

Comparación de peritoneo al natural con peritoneo desnaturalizado como injerto tubular venoso. Modelo en perros

Tte. Cor. M.C. Oscar Escalante-Piña,* Aquilino Ramírez-Lorenzo,** Mayor M.C. Austreberto Flores-Arroyo,** Armando Javier Yañez-Luis,** Tte. Cor. M.C. Ret. José María Rivera-Cruz***

Laboratorio de Adiestramiento e Investigación Quirúrgica de la Escuela Médico Militar. Ciudad de México.

RESUMEN

Objetivo. Averiguar si el peritoneo desnaturalizado permite mayor endotelización y menor trombosis que el peritoneo al natural como injerto en una reparación venosa.

Material y método. Estudio experimental, longitudinal, prospectivo, comparativo y de causa efecto realizado en perros (n = 7), a los que se les reseco un segmento de ambas venas femorales, el cual se substituyó con un autotransplante tubular de peritoneo: lado izquierdo desnaturalizado con alcohol al 100% y lado derecho al natural. Luego de veintidós días se reseco los injertos y se observaron con microscopio. Se analizó dos variables: número de células endoteliales y área de la luz obstruida.

Resultados. Hubo mayor número de células endoteliales con el peritoneo desnaturalizado (n = 930). Hubo mayor porcentaje de luz obstruida por un trombo con el peritoneo al natural (41.42%).

Conclusiones: El peritoneo desnaturalizado dio mejor resultado como injerto venoso.

Palabras clave: Peritoneo, peritoneo desnaturalizado, injerto venoso, injerto tubular.

Comparison of natural peritoneum and alcohol-denatured peritoneum as tubular venous graft in the canine model.

SUMMARY

Objective. To evaluate natural peritoneum and alcohol-denatured peritoneum as venous tubular graft.

Methods. A comparative, experimental, longitudinal, prospective, and cause/effect study. Male and female domestic dogs (n = 7) underwent a 2 cm both femoral veins resection, replaced using an autologous peritoneum tubular graft. Left femoral vein with alcohol-denatured peritoneum and right femoral vein with natural peritoneum. Three weeks later we take the grafts to evaluate the repair.

Results. Endothelial cells count was higher in the alcohol-denatured peritoneum group (n = 930). Vein obstruction was lower in the natural peritoneum group (41.42%).

Conclusions. Alcohol-denatured peritoneum is better than the natural peritoneum as tubular venous graft in this canine model.

Key words: Peritoneum, alcohol-denatured peritoneum, tubular graft

Introducción

La sustitución venosa presenta mayores dificultades que la sustitución arterial, lo que se ha atribuido al flujo sanguíneo bajo, a la baja presión venosa y al flujo antigravitacional por debajo del corazón.¹

Existen diferentes materiales para sustitución vascular: tejidos autólogos, homólogos y heterólogos, y prótesis.

En la reparación de las venas no se ha encontrado un material mejor que alguna vena autóloga (autotransplante),

lo que presenta el inconveniente de tener que reseca un vaso para reparar otro.

Los materiales protésicos se asocian con un elevado riesgo de infección y de trombosis. Además, debido a su elevado costo impiden que sean utilizados en gran parte de la población, por lo que se justifica los trabajos de investigación orientados a la búsqueda de alternativas.²

El peritoneo se puede usar como injerto venoso y ha demostrado ser una alternativa viable en la reparación de grandes venas. Embriológicamente es de origen mesotelial, de la

*Jefe del Departamento de Anatomía Humana, profesor de Cirugía I y II, Laboratorio de Adiestramiento e Investigación Quirúrgica, Escuela Médico Militar, México, D. F. **Alumno del quinto año de la carrera de Médico Cirujano, Escuela Médico Militar, México, D.F. *** Profesor invitado de Cirugía I y II, Laboratorio de Adiestramiento e Investigación Quirúrgica, Escuela Médico Militar, México D.F.

Correspondencia:

Dr. Oscar Escalante-Piña

Boulevard Manuel Ávila Camacho y Cerrada de Palomas, S/N, Col. Lomas de Sotelo, Deleg. Miguel Hidalgo, No. 11650, México, D.F.;

Tel.: (0155) 5540-7728, Ext.: 170

Correo electrónico: coep67@hotmail.com, oescalantep@prodigy.net.mx

Recibido: Enero 7, 2010.

