



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA



DIVISION DE ESTUDIOS
DE POSTGRADO

“DISMINUCIÓN DE ADHERENCIAS
PERITONEALES EN MODELO ANIMAL
MEDIANTE EL USO DE PIRFENIDONA”

TESIS DE POSGRADO

PRESENTADA POR
DR. OSCAR PORRAS ESCORCIA

PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN
CIRUGIA GENERAL

ASESOR DE TESIS
DR. PABLO MIRANDA FRAGA

Ciudad de Mexico, 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

HOJA DE AUTORIZACION

DR. CARLOS VIVEROS CONTRERAS
TITULAR DE LA UNIDAD DE ENSEÑANZA

DR. JAVIER GARCIA ALVAREZ
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE CIRUGIA GENERAL

DR. PABLO MIRANDA FRAGA
ASESOR DE TESIS

Dedicado a Dios, a mi esposa Carolina y a mi familia, por todo ese amor que me han entregado.

Al Dr. Javier Garcia Alvarez, por su apoyo incondicional en todo momento.

Al Dr. Pablo Miranda Fraga, por haberme enseñado a ser un fuera de serie.

Indice	
I. Introducción	6
II. Antecedentes	7
III. Marco teorico	8
A. Fisiopatología de la formación de adherencias	8
B. Reparacion normal del peritoneo	10
C. Reparacion anormal del peritoneo	11
D. Perfil farmacodinamico de Pirfenidona	11
E. Modelo de creación de adherencias	12
IV. Planteamiento del problema	13
V. Pregunta de investigación	14
VI. Hipótesis nula (Ho)	14
VII. Hipotesis alternativa (Ha)	14
VIII. Justificación	15
IX. Objetivo	16
X. Material y Metodos	16
1. Tipo de estudio	16
2. Grupo de estudio	16
3. Selección del modelo animal	17
4. Procedencia del modelo animal	17
5. Protocolo de cese por sufrimiento animal	17
6. Criterios de inclusion	17
8. Criterios de eliminacion	17
9. Reposición por perdidas	17
10. Tecnica anestésica	17
11. Tecnica quirúrgica	18
12. Evaluación del proceso adherencial	18
13. Lugar de realización	19
14. Variables independientes	19
15. Variables dependientes	19
16. Formula para el calculo de tamaño de muestra	20
17. Aspectos éticos	21
18. Recursos económicos	21

19. Análisis estadístico	21
XI. resultados	21
XII. Discusion	22
XIII. Conclusiones	27
XIV. Bibliografia	28
XV. Anexos	35
(1) Tablas y Prueba Kruskal-Wallis	35
(2) Gráficos de frecuencia y foto de procedimiento	40

I. Introducción

Las adherencias peritoneales postoperatorias, son bandas de tejido fibroso que adhieren los órganos intraabdominales uno a otro, traccionándolos entre si o hacia la pared abdominal, cuando tales estructuras en condiciones normales se encuentran separadas. La mayoría consiste en abundante tejido conectivo y adiposo. (1)

Las adherencias ocurren cuando dos tejidos que normalmente se mueven libremente pasan a estar juntos por un puente fibroso. (2)

El procedimiento quirúrgico es la principal causa de adherencias. (2) Se han reportado que 79% de los pacientes con adherencias tenían antecedentes de cirugía previa; 18% tuvieron historial de enfermedad inflamatoria y 11% son congénitas o sin causa aparente. (3)

Comúnmente ocurren en procedimientos: abdominales, ginecológicos, torácicos y cardíacos. (2)

Ocurren en casi toda cirugía abdominal (93%); la mayoría de ellos necesitará una reintervención liberando los órganos o tejidos adheridos anormalmente (adherenciolisis) (2)

II. Antecedentes

Los esfuerzos hacia la prevención de las adherencias pélvicas se han ido haciendo cada día mayor, debido a la gran morbilidad y a los altos costos que conllevan. Las adherencias peritoneales generan el 1% de las hospitalizaciones en los Estados Unidos de America, lo que equivale a 846,415 días de cuidados en el hospital, y \$1,33 billones de dólares en hospitalización y gastos de cirugía (sin incluir, laboratorio, endoscopia, radiología, servicio de ambulancia, consultas a facultativos, días de trabajo/productividad perdida, costos asociados a la morbilidad a largo plazo y mortalidad temprana) (2) Aproximadamente 1% de las hospitalizaciones en los servicios de cirugía general y 3% de las laparotomias por adherencias peritoneales tuvieron una tasa de recurrencia posterior a la adherenciólisis de 11 al 21% con una mortalidad temprana del 6%. (3) **Por lo que el lograr evitar la formación de adherencias tiene un gran impacto al mejorar el pronóstico de aquellas personas que se someten a cualquier tipo de cirugía abdominal y pélvica.**

La infertilidad en la mujer y el dolor crónico en pelvis es la complicación mas común de las adherencias abdominales; la complicación que con más frecuencia se presenta consecutiva a las adherencias intestinales manejadas quirúrgicamente es la obstrucción intestinal con una incidencia 54-59% siendo de esta 60-70% del intestino delgado (2)

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 vascular, lo cual conlleva a una morbilidad y mortalidad elevada (2, 4-6)

La cirugía laparoscópica redujo la formación de adherencias un 25% y disminuyó la severidad de las mismas. (4)

