal externa. El clearance de K y Na se ve incrementado, así como la producción urinaria, mientras que la osmolaridad, creatinuria, K y Na urinario se ven reducidos por la dilución (*Mielke et al* , *Lilleaasen et al* 1978).

Los animales de ambos *grupos* en esta investigación fueron sometidos a hipotermia, la cual disminuye el filtrado glomerular y el flujo renal. Estos efectos son contrarrestados por la hemodilución (*Utley et al* 1981).

Se ha informado que los pacientes humanos que son sometidos a bypass cardiopulmonar presentan riesgos de microembolia especialmente en el riñón, a causa del efecto de aumento de flujo de perfusión renal que produce la hemodilución. Estas lesiones suceden en mayor frecuencia con el uso de oxigenadores de membrana (*Utley et al* 1981).

En el presente trabajo se registraron los siguientes valores para el ion K: *grupo I* (media 3,16 DS 0,75 ANOVA $p < 0,00$) y para el *grupo II* (media 3,47 DS 1,23 ANOVA $p < 0,005$). En ambos *grupos* la diferencia fue estadísticamente significativa. El mayor DS en el grupo II se asoció a la infusión de la solución de cardioplegia hiperkalémica, utilizada en el tiempo (T3) para detener la actividad cardíaca. La tendencia lineal en la etapa de enfriamiento mostró un desvío hacia la hipokalemia. Las causas del desplazamiento del K desde el líquido extracelular hacia el intracelular son la hipotermia, las catecolaminas liberadas por estrés, la dopamina y la insulina (Koht *et al* 1983).

Con respecto a los valores del ion Na, el *grupo I* (media 140,35 DS 8,459 ANOVA $p < 0,014$) fue levemente superior al grupo II (media 147,26 DS 5,33 ANOVA $p < 0,829$). El *grupo II* tuvo una tendencia a la hipernatremia. Esta caída en la fracción de excreción de Na, podría estar asociada a una disminución de la función renal acentuada por el efecto de la isquemia y reperfusión de dicho órgano. En un trabajo reciente, se evaluó el flujo doppler de corteza y medula renal, en cerdos sometidos a arresto circulatorio (60 min.) con hipotermia moderada (30°C). Estos animales fueron divididos en dos grupos, uno fue control y al otro se les administró péptido natriurético auricular (PNA) recombinante, hormona con un potente efecto diurético y vasodilatador. Luego de la reperfusión no hubo diferencias en el flujo de la corteza renal, pero el grupo que recibió PNA tuvo un aumento del flujo medular. Los valores de Na calculados en plasma y orina, permitieron calcular la fracción de excreción de sodio. El grupo control tuvo una marcada disminución de la fracción de excreción de sodio en comparación con los animales que recibieron PNA, aunque no hubo diferencias significativas entre grupos (Masahiro *et al* 2009).

Un informe preliminar (*Stafford-Smith et al 2005*) de un estudio piloto en cerdos, muestra la caída de PaO₂ en la médula renal junto con el pH y aumento de la CO₂, durante 90 minutos de PCP con respecto a los valores basales. Esto justifica que puedan incluirse en la monitorización de las cirugías con CEC, sensores intrarenales con el objetivo de mejorar las estrategias de perfusión. En un análisis retrospectivo de 42.773 pacientes operados de bypass coronario o valvulares, el 1,1% tuvo falla renal aguda. Este subgrupo tuvo un 63,7 % de mortalidad mientras que el subgrupo sin falla renal un 4,3% (*Chertow et al 1998*). Los valores de urea y creatinina en los tiempos (T0 y T8), mostraron ligeros cambios, pero no llegaron a ser de significancia clínica ni diagnósticos de insuficiencia renal. No hubo morbi-mortalidad asociada a este órgano.

4.6. Arresto circulatorio y neuroprotección

La etapa más crítica de la investigación fue, una vez completada la experiencia del *grupo I*, integrar la gran cantidad de información recogida para estar en condiciones de aplicarla en la fase experimental siguiente con el *grupo II*, en el cual se anexó el arresto cardiocirculatorio con cardioplegía, al llegar a los 25°C.

Las técnicas clásicas de arresto circulatorio (DHCA), utilizan como parte del protocolo la exanguinación temporal del paciente. En ese período todo el volumen sanguíneo es derivado al reservorio venoso del circuito de circulación extracorpórea, donde se mantiene oxigenada y en recirculación constante. Una vez finalizado el tiempo de arresto, se restituye al paciente mediante la cánula arterial y se restaura la CEC convencional.

En el *grupo II* de esta investigación, en el período de arresto circulatorio, la sangre no se derivó a ningún reservorio extracorpóreo, manteniéndose toda la volemia en el propio organismo. Esto tuvo la desventaja de imposibilitar la oxigenación de la sangre en el período de arresto y mantener valores de equilibrio ácido base adecuados. Se observó en los resultados del grupo II, una caída en el pH y consumo de bicarbonato en el período de arresto circulatorio, los cuales fueron equilibrados una vez reanudada la circulación. Esta observación muestra que a 25°C la actividad metabólica tiende a generar un cuadro de acidosis directamente proporcional al tiempo de isquemia, y que debe mantenerse a los animales antes del arresto circulatorio con valores de bicarbonato y excesos bases normales y un pH superior a 7,35. No se halla en la literatura internacional estudios donde se pueda comparar estos resultados con otros protocolos de arresto circulatorio con oxigenación pulmonar autóloga.

No obstante, pueden observarse los resultados de protocolos desarrollados por distintos grupos de investigadores que evaluaron el arresto circulatorio en hipotermia moderada con o sin medida neuroprotectiva anexa. Existen numerosos artículos realizados en modelos animales que utilizan puente cardiopulmonar con oxigenación de membrana con DHCA. *Juvonen et al* (2001), estudió las variables de mortalidad en un modelo crónico porcino luego de arresto circulatorio e hipotermia profunda, realizado durante 75 minutos a 20°C. Este completo estudio se centró en variables oxihemodinámicas, frente a tres protocolos anestésicos diferentes. El consumo de oxígeno al final del enfriamiento en todos los grupos, fue la única variable predictiva de mortalidad ($p=0,046$). Aunque la variable del protocolo anestésico no presentó valor estadístico significativo, los animales que recibieron medetomidina, tuvieron menor volumen minuto,

entrega de oxígeno (DO₂) y saturación venosa de oxihemoglobina (SvO₂), que los que recibieron ketamina, con una mayor mortalidad (*Juvonen et al 2001*).

El fundamento teórico de que la hipotermia disminuye el metabolismo cerebral y el consumo de oxígeno cerebral, con disminución del gradiente de saturación arterio-venoso, llevó a instaurar diferentes métodos de evaluación de dicho consumo durante los protocolos de arresto circulatorio en hipotermia (*Leyvi et al 2006, Baraka et al. 2006, Nawfal et al. 2006*), tales como la espectroscopia infrarroja cerebral (NIRS) y la medición de saturación venosa en el bulbo yugular (SyO₂). Aunque se menciona en estos reportes que una oximetría cerebral superior a 95% a 20°C, previo al arresto circulatorio, sería un indicador de la correcta supresión metabólica, los autores describen resultados variables que pueden atribuirse a la estrategia de manejo ácido base empleada, a sus efectos sobre la curva de hemoglobina y al enfriamiento cerebral homogéneo. *Reich et al. (2003)*, presentó una evaluación estadística de correlación entre SyO₂ y función neurológica post-operatoria, en pacientes sometidos a cirugía con arresto circulatorio en hipotermia profunda, no encontrando relación estadísticamente significativa en aquellos con SyO₂ de 90%, 95% o superior. Además mencionó el aumento de tiempo de bypass en el intento de tener la mayor SyO₂ pre- arresto. Asimismo, en la etapa de recalentamiento puede observarse una caída de los valores de SyO₂, donde una SyO₂ ≤ 50% constituye un signo de alerta de isquemia cerebral (*Croughwell et al. 1992,1994*).

Por ser la protección cerebral el punto más sensible de estas técnicas, se realizan constantemente nuevas investigaciones, con distintas estrategias de perfusión y la combinación, en algunos casos, con fármacos neuroprotectores. Es así que se realizó neuroprotección conjunta, en protocolos de arresto circulatorio en hipotermia, con la adición de fármacos. Se describió el

uso de la eritropoyetina recombinante, la ciclosporina A, ácido valproico, allopurinol, metilprednisolona, arginina, aprotinina (*Romsi et al. 2002, Clancy et al. 2001, Tatton et al. 2001, Ywata et al. 2010, Hagl et al. 2001*) asociada a protocolos clínicos o de investigación animal de DHCA.

El grupo de Hannover, Alemania, liderado por el Dr. Hagl, centró sus esfuerzos a lo largo de distintas investigaciones para identificar factores relacionados a la morbilidad y mortalidad en la injuria neurológica. En el año 2004 presentaron su investigación sobre el impacto en la recuperación metabólica neurológica, en un modelo porcino sometido a arresto circulatorio hipotérmico, con y sin perfusión cerebral anterógrada selectiva fría. De acuerdo a los resultados, este último grupo mostró un score neurológico mejor, con disminución del edema cerebral, de la presión intracraneana y de la acidosis cerebral. *Hagl et al. (2006)*, siguiendo su línea de investigación en ciencias básicas, realizó un modelo con períodos de arresto circulatorio y perfusión cerebral selectiva a distintas temperaturas (moderada, baja y profunda). El mismo autor publicó (*Hagl et al 2007*) el reporte clínico de 13 pacientes con reparación de arco aórtico durante arresto circulatorio con hipotermia moderada, sin ninguna medida neuroprotectiva anexa y sin lesión neurológica concomitante durante el periodo post operatorio. Según las referencias mencionadas, queda claro que se podrán incorporar en una próxima etapa de esta investigación la posibilidad de medir la saturación venosa yugular para evaluar el efecto de supresión metabólica en hipotermia. Además, la incorporación de fármacos neuroprotectores a este protocolo permitirá extender el tiempo de arresto circulatorio con mayor margen de seguridad.

Los métodos disponibles para generar y evaluar una injuria neurológica en animales de experimentación sometidos a isquemia cerebral global transitoria son muy variados. Estos difieren principalmente si el modelo es de tipo agudo o crónico, y además, el motivo de investigación por la que se produce esta injuria. Los estudios in vitro en cultivos celulares y los estudios in vivo mediante la producción de isquemia en animales de laboratorio, han demostrado ser eficaces en discernir los mecanismos implicados en la isquemia cerebral, ayudando al desarrollo de estrategias de protección. Los estudios en modelos de experimentación animal, tienen la ventaja de poder realizar estudios histopatológicos con marcadores inmunohistoquímicos, bioquímicos y fisiológicos (*Zapater 1992*). Los animales sobre los que se han realizado estudios de isquemia cerebral pura han sido los primates, cerdos, gatos, cabras, conejos, perros, y con mayor frecuencia en gerbils y ratas (*Broseta et al. 1994; García March et al, 1989; Sánchez Ledesma et al, 1994*). Los diseños experimentales utilizados para el estudio de los insultos isquémicos globales incluyen frecuentemente la oclusión de los vasos que aportan el flujo al cerebro de forma global, y menos comúnmente por parada circulatoria cerebral completa. Aunque la oclusión de los vasos no produce realmente una isquemia global total, ya que existe un flujo residual, es cierto que una gran proporción del cerebro queda afectada. (*Fox G 1993; Ginsberg et al. 1989; Hossmann 1993b*). El principal problema en los modelos de isquemia cerebral es asegurar la suspensión del aporte de sangre al cerebro; recordando las numerosas comunicaciones fisiológicas entre el sistema arterial vertebral y el carotídeo. Con respecto a este punto, las diferencias anatómicas entre especies tienen una gran relevancia en la interpretación y extrapolación de los resultados. El modelo de oclusión de dos vasos en el gerbil presenta características propias de la anatomía de este animal: ausencia de anastomosis en el polígono de Willis entre el sistema carotídeo y el sistema vertebrobasilar, más la ausencia de la arteria

comunicante posterior. La oclusión de las dos arterias carótidas produce isquemia cerebral global severa (*Kirino et al 1985*). Los cambios son similares a aquellos en modelos de rata, donde el FSC en la corteza cae por debajo del 1 % y en el hipocampo es cercano al 4 % de los valores de control (*Kato et al, 1990*). Frente a la necesidad de crear modelos de isquemia cerebral completa, y evitar cualquier flujo sanguíneo residual, se describió la supresión de la circulación mediante la compresión del cuello (*Dietrich et al 1987; Eleff et al 1991; Ljunggren et al 1974*), parada cardíaca (*Crumrine et al 1991; Ekholm et al 1992*) o ligadura de todas las ramas arteriales que salen del corazón (*Kawai et al 1992; Pluta et al 1991*).

