

Polietilenglicol vs. solución salina para la prevención de adherencias peritoneales postoperatorias en ratas.

Estudio experimental

Mayor M.C. José Luis **Mares-Sánchez**,* Tte. Cor. M.C. Héctor David **Tejeda-Tapia**,
Tte. Cor. M.C. Francisco **Garibay-González*** Mayor M.C. Marco César **Valenzuela-Ramos***

RESUMEN

Introducción. Las adherencias peritoneales después de una cirugía (factor más frecuente en su formación), son el resultado de un proceso exacerbado de curación normal del organismo y se acompañan de un incremento en la morbi-mortalidad. Se han intentado varios procedimientos para su prevención, sin haber uno eficaz hasta la actualidad.

Material y método. Se trata de un estudio experimental, controlado, aleatorizado, prospectivo y longitudinal en modelo experimental en 32 ratas, raza Istar, hembras y machos con un peso entre 250 y 300 g., realizado en los servicios de Patología del Hospital Central Militar y en Bioterio y Departamento de Cirugía Experimental del Hospital Central Militar.

Resultados. En la primera fase del estudio hubo una mortalidad de 25% (ocho ratas). En la segunda fase 13 de las que sobrevivieron fueron tratadas con polietilenglicol y 11 con solución salina. En el primer grupo hubo dos ratas sin adherencias y nueve con adherencias grado II. En el segundo grupo seis ratas tuvieron grado 0 de adherencias, cuatro con grado I, dos con grado II y una con grado III.

Conclusiones. El modelo desarrollado es factible para producir adherencias peritoneales en ratas y para comparar diferentes soluciones que tengan un efecto protector al disminuir el número y grado de adherencias postoperatorias.

Palabras clave: adherencias peritoneales, polietilenglicol, solución salina isotónica.

Introducción

Las adherencias peritoneales postoperatorias o también llamadas bridas, son bandas de tejido fibroso que conectan los órganos intraabdominales uno a otro o traccionándolos

Polyethyleneglycol vs. saline solution in prevention of peritoneal postoperative adhesions in rats. Experimental study

SUMMARY

Introduction. Peritoneal postoperative adhesions (more frequent factor in their formation), are result of an exacerbated process of normal organism cure and they are accompanied by a morbi-mortality increase. Several procedures for their prevention have been tried, without having actually an effective one.

Material and method. Experimental, controlled, randomized, prospective and longitudinal study in experimental model in 32 rats, Istar race, females and males with a weight between 250 and 300 g, made in the services of Pathology of the Military Central Hospital, Biotery and Department of Experimental Surgery of the Military Central Hospital.

Results. In first stage of the study there was a mortality of 25% (eight rats). In second stage 13 surviving were treated with Polyethyleneglycol and 11 with saline solution. In the first group there were two rats without adhesions and nine with adhesions degree II. In the second group six rats had degree 0 of adhesions, four with degree I, two with degree II and one with degree III.

Conclusions. The developed model is feasible to produce peritoneal adhesions in rats and to compare different solutions that have a protective effect when diminishing the number and degree of postoperating adhesions.

Key words: Peritoneal adhesions, polyethyleneglycol, isotonic saline solution.

entre sí hacia la pared abdominal, tales estructuras en condiciones normales se encuentran separadas. La mayoría de las bridas consisten en abundante tejido conectivo y adiposo.

Epidemiología: La causa más común de adherencias peritoneales postoperatorias es una cirugía previa.^{1,2} Perry re-

*Servicio de Pediatría Quirúrgica, Hospital Central Militar. Departamento de Cirugía Experimental y Bioterio del Hospital Central Militar.

Correspondencia:

Mayor M.C. José Luis Mares-Sánchez

Hospital Central Militar. Ejército Nacional y Periférico s/n. Sala Pediatría Quirúrgica, 4º piso, 1ª. Sección. Col. Lomas de San Isidro. C.P. 11200. Del. Miguel Hidalgo. México D.F. Teléfono 5557-3100, ext. 1242 y 1630. Correo electrónico: drjlmaress@yahoo.com o pacog25@yahoo.com

Recibido: Septiembre 4, 2006.

