

Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto"

MODELO EXPERIMENTAL DE RATÓN QUEMADO EN INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS

My. Teresita Montero González,¹ Ing. Patricio Moreno Quintana,² Dr. Jorge Berlanga Acosta,³ Tte. Cor. José Hurtado de Mendoza Amat,⁴ Lic. Dania Bacardi Fernández,⁵ Téc. Diosladi Urquiza Noa⁶ y Téc. Justo Hurtado de Mendoza Amat⁷

RESUMEN

La enfermedad por quemaduras permite líneas de investigaciones relacionadas con el síndrome de inflamación sistémica generalizada y el síndrome de disfunción múltiple de órganos. Con el propósito de desarrollar un modelo experimental de quemadura factible de emplear en investigaciones biomédicas, se utilizaron ratones Balb/c, hembras de 20 ± 2 g, se elaboró una malla metálica con calado de 0,5 cm para las cajas, se depilaron con métodos combinados y se empleó ketamina (100 mg/kg) 5´ antes de la quemadura. La quemadura seca total se logró con el empleo de 2 dispositivos elaborados para lograr entre el 11 y 22 % de superficie corporal quemada (SCQ), paravertebral, adaptados para acoplar a una estación de soldadura con control automático de la temperatura. Se aplicaron diferentes tiempos de quemadura. Se observó la evolución de los animales y se empleó la prueba t para comparar los valores de porcentaje entre los grupos. El 11 % de SCQ paravertebral inferior fue el más adecuado y variando el tiempo se puede obtener la mortalidad o supervivencia deseada. La malla de suspensión metálica elaborada fue eficiente para la evolución del depilado, la quemadura y la observación del animal. El empleo del equipo de soldadura con control digital posibilita mantener la temperatura fija todo el experimento y se adapta a diferentes propósitos, entre ellos, se pueden realizar estudios sobre pronósticos de quemadura. El modelo de quemadura seca elaborado sirve como modelo biológico para el estudio de los procesos relacionados con la enfermedad por quemaduras.

DeCS: QUEMADURAS; MODELOS BIOLÓGICOS; RATONES CONSANGUÍNEOS BALB C; INVESTIGACION.

¹ Especialista de II Grado en Anatomía Patológica. Profesora Asistente. Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto".

² Ingeniero Mecánico. Investigador Auxiliar. Centro de Investigaciones de Tanque y Transporte.

³ Doctor en Ciencias Veterinarias. Investigador Titular. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología.

⁴ Doctor en Ciencias Médicas. Especialista de II Grado en Anatomía Patológica. Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto".

⁵ Licenciada en Farmacología. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología.

⁶ Técnica Veterinaria. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología.

⁷ Técnico en Anatomía Patológica. Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto".

Los modelos de experimentación brindan experiencias aplicables a cualquier tema; la experimentación, junto a la observación y la medición contribuyen al conocimiento empírico. Según *Hurtado de Mendoza*,¹ desde el siglo XIX el científico francés *Claude Bernard* planteó que una de las ventajas de los métodos experimentales es que permite la fijación y control de variables y determina a voluntad la extensión del trabajo a realizar.

Las quemaduras y el trauma estimulan la inflamación sistémica, la deficiencia en la función de los polimorfonucleares neutrófilos y la disminución de la acción del sistema monocítico fagocitario,^{2,3} lo cual ha motivado el empleo de modelos animales experimentales en quemaduras. En investigaciones relacionadas con la sepsis y la translocación bacteriana,⁴⁻⁶ el síndrome de inflamación sistémica generalizada y el síndrome de disfunción múltiple de órganos (SDMO),⁷ alteraciones inmunológicas,⁸⁻¹⁰ el *shock*, el trauma,^{2,3,8} es frecuente el empleo de modelos de ratón quemado.