La parada cardíaca y arresto circulatorio causa una interrupción completa del flujo sanguíneo al cerebro sin la posibilidad de FSC colateral debido a que el flujo sanguíneo corporal es interrumpido. La mayoría de los modelos de isquémica mencionados anteriormente, aunque implican la oclusión de los vasos cerebrales, mantienen el flujo sistémico. Los mismos pueden generar en el cerebro lesiones de aéreas mixtas, necróticas, rodeadas de tejido vulnerable-viable, llamadas zonas de penumbra. El daño neuronal producido dependerá del tiempo de isquemia, pero el daño en la zona de penumbra, podría ser reducido mediante acciones farmacológicas previas, durante o en el período de reperfusión.

En contrapartida si la isquemia por parada cardíaca y detención del flujo genera daño cerebral, lo hace en forma uniforme, y las medidas preventivas neuroprotectoras son de fundamental importancia. Además, un rasgo característico de la isquemia global del cerebro es que puede haber un retraso entre el fin del insulto isquémico y la muerte celular, que varía de 12 horas a días. Esto es llamado muerte neuronal diferida y fue documentada inicialmente por *Pulsinelly y Brierly (1979, 1982)*.

Este último dato se ajusta al interés de este trabajo por realizar un modelo de evaluación clínico crónico, con un Score neurológico, en un grupo de animales sometidos a un insulto isquémico global temporario. El protocolo de trabajo de esta investigación, aunque no fuese su objetivo principal, involucró realizar una isquemia cerebral global mediante parada circulatoria en el período de arresto del *grupo II*, y de potencial isquemia cerebral en los periodos de hipotermia e hipotensión en ambos *grupos*. Al tratarse de un modelo crónico, se seleccionó el Score Glasgow modificado para animales, para la evaluación clínica post quirúrgica hasta 7 días posteriores al insulto.

Ya fueron mencionadas en la introducción las distintas herramientas farmacológicas de las que se dispone en la actualidad para mejorar la eficacia de la neuroprotección de la hipotermia. Se describió para tal propósito el uso de la eritropoyetina recombinante, la ciclosporina A, ácido valproico, allopurinol, metilprednisolona, arginina, aprotinina (*Romsi et al 2002, Clancy et al 2001, Tatton et al 2001, Ywata et al 2010, Hagl et al 2001*) asociada a protocolos clínicos o de investigación animal de arresto circulatorio e hipotermia profunda (DHCA).

En el protocolo seguido en el presente trabajo se utilizó en ambos grupos, Dexametasona (2mg/K/IV), 2 horas previas a la inducción anestésica como medida neuroprotectiva anexa. Inicialmente, en las pruebas pilotos realizadas para la puesta a punto de la experiencia del *grupo I* (que no involucraba parada circulatoria) se registró durante el período de recuperación de dos animales valores del examen neurológico Score Glasgow con pronóstico malo, a las 12 horas de finalizada la experiencia. Estos fueron canulados en la vena yugular y en la arteria carótida. Posteriormente los animales mostraron midriasis, falta de recuperación de los

reflejos palpebral y corneal, opistónos, pedaleo de miembros y decúbito lateral. Frente a la aparición de estos signos, se evaluó la posibilidad de que la especie ovina tuviese una circulación cerebral primitiva, como se describió anteriormente en el gerbil y la rata, así como otras modificaciones presentes en otras especies (*Blackman et al 1986, Crosby et al 1982, Guillian et al 1974*)

A partir de esta primer etapa del trabajo de investigación, se publicó la correlación de afección de Score Glasgow en ovinos con bypass venoarterial yugulo-carotideo (*Marcos et al 2006*). La evaluación bibliográfica sobre la anatomía descriptiva de la irrigación cerebral, resaltó que la especie ovina carece de arterias carótidas internas o que si existen son vestigiales (*Neils et al 1974*), teniendo retorno venoso único por las venas yugulares externas. Además, la circulación vertebral colabora pobremente en la irrigación cerebral, y las ramas craneales de la arteria occipital son muy reducidas. La circulación del polígono cerebral se abastece por la “rete admirabili” formada por las ramas anastomóticas de la arteria maxilar interna. Esta red presente en otros rumiantes, participa en la termorregulación cerebral. (*Balwin et al 1963, 1964 a, b*). A su vez, existen variables de las arterias cerebrales dentro de la especie (*Jablonski et al 1973*)

Algunos autores describieron los cambios en el FSC y la presión intracraneana (PIC), en corderos, luego de la oclusión aguda de la v. yugular, la a. carótida o ambas (*Hunter et al 2004, Walker et al 1993*) empleando modelos de oxigenación de membrana extracorpórea (ECMO). En otras publicaciones sobre oxigenación artificial, se mencionó que la oclusión de carótidas o yugulares en la especie ovina produce cambios significativos en el FSC entre ambos hemisferios, debido a la alteración de los mecanismos de autorregulación (*Walker et al 1993, 1994*)

Dado que el propósito del *grupo I*, fue conducir eficazmente a los animales a hipotermia moderada de 25°C, y posterior recalentamiento, evaluando la función pulmonar y la recuperación neurológica avalada con Score Glasgow modificado, se desestimó la vía cervical para las canulaciones venosa y arterial, eliminando así los cambios extras sobre FSC y PIC que la propia experiencia podría generar, y poder así evaluar objetivamente los efectos neuroprotectivos de la hipotermia. Los animales de ambos *grupos* presentaron en el perioperatorio inmediato (2-3 horas) un Score Malo, caracterizado por recumbencia, hipotonía muscular, reflejos deprimidos o ausentes, miosis bilateral, reflejos oculo cefálicos normales o reducidos, y sensorio comatoso, sin respuesta a repetidos estímulos de dolor. En el período de T6 el Score mejoró notoriamente, observándose un Score Normal en el período T7 (12 horas post quirúrgicas), con puntuaciones de 17 a 18 puntos, en ambos grupos. Los animales comenzaron a alimentarse en ese período y se observó una adecuada función ruminal sin presencia de timpanismo. A las 24 horas post quirúrgicas se encontraban en corrales de recuperación.

4.7. Función pulmonar

Los equipos de capnografía, oximetría de pulso y de gases en sangre utilizados para evaluar la difusión, transporte y entrega de oxígeno de los animales, permitieron evaluar la PaCO₂, PaO₂, ETCO₂ y SatO₂. Combinando estos valores con la FiO₂ y el porcentaje de hemoglobina se pudo estimar el índice Pa/Fi como indicador de difusión y el contenido arterial de oxígeno respectivamente.

En las figuras (48 y 49), se muestran diferencias entre el *grupo I* y el *grupo II* de PaO₂. Aunque ambos se oxigenaron exclusivamente con ventilación pulmonar autóloga, el *grupo II* debió además enfrentar las atelectasias propias de la toracotomía, la disrupción pleural, y los efectos adversos del arresto circulatorio y la reperfusión. Los resultados señalan que en el *grupo II*, luego del período de resucitación y en la etapa de recalentamiento con bajos valores de PaO₂, se vio afectada parcialmente su capacidad de difusión. La misma puede atribuirse a atelectasias y alteraciones de la ventilación-perfusión (V-Q) pulmonar temporales, además de la reperfusión.

Las figuras (46 y 47) de PaCo₂ muestran su comportamiento en los *grupos I y II*, donde puede observarse los cambios dinámicos durante la experiencia. Aunque las muestras arteriales de PaCo₂ fueron obtenidas cada 5°C de descenso, la misma fue estimada durante el desarrollo de la experiencia mediante el capnógrafo, que a su vez sirvió para guiar eficazmente la ventilación de los animales, aunque no siempre se correspondió con los valores esperados de PaCO₂. Probablemente esto se debió a los cambios de ventilación/perfusión generados en los animales, mediante la anestesia general, decúbito lateral prolongado, ventilación mecánica y la hipotermia.

Existe una correlación entre los valores de PaCO₂ y ETCO₂ cuando la relación de ventilación/perfusión (V/Q) es normal. En pacientes críticos con (V/Q) alterada, probablemente la ETCO₂ no refleje adecuadamente el valor de PaCO₂. Ciertos estudios han demostrado resultados variables de la correlación entre ETCO₂ y PaCO₂, tanto en hombres adultos como en niños. Usualmente la ETCO₂ es 5 mmHg menor a la PaCO₂, por lo que podría utilizarse para estimar una correcta ventilación mecánica. Cuanto más se agrava la enfermedad pulmonar, mayor es la diferencia hasta perder una correlación positiva con significancia estadística (*Rozycki et al 1998, Kerr et al 1996, Weigner et al 1987*). Además los métodos señalados, se encuentran

disponibles otros más complejos para evaluar datos precisos en la ruta de oxígeno, pudiendo calcularse hasta la entrega de oxígeno (DO_2), consumo de oxígeno (VO_2) y el índice de extracción de oxígeno (O_2ER).

Cuando el transporte de oxígeno es adecuado, las necesidades metabólicas están completamente satisfechas y el metabolismo se desarrolla aeróbicamente. Esta disponibilidad (DO_2), es el volumen de oxígeno que fluye a un determinado tejido por unidad de tiempo. En contraparte, (VO_2) es la cantidad de oxígeno consumida por un determinado tejido por unidad de tiempo, y es la diferencia entre la cantidad de oxígeno que ingresa y la que deja un determinado lecho vascular. Para este último cálculo se utiliza sangre venosa mixta, obtenida de la arteria pulmonar (sangre venosa mezclada). Esta medición requiere el uso de un catéter Swan Ganz, posicionado en la arteria pulmonar, para poder muestrear sangre venosa mixta. Además, con éste catéter es posible obtener por la técnica de termodilución, el cálculo de volumen minuto. A su vez, mediante catéteres modernos con incorporación de fibra óptica también es posible realizar estas mediciones (*Baele et al 1982, Sumimoto et al 1991, Baulig et al 2008*)

Frente al aumento de la extracción de oxígeno (O_2ER), interviene fundamentalmente el mecanismo fisiológico de reclutamiento vascular, que extienden el área de intercambio gaseoso en la microcirculación y disminuyen las distancias para la difusión del oxígeno, desde los capilares a la mitocondria (*Cain et al 1983*). Los rangos teóricos de DO_2 y VO_2 en el humano, son 400-550 y 120-160 ml/min/m² respectivamente. Un organismo al encontrarse con despolarizantes neuromusculares, ventilado mecánicamente e hipotérmico puede satisfacer sus necesidades con valores de DO_2 inferiores a los mencionados en los rangos teóricos (*Clark et al, 1990*), dado que la (VO_2) será menor. Pese a que las determinaciones descriptas (DO_2 , VO_2 ,

O₂ER) no estuvieron al alcance de este estudio, su marco teórico nos permite interpretar que el haber sometido a los animales de ambos grupos a relajación neuromuscular, hipotermia y ventilación, colaboró con un menor consumo de oxígeno optimizando la DO₂.