Aceptado: Febrero 27, 2010.

misma capa de células que el endotelio vascular, por lo que ambos tienen propiedades en común, como producción de prostaciclina y actividad fibrinolítica.³⁻⁵ La adaptación morfológica y la actividad fibrinolítica sostenida de las células mesoteliales sugieren que pueden remplazar al endotelio del sistema venoso.⁶

Este uso experimental del peritoneo no es reciente: se ha realizado varios estudios en animales usándolo como injerto venoso; entre los resultados destaca que demuestra una baja agregación plaquetaria.⁷ También se ha reportado su uso como injerto venoso en el humano.⁸

Hasta hoy se ha usado dos técnicas, ambas con buenos resultados: una con el peritoneo al natural y otra con el peritoneo fijado en alcohol.^{8,9}

Deseamos saber si en la reparación venosa, el injerto tubular de peritoneo desnaturalizado con alcohol permite una mayor endotelización y menor trombosis en comparación con el injerto tubular de peritoneo al natural, por lo que creamos un modelo en perros.

En este estudio comparamos esas dos técnicas (peritoneo al natural y peritoneo fijado en alcohol) y valoramos cuantitativamente el número de células endoteliales en cada una, lo cual no se ha reportado.

Material y método

Estudio experimental, longitudinal, prospectivo, comparativo, de causa efecto.

Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con los lineamientos descritos en la NOM-062-ZOO-1999: *Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio*. Se solicitó y se obtuvo autorización del Comité interno para el cuidado y uso de animales de laboratorio, dependiente del Comité de Ética de la Escuela Médico Militar, para realizar este estudio.

El estudio se realizó de acuerdo con un muestro de conveniencia, en diez perros adultos mestizos del Bioterio del Laboratorio de Adiestramiento e Investigación Quirúrgica de la Escuela Médico Militar. A cada uno se le resecoó un segmento de las dos venas femorales. Los segmentos resecoados se sustituyeron cada uno con un autotrasplante tubular de peritoneo, obtenido en el mismo tiempo quirúrgico: el del lado izquierdo fue previamente desnaturalizado en alcohol al 100% y el del lado derecho se colocó al natural.^{8,9} Cada sujeto fungió como control propio.

Se incluyó a perros adultos vivos, cualquier sexo, raza híbrida, peso entre 12 kg y 25 kg, edad de dos a cinco años, de aspecto saludable y sometidos a desparasitación y vacunación.

El estudio comenzó con un periodo de 21 días de observación en cautiverio, luego del cual a cada sujeto se le realizó, bajo anestesia general (ketamina y pentobarbital sódico, intubación orotraqueal y ventilación mecánica), en una primera intervención quirúrgica, disección de las dos venas femorales y resección de un segmento de 2 cm de cada uno de esos vasos; luego, en el mismo tiempo quirúrgico y

mediante incisión media abdominal se abordó la cavidad peritoneal y se le resecoó al mismo sujeto dos láminas del peritoneo parietal anterior, de forma cuadrada, cada una de 3 x 3 cm; a continuación, un segmento de peritoneo fue sumergido en alcohol al 100% (injerto A) durante diez minutos y el otro se dejó al natural (injerto B). Después, a cada una de esas láminas de peritoneo se le dio forma tubular uniendo dos de sus lados opuestos con puntos simples de prolene 7-0, tomando como molde una sonda vesical y quedando la superficie mesotelial del peritoneo como la luz. El injerto A se colocó en la vena femoral derecha y el injerto B en la izquierda, para sustituir los segmentos de los vasos femorales resecoados: se utilizó la técnica de sutura en tres cabos¹⁰ (o método de triangulación) con prolene 7-0 para realizar las anastomosis injerto-vena proximal y distal.

Durante 21 días postoperatorios se vigiló a los sujetos, midiendo diariamente temperatura rectal, frecuencia cardiaca y frecuencia respiratoria.

Luego de 21 días cada sujeto fue sometido a una segunda intervención quirúrgica bajo anestesia general (ketamina y pentobarbital sódico, intubación orotraqueal y ventilación mecánica), para resecoar los dos injertos venosos. Se le ligó ambas venas femorales en los dos extremos.