III. Marco teorico

Dentro de los múltiples esfuerzos para prevenir las adherencias peritoneales se han utilizado diversas sustancias para este fin. Una revisión hecha por Harris y colaboradores,(7) mostró la efectividad de varios agentes utilizados que tan efectivos fueron varios agentes usados como antiadherentes. Este estudio demostró que la efectividad de estos agentes depende de su permanencia en el sitio de la lesión en el periodo de mayor susceptibilidad. Ellos evaluaron barreras no absorbibles como Goro-tex, silastic, encontrando a los 7 días mínima formación de adherencias, cuando se evaluaron barreras absorbibles el incremento de las adherencias fue muy alto, quizá debido a un incremento de la respuesta inflamatoria local, por otra parte, cuando se aplicó sello de fibrina mejoró la disminución de las adherencias.(7) Los resultados al usar diferentes soluciones mostró correlación respecto a su viscosidad. La solución de Ringer's lactato no viscosa fue inefectiva para disminuir adherencias; cuando se utilizó una solución más viscosa, carboximetilcelulosa al 2% la respuesta fue mejor. El uso de dextrán al 32% instilado en la cavidad peritoneal, en la rata ocasionó mortalidad del 100% debido a la acumulación de líquido, el cual ejerció presión osmótica. Debido a estos hallazgos, se utilizó menos líquido, sin embargo, no hubo mejoría en la prevención de las adherencias. Al evaluar la firmeza de las adherencias se encontró que el modelo de fibrina tuvo formación de adherencias más débiles y el uso de carboximetilcelulosa, aunque estuvieran presentes las adherencias éstas fueron más laxas comparadas con los controles. El uso de fosfolípidos en la cavidad peritoneal ha mostrado mejores resultados en la prevención de adherencias.(7-12)

Uno de los métodos de barrera recientemente utilizado es con el ácido hialurónico; éste se utilizó en base líquida después de cirugía ginecológica y mostró resultados alentadores, ya que se observó que la presencia de adherencias en la cirugía de segunda vista eran menores en las pacientes tratadas con este agente.(13)

Pero al utilizarlo como gel (intergel, gel de hialuronato férrico al 0.5%) en ensayo clínico controlado en cirugía colorrectal se encontró inadmisibles el número de complicaciones postoperatorias, como dehiscencias de anastomosis principalmente y peritonitis aun en anastomosis intacta, por lo que en este tipo de cirugía no se recomienda su uso.(14)

A. Fisiopatología de la formación de adherencias

La formación de adherencias desde el punto de vista molecular y celular se origina por procesos protectores simultáneos y secuenciales, independientemente de cual sea el origen del estímulo nocivo en la cavidad abdominal; estímulos exógenos y endovenosos pueden producir lesión celular y dar lugar a una reacción en el tejido conjuntivo y vascular, denominada inflamación. (15,16)

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 y **la técnica quirúrgica primordialmente** (17-20)

El trauma peritoneal es el factor más frecuente para iniciar la formación de adherencias (21-30) Se ha demostrado que las adherencias peritoneales desarrolladas después de una cirugía son el resultado de un proceso exacerbado de curación normal del organismo (31-36); 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. (31-37)

La actividad fibrinolítica local es el pivote en la formación de adherencias tempranas, la superficie mesotelial es la mayor fuente de activadores fibrinolíticos peritoneales. Se ha observado durante la fase temprana de los procedimientos quirúrgicos un incremento en los niveles del inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1 PAI-2) y una disminución del activador del plasminógeno tipo tisular. También se ha observado un incremento a largo plazo de la actividad del activador del plasminógeno tisular en modelos experimentales. Si a esto se le suma una disminución de la actividad fibrinolítica, y transformación de factor de crecimiento tipo β , encontramos un factor importante en la formación de adherencias.

La formación de adherencias inicia con una matriz de fibrina y elementos celulares que llegan a esta matriz en los primeros 3 días. Formando posteriormente tejido de granulación vascularizado que contiene macrófagos, fibroblastos y las células gigantes gradualmente reemplazan la matriz de fibrina. Después del cuarto día, desaparece más fibrina y predominan los macrófagos, seguidos de los leucocitos, un gran número de fibroblastos, y la colágena comienza a presentarse. En esta fase la evolución depende de la actividad fibrinolítica; si ésta es efectiva se reabsorberá y desaparecerá esta matriz dejando los tejidos sin adherencias; en cambio si la actividad fibrinolítica local no es efectiva se forma una adherencia madura y fibrosa.

Al quinto día, se ha visto pequeños canales vascularizados conteniendo células endoteliales, y del día 5 al 10, los fibroblastos empiezan a alinearse en el sitio de la adhesión, junto con los depósitos de colágena y avanza la organización de la adherencia. (12,37,38)

Dentro de la cascada de la inflamación también se ha sugerido la participación directa de algunas células, Niessen y Spauwen sugieren que los macrófagos son pivotes intermediarios entre la fase de inflamación y la formación de cicatriz, ya que los macrófagos liberan citocinas que activan fibroblastos, el

factor- β de crecimiento, factor de crecimiento derivado de plaquetas, e interleucinas, los cuales son importantes en la producción y organización de la colágena, así como una buena matriz de degradación extracelular. Niessen y Spauwen,(39) también sugieren que no solo la actividad fibroblástica, sino también el proceso celular e inmunológico descrito contribuyen a la formación de tejido cicatrizal excesivo. También hay una relación entre mastocitos y cicatrización, este hecho parte de que se han encontrado estas células junto a la colágena dérmica, los mastocitos tienen una respuesta celular caracterizada por una actividad parecida a la histamina, y son capaces de estimular la formación de colágena e incluso incrementar el tejido cicatrizal. Se asume, que éste mismo mecanismo debe estar presente en cualquier tejido donde haya inflamación y cicatrización. (39,40)

Se busca interferir en alguno de los pasos de la cascada de la inflamación para evitar adherencias, tal es el caso de estudios hechos con medicamentos que de alguna manera intervienen en estas vías, como el celecoxib (41), el alopurinol (42) y las estatinas (43), éstas últimas tomadas como grupo de comparación en este estudio, se utilizaron por sus propiedades fibrinolíticas, buscando regular la fibrinólisis en el peritoneo de pacientes sometidos a una laparotomía. Estas se han utilizado solo en modelos experimentales, Aarons y cols (43), encontraron que la Lovastatina y la de 30mg/kg en una sola dosis intraperitoneal, redujeron la formación de adherencias en un modelo experimental en rata sometidas a anastomosis de colon en un 26% y un 58% respectivamente ($p < 0.05$), sin afectar la presión de estallamiento en dichas anastomosis, a las 24 horas, se incrementaron los niveles peritoneales de RNAm, y la actividad del factor activador del plasminógeno también en el líquido peritoneal. De cualquier forma, el porcentaje de disminución de adherencias es bajo a lo que se espera en la clínica.