Se consideró en la presente investigación que, al integrar a la evaluación de la oxigenación los postulados de la física de los gases (ley de Henry), su interacción con la función pulmonar y la influencia de la temperatura, daría una interpretación de la función pulmonar integrada a la cambiante fisiología en la curva de tiempo de la experiencia. Los valores de PaO₂ presentados en las tablas de resultados, son corregidos a la temperatura del paciente (ver en la introducción manejo ácido-base), por ende las mismas son menores, por la compresión de los gases en las muestras de mayor hipotermia.

Para comprobar la eficiencia del intercambio de oxígeno se evaluó la relación entre presión arterial de oxígeno y la fracción inspirada de oxígeno (FiO₂). Estos datos, correlacionados con la FiO₂ utilizada (100% = 1), podrían alertar sobre una potencial aflicción respiratoria aguda ($Pa/Fi \leq 300$), o distress respiratorio ($Pa/Fi \leq 200$), (*Cruz Mena et al 1999*). Esta alerta de distress respiratorio en el índice Pa/Fi se evidenció en el gráfico de dispersión de datos obtenidos de los animales del *grupo I* a temperatura de 25 °C, mientras que en la dispersión del *grupo II* desde T2 a T5. La interpretación de estos resultados es claramente la misma que la de la (PaO₂) señalada anteriormente, por ende las mismas son menores debido a la compresión de los gases en las muestras de mayor hipotermia, sumado a los cambios de ventilación perfusión descriptos. No se observó ninguna afeción clínica pulmonar post quirúrgica. Una vez finalizada la experiencia, y con posterioridad a su extubación, los animales

se oxigenaron adecuadamente con aire ambiental (FiO_2 0,21). Las radiografías de tórax no evidenciaron alteraciones.

Respecto de la $SatO_2$ desde T1 a T7, los valores de $SatO_2$ para el *grupo I* y para el *grupo II* revelan que se logró una eficaz saturación a pesar de los cambios en las presiones parciales de gases y de los resultados estimados por el índice (Pa/Fi). Un solo animal presentó desaturación moderada con valores de $SatO_2$ de 86% y PaO₂ de 78 mmHg.

Los siguientes criterios de calificación de hipoxemia son útiles como una primera aproximación (*West et al 2003, Levitsky et al 2003*)

- PaO₂ \geq 60 mmHg se considera que existe hipoxemia moderada.
- PaO₂ está entre 40 y 60 mmHg se considera una hipoxemia importante
- PaO₂ \leq 40 mmHg el trastorno es grave y debe temerse daño miocárdico y cerebral
- PaO₂ \leq de 20 mmHg el riesgo de muerte es inminente

Debido a que el índice Pa/Fi se vio alterado durante la hipotermia por los factores antes mencionados, y dado que los animales fueron oxigenados con OPA, se anexó la evaluación del índice de oxigenación (IOx), en los momentos en que se identificó alguna posibilidad de distress respiratorio en los animales de ambos grupos. Esta nueva medición de comportamiento pulmonar (Iox), logró integrar los valores de gases en hipotermia, a la mecánica ventilatoria, permitiendo una interpretación dinámica de la función pulmonar en hipotermia y post arresto circulatorio, además de tener un valor pronóstico de mortalidad. El pronóstico de mortalidad se correspondió con la recuperación de los animales de ambos grupos.

Este nuevo índice, que incorpora el valor de presión media de la vía aérea (Paw), ha demostrado ser de utilidad en algunos grupos poblacionales como el de los pacientes pediátricos y está tomando en la actualidad mayor trascendencia en los pacientes adultos (*Trachsel et al 2005*, *Espinosa et al 2005*), aunque se menciona que su valor puede estar sujeto a la influencia operador-dependiente, en base a la configuración del respirador. *Selley et al (2008)*, *Trachsel et al (2005)*, describen al Iox como un valor pronóstico de mortalidad superior a la Pa/Fi, en pacientes con aflicción respiratoria aguda (ARI) y síndrome de distress respiratorio agudo (SDRA). Resaltan que el Iox integra en un único valor las presiones de vía aérea y las presiones de oxígeno. Estadísticamente, el incremento de los valores calculados con el Iox superiores a quince (15), se correlaciona en forma lineal y positiva a menor probabilidades de extubación del paciente y a mayor probabilidad de muerte (*Trachsel et al 2005*).

Yang et al (2006), plantea la falta actual de conocimientos certeros sobre los efectos del arresto circulatorio y la hipotermia, en el metabolismo del surfactante y su impacto en la función pulmonar. En su trabajo realizado en lechones, realizó la comparación de los efectos de las técnicas de perfusión LFB y DHCA. Aunque en ambas se observa una afección pulmonar posterior a la CEC evidenciada por aumento del agua total pulmonar, disminución de la compliance, aumento en la resistencia aérea y disminución del índice Pa/Fi, los cambios del grupo LFB fueron significativos. Evidentemente, pese a la temperatura corporal de 18°C a la que se sometió a ambos, el grupo LFB mantuvo mayor tiempo de CEC y mayor tiempo de contacto de la sangre con superficies extrañas, especialmente el oxigenador de membrana.

En esta investigación ambos grupos de animales evidenciaron también cambios en el índice Pa/Fi, con disminución del mismo. Independientemente del *grupo I* y *II*, el descenso de la temperatura colabora parcialmente con este valor, debido a la compresión de los gases y al aumento de la solubilidad de los mismos. En hipotermia moderada de 25°C, el efecto de compresión hace disminuir el valor de la PaO₂ en 50mmHg. No se detectó disminución de la SatO₂, salvo en una animal del *grupo II*. Pese a las limitaciones que impuso a este trabajo no utilizar un oxigenador de membrana, los resultados avalan que lo antes descrito se debe al uso de OPA, flujos parciales de CEC de 30 % de volumen minuto, hipotermia y finalmente, arresto circulatorio en el *grupo II*. Todo esto colabora cuali y cuantitativamente en disminuir los efectos inflamatorios sistémicos, el tiempo total de CEC, el volumen de contacto de la sangre con las tubuladuras artificiales y los daños celulares de los neumocitos tipo I y II.

Se pueden adoptar medidas de protección pulmonar selectiva, como describió experimentalmente (*Yang et al* 2008), evaluando el efecto de L-arginina, en infusión continua, para preservar el metabolismo surfactante en cerdos con un protocolo DHCA, dado el potencial aumento de los requerimientos de L-arginina (precursor de óxido nítrico) durante procesos inflamatorios pulmonares agudos. Reportó que a las cuatro horas post reperfusión los valores de función pulmonar fueron estadísticamente superiores a los del grupo control con infusión de ringer lactato solamente, mejorando el índice Pa/Fi y la compliance, además de disminuir el contenido pulmonar total de agua. Este es un punto de interés para futuros modelos de investigación en el área.

Otro de los puntos de seguimiento durante la experiencia, fue la obtención de frotis de sangre para el recuento de glóbulos blancos. Los valores resultantes del recuento de leucocitos y

neutrófilos circulantes en todos los animales, no indicó una tendencia hacia su depleción sistémica, excepto en el momento de ingreso a la CEC, como consecuencia de la hemodilución normovolémica aguda. Según el trabajo de (*Brix-Christensen et al 2002*), los polimorfonucleares neutrófilos son atrapados en corazón, pulmón y riñones, en cerdos sometidos a PCP en hipotermia con clampeo aórtico de 60 min y 2 horas de CEC. Las células fueron identificadas con tecnecio-99m.

Se ha descrito dentro de la fisiopatología del pulmón de bomba, que la exclusión de la circulación pulmonar durante una CEC convencional, genera mediante la activación del complemento (C3a y C5a), la migración neutrofílica transpulmonar y la degranulación de los neutrófilos con detrimento de sus lisoenzimas (*Fountain et al 1980*). En el pulmón de bomba se observa atelectasia difusa por cambios en la actividad del surfactante y disminución de la compliance pulmonar, siendo las células del epitelio pulmonar tipo II las más resistentes a la injuria (*Konai et al 1994*).

En 2 animales que no sobrevivieron al final de la experiencia y como parte del protocolo ante esta eventualidad, fue posible practicar una biopsia pulmonar. En uno de los animales la muerte ocurrió en la etapa de recalentamiento, 30 minutos después de iniciada la reperfusión pulmonar, en ritmo sinusal y con adecuado estado ácido-base, debido a una hemorragia originada por un desgarro aórtico en el sitio de punción de la cardioplegia (tiempo total de CEC= 120 min). En el otro, a 2 horas del inicio de la reperfusión pulmonar, respirando espontáneamente, como consecuencia de una fibrilación ventricular refractaria al tratamiento (tiempo total de CEC= 180 min). En los cortes histopatológicos de los pulmones de ambos animales, se halló una leve marginación de neutrófilos al endotelio de la vasculatura pulmonar y

una insignificante presencia de neutrófilos en el intersticio. Además se observaron zonas de atelectasia y enfisema. Estos hallazgos permiten postular que la técnica de arresto circulatorio en hipotermia moderada y oxigenación pulmonar autóloga, podría evitar o disminuir la transmigración pulmonar de neutrófilos. No obstante, y según lo descrito por (*Le Deist et al* 1995), la hipotermia podría haber retardado la expresión de factores de adhesión endotelio-neutrófilo, no habiéndose detectado tal manifestación en el tiempo de la experiencia en que fueron tomadas las muestras.

No se puede afirmar que en este trabajo existió falta de activación, adhesión y leucostasis intravascular. *Shahzad et al* (2007), reportaron que en un grupo de pacientes humanos sometidos a cirugía de revascularización miocárdica sin bomba, se observó una importante disminución de la incidencia de SIRS, aunque no su total prevención. El trauma quirúrgico, la manipulación cardíaca y del pericardio, la administración de heparina, protamina y otras drogas, son factores que disparan el incremento de marcadores agudos de la inflamación. Esto se fundamenta en que generalmente la inflamación pulmonar está asociada a las mayores elevaciones del complemento (C3a, C5a), lo cual sucede desde el inicio y hasta las tres horas de finalizada la CEC (*Kirklin et al* 1983).

Durante el PCP y la cirugía cardíaca, la activación del complemento se produce en 3 situaciones: cuando la sangre contacta las superficies no endoteliales, luego de la administración de protamina y en el periodo de reperfusión (*Menasche et al* 2003). Esta activación genera potentes anafilotoxinas que son quimiotácticas de leucocitos, y que se elevan principalmente con el uso de oxigenadores de membrana artificiales.