Aceptado: Octubre 20, 2006.

portó que 79% de los pacientes con adherencias tenían antecedentes de cirugías previas; 18% tuvieron una historia de enfermedad inflamatoria y el 11% tuvieron adherencias congénitas.³ La obstrucción intestinal por adherencias es más frecuente en la edad pediátrica y 8% de los neonatos sometidos a cirugía abdominal requerirán una laparotomía exploradora a causa de esta complicación.⁴

Aproximadamente 1% de las hospitalizaciones en los servicios de cirugía general y 3% de las laparotomías por adherencias peritoneales tuvieron una tasa de recurrencia posterior a la división de las adherencias del 11 al 21%, siendo la tasa de mortalidad de 6%.³

Las adherencias peritoneales postoperatorias son en mayor o menor grado consecuencias inevitables, y un problema común después de la realización de cualquier tipo de cirugía; tienen además riesgos potenciales, algunos de ellos graves, como la obstrucción intestinal con compromiso abdominal, lo cual conlleva a una morbilidad y mortalidad elevada.¹⁻⁴

La formación de adherencias desde el punto de vista molecular y celular se origina por procesos protectores simultáneos y secuenciales, independientemente de cuál sea el origen del estímulo nocivo en la cavidad abdominal; estímulos exógenos y endógenos pueden producir lesión celular y dar lugar a una reacción en el tejido conjuntivo vascular, denominada inflamación.^{2,4}

Algunas de las causas que pueden llevar a la formación de adherencias peritoneales postoperatorias son: trauma, isquemia, cuerpo extraño, hemorragias, infecciones, respuesta autoinmune del paciente, técnica quirúrgica.⁵⁻⁸

El trauma peritoneal es el factor más frecuente para iniciar la formación de adherencias.⁹⁻¹⁸ Se ha demostrado que las adherencias peritoneales desarrolladas después de una cirugía son el resultado de un proceso exacerbado de curación normal del organismo.¹⁹⁻²³ Durante décadas se han utilizado diversos métodos para evitar o disminuir las adherencias postoperatorias. Algunos métodos son efectivos, mientras que otros, incluso, las han aumentado.²⁴⁻²⁸

Material y métodos

Tipo de estudio

Se realizó un estudio experimental, controlado, aleatorizado, prospectivo y longitudinal en modelo animal en ratas, en los servicios de Patología y Bioterio y cirugía experimental del Hospital Central Militar. Se utilizó un universo de 32 ratas de raza istar, hembras y machos, con un peso entre 250 y 300 gr, las cuales fueron colocadas en jaulas individuales, a temperatura ambiente, alimentadas con Rodent Diet 5001 y acceso a agua a libre demanda, divididas en dos grupos de estudio. Fueron sometidas durante la primera fase del estudio a laparotomía exploradora. Inicia el procedimiento con la selección de la rata, previamente sana, se lleva a cabo la inducción de anestesia con administración intramuscular de ketamina (0.1 mg/kg/dosis) y xylazina (0.3 mg/kg/dosis), posteriormente es colocada en una tabla quirúrgica y se rasura la pared abdominal, procedemos a la asepsia y antisepsia

con isodine espuma y luego isodine solución. Mediante una incisión vertical en la línea media, disecando por planos hasta la cavidad abdominal, identificamos el apéndice cecal, llevando a cabo una lesión en la serosa del íleon terminal con gasa realizando raspado en forma enérgica hasta provocar sangrado de la misma. Se administró al azar una solución de polietilenglicol 3350 al 5% en un grupo y de solución salina, en otro grupo (mediante una selección con una tabla de números aleatorios se designó la solución que correspondía administrar a cada rata), irrigando a satisfacción en el sitio donde se realizó la lesión y en toda la cavidad abdominal, llevando a cabo posteriormente el cierre de la cavidad abdominal por planos, afrontando el peritoneo y la facia con vicryl 3 ceros surjete anclado y luego el cierre de la piel con puntos simples de nylon 4 ceros, dando por terminado el procedimiento, pasando a la recuperación anestésica y vigilancia postoperatoria colocando a cada rata en una jaula individual, apoyada con calor radiante y abrigada con campos quirúrgicos, manteniendo ayuno durante 12 horas, aplicando dosis profiláctica de antibiótico (ampicilina, 10 mg/kg) y analgésico (metamizol 5 mg/kg). Para la realización del experimento se utilizó polietilenglicol 3350 al 5% (Contumax o Nulitely, fabricado por Asofarma de México, Reg. No. 137M2004 SSA IV).