B. Reparación normal del peritoneo

Las células mesoteliales generan un surfactante de base fosfolípida que provee lubricación para el deslizamiento de las vísceras, tiene actividad fibrinolítica, protegen de adhesiones y trombos, secretan citocinas que tienen un rol activo en la reparación tisular y la síntesis de matriz extracelular. (5)

Cuando se genera una lesión en la superficie mesotelial, la cascada de coagulación causa un depósito de fibrina. Los monómeros de fibrina se polimerizan para formar un enrejado de fibrina que sirve como una plantilla para la cicatrización o como puente de tejido para la generación de adherencias. El área lesionada es invadida por células anti-inflamatorias del tejido vascular o del líquido peritoneal. Los polimorfonucleares (PMN) acuden de primera línea y persisten 1-2 días. (6) Los macrófagos aparecen después que los PMN y se vuelven las células predominantes. La concentración pico se alcanza entre los días 5 y 6 después de la cirugía. (44) Los macrófagos se adhieren a la superficie dañada en las 24 horas

posteriores al evento quirúrgico.(45) Aproximadamente el día 3, las células mesoteliales empiezan a cubrir los macrófagos adheridos a la herida, y estos se incrustan mas profundo en la misma. (46) Si la reparación normal ocurre, en el área lesionada, sin importar el tamaño, se restaura como una lamina de continuidad de células mesoteliales en 7 a 10 días. (46)

C. Reparación anormal del peritoneo

Alternativamente las células mesoteliales, fibroblastos y macrófagos peritoneales pueden iniciar la señal para un depósito excesivo de matriz extracelular vía factores de crecimiento y citocinas. (46) Los fibroblastos adheridos desarrollan el fenotipo de miofibroblasto. (47-51) Fibroblastos y miofibroblastos secretan cantidades masivas de matriz extracelular (fibronectina, ácido hialurónico, glucosaminoglicanos y proteoglicanos). Este proceso establece un débil puente fibroso entre tejidos. La vascularización y depósito de colágena fortalece este puente formando una adherencia firme entre los tejidos. (46)

A pesar de que los mecanismos para el cambio de una reparación normal a la formación de adherencias permanecen sin aclarar, posiblemente intervengan: la isquemia, trauma quirúrgico, inflamación, hemorragia, lesiones térmicas/químicas, reacciones alérgicas, disección inadecuada de los tejidos (Brusca), predisposición genética, reacción a sustancias introducidas (polvo de guantes, suturas, gases). (52-54)

Independientemente del factor inicial, en la formación de adherencias intervienen cuatro procesos: Sistema fibrinolítico, Depósito de matriz extracelular, Remodelación y el Sistema inflamatorio. (2)

La mayoría de las adherencias ocurren en los primeros 10 días posteriores al evento quirúrgico. (2)

D. Perfil farmacodinámico de Pirfenidona.

La pirfenidona es una molécula cuyo nombre es 5-metil-1-Fenil-2-[1H]-Pirferidona. Se trata de un derivado de la piridona, disponible por vía oral, que pertenece al grupo farmacoterapéutico de agentes inmunosupresores. Presenta propiedades anti-inflamatorias, antioxidantes y antifibróticas aunque su mecanismo de acción no ha sido completamente establecido (55).

El efecto antifibrótico de la pirfenidona ha quedado demostrado en diversos estudios tanto in-vitro (56) así como en múltiples condiciones fibroticas, incluyendo los de pulmón, riñón y el hígado, en modelos animales (57,58) Con un mecanismo de acción que inhibe al factor de crecimiento transformador beta (TGF-B) punto clave para la síntesis de colágena actuando sobre los fibroblastos y en la acumulación de matriz extracelular. Disminuye la expresión excesiva de TGF-B, TNF-alfa y del factor de crecimiento derivado de

las plaquetas (FCDP). Disminuye el número de células inflamatorias y bloquea la acción de B-FGF (factor de crecimiento fibroblástico beta) y EGF (Factor de crecimiento epitelial). (59)

La Pirfenidona es una piridina con una estructura química simple. (figura 1) (60) con un mecanismo no totalmente entendido, posee propiedades anti-fibroticas, anti-inflamatorias y antioxidantes. (61) Parte de su actividad antifibrotica se relaciona con la habilidad para regular el factor de crecimiento beta 1. (56,61,62) Altera la expresión, síntesis y/o acumulación de colágeno (62-66) Su actividad antifibrotica puede ser atribuida en parte a la inhibición del reclutamiento, proliferación y/o expresión de células productoras de matriz extracelular. (63-67) Pose además habilidad para regular citocinas inflamatorias (interferón gamma, IL-1beta, IL-6, IL-8, e IL-12) (56, 57, 67)

E. Modelo de creación de adherencias.

Como en muchos otros estudios, los animales de experimentación representan una herramienta valiosa para establecer de manera controlada, los modelos de estudio. Diversos investigadores han utilizado específicamente a la rata como modelo para el desarrollo de adherencias peritoneales, a través de realizar incisión en la línea media, creando sangrado intraabdominal, o con despulimiento de las superficies serosas, siendo difícil obtener adherencias en el 100% de los controles. (10-17)

Por esta razón buscamos desarrollar un modelo que logre crear el proceso adherencial en todos los animales del grupo control, para lo cual utilizamos dos mecanismos de lesión en la cavidad abdominal, para asegurarnos que se presenten adherencias en todos los casos.