En el estudio particular de la función de los mediadores de la respuesta inflamatoria se emplean con frecuencia modelos de ratones quemados como en estudios de la síntesis de prostaglandinas,^{11,12} el papel de la citoquinas,^{2,8,13} la acción de la especies reactivas del oxígeno,^{3,6} la función de las células linfoides B¹⁴ y efectos de diferentes agentes terapéuticos como la pentoxifilina¹⁰ e inmunomoduladores.³

A punto de partida de tan importante tema surge la inquietud de cómo realizar trabajos experimentales multipropósito con empleo de las quemaduras. Se elaboró este trabajo con el propósito de desarrollar, sobre la base de un modelo de quemadura seca previamente establecido, un modelo factible de emplear en múltiples investigaciones con una mortalidad superior al 75 %.

MÉTODOS

Se elaboró una malla metálica con calado de 0,5 cm para la suspensión del animal en las cajas con el propósito de evitar el contacto con orina y heces fecales. Para provocar la quemadura seca se utilizó el método siguiente:

- Se elaboraron 2 dispositivos de bronce para cauterización de 3 x 2 cm y 2,2 x 1,2 cm cada placa, los que cubrían un área de 22 a 11 % respectivamente de la superficie corporal total del animal. Las placas estaban separadas por un aditamento en forma de "Y" de manera que al colocarse estas sobre el dorso del animal la columna vertebral quedara fuera del área de quemadura.
- Estas placas preparadas para transmitir calor al animal, se acoplaron por un tubo de 2 cm de largo x 0,5 cm de diámetro, perforado en el centro de manera que se acoplaba a las placas por un tornillo ubicado en la parte central de la "Y", y al dispositivo de soldadura empleado introduciéndolo en el sitio donde va colocada la punta de soldadura.
- Se empleó una estación de soldadura de control automático de la temperatura de la firma Weller, modelo 2002 capaz de suministrar una potencia de 50 W, para mantener la temperatura durante todo el proceso de cauterización, un termómetro de termopar tipo K, de la firma Omega Thermocouple (Alumel-Cromel) y un indicador digital Omega Digicator.¹⁵
- Una vez elaboradas las placas para transmitir el calor y provocar la quemadura seca y el aditamento que las une al equipo de soldadura automática empleado como fuente de calor, se les realizó un estudio de factibilidad a las placas para conocer la temperatura en estas al colocarlas

sobre el animal. Se consideraron las pérdidas por transferencia térmica y disipación del calor. Una vez controladas la temperatura y humedad relativa ambiental, se colocó el regulador de la temperatura a 300 °C, visualizadas en su indicador y se midió la temperatura en 5 puntos independientes en cada placa de cauterización empleada, en sentido horario y realizando 3 mediciones sucesivas; a los 15 min se repitió la experiencia y se obtuvo el mapa de distribución del calor en las placas, con una temperatura entre 103,8 y 106,2 °C y una dispersión entre 3,36 y 3,70.

Se realizó un estudio prospectivo, longitudinal y experimental tipo I sobre la base de un modelo experimental de ratón quemado previamente elaborado.^{1,16} Los animales de experimentación procedían del Centro Nacional para la Producción de Animales de Experimentación (CENPALAB) y para realizar el trabajo se tomaron en consideración los procedimientos éticos descritos en el *Guide for Care and Use of Laboratory Animals*,¹⁷ *United States National Research Council* y el *Código sobre la ética profesional de los trabajadores de la Ciencias* editado por la Academia de Ciencias de Cuba¹⁸ y basado en las "Normas internacionales para las investigaciones biomédicas con animales" editado por el Consejo de la Organización Internacional de Ciencias Médicas, asimismo fue realizado bajo los principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio.¹⁹

Muestra y grupos de animales empleados. Se estudiaron 70 ratones clasificados en los grupos siguientes:

1. Modalidad 22 % superficie corporal quemada (SCQ) con empleo de placa de bronce de 3x2 cm (n= 30) subdivididos en grupos (n= 10) a los que se aplicó diferentes tiempos de quemadura (10, 14 y 18").
2. Modalidad 11 % SCQ con empleo de placa de bronce de 2,2 x 1,2 cm (n= 20) subdivididos en grupos (n= 10) a los que se aplicó diferentes tiempos de quemadura (25 y 32").
3. Modalidad 11 % SCQ con empleo de placa de bronce de 2,2 x 1,2 cm, 2 grupos (n= 20) con tiempo de quemadura de 20".