Durante la segunda fase del estudio las ratas fueron sometidas a una nueva exploración quirúrgica a las cuatro semanas del procedimiento inicial, llevando a cabo una laparotomía exploradora, donde se identificó el sitio de la lesión inicial y se gradúan las adherencias en forma macroscópica utilizando la escala modificada de Granat, por un cirujano que estuvo ciego al grupo al que pertenecía cada rata. Posteriormente se sacrificaron las ratas con dosis letal de pentobarbital y se seccionó la totalidad del bloque intestinal, conservando la pieza en formol para estudio histopatológico.

Para el procesamiento de los tejidos transcurrieron al menos de 24 a 48 horas después del sacrificio del animal para permitir la fijación adecuada del tejido.

El procesamiento de la muestra consistió de tres pasos: deshidratación, aclaramiento y filtración, lo cual llevó aproximadamente de 12 a 24 horas, hasta que fueron incluidos en bloques de parafina y posteriormente cortados e incluidos en laminillas. La tinción se realizó con hematoxilina y eosina, siendo sometidas a revisión histopatológica en microscopio convencional para determinar microscópicamente extensión y tipo de adherencias.

Las variables de repuesta que se tomaron en cuenta fueron la presencia o ausencia de adherencias peritoneales, las cuales fueron divididas y graduadas por un cirujano ajeno al grupo al que pertenecía cada rata. Las adherencias se clasificaron en cinco grados de acuerdo a la clasificación de adherencias modificada de Granat (*Cuadro 1*).

Fue utilizada esta escala de adherencias modificada de Granat, ya que mide el grado de adherencias y gradúa su severidad basada en la calidad de las mismas y de su distribución, además de que ha sido utilizada en modelos experimentales en ratas.

Cuadro 1. Escala de adherencias modificada de Granat.

Grado	Localización y características
0	Ausencia de adherencias
I	Presencia de adherencias laxas, fácilmente disecables
II	Presencia de adherencias firmes y densas que requieren disección con corte, pero que están localizadas en un solo foco
III	Adherencias firmes y densas que se encuentran localizadas en múltiples focos
IV	Presencia de adherencias densas generalizadas en toda la cavidad abdominal

Tabla tomada de Granat, M. 1983. Reduction of peritoneal adhesions formation by colchicine. A comparative study in the rat. Fertil Steril 369-372.

La revisión histopatológica de los especímenes del estudio fue realizada por un solo especialista adscrito al servicio de Histopatología del Hospital Central Militar, y quien también estuvo ciego al grupo al que pertenecía cada rata.

El análisis microscópico de las laminillas trató de correlacionar la apreciación macroscópica del grado de adherencias con la presencia o ausencia de fibroblastos, tejido de granulación, vasos de neoformación, células inflamatorias, reacción a cuerpo extraño e hipertrofia de tejido linfoide además de presencia o ausencia de células gigantes y presencia o ausencia de depósitos de colágeno.

Estadística

Se utilizó para las comparaciones estadísticas la prueba de Ji cuadrada y la suma de rangos de Mann-Whitney, los datos fueron procesados mediante el programa Prism 3.02 para el estudio macroscópico de las adherencias, y la prueba de Anova de dos vías para la comparación del estudio de histopatología.