No se consideró sacrificar a los sujetos.

Durante todo el estudio la alimentación de los sujetos fue con croquetas comerciales, con un aporte calórico de 70 a 75 Kcal/kg/día en cada sujeto.

Luego de la primera y de la segunda intervenciones quirúrgicas, a cada sujeto se le administró el analgésico meglumine de flumixín, 1 mg por kg de peso por vía intramuscular cada 24 horas durante los primeros tres días postoperatorios; amoxicilina, 22 mg por kg de peso por vía intramuscular cada doce horas durante los primeros cinco días postoperatorios; y nitrofurazona crema al 2% en el sitio de los cierres de la piel durante los primeros diez días postoperatorios.

Cada uno de los injertos fue fijado en formaldehído en frasco separado, rotulado y enviado al Departamento de Patología del Hospital Central Militar para estudio histopatológico.

A cada uno de los injertos se le realizó cinco cortes transversales, cada uno separado por una distancia de 4 mm; cada corte fue fijado, y teñido con la técnica de hematoxilina y eosina.

Las laminillas fueron observadas y analizadas por un especialista en patología mediante un microscopio confocal con analizador de imágenes.

Variables

- Número de células endoteliales: se contó el número de células endoteliales en la luz de cada uno de los cinco cortes de cada injerto.
- Área de la luz obstruida: se estimó el porcentaje del área de la luz del injerto obstruida cuando se hallaba algún trombo. Para hacerlo se utilizó un método de cruces:
 - Obstrucción de 0 a 25% - (+).
 - Obstrucción de 25 a 50% - (++)

- c) Obstrucción de 50 a 75% - (+++).
- d) Obstrucción de 75 a 100% - (++++).

Método estadístico

Se realizó la comparación de los hallazgos en los injertos venosos con el peritoneo al natural y el peritoneo desnaturalizado, para averiguar si hubo diferencias estadísticamente significativas entre los promedios obtenidos en dichos grupos.

Para el análisis de la variable de tipo cualitativa discreta (número de células epiteliales), se utilizó la prueba t de Student para dos muestras, suponiendo varianzas desiguales.

La variable "porcentaje de luz obstruida por un trombo" se hizo de tipo semicuantitativo al asignarle un porcentaje y se analizó con la prueba χ^2 .

Resultados

En las instalaciones del Laboratorio de Adiestramiento e Investigación Quirúrgica de la Escuela Médico Militar se realizó la técnica quirúrgica descrita en material y método a un total de diez sujetos que cumplieron los criterios de inclusión.

Todos los sujetos sobrevivieron hasta el periodo postoperatorio inmediato de la primera intervención quirúrgica.

Durante los primeros 21 días postoperatorios dos sujetos murieron por causas ajenas a la intervención quirúrgica (fueron atacados por individuos de su misma especie).

Luego de la segunda cirugía realizada a los ocho sujetos restantes se obtuvo un total de 16 piezas (dos por cada sujeto, ocho del injerto A y ocho del injerto B), las cuales fueron enviadas al Departamento de Patología del Hospital Central Militar.

Aunque no fue una variable prevista en este trabajo, se observó que todos los injertos estaban permeables macroscópicamente. No se realizó medición clínica alguna acerca de la permeabilidad de los injertos.

No se sacrificó a sujeto alguno.

Todos los sujetos habían sobrevivido hasta diez días luego de la segunda intervención quirúrgica, cuando se les dejó de monitorear.

Se realizó la inclusión y tinción de las 16 piezas obtenidas. Se eliminó las laminillas de una de las piezas debido a un error en los cortes histológicos, el cual no permitía observar la luz de los parches.

Se analizó las laminillas de 14 piezas, siete del injerto A y siete del injerto B, lo que constituyó el 100% del universo de trabajo de este estudio.

Injerto A (desnaturalizado)

1. Se midió la longitud de la luz de los siete injertos, dando un total de 13,712.6 m, con media de 130.59 m y desviación estándar de 1.52 m.
2. Se encontró, contando los siete injertos, un total de 913 células endoteliales, con media de 8.69 células por cada 130.59 m y desviación estándar de 1.15 células.