Características del animal experimental:

- Especie; *Mus musculus*.
- Línea: Balb/c.
- Sexo: femenino.
- Peso: 20± 2 g.
- Edad: 12 semanas,

Ubicación e identificación. Se ubicaron 2 animales por caja de makrolón tipo T⁴ y fue identificado uno de ellos con tinta púrpura entre las orejas. Se colocaron los ratones en las cajas después de la depilación. Cada caja se identificó con una tarjeta que contenía los datos siguientes: título del estudio, grupo/tratamiento, cantidad de animales, especie, línea, sexo, peso y edad.

Cálculo de superficie corporal total (SCT). Se empleó la fórmula:

$$S = k \times w^{2/3}$$

S = superficie corporal total

K = constante 6,5

W = peso corporal¹

donde:

La superficie corporal total fue de 48 cm².

Los animales se depilaron por métodos combinados (máquina eléctrica y depilador químico) elaborado en la empresa Suchel-Camacho SA. Se empleó ketamina (100 mg/kg) como anestésico 5´ antes de la quemadura. La temperatura fija fue

de 100 °C en la placa sobre el animal y el tiempo de exposición variable según el objetivo trazado, entre 10 y 32". La localización de la quemadura en la región dorsal paravertebral y el porcentaje de la superficie corporal total (SCQ) variable según el objetivo entre 11 y 22 %. La profundidad de la quemadura fue total (piel hasta músculo).

Los animales tuvieron alimentación y agua *ad libitum* y las condiciones de vida con ciclo de iluminación de 12 x 12 h; temperatura de 20 °C ± 2; humedad relativa de 55 a 65 %. Se ubicaron en un bloque de contención con ambiente controlado del Bioterio del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Los animales fueron aclimatados durante 7 d antes de comenzar el experimento.

El control de la evolución de los animales se realizó 2 veces al día (cada 12 h) y el método de estudio empleado fue la observación de la supervivencia y mortalidad del animal.

La variable principal estudiada fue la mortalidad y las fijas fueron: la especie y línea, el sexo, el peso, la edad, la depilación, la anestesia, el tipo de quemadura, la SCQ, la localización, la temperatura y el tiempo.

Análisis estadístico. Para comparar los valores de porcentaje entre los 2 grupos de animales con diferente SCQ se utilizó la prueba de comparación de 2 porcentajes t de Students.²⁰

RESULTADOS

El ratón Balb/c con un peso de aproximadamente 20 ± 2 g y 12 semanas de vida del sexo femenino resultó adecuado para los

estudios realizados, la depilación combinada (mecánica y química) fue efectiva y la anestesia con ketamina permitió la rápida recuperación del animal. El resultado obtenido con la colocación del animal en cajas con malla de suspensión metálica fue satisfactorio para la evolución posterior de la quemadura.

El equipo adaptado para la quemadura se ajustó para cada estudio según los propósitos al poder modificarse el área, temperatura y tiempo, y la temperatura se mantuvo estable durante todo el experimento (fig. 1). La localización de la agresión en la región paravertebral inferior fue adecuada y la profundidad total permitió la evolución deseada, sin provocar daño en la columna vertebral lo cual facilitó el desplazamiento de los animales que sobrevivieron (fig. 2).

La SCQ de 22 % empleada provocó una mortalidad del 100 % de los animales antes de los 7 d. Esta superficie lesiona la región de la cadera y muslo del animal, lo cual imposibilita su desplazamiento (tabla). Se observó que a medida que el tiempo de exposición aumentaba (de 10 a 18), disminuía la sobrevivencia de los animales de manera que a los 18" fallecieron todos los ratones antes de las 48 h.