Resultados

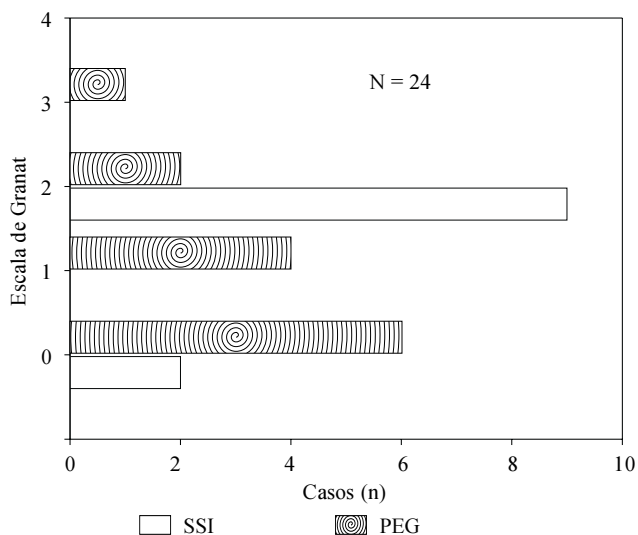
Del grupo total de 32 ratas que se sometieron a la primera fase del estudio, hubo una mortalidad de 25% (8 ratas), de las cuales dos fallecieron por infección respiratoria, dos por perforación en el sitio de la lesión y cuatro más por sobredosis de anestesia. De las 24 ratas restantes que sobrevivieron durante cuatro semanas y fueron sometidas a la segunda fase del estudio, 13 de ellas fueron del grupo tratado con polietilenglicol y 11 ratas del grupo tratado con solución salina isotónica. Esto constituyó 100% de las ratas, de las cuales fueron obtenidos los resultados estadísticos.

Durante la segunda cirugía, la cual se llevó por el mismo cirujano, se realizó la graduación macroscópica de las adherencias por otro cirujano que estuvo ciego al grupo al que pertenecía cada rata, encontrándose los siguientes hallazgos: En el grupo tratado con solución salina isotónica dos ratas sin adherencias (grado 0), lo cual constituyó 18%; y 9 ratas con adherencias grado II (82%). Del grupo tratado con polietilenglicol 3350 se obtuvieron los siguientes resultados: seis ratas tuvieron grado 0 de adherencias (46%); cuatro ratas con grado I (31%); dos ratas con adherencias grado II (15%) y una con grado III (8%) (Cuadro 2, Figuras 1-4).

Cuadro 2. Resultados de estudio macroscópico.*

Polietilenglicol 3350	Solución fisiológica
Total ratas = 13 (100%)	Total ratas = 11 (100%)
Grado 0 = 6 (46%)	Grado 0 = 2 (18%)
Grado 1 = 4 (31%)	Grado 1 = 0
Grado 2 = 2 (15%)	Grado 2 = 9 (82%)
Grado 3 = 1 (8%)	Grado 3 = 0

*Evaluación realizada por un cirujano que estuvo ciego al grupo al que pertenecía cada rata.

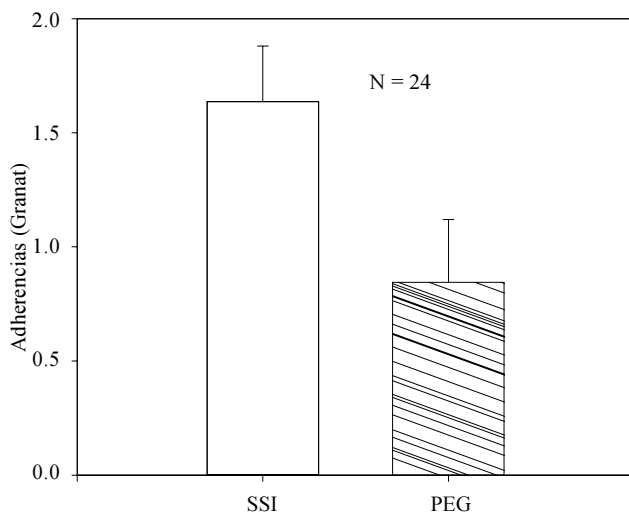


$\chi^2 = 11$ con 3 grados de libertad ($p = 0.012$). Las proporciones son homogéneas. SSI: Solución salina isotónica. PEG: Polietilenglicol 3350 al 5%.

Figura 1. Comparación macroscópica de adherencias peritoneales en ratas con polietilenglicol al 5% vs. solución salina isotónica.

En el grupo tratado con polietilenglicol al 5% se apreció una tendencia marcada a la disminución del grado y número de adherencias, sin embargo al aplicar las pruebas estadísticas de la Ji cuadrada y la prueba de suma de rangos de Mann-Whitney no hubo una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.055$).

Esta diferencia no es lo suficientemente grande, por la dispersión que se observó en ella y puede ser traducido que



Prueba de Suma de Rangos de Mann-Whitney

$T = 171.000$ $n(\text{pequeño}) = 11$ $n(\text{grande}) = 13$ ($p = 0.055$). Las diferencias en los valores de la media entre los dos grupos no es suficiente para excluir la posibilidad de que la diferencia sea debida al azar. No hay diferencia significativa.