IV. Planteamiento del problema

Las adherencias postoperatorias se presentan hasta en un 80% de los pacientes que son intervenidos por lo menos 1 vez en su vida, y de éstos hasta un 45% se hospitalizan y/o se reintervienen por presentar cuadros de oclusión intestinal, este fenómeno hace que las adherencias y sus consecuencias sean un problema muy común en los servicios de cirugía general, sobre todo en aquellos procedimientos que requieren manejo de órganos pélvicos, que es donde se presentan de manera más común las adherencias.

El uso de sustancias y métodos llamados de barrera que están en contacto con las superficie dañada, pueden o no funcionar de manera adecuada dependiendo del tipo de procedimiento abdominal que se haya realizado, por ejemplo anastomosis intestinales, corriendo el riesgo de que se interfiere con la cicatrización de las mismas.

V. Pregunta de investigación

¿Es más efectivo usar pirfenidona al ser comparado con placebo para disminuir la formación de adherencias postoperatorias en un modelo experimental en rata?

VI. Hipótesis Nula (Ho)

No hay diferencia entre usar Pirfenidona y el placebo para disminuir la formación de adherencias postoperatorias.

VII. Hipótesis Alternativa (Ha)

El usar Pirfenidona es más efectivo al compararlo con Placebo para disminuir la formación de adherencias postoperatorias.

VIII. Justificación

Se han hecho muchos intentos para evitar o disminuir las adherencias postoperatorias, estos intentos van desde una buena técnica quirúrgica con manejo gentil de los tejidos, uso de esteroides, irrigación de sustancias en la cavidad peritoneal, métodos de barrera, con resultados muy variables, nosotros proponemos un modelo experimental donde compararemos dos medicamentos vía oral, de fácil administración con una sola dosis diaria, buscando la disminución en la formación de adherencias postoperatorias de una forma fácil y segura sin intervenir de manera directa en los tejidos.

Las adherencias abdominales generan el 1% de las hospitalizaciones en Estados Unidos de America (1) al presentarse en el área de urgencias como oclusión intestinal, propiciando que su tratamiento, ya sea médico o quirúrgico, haga la estancia intrahospitalaria prolongada (846,415 días), gastando en hospitalización y cirugía \$1,33 billones de dólares (2), esto sin incluir, laboratorio, endoscopia, radiología, servicio de ambulancia, consultas a facultativos, días de trabajo/productividad perdida, costos asociados a la morbilidad a largo plazo y mortalidad temprana (1,3)

No existe en la actualidad un medicamento que disminuya el porcentaje de adherencias peritoneales. (2) Motivo por el cual esta justificada la búsqueda de un medicamento que disminuya el porcentaje de hospitalización y esto repercuta a largo plazo en disminución de los costos tanto para el hospital como para el paciente. (1)

Al determinar la efectividad de este medicamento, para disminuir la formación de adherencias peritoneales, tendremos una herramienta disponible para ayudar en la toma de decisiones al cirujano, que se enfrenta con esta patología en su práctica diaria.

IX. Objetivo

Determinar si Pirfenidona disminuye las adherencias peritoneales en el modelo animal.

X. Material y Metodos

1. Tipo de estudio

Original, prospectivo, longitudinal, experimental, ensayo clínico, sistematizado, placebo comparado.

2. Grupo de Estudio.

Universo: Se utilizaron ratas Wistar sin distinción de sexo, jóvenes, de 350 gr. de peso tratadas bajo condiciones de bioterio y acorde a Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Correspondiente a una edad de adulto joven para esta cepa de 75 días, a partir del nacimiento.

Grupo 1: será el grupo control donde se efectuara laparotomía exploradora y cierre de pared con Acido Poliglicolico 4-0s para peritoneo y para músculos 3-0s, afrontando piel con Nylon 3-0s puntos separados simples

Grupo 2: se efectuará laparotomía exploradora, mas irrigación intestinal con solución 1 (Talco al 10%) y cierre de pared con Acido Poliglicolico 4-0s para peritoneo y para músculos 3-0s, afrontando piel con Nylon 3-0s puntos separados simples y se administrara placebo vía oral diluido en 50 ml en el agua de uso diario del animal por 10 días.

Grupo 3: se efectuará laparotomía exploradora, mas irrigación intestinal con solución 1 (Talco al 10%) y cierre de pared con Acido Poliglicolico 4-0s para peritoneo y para músculos 3-0s, afrontando piel con Nylon 3-0s puntos separados simples y se administrara pirfenidona vía oral diluido en 50 ml en el agua de uso diario del animal por 10 días (a razón de 300mgr/kg de peso mezclada en el agua).

Los 3 grupos se reintervinieron al décimo día, esto es para homologarlos y que completaran los 10 días de tratamiento. En la reintervención se hizo revisión macroscópica de las adherencias, y se tomó muestra de tejido para evaluación histopatológica.(fig. 1)

Al final del protocolo el animal será sacrificado con Xilocaina al 2% intracardiaca (1cc) por su acción rapida y menos estresante comparado con la cámara de gas con éter o el golpe letal.

3. Selección del modelo animal

Se basara en las características específicas de la especie Wistar, sanos (sin acaros, sin parasitos ni tumoraciones (pe. lipomas).

4. Procedencia del modelo animal

Procederán de la crianza del propio hospital en el departamento de investigación quirúrgica experimental.

5. Protocolo de cese por sufrimiento animal

El encargado del departamento de Investigación quirúrgica experimental, notificara al comité de investigación y al tesista (Dr. Oscar Porras Escorcia) para la suspensión del protocolo.