Cuando se redujo SCQ a 11 %, se observó una reducción en la mortalidad que al analizar el conjunto mostró un valor significativo ($t_s = 3,57^{***}$ [*** $p < 0,001$]). Sin embargo, en el estudio macroscópico se observó en los tiempos entre 25 y 32", quemadura en órganos internos (riñón, hígado y bazo). La temperatura y el tiempo de 100 °C y 20" respectivamente fueron óptimos para los objetivos propuestos.

La mortalidad seleccionada para la investigación (mayor del 75 %) corresponde con la quemadura de pronóstico entre crítico y crítico extremo.



FIG. 1. Equipo de soldadura automática digital acoplado a dispositivo con 2 placas para transmitir calor.



FIG. 2. Quemadura seca en región paravertebral con el empleo el equipo de la figura 1.

TABLA. Experimentos para estandarizar la mortalidad por quemadura seca superior al 75 % según SCQ y tiempo de exposición. Sobrevida de los animales (%)

SCQ %	No. de Animales	Mortalidad (%)	Tiempo de quemadura	24 h	48 h	72 h	7 d
22	10	100	10"	80	40	20	0
22	10	100	14"	40	20	0	
22	10	100	18"	60	0		
11	10	80	25"	80	70	40	20
11	10	80	32"	80	80	50	20
11	10	90	20"	70	40	10	10
11	10	80	20"	70	60	30	20

$t_s = 3,57$ ***, $p < 0,001$.

DISCUSIÓN

Los ratones están entre los animales de experimentación más empleados. La similitud de su aparato inmunológico con el humano lo hace factible para estudiar procesos biológicos en él y traspolarlos al hombre.²¹ En la literatura se plantea que los grupos de edades más afectados por el SDMO y los factores causales oscilan entre la adolescencia y los adultos antes de la tercera edad.²²⁻²⁵ En particular, los trabajos de DMO relacionados con la muerte violenta, enfermedades por quemaduras y en choque^{7,26} se corresponden con estos grupos por la frecuencia de los accidentes en estas edades. Por estas razones se valoró que el ratón seleccionado era recomendable para estudiar los procesos biológicos frecuentes en estas edades. El sexo como variable fija impide que el factor hormonal provoque resultados diferentes entre los grupos.²⁷ *Angele* y otros²⁷ demuestran en estudios experimentales que la disminución de la testosterona en varones o el aumento de las hormonas sexuales en las hembras es responsable de mantener una mejor respuesta inmunológica postrauma. En los modelos experimentales de quemadura encontramos el empleo de animales del sexo femenino por varios autores.^{4,10,28,29}

La colocación del animal (1 ó 2) en la caja con la rejilla metálica especialmente elaborada favoreció que no se presentara infección en las excoriaciones pequeñas que se pueden producir con la depilación. Además, la rejilla metálica permite:

- Observar la cantidad de orina excretada y verificar la presencia de hematuria o no.
- Observar las heces fecales del animal (si es sólida o líquida, con sangre o sin ella).
- Conocer cuando comienza a alimentarse con los restos de alimentos en el fondo de la caja.

El empleo del equipo de soldadura con control digital adaptado para quemadura seca posibilita una temperatura fija, con poca disipación de calor desde el inicio hasta el final del experimento, previo control de la temperatura ambiental por lo cual debe realizarse la experiencia en el mismo local.

En las quemaduras la profundidad, la extensión superficial y el tiempo de exposición son fundamentales.³⁰ La ecuación de admisión energética de los cuerpos³¹ a partir de que existe una fuente de calor cercana a un cuerpo más frío es la siguiente:

$$Q = \frac{Ak(T_f - T_i)e^{-\frac{x^2}{4ai}}}{\dot{C}_{pai}}$$

donde:

Q = energía térmica que recibe un cuerpo;
A = área de transferencia; k = conductividad térmica (un valor aproximado al agua);
T_f = temperatura del cuerpo frío; T_i = temperatura del cuerpo caliente; e = 2,7.
1 número de koler; a = difusividad térmica; x = penetración de la quemadura en el cuerpo; i = tiempo de exposición a la quemadura.