SSI: Solución salina isotónica. PEG: Polietilenglicol 3350 al 5%.

Figura 2. Comparación macroscópica de adherencias peritoneales en ratas con polietilenglicol al 5% vs. solución salina isotónica.

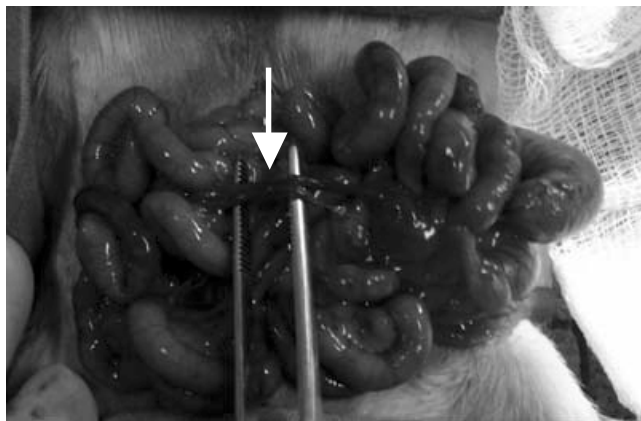


Figura 3. Adherencias peritoneales laxas (Grado I en la clasificación de Granat).

esto puede ser debido al tamaño de la muestra, al azar o a ciertas condiciones creadas durante la cirugía o a características propias de cada individuo.

Conclusiones

1. El modelo experimental desarrollado en este trabajo, es factible para producir adherencias peritoneales en ratas y para comparar diferentes soluciones, que tengan un efecto protector al disminuir el número y grado de adherencias postoperatorias.
2. En el grupo tratado con polietilenglicol 3350 en solución al 5% hubo una tendencia marcada a disminuir el grado y número de adherencias, sin embargo al aplicar las pruebas estadísticas de la Ji cuadrada y la prueba de la suma

de rangos de Mann-Whitney no hubo una significancia estadística ($p = 0.055$).

3. Esta diferencia no es lo suficientemente grande, por la dispersión que observó en ella y puede ser traducido que esto puede ser debido al tamaño de la muestra, al azar, a ciertas condiciones creadas durante la cirugía o a características propias del individuo.
4. La apreciación microscópica de los especímenes tuvo correlación proporcional con los hallazgos macroscópicos.
5. En todos los casos del modelo experimental (incluyendo en los que no se formaron adherencias) encontramos la presencia de vasos de neoformación en cantidad moderada, así como también hipertrofia de tejido linfoide con un grado leve de serositis (*Figuras 5 y 6*).
6. Los vasos de neoformación, hipertrofia linfoide, cantidad de fibroblastos, tejido de granulación y células gigantes multinucleadas con reacción a cuerpo extraño fueron mayores, al incrementarse el grado de adherencias desarrolladas por cada rata (*Figura 7*).



Figura 4. Adherencias peritoneales fibrosas (Grado II en la clasificación de Granat).

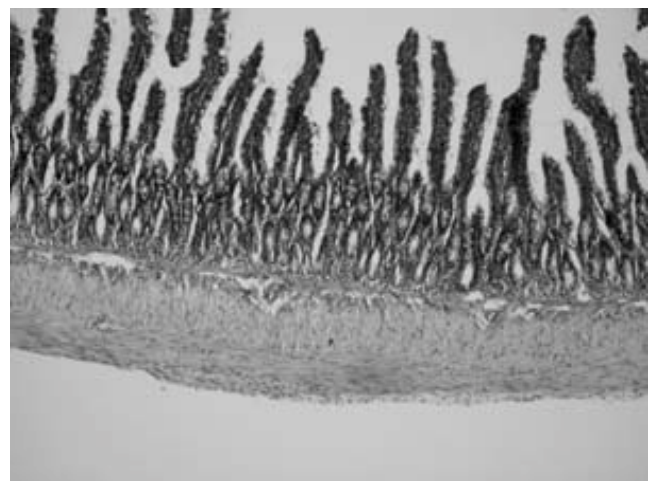


Figura 5. Corte de pared de intestino delgado histológicamente sin alteraciones. (Tinción de hematoxilina/eosina 40 x).