6. Criterios de Inclusión

Ratas Wistar de 250 a 300 gramos de peso, clínicamente sanas mantenidas en condiciones de bioterio. Sin ningún manejo experimental previo.

7. Criterios de no inclusión

Cualquier incidente patológico que se presente durante la fase de preparación de los animales, como infecciones intercurrentes de cualquier tipo. Animales que sobrepasen 300 g de peso, o que hayan sido manejadas en otro experimento.

8. Criterios de Eliminación

Mortalidad o complicaciones anestésico-quirúrgicas que dificulten o interfieran con la evaluación de las variables.

9. Reposición por pérdidas

Los animales que mueran o se excluyan por causas ya descritas serán repuestos hasta completar la muestra, no hubo mortalidad, por lo tanto, no se hizo reposición de animales.

10. Técnica Anestésica.

En todos los grupos se utilizara método anestésico la utilización de tiopental sódico a razón de 12.5mg/kg de peso vía intra peritoneal.

11. Técnica Quirúrgica.

En todos los grupos, se realizó el mismo modelo de formación de adherencias que ya ha sido descrito previamente con despulimiento del ciego y colocación de cuerpo extraño en pared peritoneal contralateral.

Se realizó incisión media infraumbilical de aproximadamente 4 cm de longitud, disección por planos hasta llegar a cavidad, localizando el ciego, en el que se despulió una zona de aproximadamente 1 cm² retirando la serosa, además de colocar 3 puntos en X con seda 4-0 en la pared peritoneal contralateral. Se cerró por planos con seda 4-0 dando por terminado el procedimiento.

Al décimo día, se realizó la reintervención. Haciendo una incisión media tratando de no interferir con el proceso adherencial que se haya formado en esa zona. Se procedió a la revisión macroscópica y clasificación del grado de adherencias, así como la toma de tejido para las evaluaciones correspondientes. (Figura 5)

Ver Imagen del procedimiento en Anexos (2)

Los animales se sacrificaron al término de la segunda intervención quirúrgica de la siguiente manera: Una vez retirado el tejido que se va a analizar y aún bajo efecto anestésico profundo, se inyectó 1 ml de Xylocaina al 2% intracardiaco; corroborando el cese de la actividad miocárdica.

12. Evaluación del proceso adherencial.

Una parte importante al evaluar las adherencias, es la presencia o no de éstas, ya que las adherencias clínicamente se traducen en oclusión intestinal y/o dolor. Utilizamos la clasificación cualitativa de Knightly, (75) por ser fácil de realizar por el observador, está validada y ya se ha utilizado en otros diseños donde se evaluaron adherencias. En cuanto a la evaluación microscópica se concentra en buscar infiltrado de células inflamatorias tales como neutrófilos y mononucleares además de fibrina y colágena, que en el modelo experimental esperamos se encuentre en menores cantidades. Se realizó con la clasificación histológica de acuerdo a Zühlke,(73) y la escala Ehrlich y Hunt modificada por Philips, (76) mediante la tinción de hematoxilina y eosina y la técnica tricrómica de Masson. La revisión histológica se hizo mediante cegamiento del patólogo, asignando claves numéricas a las laminillas a evaluar.

13. Lugar de realización

Centro de Cirugía Experimental del Hospital Juarez de Mexico.

14. Variables independientes.

1.-Pirfenidona

2.- Placebo

15. Variables dependientes.

1.-Tipo de adherencias. Grados de adherencias según su valoración macroscópica (clasificación según Granat).

0 Ausencia de adherencias

1 Adherencia única, delgada y fácil de separar

2 Adherencias débiles y poco numerosas

3 Adherencias numerosas firmes que incluyen extensiones parietales

4 Adherencias numerosas densas y extensas que incluyen intestino, mesenterio, omento y pared abdominal.

2.- Características de las adherencias. Grado de adherencias según su valoración histológica (según Zühkle).(73)

a) Tejido conectivo laxo, rico en células, fibrina nueva y antigua, finas fibras reticulares.

b) Tejido conectivo con células y capilares, pocas fibras de colágena.

c) Tejido conectivo firme, pocas células más vasos, pocas fibras de músculo liso.

d) Tejido de granulación antiguo y firme, pobre en células, las capas de serosas fuertemente distinguibles.

3.- Presencia de Infiltrado inflamatorio según La Escala Ehrlich Y Hunt modificada por Philips. (76)

I. Infiltrado de granulocitos: mínimo < 10%, leve: 11-25%. Moderado 26- 50% intenso mayor de 51%

II. Infiltrado de mononucleares: mínimo < 10%, leve: 11-25%. Moderado 26- 50% intenso mayor de 51%

16. Formula para el cálculo de tamaño de muestra

Tamaño de la muestra para estimar diferencia de 2 proporciones.

$$n = \frac{p_1q_1 + p_2q_2}{(p_2 - p_1)^2} f(\alpha\beta)$$

P1=26% de éxito esperado en el grupo Placebo Q1= 1-p = 74%

P2= 80% de éxito esperado en el grupo Pirfenidona. Q2= 1-q= 20%

f (αβ)= 10.5

Sustituyendo los valores queda de la siguiente forma:

$$n = \frac{0.26 (.74) + 0.80 (.20)}{(0.80 - 0.26)^2} f(\alpha\beta)$$
$$n = \frac{0.1924 + 0.16}{0.54} (10.5)$$
$$n = \frac{0.3524}{0.54} (10.5)$$
$$n = 0.65 (10.5) = 6.8$$

Un total de 6.8 animales por grupo, se aumenta a 12 por grupo calculando reposición por pérdidas.

17. Aspectos Éticos

Las ratas que se utilizaron como modelo experimental se manejaron de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 con sus especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio.