Existe una relación proporcional entre el área de exposición y la temperatura que se absorbe. Ambas son inversamente proporcional al tiempo de exposición. Pequeñas variaciones entre estos parámetros pueden provocar reacciones adversas en el organismo.³¹ Cuando los efectos de la lesión térmica sobrepasan los límites de respuesta fisiológica del organismo y desencadenan una respuesta sistémica, se convierte de un efecto local a una “enfermedad por quemaduras”.³²

Se observa que al variar uno sólo (área, temperatura o tiempo), se pueden mantener estables los otros parámetros sin afec-

tar la energía que recibe el cuerpo.³¹ Con la variación del tiempo se puede ajustar el modelo de manera que se obtenga la mortalidad deseada en cada experiencia.

En 2 trabajos realizados con este modelo en busca de menor mortalidad, se redujo el tiempo a 10". En uno se analizó el efecto de la *Pseudomonas aeruginosa* para vacuna realizado en ratones de la línea Balb/c de 20 g con una mortalidad menor del 20 % (trabajo presentado en el XII Forum de Ciencia y Técnica, Instituto Investigaciones "Carlos J. Finlay", 1999). En el otro se observó los efectos de la homeopatía en ratones quemados de la línea IBF de 30 g sin mortalidad (trabajo presentado en el XII Forum de Ciencia y Técnica, ISMM "Dr. Luis Díaz Soto", 1999), en el que se obtuvieron los resultados esperados.

Según los datos alcanzados en el trabajo de quemadura seca que sirvió de base a este modelo,^{1,16} los ratones albinos con una extensión de la quemadura menor de 11 %, sobrevivieron todos. Con una SCQ de 11 %, la letalidad fue de 22,5 %, para el 22 % fue del 71,7 % y para el 33 del 100 %. Estos resultados se relacionaron con la clasificación de pronóstico de quemaduras de Cuba,³³ valorando la quemadura realizada en el modelo como profunda. El 11 % se correspondería con el pronóstico de muy grave, el 22 % al crítico y el 33 % al crítico extremo con 100 % de letalidad.

En la actual experiencia realizada con ratones Balb/c, existió variación en la mortalidad,. Con el 22 % de SCQ la mortalidad fue del 100 % en tiempos desde 10 has-

ta 18", mientras que con el 11 % de SCQ se alcanzó la mortalidad por encima del 80 % con tiempos de exposición entre 20, 32". Este promedio de mortalidad ubica el modelo empleado entre los pronósticos de crítico a crítico extremo. Con estos datos se pueden valorar modelos de quemaduras para los pronósticos que se deseen estudiar, aplicando incluso medidas terapéuticas.

Si la quemadura se realiza sobre la región torácica, el parénquima pulmonar se afecta por la lesión sobre el órgano. Si se realiza sobre el abdomen se lesionan los órganos abdominales y se acelera la translocación bacteriana propia de estos modelos. Al aplicarla sobre la zona dorso paravertebral baja, los riñones están protegidos por la disposición muscular de la región; pero, por encima de los 25" se provoca quemadura del órgano. Esta localización no afecta la columna vertebral, lo cual es vital para la alimentación de los ratones.

Se propone emplear ratones Balb/c de 12 semanas, 20 ± 2 g de un mismo sexo, ubicados en cajas con rejilla metálica de suspensión, con depilación combinada y anestesiados para aplicar quemadura seca profunda con dispositivo adaptado de soldadura automático en una SCQ 11 % y temperatura de 100 °C durante el tiempo seleccionado acorde con los propósitos de cada investigación.

El modelo de quemadura seca empleado sirve como modelo biológico para el estudio de los procesos relacionados con la enfermedad por quemaduras.