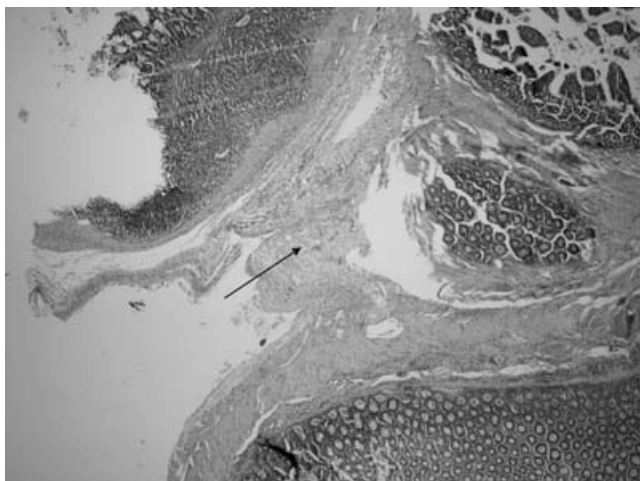
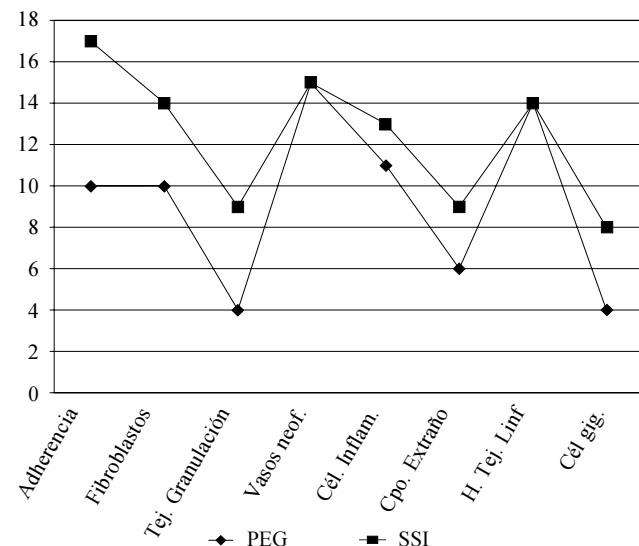


Figura 6. Corte de adherencia intestinal, observando tejido fibroso el cual une tres asas intestinales. (Tinción de hematoxilina/eosina 40 x).



Tej. Granulación = tejido de granulación. Vasos neof. = vasos de neoformación. Cél inflam. = células inflamatorias. Cpo. Extraño = cuerpo extraño. H. Tej. linf = hiperplasia de tejido linfoides. Cél gig. = células gigantes.

Figura 7. Comparación microscópica de adherencias peritoneales en ratas con polietilenglicol al 5% vs. solución salina isotónica.

- Los resultados obtenidos en este estudio son similares a lo reportado en la literatura usando otro tipo de sustancias como mecanismo de barrera.
- En ningún caso se evidenció la presencia de depósitos de colágeno o la presencia de fibrosis marcada en este estudio.
- En este estudio la mortalidad operatoria estuvo en relación a complicación anestésica, infección respiratoria y perforación intestinal al inicio de la fase experimental.

Referencias

1. Scott CDM, Vipond MN, Thompson JN. General surgeons' attitudes to the treatment and prevention of abdom adhesions. *Ann R Coll Surg Engl* 1993; 75: 123-8.