Se consideró que los animales sometidos a los tratamientos propuestos les producirán dolor postoperatorio, por lo tanto se utilizó el menor número de animales, otorgándoles un trato digno así como el manejo adecuado en el momento del sacrificio, y este no causó dolor ni sufrimiento al animal, porque estuvo bajo efecto anestésico.

Este protocolo fue aprobado por el comité de investigación del Hospital Juárez de Mexico con el número de registro HJM 055-7.

18. Recursos económicos

Proporcionados por el investigador.

19. Análisis estadístico

Estadística descriptiva: para variables cuantitativas se utilizaron medias y desviaciones estándar. Para variables cualitativas utilizamos frecuencias y porcentajes

Estadística inferencial, para las variables cualitativas con respecto a la presencia de complicaciones se planeó utilizar prueba chi cuadrada o exacta de Fisher.

Para comparar los tres grupos de los hallazgos histopatológicos clasificados mediante escala ordinal utilizamos prueba de Kruskal-Wallis. Todo valor de $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo. (tabla de variables).

XI. Resultados

Se realizó el modelo de creación de adherencias, encontrando en la valoración macroscópica del grupo 1 (grupo control) el 16.67% de los animales formaron adherencias tipo 2, 25% formaron adherencias tipo 3, 58.33% adherencias tipo 4 y 0% no formaron adherencias.

En el grupo 2 (grupo Placebo) el 8.33% de los animales formaron adherencias tipo 2, 33.33% formaron adherencias tipo 3, 58.33% adherencias tipo 4 y 0% no formaron adherencias.

En el grupo 3 (grupo Pirfenidona), el 16,67% de los animales formaron adherencias tipo 1, 0% formaron adherencias tipo 2, 0% adherencias tipo 3, 0% formaron adherencias tipo 5 y 83.33% no formaron adherencias. (Tabla Grado de adherencias).

Resultados de la prueba Kruskal-Wallis

Se realiza la prueba mediante el programa SPSS arrojando los siguientes datos:

Como observamos en la realización de rangos la prueba nos arroja el resultado en rango promedio de 6,50 en el grupo que recibió Pirfenidona (grupo 3) comparado con el grupo que no lo recibió 24,71 (grupo 2) y de 24,29 (grupo 1) lo que se traduce a una menor formación de adherencias en el grupo al cual se le administro pirfenidona comparado con los grupos a los que no se administro. (Prueba de Kruskal-Wallis 1a)

Se utilizaron 2 grados de libertad de acuerdo a la formula $gl=K-1$, tomando en cuenta que $K =$ numero de grupos (3)

Se obtuvo posterior a la realización de la Prueba de Kruskal-Wallis una significancia asintótica de 0,000003 por lo que nuestra $P = 0.000003$ demostrando así una significancia estadística. (Prueba de Kruskal-Wallis 1b)

Al realizar la prueba a los grupos 2 y 3 nos arroja el resultado en rango promedio de 6,5 en el grupo que recibió pirfenidona (Grupo 3) comparado con el grupo que no lo recibió 18,5 (grupo 2) lo que se traduce en una menor formación de adherencias en el grupo de Pirfenidona comparado con el Placebo.

Se utilizo 1 grado de libertad de acuerdo a la formula $gl=K-1$, tomando en cuenta que $K =$ numero de grupos (2)

Se obtuvo posterior a la realización de la Prueba de Kruskal-Wallis una significancia asintótica de 0,000012 por lo que nuestra $P = 0.000012$ demostrando así una significancia estadística. (Prueba de Kruskal-Wallis 2)

Al realizar la prueba a los grupos 1 y 3 nos arroja el resultado en rango promedio de 6,5 en el grupo que recibió pirfenidona (Grupo 3) comparado con el grupo que no lo recibió 18,5 (grupo 1) lo que se traduce en una menor formación de adherencias en el grupo de Pirfenidona comparado con el Placebo.

Se utilizó 1 grado de libertad de acuerdo a la fórmula $gl=K-1$, tomando en cuenta que $K =$ número de grupos (2)

Se obtuvo posterior a la realización de la Prueba de Kruskal-Wallis una significancia asintótica de 0,000012 por lo que nuestra $P = 0.000012$ demostrando así una significancia estadística. (Prueba de Kruskal-Wallis 3)

Al utilizar la escala de Zühlke, cabe señalar que la presencia de colágena puede no encontrarse a este día de la reintervención, los medicamentos propuestos influyen en la presencia de infiltrado inflamatorio, como primera fase en la formación de adherencias., debido a eso también se aplicó la escala de Ehrlich y Hunt modificada por Philips, para hacer la revisión del infiltrado inflamatorio por grupo.

El infiltrado inflamatorio a base de neutrófilos fue más intenso en el grupo control ya que en el 91.6% de las muestras este fue moderado a intenso.

En los animales tratados con Placebo el infiltrado fue mayoritariamente intenso con 99% de las muestras con este resultado.

En el grupo tratado con Pirfenidona, el 66,66% de los animales tratados tuvo infiltrado leve, 33.33% moderado y 0% intenso.

Como era de esperarse, ante el trauma quirúrgico, en ningún caso el infiltrado inflamatorio fue mínimo. (Tabla Presencia y porcentaje de granulocitos por grupo)

En lo que respecta al infiltrado inflamatorio a base de monocitos, el infiltrado fue intenso en el 50% de las muestras del grupo control.

En los animales tratados con Placebo el infiltrado fue mayoritariamente intenso con 66.66% de las muestras con este resultado, moderado en el 25% y leve solo el 8.34%.

En el grupo tratado con Pirfenidona, el 75% de los animales tratados tuvo infiltrado leve, 25% moderado y 0% intenso.

Nuevamente como era de esperarse, ante el trauma quirúrgico, en ningún caso el infiltrado inflamatorio fue mínimo. (Tabla Presencia y porcentaje de mononucleares por grupo) Favoreciendo igualmente al grupo tratado con pirfenidona.