Existen evidencias clínicas y experimentales que comprueban el desarrollo de SIRS, la activación neutrofílica y de mastocitos que suceden por el contacto de la sangre con superficies extrañas y la acción de las fuerzas no lineares de la circulación, caracterizado por el aumento de citokinas inflamatorias, la activación del complemento, las vías de la coagulación y de fibrinólisis y el incremento de lípidos bioactivos (*Fortenberry et al 1996, Graulich et al 2002, Underwood et al 1995, Kawahito et al 1993, Adrian et al 1998, Mildner et al 2005, Graulich et al 2000*).

Las moléculas de adhesión leucocitarias que se expresan durante el PCP son principalmente las selectinas, las β -integrinas y la superfamilia de inmunoglobulinas. Dentro de las selectinas, la “L” se expresa en la superficie de todos los leucocitos. Estas moléculas de adhesión determinan que los neutrófilos “rolean” sobre la superficie endotelial aumentando así su contacto y generando la expresión de las β -integrinas (*Von Andrian et al 1991, McEver et al 1991*). Las selectinas “P” y “E” se expresan en las células endoteliales y contribuyen a la adhesión neutrofílica. Su acción varía desde los primeros minutos para la “P” hasta un pico máximo de 4 a 6 horas para la “E” (*Kurose et al 1994*). Las integrinas CD11a, CD11b y CD11c, aunque puntualmente las dos últimas, son movilizadas de reservas intracelulares en los neutrófilos, en respuesta a estímulos inflamatorios. Los cambios cualitativos de la CD11b expresarían un aumento cuantitativo de las fuerzas de adherencia al endotelio (*Vedder et al 1998*). Finalmente, dentro de las inmunoglobulinas el factor más relevante de adhesión neutrofílica es la molécula ICAM-1, expresada en la superficie de las células endoteliales, regulada por citokinas IL y FNT, y ofreciendo su pico máximo de concentración a las 24 horas de la estimulación (*Springer et al 1990*). El complejo (CD11b/C18-ICAM-1) es considerado el “cemento” que

permite al neutrófilo adherirse y continuar con sus acciones de producción de radicales libres y degranulación.

Aunque las consecuencias sistémicas del PCP se vean en la disfunción orgánica causada por un SIRS debido a la liberación de estas moléculas (*Seghaye et al 1993, Taggart et al 1993, Moat et al 1993*), la magnitud de la temperatura en que se lleva a cabo la cirugía puede influenciar esta respuesta (*Moore et al 1988, Haeffner-Cavaillon et al 1989, Menasché et al 1994*). En un trabajo clínico en pacientes humanos seleccionados para cirugía cardiovascular no compleja, se evaluaron las elevaciones de CD11a, CD11b, CD11c y de L-selectinas. Para esto se los dividió en dos grupos, (PCP 34°C) y (PCP 27°C). Aunque el grupo (PCP 27°C) mostró un retraso en la elevación de las mismas, no evitó la expresión posterior de factores de adhesión endotelio-neutrófilos. Este retraso, podría ser una ventana terapéutica de desarrollo en el área de la biología celular y molecular (*Le Deist 1995*).

Esta compleja fisiopatología, que va de lo macro a lo micro, y que integra actores celulares y bioquímicos, fundamentó el uso de OPA en nuestro protocolo, para restringir las elevaciones o activaciones mencionadas, y disminuir la morbilidad posterior, aunque teniendo siempre en cuenta la imposibilidad de evitar completamente el desarrollo de este sistema amplificado de reacciones en cadena.

La ruta del oxígeno continúa con el transporte en la sangre y la entrega a los tejidos, y fueron evaluados de la siguiente forma. El transporte, mediante la PAM y el contenido total de oxígeno CtO₂, mensurando la SatO₂, el porcentaje de hemoglobina y un factor de corrección multiplicador (1,34) desarrollado para esta ecuación. La caída del CtO₂ en el inicio de la CEC, se

atribuye, como ya fue mencionado, a la hemodilución normovolémica aguda. Esta, aunque disminuye el CtO_2 , tiene el beneficio fisiológico de mejorar el transporte de oxígeno, si la caída del hematocrito no es extrema, en razón de los cambios de viscosidad de la sangre, de la mejor circulación microcapilar en hipotermia y del incremento del volumen minuto por aumento del retorno venoso. Los principales factores que determinan el transporte de O_2 junto al CtO_2 incluyen el gasto cardiaco, el contenido de hemoglobina y el consumo de oxígeno. En la presente investigación se equilibraron dichos factores ya que frente a la caída del CtO_2 , se aseguró el GC a razón de los efectos de la hemodilución y la asistencia circulatoria y por otro lado se disminuyó el VO_2 , mediante la hipotermia, la anestesia y los relajantes neuromusculares. La entrega de oxígeno fue asegurada mediante el control de las variables que modificarán la curva de disociación de oxihemoglobina. Cabe aclarar que la disminución del 2,3-difosfoglicerato, la hipotermia, la alcalosis y la hipocarbica producen el desplazamiento hacia la izquierda de la curva mencionada, aumentando la afinidad de la oxihemoglobina por el oxígeno y disminuyendo la entrega de este a los tejidos. La relación fisiológica entre PaO_2 y $SatO_2$ se representa gráficamente por la clásica curva de disociación de oxihemoglobina. La presión de oxígeno correspondiente a una saturación de oxígeno del 50% es llamada p_{50} . La posición normal de la curva se corresponde con una p_{50} de 26.85 mm Hg. Si su valor aumenta la curva se desvía hacia la derecha, lo cual indica mayor facilidad de la hemoglobina para ceder el oxígeno. Si la p_{50} disminuye, la curva se desvía a la izquierda, lo cual indica impedimento en la cesión de oxígeno (*Hess et al 1985*).

El protocolo experimental de este trabajo requirió reducir la temperatura corporal a $25^{\circ}C$ y producir una moderada acidosis por hipercarbica, para asegurar un correcto enfriamiento global

cerebral por la dilatación de las arteriolas aferentes. Esta estrategia ph-stat, permitió desplazar la curva de disociación de oxihemoglobina hacia la derecha, con la consiguiente optimización de la entrega de oxígeno a los tejidos.

5. CONCLUSIONES

Primera. La canulación periférica femoro-femoral (F-F) y combinada aurículo-femoral (Ai-F) para realizar circulación extracorpórea en ovinos no presenta inconvenientes técnicos mayores.

Segunda. Por medio de un bypass (F-F) o (Ai-F) conectado a un circuito de circulación extracorpórea, es posible conducir a temperaturas de hipotermia moderada (25°C) a ovinos de 25 Kg.

Tercera. El descenso de la temperatura corporal de los ovinos desde 39°C a 25 °C por medio de un sistema de asistencia circulatoria, puede realizarse sin alteraciones hemodinámicas de gravedad y sin la presencia de arritmias cardíacas.

Cuarta. El descenso de la temperatura generado, evidencia compresión de la PaO₂ sin llegar a producir descenso de la SatO₂. Es por lo tanto prioritario optimizar el manejo de la ventilación en los protocolos circulación extracorpórea con oxigenación pulmonar autóloga.

Quinta: Prescindir del uso de membranas artificiales de oxigenación, preserva la función pulmonar en el post operatorio, disminuyendo la morbilidad asociada.

Sexta. El estado fisiológico inducido a 25°C previo a un arresto cardíaco cardioplégico en modelos de oxigenación pulmonar autóloga, debe tener un $\text{pH} \geq 7,3$, bicarbonato normal y $\text{PaCO}_2 \leq 45\text{mmHg}$.

Séptima. Existe una adecuada neuroprotección a 25°C en ovinos sometidos a arresto circulatorio de 12 minutos.

Octava. El tiempo de arresto circulatorio podría extenderse utilizando fármacos neuroprotectores en forma asociada a la hipotermia.

Novena. La exposición quirúrgica del corazón con la presencia de una sola cánula en la aurícula izquierda permite una excelente vía de abordaje a las cámaras cardíacas.

Décima. La técnica de hipotermia moderada y arresto circulatorio con oxigenación pulmonar autóloga en ovinos es potencialmente aplicable en animales de compañía. No obstante es adecuado un siguiente estudio para la optimización de la misma.

6. BIBLIOGRAFÍA

Abdul-Khaliq H, Schubert S, Stoltenburg-Didinger G. Neuroprotective effects of pre-treatment with systemic steroids in a neonatal piglet model of cardiopulmonary bypass with deep hypothermic circulatory arrest. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2000 Dec;18(6):729-31.

Adrian K, Mellgren K, Skogby M, et al. Cytokine release during long-term extracorporeal circulation in an experimental model. *Artif Organs* 1998;22:859-863

Akiyama M, Tanaka R, Maruo K, Yamane Y. Comparison of right atrium incision and right ventricular outflow incision for surgical repair of membranous ventricular septal defect using cardiopulmonary bypass in dogs. *Veterinary Surgery* 2006 35:382-387,

Akiyama M, Tanaka R, Maruo K, Yamane Y. Surgical Correction of a Partial Atrioventricular Septal Defect in a Dog. *Journal of the American Animal Hospital Association* 2005, 41:137-143

Androne AS, Katz SD, Lund L, et al; Hemodilution is common in patients with advanced heart failure. *Circulation.* 2003 Jan 21;107(2):226-9

Aoki, M., Nomura, F. et al. (1993) The effect of calcium and preischemic hypothermia on recovery of myocardial function after cardioplegic ischemia in neonatal lambs. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 104, 207-13.

Arbustin E, Jones M, Ferrans V J. Formation of cartilage in bioprosthetic cardiac valves implanted in sheep: a morphologic study. *Am J Cardiol* 1983; 52: 632-6.

Baele PL, McMichan JC, Marsh HM, Sill JC, Southorn PA. Continuous monitoring of mixed venous oxygen saturation in critically ill patients. *Anesth Analg* 1982: 61:513-517

Balderman, S.C., Buenette, J.P. et al. (1983) The optimal temperature for preservation of the myocardium during global ischemia. *Annals of Thoracic Surgery*, 35, 605-14.

Baldwin, BA. Blood flow in the carotid and vertebral arteries of the sheep and calf. *J Physiol* 1963;167:448-62.