2. Weibel MA, Majno G. Peritoneal adhesions and their relation to abdom surg-a postmortem study. *Am J Surg* 1973; 126: 345-53.
3. Perry JF, Smith GA, Yonehiro EG. Intestinal obstruct caused by adhesions: a review of 388 cases. *Ann Surg* 1955; 142: 810-16.
4. Cheadle WG, Garr EE, Richardson JD. The importance of early diagnosis of small bowel obstruct. *Am Surg* 1988; 54: 565-9.
5. McEntee G, Pender D, Mulvin D, McCullough M. Current spectrum of intestinal obstruct. *Br J Surg* 1987; 74: 976-80.
6. Mucha P. Small intestinal obstruct. *Surg Clin North Am* 1987; 67: 597-620.
7. Menzies D, Ellis H. Intestinal obstruct. From adhesions-how big is the problem? *Ann R Coll Surg Engl* 1990; 72: 60-3.
8. Nemir P Jr. Intestinal obstruct: ten year survey at the Hospital of the University of Pennsylvania. *Ann Surg* 1952; 135: 367-75.
9. diZerega GS. Contemporary adhesion prevention. *Fertil Steril* 1994; 61: 219-35.
10. Lunderoff P, Hahlin M, Kallfelt B, et al. Adhesion formation after laparoscopic surg in tubal pregnancy: a randomized trial versus laparotomy. *Fertil Steril* 1991; 55: 911-15.
11. Fayez JA, Schneider PJ. Prevention of pelvic adhesion formation by different modalities of treatment. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 57: 1184-8.
12. diZerega GS, Campeau JD. Use of instillates to prevent intraperitoneal adhesions: crystalloid and dextran. *Infert Reprod Med Clin North Am* 1994; 5: 463-78.
13. Diamond MP, Daniell JF, Feste J, et al. Adhesion reformation and de novo adhesion formation after reproductive pelvic surg. *Fertil Steril* 1987; 47: 864-6.
14. Operative Laparoscopy Study Group: Postoperative adhesion development after operative laparoscopy: Evaluation at early second-look procedures. *Fertil Steril* 1991; 55: 700-4.
15. Damario MA, Rock JA. Methods to prevent postoperative adhesion formation in gynecol surg. *J Gynecol Technol* 1995; 1: 77-88.
16. Haney AF, Doty E. Expanded polytetrafluoroethylene but not oxidized regenerated cellulose prevents adhesion formation and reformation in a mouse uterine horn model of surgical injury. *Fertil Steril* 1993; 60: 550-608.
17. Haney AF, Doty E. Murine peritoneal injury and de novo adhesion formation caused by oxidized-regenerated cellulose (Interceed TC7) but not expanded polytetrafluoroethylene (Gore-Tex surgical membrane). *Fertil Steril* 1992; 57: 202.
18. Montz FJ, Monk BJ, Lacy SM. The Gore-Tex surgical membrane: effectiveness as a barrier to inhibit postradical pelvic surgery adhesions in a porcine model. *Gynecol Oncol* 1992; 45: 290-3.
19. Myomectomy Adhesion Multicenter Study Group: an expanded polytetrafluoroethylene barrier (Gore-Tex surgical membrane) reduces post-myomectomy adhesion formation. *Fertil Steril* 1995; 63: 491-3.
20. Surgical Membrane Study Group: prophylaxis of pelvic sidewall adhesion formation with Gore-Tex surgical membrane: a multicenter clin investig. *Fertil Steril* 1992; 57: 921-3.
21. Becker JM, Dayton MT, Fazio VW, et al. Prevention of postoperative abdominal adhesions by a sodium hyaluronate-based bioresorbable membrane: a prospective, randomized, double-blind multicenter study. *J Am Coll Surg* 1996; 183: 287-306.
22. DeCherney AH, et al. Wound healing. *Surg Clin North Am* 1977; 77: 671-88.
23. Dunn RC, Mohler M. Effect of varying days of tissue plasminogen activator therapy on the prevention of postsurgical adhesions in a rabbit model. *J Surg Res* 1993; 54: 242-5.
24. Evans DM, McAree K, Guyton DP, et al. Dose dependency and wound healing aspects of the use of tissue plasminogen activator in the prevention of intra-abdom adhesions. *Am J Surg* 1993; 165: 229-32.
25. Punnonen MD. Polyethylene glycol 4000 in the prevention of peritoneal adhesions. *Fertil Steril* 1982; 38: 491-2.
26. O'Sullivan MD. Peritoneal adhesion formation alter lysis: inhibition by polyethylene glycol 4000. *Br J Surg* 1991; 78: 427-9.
27. Nagelschmidt M. Polyethylene glycol 4000 attenuates adhesions formation in rats by suppression of peritoneal inflammation and collagen incorporation. *Am J Surg* 1998; 176: 76-80.
28. Granat M. Reduction of peritoneal adhesions formation by colchicines: a comparative study in the rat. *Fertil Steril* 1983; 369-72.