3. Se encontró un promedio de obstrucción de la luz del injerto de 24.28% con desviación estándar de 36.11.

Injerto B (al natural)

1. Se midió la longitud de la luz de los siete injertos, dando un total de 13,739.5 m, con media de 130.85 m y desviación estándar de 1.65 m.
2. Se encontró, contando los siete injertos, un total de 455 células endoteliales, con media de 4.33 células por cada 130.85 m y desviación estándar de 0.93 células.
3. Se encontró un promedio de obstrucción de la luz del injerto de 41.42% con desviación estándar de 36.33.

Resultados del análisis estadístico

La prueba t de Student para comparación de dos promedios independientes (número de células endoteliales) mostró $t = 0.018$ y $p = 0.01$.

Existe diferencia estadísticamente significativa al comparar ambos grupos: se encontró mayor número de células endoteliales en los injertos de peritoneo desnaturalizado (*Figura 1*).

En el análisis del porcentaje de luz obstruida por un trombo, se encontró $\chi^2 = 11.471$, grados de libertad = 4.

Existe diferencia estadísticamente significativa al comparar ambos grupos: se encontró mayor porcentaje de luz obstruida por un trombo en los injertos de peritoneo al natural (*Figura 2*).

Discusión

Las células mesoteliales y endoteliales tienen similitudes: se originan del mesodermo y poseen un comportamiento parecido mostrando altos niveles de producción de prostaglandinas.¹¹

Los injertos de peritoneo en las arterias por lo general permanecen permeables debido a la baja resistencia y el alto

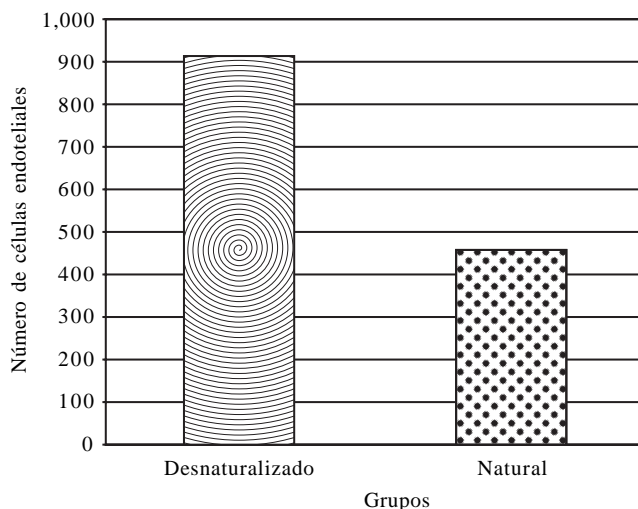


Figura 1. Gráfica comparativa del número de células endoteliales encontradas.

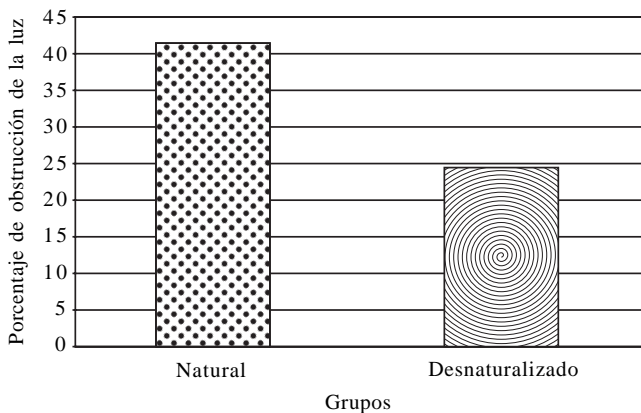


Figura 2. Gráfica comparativa del promedio del porcentaje de obstrucción de la luz.

flujo sanguíneo de esos vasos;^{2,11,12} no así en las venas, quizá debido al flujo sanguíneo bajo, a la baja presión venosa y al flujo antigravitacional por debajo del corazón. Se ha tratado de evitar la formación de trombos en los injertos venosos de dos maneras: con fístulas arteriovenosas cercanas al injerto,¹³ o con la desnaturalización del peritoneo mediante deshidratación con alcohol al 100%, la que suprime la reacción de las células mesoteliales al flujo sanguíneo.⁹

En este estudio, en el injerto de peritoneo desnaturalizado encontramos un mayor número de células endoteliales que en el peritoneo al natural, lo que no se había valorado cuantitativamente en estudios anteriores: no encontramos reportes publicados. Además, encontramos que en esa variable estudiada existe diferencia estadísticamente significativa.