- Baldwin, BA. The anatomy of the arterial supply to the cranial regions of the sheep and ox. *Am. J. Anat.*, 115: 101-18, 1964 (a)
- Balwin, BA. The anatomy of the cerebral circulation of the sheep and ox. The dynamic distribution of the blood supplied by the carotid and vertebral arteries to cranial regions. *J Physiol* 1964;97:203-215 (b).
- Baraka A, Naufal M, El-Khatib M: Correlation between cerebral and mixed venous oxygen saturation during moderate versus tepid hypothermic hemodiluted cardiopulmonary bypass. *J CardiothoracVascAnesth* 20:819-825, 2006
- Barratt-Boyes, B.G. (1986) Complete correction of cardiovascular malformations in the first two years of life using profound hypothermia. *Heart Disease in Infancy*, Churchill Livingstone, Edinburgh, p. 35.
- Baulig W, Dullenkopf A, Hasenclever P, Schmid ER, Weiss M. In vitro evaluation of the CeVOX continuous central venous oxygenation monitoring system. *Anaesthesia* 2008; 63:412-417
- Behr L, Daniel P, Pouchelon JL, Carbognani D, Pierrel V, Macabet A, Lacheze A, Chetboul V, Laborde M, Borestein NP. Beating Heart Mitral Valve Replacement with a Bovine Pericardial Bioprosthesis for Treatment of Mitral Valve Dysplasia in a Bull Terrier. *Veterinary Surgery* 2007, 36:190–198,
- Bellinger DC, Wypij D, du Plessis AJ et al. Developmental and neurologic effects of α -stat versus pH-stat strategies for deep hypothermic cardiopulmonary bypass in infants. *J ThoracCardiovasc Surg.* 2001; 121(2):374-83.
- Bernal JM, Rabasa JM, Cagigas JC, Fernando V, Revuelta JM. Behavior of mitral allografts in the tricuspid position in the growing sheep model. *Ann ThoracSurg.* 1998;65:1326–1330
- Bigelow WG, CallaghanJC, Hopps JA. General hypothermia for experimental intracardiac surgery. *Ann Surg* 1950 ; 132:531-9.(b)

- Bigelow WG, Lindsay WK, Harrison RC, Gordon RA, Greenwood WF. Oxygen transport and utilization in dogs at low body temperatures. *Am J Physiol* 1950;160:125-37.(a)
- Blackman, n. l.; Cheethani, k. & Blackmore, d. k. Differences in blood supply to the cerebral cortex between sheep and calves during slaughter. *Res. Vet. Sci.*, 40:252-4, 1986.
- Blackstone EH, Kirklin JW. Complement activation during to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993;55: 552–9.
- Boresntein NP, Daniel P. Behr L, Pouchelon JL, Carbognani D, Pierrel V, Macabet A, Lacheze A, Chetboul V, Laborde M Successful Surgical Treatment of Mitral Valve Stenosis in a Dog. *Veterinary Surgery* 2004, 33:138–145,
- Bove AA, Santamore WP: Ventricular interdependence. *ProgCardiovasc Dis* 23: 365, 1981
- Brazier, J.; Cooper, N.; Maloney, J.V.; Buckberg, G.D. The adequacy of myocardial oxygen delivery in acute normovolemic anemia. *Surgery*, 75, 508-516, 1974.
- Bretschneider, H. (1980) Myocardial protection. *Thoracic and Cardiovascular Surgeon*, 28, 295-302.
- Bretschneider, H. Myocardial protection. *Thoracic and Cardiovascular Surgeon* 1980, 28, 295-302.
- Brix-Christensen V, Tønnesen E, Hjortdal VE, Chew M, Flø C, Marqvorsen J, Hansen JF, Andersen NT, Ravn HB. Neutrophils and platelets accumulate in the heart, lungs, and kidneys after cardiopulmonary bypass in neonatal pigs. *Crit Care Med.* 2002 Mar;30(3):670-6.
- Brooker R, Zvara D, Velvis H, Priellip R. Topical ice slurry prevents brain rewarming during deep hypothermic circulatory arrest in newborn sheep. *J Card and VascAnest* 1997,11; 5: 591-594.
- Broseta J, García March G, Sánchez Ledesma MJ, Gonçalves J, Silva I, Barcía JA (1994). High cervical spinal cord electric stimulation in brain low perfusion syndromes. Experimental basis and preliminary clinical report. *StereotacFunctNeurosurg* 62:171-178.

- Brouman JD, Schertel ER, Holt DW, Olshove VA, (2002) Cardiopulmonary bypass in the cat. *Veterinary Surgery*, 31,412-7.
- Brouman JD, Schertel ER, Holt DW, Olshove VA, Cardiopulmonary bypass in the cat. *Veterinary Surgery* 2002, 31,412-7.
- Buckberg, G.D., Brazier, J.R. et al. (1977) Studies of the effects of hypothermia on regional myocardial blood flow and metabolism during cardiopulmonary bypass. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 73, 87-94.
- Buckberg, G.D.; Brazier, J. Coronary blood flow and cardiac function during hemodilution. *International Hemodilution Biblioteca Haematologica*. Vol. 41. S. Karger, Basil, 1975.
- Busto R, Globus MY-T, Dietrich WD, et al (1989). Effect of mild hypothermia on ischemia-induced release of neurotransmitters and free fatty acids in rat brain. *Stroke* 20:904-910.
- Butler J, Rucker GM, Westaby S. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993;55: 552-9.
- Buttini M, Appel K, Sauater A, et al (1996). Expression of tumor necrosis factor alpha after focal cerebral ischemia in the rat. *Neuroscience* 71:1-16.
- Cain SM. Peripheral oxygen uptake and delivery in health and disease. *Clin Chest Med* 1983; 4:139-144.
- Cardell, M., Boris-Moller, F. (1991) Hypothermia prevents the ischemia-induced translocation and inhibition of protein kinase C in the rat striatum. *Journal of Neurochemistry*, 57, 1814-17.
- Chertow GM, Levy EM, Hammermeister KE, Grover F, Daley J. Independent association between acute renal failure and mortality following cardiac surgery. *J Am Med* 1998;104:343-8.
- Chien, S. Present state of blood rheology. In *haemodilution. Theoretical Basis and clinical Application* 1972. New York, pp. 1-45.

Chitwood, W.R., Sink, J.D., Hill, R.C. et al. (1979) The effects of hypothermia on myocardial oxygen consumption and transmural coronary blood flow in the potassium-arrested heart. *Annals of Surgery*, 190, 106-16.

Chopp M, Knight R, Tidwell CD, Helpert JA, Brown E, Welch KM . The metabolic effects of mild hypothermia on global cerebral ischemia and recirculation in the cat: comparison to normothermia and hyperthermia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1989; 9:141-8.

Churn, S.B., Taft, W.C. Temperature modulation of ischemic neuronal death and inhibition of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in gerbils. *Stroke* 1990, 21, 1715-21.

Clancy RR, McGaurn SA, Goin JE, Hirtz DG, Spray TL. Allopurinol neurocardiac protection trial in infants undergoing heart surgery using deep hypothermic circulatory arrest. *Pediatrics* 2001 Jul; 108(1):61-70.

Clark A Jr, Clark PA, Connett RJ, Gayeski TE, Honig CR. Defining hypoxia: a systems view of VO₂, glycolysis, energetics, and intracellular PO₂. *J Appl Physiol* 1990; 68:833-84248 Clark A Jr

Clowes GHA Jr, Neville WE, Hopkins A, Anzola J, Simeone FA. Factors contributing to success or failure in the use of a pump-oxygenator for complete by-pass of the heart and lung, experimental and clinical. *Surgery* 1954;36:557-79.

Cohen M, Hammerstrom RW, Spellman MW, Varco RL, Lillehei CW. The tolerance of the canine heart to temporary complete vena caval occlusion. *Surg Form* 1952;3:172.

Cohen M, Lillehei CW. A quantitative study of the "acygotic factor" during vena caval occlusion in the dog. *Sur Gynecol Obstet* 1954;98:225.

Connolly JE, Bacanaer M, Bruns D, Lowenstein J. The effect of venoarterial bypass on coronary blood flow, *Arch.Surg.* 81: 58, 1960.

Cooper JR. Hemodilution and Priming solutions for cardiopulmonary bypass. *Cardiopulmonary bypass*. Williams and Wilkins, 1993. Pg. 124-135.

Crosby, E.C. & Schnitzlein H. N. Blood supply to brains of some ungulates and the horse. *Comparative correlative neuroanatomy of the vertebrate telencephalon*. N. Y. Macmillan. 1982 Pg 301-9.

Croughwell ND, Frasco P, Blumenthal JA, et al: Warming during cardiopulmonary bypass is associated with jugular bulb desaturation. *AnnThoracSurg* 1992;53:827-832.

Croughwell ND, Newman MF, Blumenthal JA, et al: Jugular bulb saturation and cognitive dysfunction after cardiopulmonary bypass. *AnnThoracSurg* 1994; 58:1702-1708.

Cruz Mena y R. Moreno. Aparato respiratorio. *Fisiología y Clínica*. E. Bolton. 4ª edición. 1999.

Dagum P, Randall G, Timek TAGeorge T, Miller C. Functional Evaluation of the Medtronic Stentless Porcine Xenograft Mitral Valve in Sheep. *Circulation*. 1999;100:II-70.

David L. Reich*, Loren M. Horn, Sabera Hossain¹, Suzan Uysal Using jugular bulb oxyhemoglobin saturation to guide onset of deep hypothermic circulatory arrest does not affect post-operative neuropsychological function. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 25 (2004) 401–408

David TE, Ropchan GC, Butany JW. Aortic valve replacement with stentless porcine bioprostheses. *J Card Surg* 1988; 3: 501-5.

Davies Lauries K. Hypotermia: Physiology and clinical use. *Cardiopulmonary bypass*. Williams and Wilkins. 1993; 140-154.

Delgado M, Bernabeo G, Delgado D. Avances en asistencias circulatorias mecánicas. *Rev EspCardiol* 2008;61 (Supl 2):25-32.

Dempsey RJ, Combs DJ, Maley ME, Cowen DE, Roy MW, Donaldson DL (1987). Moderate hypothermia reduces postischemic edema development and leukotriene production. *Neurosurgery* 21:177-81.

Dennis C, Spreng DS Jr, Nelson DS, et al. Development of a pump-oxygenator to replace de heart and lungs; an apparatus applicable to human patients and application to one case. *Ann Surg* 1951;134:709-21)

Dries DJ, Hughes SF, Mohammad SF, Murray KD, Olsen BD. Acute hematologic response of sheep to cardiopulmonary bypass and total heart replacement. *Trans AM SocArtif Intern Organs* 1984;30:117-20.

Edmunds, L.H .Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Annals of Thoracic Surgery* 1998; 66, 12-6.

Elliot, M.J. (1993) Ultrafiltration and modified ultrafiltration in pediatric open-heart operations. *Annals of Thoracic Surgery*, 56, 1518-22.

Elzinga G, Piene H, deJong JP: Left and right ventricular pump function and consequences of having two pumps in one heart. *Circ Res* 46: 564. 1980

Espinosa VC, Zepeda EM, Castrillo CS, Elizalde GJJ, Morales MP, Sánchez JA, Sánchez JM. Índices de oxigenación como factores pronósticos en el síndrome de insuficiencia respiratoria aguda en etapa temprana y tardía. *Revista de la Asociación Mexicana de Medicina Crítica y Terapia Intensiva*. www.medigraphic.com

Flameng W J, Ozaki S, Yperman J et al. – Calcification characteristics of porcine stented valves in a juvenile sheep model. *Ann ThoracSurg* 2001; 71: 401-5.

Fortenberry JD, Bhardwaj V, Niemer P, et al. Neutrophil and cytokine activation with neonatal extracorporeal membrane oxygenation. *J Pediatr* 1996;128(5 Pt 1):670–678

Fountain S, Martin B, Musclow E. Pulmonary leukostasis and its relationship to pulmonary dysfunction in sheep and rabbits. *Circ Res* 1980;46: 175-180.

Fox G, Gallacher D, Shevde S, Loftus J, and Swayne G (1993). Anatomic variation of the middle cerebral artery in the Sprague-Dawley rat. *Stroke* 24: 2087–2093. Ginsberg MD, and Busto R (1989). Rodent models of cerebral ischemia. *Stroke* 20: 1627–1642.

Françoise Le Deist, MD; Philippe Menasché, MD, PhD; Christophe Kucharski, MD; Alain Bel, MD; Armand Piwnica, MD; Gérard Bloch, MD Hypothermia During Cardiopulmonary Bypass Delays but Does Not Prevent Neutrophil– Endothelial Cell Adhesion. *Circulation*. 1995;92:354-358.

Gabriel EA, Locali RF, Matsuoka PK, Almeida LS, Silva PSV, Ishigai MMdS, Salerno T, Buffolo E. Perfusão da artéria pulmonar não melhora os índices de fator natriurético cerebral (BNP) em estudo experimental em suínos. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2010; 25(4): 516-526.