Como observamos en la realización de rangos la prueba nos arroja el resultado en rango promedio de 8,33 en el grupo que recibió Pirfenidona (grupo 3) comparado con el grupo que no lo recibió 24,00 (grupo

2) y de 23,17 (grupo 1) lo que se traduce a un menor componente de granulocitos en el grupo al cual se le administro pirfenidona comparado con los grupos a los que no se administro. (Prueba de Kruskal-Wallis 4)

Al realizar la prueba a los grupos 1 y 3 nos arroja el resultado en rango promedio de 7,67 en el grupo que recibió pirfenidona (Grupo 3) comparado con el grupo que no lo recibió 17,33 (grupo 2) lo que se traduce en un menor componente de granulocitos en el grupo de Pirfenidona comparado con el Placebo.

Se utilizo 1 grado de libertad de acuerdo a la formula $gl=K-1$, tomando en cuenta que $K =$ numero de grupos (2)

Se obtuvo posterior a la realización de la Prueba de Kruskal-Wallis una significancia asintótica de 0,000377 por lo que nuestra $P = 0.000377$ demostrando así una significancia estadística. (Prueba de Kruskal-Wallis 5)

Al realizar la prueba a los grupos 2 y 3 no arroja el resultado en rango promedio de 7,17 en el grupo que recibió pirfenidona (Grupo 3) comparado con el grupo que no lo recibió 17,83 (grupo 1) lo que se traduce en un menor componente de granulocitos en el grupo de Pirfenidona comparado con el Placebo.

Se utilizo 1 grado de libertad de acuerdo a la formula $gl=K-1$, tomando en cuenta que $K =$ numero de grupos (2)

Se obtuvo posterior a la realización de la Prueba de Kruskal-Wallis una significancia asintótica de 0,000090 por lo que nuestra $P = 0.000090$ demostrando así una significancia estadística. (Prueba de Kruskal-Wallis 6)

Como observamos en la realización de rangos la prueba nos arroja el resultado en rango promedio de 10,50 en el grupo que recibió Pirfenidona (grupo 3) comparado con el grupo que no lo recibió 24,08 (grupo 2) y de 20,92 (grupo 1) lo que se traduce a un menor componente de monocitos en el grupo al cual se le administro pirfenidona comparado con los grupos a los que no se administro. (Prueba de Kruskal-Wallis 7)

Al realizar la prueba a los grupos 1 y 3 nos arroja el resultado en rango promedio de 9,00 en el grupo que recibió pirfenidona (Grupo 3) comparado con el grupo que no lo recibió 16,00 (grupo 2) lo que se traduce en un menor componente de monocitos en el grupo de Pirfenidona comparado con el Placebo. Se utilizo 1 grado de libertad de acuerdo a la formula $gl=K-1$, tomando en cuenta que $K =$ numero de grupos (2).

Se obtuvo posterior a la realización de la Prueba de Kruskal-Wallis una significancia asintótica de 0.010 por lo que nuestra $P = 0.010$ demostrando así una significancia estadística. (Prueba de Kruskal-Wallis 8)

Al realizar la prueba a los grupos 2 y 3 no arroja el resultado en rango promedio de 8,00 en el grupo que recibió pirfenidona (Grupo 3) comparado con el grupo que no lo recibió 17,00 (grupo 1) lo que se traduce en un menor componente de monocitos en el grupo de Pirfenidona comparado con el Placebo.

Se utilizó 1 grado de libertad de acuerdo a la fórmula $gl = K-1$, tomando en cuenta que $K =$ número de grupos (2)

Se obtuvo posterior a la realización de la Prueba de Kruskal - Wallis una significancia asintótica de 0,001 por lo que nuestra $P = 0,001$ demostrando así una significancia estadística (Prueba de Kruskal-Wallis 9)

XII. Discusion

La formación de adherencias peritoneales continúa siendo un problema para los pacientes, los cirujanos y la sociedad, a pesar de los esfuerzos de la investigación dirigida a esta área, las revisiones actuales no han mostrado un método que sea 100% efectivo en la prevención de las adherencias peritoneales.(42) Entre los diferentes tipos de agentes empleados para evitar adherencias, barreras de todos tipos y sobre todo agentes farmacológicos, no se encontró evidencias científicas acerca del uso de Pirfenidona en la prevención de la formación de adherencias intraabdominales en modelos animales ni en humanos.(43)

Encontramos beneficios del uso de Pirfenidona vía oral, evitando interferir de manera local con el área operatoria. Encontrando además una diferencia significativa en la formación de adherencias.

La experiencia clínica con el uso de Pirfenidona para disminuir el proceso fibrotico en la cirrosis hepática y en la Fibrosis quística, ha sido llevada al plano experimental y clínico para sustentar estos hallazgos, la dosis en modelos animales que se ha usado para obtener resultados significativos es de 300mg/kg, misma dosis que utilizamos en este proyecto, buscando un efecto anti fibrotico similar,(45) y con la cual se demuestra un mayor efecto favorable con el uso del Pirfenidona comparado con el control y el placebo.