Esto puede deberse a que la fijación en alcohol precipita proteínas que podrían ser tóxicas en el microambiente celular y que evitarían el desarrollo de células endoteliales.^{8,14}

El injerto tubular de peritoneo desnaturalizado mostró menor formación de trombos que el injerto al natural, lo cual coincide con los resultados de otros estudios.⁹

Los trombos en los dos tipos de injerto pueden atribuirse a la técnica quirúrgica, pero encontramos diferencia estadísticamente significativa, con mayor número de trombos en el injerto al natural: hubo piezas de peritoneo desnaturalizado en las que no se halló trombos.

El peritoneo fijado en alcohol al 100% usado como injerto tubular es una buena alternativa en una reconstrucción venosa. Se puede hacer e implantar con facilidad.

Es necesario realizar más estudios para averiguar si este tipo de injerto en particular es mejor que otros.

Conclusiones

En este estudio, el injerto tubular de peritoneo desnaturalizado con alcohol al 100% dio mejor resultado como injerto venoso que el de peritoneo al natural y es otra buena alternativa en una reconstrucción venosa.

Referencias

1. Torres CSA. Trauma vascular de las extremidades y un poco de su historia. *Trauma* 2006; 9(3): 83-6
2. García-Graz NJ, Galindo-Ibarra JL, García-Soto G, Mejía-Arreagón H, Trejo-Suárez J, Ramírez-Salas MA. Injerto vascular de aponeurosis con peritoneo en perros. *Cir Ciruj* 2008; 76(3): 235-9.
3. Raftery AT. Regeneration of peritoneum: a fibrinolytic study. *J Anat* 1979; 129(Pt 3): 659-64.
4. Coene M-C, Solheid C, Claeys M, Herman AG: Prostaglandin production by cultured mesothelial cells. *Arch Int Pharmacodyn* 1981; 249: 316-8.
5. Ribbe EB, Alm P, Hallberg E, Norgren LEH. Evaluation of peritoneal tube grafts in the inferior vena cava of the pig. *Br J Surg* 1998; 75(4): 357-60.
6. Louagie Y, Legrand-Monsieur A, Remacle C, Maldague P, Lambotte L, Poniot R. Morphology and fibrinolytic activity of canine autogenous mesothelium used as venous substitute. *Res Exp Med* 1986; 186: 239-47.
7. Ribbe EB, Norgren LEH, Thörne JL, Jönsson BA, Strand S-E. Platelet aggregation on peritoneal tube grafts and double velour grafts in the inferior vena cava of the pig. *Bri J Surg* 1988; 75(1): 81-5.
8. Akimaru K, Onda M, Tajiri T, Yoshida H, Mamada Y, Taniai N, Yoshioka M, Mineta S. Reconstruction of the vena cava with the peritoneum. *Am J Surg* 2000; 179(4): 289-93.
9. Yoshioka M, Onda M, Tajiri T, Akimaru K, Mineta S, Hirakata A, Takubo K. Reconstruction of the portal vein using a peritoneal patch-graft. *Am J Surg*, 2001; 181(3): 247-50.
10. Gutiérrez del PR, Truán CD, Franco de CA. Trasplante renal de donante vivo: implante renal y sus variantes. *Arch Esp Urol* 2005; 58(6): 521-30.
11. Campbell JH, Efendy JL, Campbell GR. Novel vascular graft grown within recipient's own peritoneal cavity. *Circ Res* 1999; 85: 1173-8.
12. Kobori L, Dallos G, Gouw AS, Nemeth T, Nemes B, Fehervari L, et al. Experimental autologous substitute vascular graft for transplantation surgery. *Acta Vet Hung* 2000; 48: 355-60.
13. Cekirdekci A, Bayar MK, Yilmaz S, Cihangiroglu M, Ayan E, Duran M, et al. Reconstruction of vena cava with the peritoneum: the effect of temporary distal arteriovenous fistula on patency. *Eur J Vas Endovasc Surg* 2004; 27: 84-8.
14. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger Principles of Biochemistry*. 4th. Ed. New York (NY): Worth Publishers, Inc.; 2004.