García-March G, Sánchez Ledesma MJ, Anaya J and Broseta J. Cerebral and carotid haemodynamic changes following cervical spinal cord stimulation. An experimental study. *Acta Neurochirurg* 1998; 46: 102-104.

Gibbon JH Jr, Miller BJ, Dobell AR, Engell HC, Voight GB. The closure of intraventricular septal defects in dogs during open cardiomy with the maintenance of the cardiorespiratory functions by a pump oxygenator. *L Thorac Surg* 1954; 28:235-40.(a)

Gibbon JH Jr. Application of a mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery. *Minn Med* 1954; 37:171-85.(b)

Gibbon JH Jr. Artificial maintenance of circulation during experimental occlusion of pulmonary artery. *Arch Surg* 1937.;34:1105.

Gillilan L. A. Blood supply to brains of ungulates with and without a rete mirabile caroticum. *J. Comp. Neurol.*, 153:275-90, 1974

Golding LAR, Crouch RD, Stewart RW. Postcardiotomy centrifugal mechanical support. *Ann Thorac Surg* 1992;54:1059-64.

Govie, AV, Reves, JG, McRay, RD. Factors and their influence on regional cerebral blood flow during nonpulsating cardiopulmonary bypass. *Annals of Thoracic Surgery* 1984, 38, 592-600.

Graulich J, Sonntag J, Marcinkowski M, et al. Complement activation by in vivo neonatal and in vitro extracorporeal membrane oxygenation. *Mediators Inflamm* 2002;11:69–73

Graulich J, Walzog B, Marcinkowski M, et al. Leukocyte and endothelial activation in a laboratory model of extracorporeal membrane oxygenation (ECMO). *Pediatr Res* 2000;48:679–684

Greeley, W.J., Bushman, G.A. Effects of cardiopulmonary bypass on eicosanoid metabolism during pediatric cardiovascular surgery. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 1988, 101, 783-94.

Greeley, W.J., Kern, F.H., et al. The effect of hypothermic cardiopulmonary bypass and total circulatory arrest on cerebral metabolism in neonates, infants and children. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 1991;101, 783-94.

Haeffner-Cavaillon N, Roussellier N, Ponzio O, Carreno MP, Laude M, Carpentier A, Kazatchkine M. Induction of interleukin-1 production in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J ThoracCardiovasc Surg.* 1989;98:1100-1106.

Hagl C, Tatton NA, Weisz DJ, Zhang N, Griep RB. Cyclosporine A as a potential neuroprotective agent: a study of prolonged hypothermic circulatory arrest in a chronic porcine model. *Eur J CardiothoracSurg* 2001 Jun;19(6):756-64.

Harasaki H, Portner PM. Development of an implantable total artificial heart: initial animal experience. In Akutsu T, eds. *Heart replacement artificial heart 4*, Tokyo:1993:180-1.

Hearse DJ, Braimbridge MV, Jynge P. *Protection of the ischemic myocardium: cardioplegia*. New York, 1981.

Hearse, D.J., Stewart, D.A. Cellular protection during myocardial ischemia. *Circulation* 1976; 54, 193-202.

Helmsworth JA, Clark LC Jr, Kaplan S, Sherman RT. An oxygenator-pump for use in total bypass of heart and lungs: laboratory evaluation and clinical use. *J Thorac Surg* 1953;26:617-32.

Henriksen L. Brain luxury perfusion during cardiopulmonary bypass in humans. A study of the cerebral blood flow response to changes in CO₂, O₂, and blood pressure. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1986;6:366–378.

Hess, D., and Maxwell, C.: Which is the best index of oxygenation $P(Aa)O_2$, PaO_2/PAO_2 , or PaO_2/FIO_2 ? *Respir. Care* 1985; 30:961.

Hickey RF, Hoar PF. Whole body oxygen consumption during low-flow hypothermic cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983; 86: 903-906.

Hint, H. The pharmacology of dextran and the physiological background for the clinical use of Rheomacrodex and Macrodex. *Acta Anesthesiologica Belgica* 1968, 19,119-38.

Holger T, Bernward L, Rainer H, Enno B, Howard AC, Gerhard S. Reversal of cardiogenic shock by left atrial-to-femoral arterial bypass assistance. *Circulation* 2001;104: 2917-2922.

Holman W, Bourge R, Murrah C, McGiffin D, Spruell D, Ferguson E, Kirklin J. Left atrial or ventricular cannulation beyond 30 days for a thoratec ventricular assist device. *ASAIO J* 1995;41:517-22.

Holmberg DL, Olsen DB. Anesthesia and cardiopulmonary bypass technique in calves and sheep. *Vet Surg* 1987;16:463-5.

Hossmann, KA. Collateral circulation of the brain. In: *Collateral Circulation: Heart, Brain, Kidney, and Limbs*, edited by W. Schaper and J. Schaper. Boston, MA: Kluwer 1993b, p. 291–315.

Houssay, B. *col: Fisiologia Humana*. 3^a edición El Ateneo. 359, 1954.

Hunter CJ, Blood AB, Bishai JM, Peverini RL. Cerebral blood flow and oxygenation during venoarterial and venovenous extracorporeal membrane oxygenation in the newborn lamb. *Pediatr Crit Care Med* 2004 Sep;5(5):475-81.

Hwang JH, Lee JH, Bae EJ, Park WS. Cyclosporine A attenuates hypoxic-ischemic brain injury in newborn rats. *Brain Res* 2010 Aug 22.

Iwata Y, Nicole O, Okamura T, Zurakowski D, Jonas RA. Aprotinin confers neuroprotection by reducing apoptotic cell death. *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 2010 Feb;18(2):170-3.

Jablonski R, Wiland C. Variations of the arteries of the base of the brain in sheep. *Folia Morphol* 1973;3:339-47.

Jonas, R.A..Neurological protection during cardiopulmonary bypass- deep hypothermia. *Pediatric Cardiology* 1998), 19, 321-330.

Kamiya H, Hagl C, et al .Quick proximal arch replacement with moderate hypothermic circulatory arrest. *Ann Thorac Surg*. 2007 Mar;83(3):6

Kamiya H, Klima U, Hagl C, Kallenbach K, Shrestha ML, Khaladj N, Bog A, Haverich A, Karck M. Short moderate hypothermic circulatory arrest without any adjunctive cerebral protection for surgical repair of the ascending aorta: is safe? *Heart Surg Forum*. 2006;9(4):E759-61.

Kanemoto I, Taguchi D, Yokoyama S, Mizuno M, Suzuki H, Kanamoto T. open heart surgery with deep hypothermia and cardiopulmonary bypass in small and toy dogs. *Veterinary Surgery* 2010, 39 674–679

Kawahito K, Misawa Y, Fuse K. Extracorporeal membrane oxygenation support and cytokines. *Ann ThoracSurg* 1998;65:1192–1193.

Kawata M, Takamoto S, Kitahori K, Tsukihara H, Morota T, Ono M, Motomura N, Murakami A, Suematsu Y. Erythropoietin protects the central nervous system during prolonged hypothermic circulatory arrest: an experimental study in a canine model. *J ThoracCardiovasc Surg*. 2006 Jun;131(6):1331-7.

Kenneth, M. T. Central nervous system effects of cardiopulmonary bypass. *Annals of Thoracic Surgery* 1998; 66, 20-4.

Kern, F.H. The effect of altering pump flow rate on cerebral blood flow and metabolism in infants and children. *Annals of Thoracic Surgery* 1993, 56, 1366-72.

Kerr ME, Zempsky J. Relationship between arterial carbon dioxide and tidal carbon dioxide in mechanical ventilated adults with severe head trauma. *Crit Care Med* 1996;24:785-90.

Kimberly A. Boddicker, Yi Zhang, M. Bridget Zimmerman, Loyd R. Davies. Hypothermia improves defibrillation success and resuscitation outcomes from ventricular fibrillation. *Circulation* 2005;111;3195-3201.

Kindig, N.B., Filley, G.F.: Graphic Representation of CO₂ Equilibria in Biologic Systems. *The Physiol. Teacher* 26: 304-309, 1983.

Kirklin JW. Open-heart surgery at the Mayo Clinic. The 25th anniversary. *Mayo Clin Proc* 1980;55:339-41.

Kirklin, J.K., Westaby, S. Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 1983, 86, 854-57.

Kiziltan HT, Baltah M, Bilen A et al. Comparison of α -stat and pH-stat cardiopulmonary bypass in relation to jugular venous oxygen saturation and cerebral glucose-oxygen utilization. *AnesthAnalg.* 2003; 96:644-50.

Klement, P.. Technique and postoperative management for successful cardiopulmonary bypass and open-heart surgery in dogs. 1987.

Koht A, Cane R, Cerullo LJ. Serum potassium levels during prolonged hypothermia. *Int Care Med.* 1983; 9: 275-277.

Konai, H., Haworth, S.G. The effect of cardiopulmonary bypass on the lung. *Cardiopulmonary bypass in Neonates, Infants and Young Children*, Butterworth-Heinemann Ltd 1994, 242-260.

Kramer RS, Sanders AP, Lesage AM, Woodhall B, Sealy WC. The effect of profound hypothermia on preservation of cerebral ATP content during circulatory arrest. *J ThoracCardiovascSurg* 1968; 56:699-709.

Kuboyama K, Safar P, Radovsky A, et al: Delay in cooling negates the beneficial effect of mild resuscitative cerebral hypothermia after cardiac arrest in dogs: A prospective, randomized study. *Crit Care Med* 1993;21:1348-1358.

Kurose I, Anderson DC, Miyasaka M, Tamatani T, Paulson JC, Todd RF, Rusche JR, Granger DN. Molecular determinants of reperfusion-induced leukocyte adhesion and vascular protein leakage. *Circ Res.* 1994;74:336-343.

Lennart F. Duebener, IkuoHagino, Takahiko Sakamoto, Lotfi Ben Mime, Christof. Effects of pH Management During Deep Hypothermic Bypass on Cerebral Microcirculation: Alpha-Stat Versus pH-Stat.*Circulation* 2002;106;I-103-I-108.

Levitzky M. Pulmonary physiology.Sixt ed. McGraw-Hill 2003.Chapter 8.

Lew L.J, Fowler J.D, McKay R, Egger C.M, Rosin M.W. Open-heart correction of tetralogy of Fallot in an acyanotic dog. *Journals of American Veterinary Medical Association* 1998, 213, 652-7.

Lewis FJ, Taufic M. Closure of atrial septal defects with the aid of hypothermia; experimental accomplishments and the report of one successful case. *Surgery* 1953;33:52-9.

Leyvi G, Bello R, Wasnick J, et al: Assessment of cerebral oxygen balance during deep hypothermic circulatory arrest by continuous jugular bulb venous saturation and near-infrared spectroscopy. *J CardiothoracVascAnesth* 2006;20:826-833.

Lilleassen P, Stokke O. Moderate and extreme hemodilution in open heart surgery: fluid balance and acid-base studies. *Ann ThoracSurg* 1978; 25:127-133.

Lillehei CW, Cohen M, Warden HE, Varco RL. The direct vision intracardiac correction of congenital anomalies by controlled cross circulation. *Surgery* 1955;38:11-29.(b)

Lillehei CW. Controlled cross circulation for direct vision intracardiac surgery correction. *Postgrad Med* 1955; 17:388.(a)

Lohmann D, Swartz M, Pennington D, McBride L, Reedy J, Miller L. Left ventricular versus left atrial cannulation for the thoratec ventricular assist device. *ASAIO J* 1990;36:545-8.