SUMMARY

The disease caused by burns allow to follow research lines related to the syndrome of generalized systemic inflammation and to the syndrome of multiple organ dysfunction. In order to develop an experimental burn model that may be used in biomedical research, Balb/c female mice of 20 ± 2 g were used, a metal mesh with an openwork of 0.5 cm was made for the boxes, and ketamine (100 mg/kg) was administered 5 days before the burn. The total dry burn was attained by using 2 devices adapted to be coupled with a welding station with automatic

temperature control to have between 11 and 22 % of burned body surface (paravertebral). Different burn times were applied. The evolution of the animals was observed and the t test was used to compare the percentage values among the groups. 11 % of the inferior paravertebral BBS was the most adequate. It was also demonstrated that the desired mortality or survival may be obtained by varying the time. The metal suspension mesh proved to be efficient for the evolution of the depilation, the burn and the observation of the animal. The utilization of the welding equipment with digital control allows to maintain a fixed temperature during the whole experiment and it has multiple purposes, such as to conduct studies on burn prognoses. The dry burn model serves as a biological model to study the process connected with the disease due to burns.

Subject headings: BURNS; MODELS, BIOLOGICAL; MICE, INBRED BALBC; RESERCH

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hurtado de Mendoza JA, Zorrilla, JFL. Elaboración de un modelo experimental de quemaduras. I) Experiencias preliminares. *Rev Cubana Med Milit* 1982;1(2):79-89.
2. Kowal-Vern A, Sharp-Pucci MM, Walenga JM, Dries DJ, Gamelli RL. Trauma and thermal injury: comparison of hemostatic and cytokine changes in the acute phase of injury. *J Trauma* 1998;44(2):325-9.
3. Roch-Arveiller, Fontagne J, Abbouyi A, Raichvarg D, Giroud JP. Effect of an immunomodulating agent, RU 41740, on polymorphonuclear responsiveness after burn injury. *Inflammation* 1991;15(6):437-41.
4. Gennari R, Alexander JW, Pyles T, Hartmann S, Ogle CK. Effects of antimurine interleukin-6 on bacterial translocation during gut derived sepsis. *Arch Surg* 1994;129(11):1191-7.
5. Zapata RT, Hansbrongh JF, Ohara MM, Rice AM, Nylan WL. Bacterial translocation in burned mice after administration of various diets including feber and glutamic-enriched entered formulas. *Crit Care Med* 1994;22(4):690-6.
6. Nakanishi T, Nishi Y, Sato EF, Ishii M, Hamada T, Inove M. Thermal injury induces thymocyte apoptosis in the rat. *J Trauma* 1998;44(1):143-8.
7. Hurtado de Mendoza JE, Montero T, Wálwin V, Álvarez R. Daño multiorgánico en autopsias realizadas en Cuba en 1994. *Rev Cubana Med Mil* 1997;26:19-26.
8. Osullivan ST, Lederer JA, Horgan AF, Chin DH, Mannick JA, Rodrick ML. Major injury leads to predominance of the T helper-2 lymphocyte phenotype and diminished interleukin-12 production associated with decreased resistance to infection. *Ann Surg* 1995;222(4):482-90.
9. Tabata T, Meyer AA. Effects of burns injury on class-specific B-cell population and immunoglobulin synthesis in mice. *J Trauma* 1993;35(5):750-5.
10. Holzheimmer RG, Molloy RG, O'Reordain DS, Mendez MV, Curley P, Collinc K, et al. Long term immunotherapeutic intervention with pentoxifylline in a mouse model of thermal injury and infection. *J Trauma* 1995;38(5):757-62.
11. Hahn E, He L, Gamelli R. Burn injury with infection alters prostaglandin E₂ synthesis and metabolism. XI Annual Scientific Session Eastern Association for the Surgery of Trauma, January 11-16 1999, Orlando, Florida in. *J Trauma* 1998;45(6):1110.
12. Hahn L, Clancy KD, Tai HH, Ricken JD, He LK, Gamelli RL. Prostaglandin E₂ alteration during sepsis is partially mediated by endotoxin-induced inhibition of prostaglandin 15-hydroxydehydrogenase. *J Trauma* 1998;44(5):777-80.
13. Kawakami M, Terai Ch, Okada Y. Changes of the interleukin-6 levels in skin at different sites after thermal injury. *J Trauma* 1998;44(6):1056-63.
14. Tabata T, Meyer AA. Effects of burn injury on class-specific B-cell population and immunoglobulin synthesis in mice. *J Trauma* 1993;35(5):750-5.
15. Operatin Intruction Cooper/cooptools. WELLER: Termotronic Soldering station EC 2002. Antistatic 1996:4.
16. Hurtado de Mendoza JA, Rodríguez MD, Cubero OM. Elaboración de un modelo experimental de quemaduras. II) Estudio del sexo, edad, peso, tiempo de exposición y supervivencia. *Rev Cubana Med Milit* 1983;2(1):56-71.
17. Guide to the care and use of experimental animals. 2 ed. Canadian Council on Animal Care: 1996:27.
18. Código sobre la ética profesional de los trabajadores de las ciencias. Universidad de La Habana, La Habana, 1999;pp:7.