MacKnight, ADC, and Leaf, A. Regulation of cell volume. *Physiology Reviews* 1977; 57, 510-69.

- Maguire, R.X., and Merendino, K.A. Effects of age on mechanism of death and ability to tolerate acute hypothermia in dogs. *Archives of Surgery* 1955; 70, 367-73.
- Marcos M, Balskus G, Diez M, Mouly J, Pereda P, Robledo O, Durante E. Score Glasgow en ovinos sometidos a bypass venoarterial periférico. *Revista Argentina de Cirugía Cardiovascular* Sep 2006; 6(3): 122-8.
- Margraf C, Clifton G, Moody M: Treatment window for hypothermia in brain injury. *J Neurosurg* 2001; 95:979–983
- Marques E, Cestari N, Idágene A, Leirner E. Um circuito simples com bomba única para circulação extracorpórea com oxigenação autógena *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2002; 17(2): 52-57.
- Masahiro O, Tadashi O, Masaomi F, Masaya O, Noboru I, Takeo T. Hypothermic Circulatory Arrest: Renal Protection by Atrial Natriuretic Peptide. *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 2009; 17:401–7.
- McEver R. Leukocyte interactions mediated by selectins. *Thromb Haemost.* 1991; 66:80-87.
- Menasché P, Edmunds LH. Extracorporeal circulation: the inflammatory response. In Cohn LH, Edmunds LH Jr (eds): *Cardiac Surgery in the adult*, McGraw-Hill, New York, 2003, pp. 349-360.
- Menasché P, Haydar S, Peynet J, Du Buit C, Merval R, Bloch G, Piwnica A, Tedgui A. A potential mechanism of vasodilation after warm heart surgery: the temperature-dependent release of cytokines. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994; 107:293-299
- Mendler, N, Heimisch, W. Pulmonary function after biventricular bypass for autologous lung oxygenation. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 2000, 17, 325-30.
- Messmer, K Circulatory significance of haemodilution: rheological changes and limitations. *Adv. Microcirc* 1972 4, 1-77.
- Meyers TJ, McGee MG, Noda H, Parnis SM, Sharp C. Evaluation of sheep as an animal model for cardiovascular surgical research. In: Norman J, ed. *Cardiovascular science and technology; Basic and Applied*. Boston; Oxyform Press, 1989:121-3.

Mielke JE, Hunt JC, Maher FT, Kirklin JW. Renal performance during clinical cardiopulmonary bypass with and without hemodilution. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1966;55:229-237.

Mildner RJ, Taub N, Vyas JR. Cytokine imbalance in infants receiving extracorporeal membrane oxygenation for respiratory failure. *Biol Neonate* 2005;88:321-327.

Mitchell, B.A.: *Profound Hypothermia with Circulatory Arrest and Acid-Base Balance*. American Society of Extra-Corporeal Technology, 8, 1988.

Miyamoto, K., Kawashima, Y. Optimal perfusion flow rate for the brain during deep hypothermic cardiopulmonary bypass at 20 C. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 1986; 92, 1065-70.

Moat NE, Shore DF, Evans TW. Organ dysfunction and cardiopulmonary bypass: the role of complement and complement regulatory proteins. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1993;7:563-573.

Molina, J.E., Einzing, S. Brain damage in profound hypothermia *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 1984;87, 596-604.

Monnet, E., Orton, E.C. Diagnosis and surgical repair of partial atrioventricular septal defects in two dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1987; 211, 569-72.

Monnet, E., Orton, E.C. Open resection of subvalvular aortic stenosis in dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association* 1996; 209, 1255-61

Moore FD, Warner KG, Assousa S, Valeri CR, Khuri SF. The effects of complement activation during cardiopulmonary bypass: attenuation by hypothermia, heparin and hemodilution. *Ann Surg*. 1988;208:95-103.

Muñoz-Torrero J J, F. J. Mora, E. Díez Tejedor(2000). Tratamiento específico del infarto cerebral agudo. Presente y futuro. *RevNeurol* 30: 959-82.

Murkin, JM, Farrar, JK, Tweed, WA. Cerebral autoregulation and flow/metabolic coupling during cardiopulmonary bypass. *Anesthesia and Analgesia* , 66; 825-32.

- Murray KD, Olsen DB. The use of calves and sheep as total artificial heart recipients. *ASAIO J* 1985;8:128-34.
- Nadjmabadi MH, Rastan H, Saidi MT, Aftandelian E. Haemodynamic effects of acute intra-operative haemodilution in open heart surgery. *Anaesthesist*. 1978 Aug;27(8):364-9.
- Nawfal M, El-Khatib MF, Taha S, et al: Effect of alpha-stat versus pH-stat strategies on cerebral oximetry during moderate hypothermic cardiopulmonary bypass. *Eur J Anaesth* 2006;7:1-5.
- Neil DS. Anatomía del ovino. Manual de disección. Editorial Hemifisrio Sur 1974; 286-7.
- Ning XH, Xu CS, Portman MA. Mitochondrial protein and HSP70 signaling after ischemia in hypothermic-adapted hearts augmented with glucose. *Am J Physiol*. 1999;277:R11–R17.
- Noera G, Fattori G, Medici AI, Gatti MA. Cardiopulmonary bypass technique in sheep. *Perfusion* 1989;4:291-6.
- Noon GP, Ball JW, Short HD. Bio-Medicus centrifugal ventricular support for postcardiotomy cardiac failure. *Ann ThoracSurg* 1996;61:291-5.
- Ohkura K, Kazui T, Yamamoto S et al. Comparison of pH management during antegrade selective cerebral perfusion in canine models with old cerebral infarction. *J ThoracCardiovasc Surg*. 2004; 128(3):378-85.
- Oung, C.M., English, M.. Effects of hypothermia on hemodynamic responses to dopamine and dobutamine. *The Journals of Trauma* 1993; 33, 671-7.
- Ouyang DW, Salerno CT, Pederson TS, Bolman RM, Bianco RW. Long-term evaluation of orthotopically implanted stentlessbioprosthetic aortic valves in juvenile sheep. *J Invest Surg* 1998; 11: 175-83.
- Pennock J, Pierce W. The management of the lungs during cardiopulmonay bypass. *Surg Gynecol Obstet* 1977; 145:917-927.
- Pierce, E.C., et al: A Simplifield Approach to Obtairing and Recording Acid-Base Information in Surgical Patients. *Ann. Surg*. 1961, 156: 138-146.

- Pokela M, Dahlbacka S, Biancari F, Vainionpää V et al. pH-Stat versus alpha-stat perfusion strategy during experimental hypothermic circulatory arrest: a microdialysis study. *Ann Thorac Surg*. 2003;76:1215-26.
- Portela, F., Español, R. Ultrafiltración combinada perioperatoria en cirugía cardíaca pediátrica. Resultados preliminares. *Revista Española de Cardiología* 1990, 52, 1.075-82.
- Priestley MA, Golden JA, O'Hara IB, et al. Comparison of neurologic outcome after deep hypothermic arrest with alpha-stat and pH-stat cardiopulmonarybypass in newborn pigs. *J ThoracCardiovasc Surg*. 2001; 121:336–343.
- Quiroga MM, Miyagishima R, Haendschen LC, Glovsky M, Martin BA, Hogg JC. The effect of body temperature on leukocyte kinetics during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1985; 90:91–6.
- Race,D, Dedichen, H., Schenk, W.G. Regional blood flow during dextran-induced normovolemic hemodilution in the dog. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg* 1967;53, 578-58.
- Razzeca KJ, Olsen BD, Jarvik RK, Kolff WJ. Obstacles with sheep as the animal model in total artificial heart replacement. *Artif Organs* 1979;(Suppl):337-42.
- Revuelta JM, Cagigas JC, Bernal JM, Val F, Rabasa JM, Lequerica MA. Partial replacement of mitral valve by homograft: an experimental study. *J ThoracCardiovascSurg*.. 1992;104:1274–1279.
- Romsi P, Rönkä E, Kiviluoma K, Vainionpää V, Hirvonen J, Mennander A, Pokela M, Biancari F, Rimpiläinen J, Juvonen T. Potential neuroprotective benefits of erythropoietin during experimental hypothermic circulatory arrest. *JThoracCardiovasc Surg*. 2002 Oct;124(4):714-23.
- Rousei R. Tricuspid Valve Replacement Using Right Heart Bypass Without Cardiac and Pulmonary Ischemia. *Tzu Chi Medical Journal* 2008;20: 318-321.
- Rozycki HJ, Sysyn GD. Mainstream end tidal carbon dioxide monitoring in the neonatal intensive care unit. *Pediatrics* 1998;101 (4):648-652.

Saito A, Shiono M, Sezai Y. Effects of left ventricular assist device on cardiac function: experimental study of relationship between pump flow and left ventricular diastolic function. *Artificial Organs* 2001; 25 (9):728-732.

Sakamoto T, Kurosawa H, Shin'oka T et al. The influence of pH strategy on cerebral and collateral circulation during hypothermic cardiopulmonary bypass in cyanotic patients with heart disease: Results of a randomized trial and real-time monitoring. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004; 127: 12-9.

Salerno CT, Pederson TS, Ouyang DW, Bolman RM, Bianco RW. Chronic evaluation of orthotopically implanted bileaflet mechanical aortic valves in adult domestic sheep. *J Invest Surg* 1998; 11: 341-7.

Sánchez Ledesma MJ, García March G, Gonçalves J and Broseta J. Effect of high cervical spinal cord electric stimulation on cerebral blood flow in experimental vasospasm. *Atereotacunct Neurosurg* 1994;62:113.

Santamore WP, Lynch PR, Meier G, Heckman J, Bove AA: Myocardial interaction between the ventricles. *J Appl Physiol* 1976; 41: 362.

Santos P C, Gerola L R, Pessa C J N, Branco J N R, Casagrande I, Buffolo E - Implante de tubo valvuladobioprótese "stentless" em posição aórtica: estudo experimental em ovinos. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2002; 17(1): 90-8.

Schubert S, Stoltenburg-Didinger G, Wehsack A, Troitzsch D, Boettcher W, Huebler M, Redlin M, Kanaan M, Meissler M, Lange PE, Abdul-Khaliq H. Large-dose pretreatment with methylprednisolone fails to attenuate neuronal injury after deep hypothermic circulatory arrest in a neonatal piglet model. *Anesth Analg.* 2005 Nov; 101(5):1311-8.

Seeley EJ, McAuley DF, Eisner M, Miletin M, Matthay MA, Kallet RH. Predictors of mortality in acute lung injury during the era of lung-protective ventilation. *Thorax.* 2008 Jun 19.

Seghaye MC, Duchateau J, Grabitz RG, Faymonville ML, Messmer BJ, Buro-Rathsmann K, von Bermuth G. Complement activation during cardiopulmonary bypass in infants and children:

relation to postoperative multiple system organ failure. *J ThoracCardiovasc Surg*. 1993;106:978-987.

Shaaban-Ali M, Harmer M, Vaughan RS et al. Changes in cerebral oxygenation during cold and warm cardiopulmonary bypass using different blood gas strategies in patients undergoing coronary artery bypass grafting surgery. *ActaAnesth Scand*. 2004; 48(7): 837-44.

Shah PS, Ohlsson A, Perlman M: Hypothermia to treat neonatal hypoxic ischemic encephalopathy. *ArchPediatrAdolesc Med* 2007; 161:951–958.