19. Código de ética del uso de animales de laboratorio del CIGB. La Habana, 1995:2.
20. Sigarrosa A. Biometría y diseño experimental. La Habana: Pueblo y Educación;1985:743.
21. Basel Institute for Immunology Annual Report 1996. Basel: Edited by Ed. Palmer and Kate Levine; 1996:17.
22. Jorda R, Abizanda R, Verduras MA, Revuelta P, Chama A, Badal JM. Mortalidad en el fracaso multiorgánico. Med Intensiva 1985;9:220-2.
23. Borzotta AP, Polk HC. Insuficiencia múltiple de órganos. Clin Quir Nort Am 1983;2:311-32.
24. Kass JE, Castriotta RJ, Malakoff F. Intensive care units outcome in the very elderly. Crit Care Med 1992;20(12):1666-71.
25. Tran DD, Groeneveld AB, van der Meulen J, Nauta JJ, Strak van Schijndel RJ, Thijs LG. Age chronic disease, sepsis, organ system failure, and mortality in a medical intensive care unit. Crit Care Med 1990;18(5):474-9.
26. Montero T, Hurtado de Mendoza J, Iglesias MM. Particularidades de fallecidos entre 15 y 49 años. Rev Cubana Med Milit 1999;28(1):9-16.
27. Angele MK, Ayala A, Morfils BA, Cioffi WG, Bland KI, Chaudry IH. Testosterone and/or low estradiol: normally required but harmful immunologically for males after trauma-hemorrhage. J Trauma 1998;44(1):78-85.
28. Goldberg JB, Coyne MJ, Neely AN, Holder IA. Avirulence of a pseudomonas aeruginosa alg C mutant in a burned mouse model of infection. Infect Immun 1995;63(10):4166-9.
29. Kawakakri M, Kaneko N, Anada H, Terai Ck, Okada Y. Measurement of interleukin-6, interleukin-10 and tumor necrosis factor-alpha levels in tissues and plasma after thermal injury in mice. Surgery 1997;121:440-8.
30. del Sol A. Ensayo histórico de las quemaduras en Cuba. La Habana: Ed. Ciencia y Técnica; 1979:18.
31. Pitts DR, Sisson E. Transferencia de calor. Teoría y 296 problemas resueltos. Bogotá: ed. Andes; 1980:435.
32. Kirschbaum MS. Quemaduras y cirugía plástica de sus secuelas. La Habana: Ed. Científico Técnica; 1987:25.
33. Borges HM, García RR. Manual de procedimientos de diagnóstico y tratamiento en caumatología y cirugía plástica. T I. La Habana: Ed. Pueblo y Educación; 1984:55.

Recibido: 20 de abril del 2002. Aprobado: 21 de mayo del 2002.

My. *Teresita Montero González*. Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto". Ave. Monumental, Habana del Este, CP 11700, Ciudad de La Habana, Cuba.