Shahzad GR, Berg FR. Impact of Off-Pump coronary artery bypass surgery on systemic inflammation: current best available evidence. *J Card Surg* 2007;22:445-455.

Shankaran S, Laptook AR, Ehrenkranz RA, et al: Whole-body hypothermia for neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. *N Engl J Med* 2005; 353:1574–1584.

Shum-Tim D, Tchervenkov CI, Jamal AM, Nimeh T, Luo CY, Chedrawy E, Laliberte E, Philip A, Rose CP, Lavoie J. Systemic steroid pretreatment improves cerebral protection after circulatory arrest. *Ann Thorac Surg*. 2001 Nov;72(5):1465-71; discussion 1471-2.

Silva AM, Dallan LA, Campagnucci VP, Caruso J, Gandra SA, Rivetti LA. Abordagem da valva do tronco pulmonar por desvio direito e uso de cânula bicaval: estudo experimental. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2007; 22(4): 463-469.

Sladen R, Berkowitz DE. Cardiopulmonary bypass and the lung. *Cardiopulmonary bypass*. Williams and Wilkins. 1993; 468-484.

Souza MH, Elias DO. Fundamentos da Circulação Extracorpórea. SEGUNDA EDIÇÃO 2006 Centro Editorial Alfa Rio. Rio de Janeiro/RJ – Brasil.

Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature*. 1990;346:425-434.

Stafford-Smith M, Grocott HP. Renal medullary hypoxia during experimental cardiopulmonary bypass: a pilot study. *Perfusion* 2005;20:53–8

Sumimoto T, Takayama Y, Iwasaka T, Sugiura T, Takeuchi M, Hasegawa T, Tarumi N, Takashima H, Nakamura S, Taniguchi H, et al. Mixed venous oxygen saturation as a guide to tissue oxygenation and prognosis in patients with acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1991; 122:27-33

Swan H, Kortz AB. Direct vision trans-aortic approach to the aortic valve during hypothermia. Experimental observations and report of successful clinical case. *Ann Surg* 1956;144:205-14.

Swan H, Zeavin I, Blount SG Jr, Virtue RW. Surgery by direct vision in the open heart during hypothermia. *JAMA* 1953; 153: 1081-5.

Swan H, Zeavin I. Cessation of circulation in general hypothermia.. Techniques of cardiac surgery under direct vision.*Ann Surg* 1954;139:385.

Swan H. Repair of atrial septal defects in man under vision with the aid of hypothermia. *Surgery* 1954; 36:538-56.

Swan, H. The importance of acid-base management for cardiac and cerebral reservation during open heart operations. *Surgery, Gynecology and Obstetrics* 1984, 102; 76-83.

Tacker WA, Babbs CF, Abendschein DR, Geddes LA. Transchest defibrillation under conditions of hypothermia. *Crit Care Med.* 1981;9:390–391.

Taggart DP, El-Fiky M, Carter R, Bowman A, Wheatley DJ. Respiratory dysfunction after uncomplicated cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1993;56:1123-1128.

Tatton NA, Hagl C, Nandor S, Insolia S, Griep RB. Apoptotic cell death in the hippocampus due to prolonged hypothermic circulatory arrest: comparison of cyclosporine A and cycloheximide on neuron survival. *Eur J CardiothoracSurg* 2001 Jun;19(6):746-55.

Tatu J, Fausto B, Jussi R, Vesa A, Kai K. Determinants of mortality after hypothermic circulatory arrest in a chronic porcine model *EuropeanJournal of Cardio-thoracic Surgery* 2001;20: 803–810.

- Trachsel D, McCrindle BW, Nakagawa S, et al. Oxygenation index predicts outcome in children with acute hypoxemic respiratory failure. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;172:206–211
- Trantina-Yates A, Weissenstein C, Human P, Zilla P. Stentless bioprosthetic heart valve research: sheep versus primate model. *Ann Thorac Surg* 2001; 71(suppl): 422-7.
- Ujhelyi MR, Sims JJ, Dubin SA, Vender J, Miller AW. Defibrillation energy requirements and electrical heterogeneity during total body hypothermia. *Crit Care Med.* 2001;29:1006 –1011
- Underwood MJ, Pearson JA, Waggoner J, et al. Changes in ‘inflammatory’ mediators and total body water during extra-corporeal membrane oxygenation (ECMO). A preliminary study. *Int J Artif Organs* 1995;18:627–632.
- Utley JR, Wachtel C, Cain RB, Spaw EA, Collins JC, Stephens DB. Effects of hypothermia, hemodilution and pump oxygenation on organ water content, blood flow and oxygen delivery, and renal function. *Ann Thorac Surg* 1981;31:121-133.
- Van Alem AP, Post J, Koster RW. VF recurrence: characteristics and patient outcome in out-of-hospital cardiac arrest. *Resuscitation* 2003;59: 181–188.
- Vedder NB, Harlan M. Increased surface expression of CD11b/CD18 (Mac-1) is not required for stimulated neutrophil adherence to cultured endothelium. *J Clin Invest.* 1988;81:676-682.
- Vetter HO, Dagge A, Liao K, Erhorn A, Chryssagis K, Strenkert C, Reichart B. Mitral allograft with chordal support: echocardiographic evaluation in sheep. *J Heart Valve Dis* 1995;4:35–39.
- Von Andrian UH, Chambers JD, McEvoy LM, Bargatze RF, Arfors KE, Butcher EC. Two-step model of leukocyte-endothelial cell interaction in inflammation: distinct roles for LECAM-1 and the leukocyte $\beta 2$ integrins in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88:7538-7542.
- Walker LK, Short BL, Travstman RK. Impaired cerebral the in newborn lamb during recovery from severe, prolonged hypoxia, combined with carotid artery and jugular vein ligation. *Crit Care Med* 1996 Dec;24(12)1945-6. *Crit Care Med* 1994 Aug; 22(8):1209-10.

Walker LK, Short BL, Travstman RK. Impairment of cerebral autoregulation during extracorporeal oxygenation in newborn lambs. *Pediatr Res* 1993 Mar;33(3):289-94.

Walker LK, Short BL, Travstman RK. Impairment of cerebral autoregulation during venous extracorporeal oxygenation in newborn lambs. *Crit Care Med* 1996 Dec;24(12):1945-6.

Wayabayashi A, Connolly E, Nakamura Y. Controlled Venous-arterial Bypass Without Oxygenation in the treatment of Cardiogenic Shock. *Trans. Am Soc. Artif. Organs* 1973;19:51-5.

Wayabayashi A, Connolly E, Stemmer E, Nakamura Y. Clinical experience with heparinless venoarterial bypass without oxygenation for the treatment of acute cardiogenic shock. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 1974; 68-5: 687-695.

Weber KT, Janicki JS, Shroff S, Fishman AP: Contractile mechanics and interaction of the right and left ventricle. *Am J Cardiol* 1981; 47:686-93.

Weigner MB, Brimm JE. End tidal carbon dioxide as a measure of arterial carbon dioxide as a measure of arterial carbon dioxide during intermittent mandatory ventilation. *J Clin Monit* 1987;3:73-79.

West JB. *Fisiología respiratoria*. Sexta ed. Panamericana 2003. Capítulo 6.

White, R.N., Boswood, A., et al. Surgical management of subvalvular aortic stenosis and mitral dysplasia in a golden retriever. *Journal of Small Animal Practice* 1997; 38, 251-55.

White, R.N., Stepien, R.L., et al. Mitral valve replacement for the treatment of congenital mitral dysplasia in a bull terrier. *Journal of Small Animal Practice* 1995; 36, 407-410.

Williams JA, Barreiro CJ, Nwakanma LU, Lange MS, Kratz LE, Blue ME, Berrong J, Patel ND, Gott VL, Troncoso JC, Johnston MV, Baumgartner WA. Valproic acid prevents brain injury in a canine model of hypothermic circulatory arrest: a promising new approach to neuroprotection during cardiac surgery. *Ann Thorac Surg*. 2006 Jun;81(6):2235-41; discussion 2241-2.

Williams, W., Rebeyka, I. Warm induction blood cardioplegia in the infant: a technique to avoid rapid cooling myocardial contracture. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 1990; 100, 869-95.

Yamane Y, Akiyama M, Tanaka Y, Maruo K. Surgical correction of cor triatriatum dexter in a dog under extracorporeal circulation. *Journal of Small Animal Practice* 2003,44, 370–373

Yang Y, Cai J, Wang S, Zhang H, Liu J, Xu Z, Su Z. Better protection of pulmonary surfactant integrity with deep hypothermia and circulatory arrest. *Ann Thorac Surg.* 2006 Jul;82(1):131-6; discussion 136-7.

Yang Y, Su Z, Cai J, Wang S, Liu J, Xu Z, Ding W. Continuous pulmonary infusion of L-arginine during deep hypothermia and circulatory arrest improves pulmonary surfactant integrity in piglets. *Ann Thorac Surg.* 2008 Aug;86(2):429-35; discussion 435

Zapater P (1992). Isquemia cerebral global experimental. En: Matías-Guiu J, Martínez-Vila E, Martí-Vilalta JL (ed). *Isquemia cerebral global*. Ed. JR Proust. Barcelona.

PUBLICACIONES PARCIALES DEL TRABAJO DE TESIS

Score Glasgow en ovinos sometidos a bypass venoarterial periférico. Revista Argentina de Cirujanos Cardiovasculares. ISSN 1669-7723 Vol. 4. N3/ Septiembre 2006; Pág 122-128

Cirugía cardiaca con circulación extracorpórea en Medicina Veterinaria en la Argentina. Un horizonte cercano. Resúmenes XVI Congreso de Cirujanos Cardiovasculares. Buenos Aires 2007. 1ra Edición. Buenos Aires. Graphos Editorial Científica., 2007. ISBN 978-987-22324-3-6- Pág 110.

Dinámica del transporte de oxígeno en ovinos sometidos a hipotermia moderada, oxigenación pulmonar autóloga y arresto circulatorio. Resúmenes XVII Congreso Argentino de Cirujanos Cardiovasculares y Endovasculares. 2008. 2da Edición. Buenos Aires. Graphos Editorial Científica, 2007. ISBN 978-987-22324-4-3. Pág. 34 y 35.

MHCA-AO (arresto circulatorio con hipotermia moderada y oxigenación pulmonar autóloga) Evaluación prospectiva en modelo animal experimental. Primer autor Resúmenes XVII Congreso Argentino de Cirujanos Cardiovasculares y Endovasculares. 2008. 2da Edición. Buenos Aires. Graphos Editorial Científica, 2007. ISBN 978-987-22324-4-3. Pág. 32 y 33.

Arresto circulatorio con hipotermia moderada y oxigenación pulmonar autóloga. Original técnica para el tratamiento quirúrgico de lesiones intracardíacas. Primer autor. Selecciones Veterinarias. Editorial Intermédica. Vol. 17, N ° 2, 2009. Buenos Aires. ISSN 0317-859X. Pág. 67-73.

Arresto circulatorio en hipotermia moderada y oxigenación pulmonar autóloga. Evaluación de la función hemodinámica y respiratoria. Primer autor. Revista Argentina de Cirujanos Cardiovasculares. ISSN 1669-7723. Volumen VIII - N° 2 - Agosto 2010, Pág. 98-106.

Consideraciones quirúrgicas de selección y colocación de cánulas en arteria femoral para circulación extracorpórea. XI Seminario de Cirugía Veterinaria. Universidad de Tandil. Buenos Aires, 10 de noviembre de 2010.