Con estos hallazgos, creemos que se pueden disminuir la formación de adherencias no solo a nivel de la fibrinólisis, sino a nivel celular, ya que hubo disminución en nuestro modelo experimental de células

inflamatorias donde demuestran que una de las células implicadas son los neutrófilos ya que actúan como pivote en la formación de las adherencias después del trauma quirúrgico, al nosotros prevenir la reacción inflamatoria temprana, se reduce el flujo de neutrófilos al tejido dañado, y esto puede reducir la formación de adherencias, en este sentido, se buscó que la Pirfenidona al tener acción anti fibrotica, por este mecanismo disminuyan la formación de adherencias. Además los fibroblastos en el mesotelio juegan un papel central en la cicatrización del peritoneo después de la cirugía, ya que tienen múltiples funciones en la reparación de la lesión, tales como síntesis de colágeno, reorganización de las moléculas de la matriz extracelular, y formación de la adherencia madura, este fenómeno es asociado a la hipoxia, ya que se ha encontrado que al comparar fibroblastos de peritoneo normal y fibroblastos de una adherencia peritoneal hay diferente actividad catalítica mediada por la hipoxia del tejido.(47)

Entre los métodos de barrera que se han desarrollado para evitar la formación de adherencias además del hialuronato férrico, seprafilm, sustancias líquidas y coloides se encuentran la gelatina de quitosana, (49-51) que no tuvo resultados alentadores en el proceso adherencial en presencia de cuerpo extraño, no así cuando las adherencias eran provocadas por isquemia o sangrado.

En nuestro modelo, la variable de cuerpo extraño se incluyó en todos los grupos, y los resultados significativos son dependientes del medicamento de intervención.

Proponemos que los cambios histológicos encontrados en el grupo de Pirfenidona son debido a que los mastocitos pueden potencializar la formación de fibrosis por diversas vías. Pueden sintetizar diversas citocinas fibrogénicas básicas, incluyendo el factor de crecimiento fibroblástico (bFGF), y el factor de crecimiento $\beta 1$ (TGF $\beta 1$), también se puede estimular la síntesis de colágeno por los fibroblastos a través de la enzima mastocito triptasa, ya que es el mayor componente de los gránulos citoplasmáticos de estos.(52)

Aun cuando la búsqueda de colágena al octavo día de la formación de adherencias, puede ser un hallazgo inconstante, la medición de la presencia de infiltrado inflamatorio, como punto importante en la formación de adherencias.

Nosotros encontramos cambios a nivel inflamatorio, esperados según el mecanismo de acción de los medicamentos utilizados.

Aun ante estos hallazgos, debemos como cirujanos, seguir manejando de forma gentil los tejidos, y tratando de hacer el menor daño posible al peritoneo, estar alertas a los factores de riesgo para la presencia

de adherencias, y esos pacientes serán los candidatos en un futuro para implementar a través de un ensayo clínico controlado este modelo de intervención.

XIII. Conclusiones

Al comparar el uso de Pirfenidona contra el placebo, este es clínicamente mejor al presentar casi nulas adherencias y cuando estas se presentan son muy laxas.

El uso de Pirfenidona vía oral disminuye la formación de adherencias postoperatorias, presentándose de manera predominante su ausencia, con respecto al control y uso de placebo

En la evaluación microscópica del infiltrado inflamatorio y fibroblastos, estos son menores en el grupo que se utilizó Pirfenidona con respecto al control y el placebo, encontramos diferencias significativas a favor del grupo Pirfenidona.

XIV. Bibliografía

- 1.- Mares-Sanchez Jose L. et al Polietilenglicol vs. solución salina para la prevención de adherencias peritoneales postoperatorias en ratas. Estudio experimental. Rev Sanid Milit Mex 2006; 60(6):401-405.
- 2.- Ward B. C., Panitch A. Abdominal Adhesions: Current and Novel Therapies. Journal of surgical research 165, 91-111 (2011) doi:10.1016/j.jss.2009.09.015
- 3.- Cheadle WG, Garr EE, Richardson JD. The importance of early diagnosis of small bowel obstruct. Am Surg 1988; 54: 565-9.
- 4.- Koji O. et al. Adhesions after abdominal surgery: a systematic review of the incidence, distribution and severity. Surg Today, 2013 doi: 10.1007/s00595-013-0591-8
- 5.- Selman M. et al. Emerging drugs for idiopathic pulmonary fibrosis. Expert Opin Emerg Drugs. 2011;16:341-62.
- 6.- Ksiazek K. et al. Early loss of proliferative potential of human peritoneal mesothelial cells in culture: The role of p16INK4a-mediated premature senescence. J Appl Physiol 2006;100:988
- 7.- Harris E, Morgan RF, Rodeheaver GT. Analysis of Kinetics of peritoneal adhesion formation in the rat and evaluation of potential antiadhesive agents. Surgery 1995;117:663-9.
- 8.- Hellebrekers BWJ et al. Effects of five different barrier materials on postsurgical adhesion formation in the rat. Human Reproduction 2000;15(6):1358- 1363.
- 9.- Müller SA et al. Effect of Intraperitoneal anti adhesive fluids in a Rat Peritonitis Model. Arch Surg. 2003;138:286-290.
- 10.- Müller SA. et al. Efficacy of adhesion prevention and impact in wound healing of intraperitonealphosfolipids. J Surg Res 2001;96:68- 74.
- 11.- Swolin K. Experimental study of prophylaxis of intraabdominal adhesions. ActaObstetricaGynecolScand 1966;45:473-98.

- 12.- Moreno A et al. Influence of abdominal incisión on the formation of postoperative peritoneal adhesions: an experimental study in rats. Eur J Surg 1996;162:181-5.
- 13.- Metwaly M. et al. Hyaluronic Acid Agents May Prevent Adhesions After Gynecological Surgery. FertilSteril 2007;87:1139-1146.
- 14.- Tang CL et al. A Randomized Controlled Trial of 0.5% Ferric Hyaluronate gel (Intergel) In the Prevention of Adhesions Following Abdominal Surgery. Ann Surg 2006;243(4):449-455.
- 15.- Perry JF, Smith GA, Yonehiro EG. Intestinal obstruct caused by adhesions: a review of 388 cases. Ann Surg 1955; 142: 810-16.
- 16.- Weibel MA, Majno G. Peritoneal adhesions and their relation to abdom surg a postmortem study. Am J Surg 1973; 126: 345-53.
- 17.- McEntee G, Pender D, Mulvin D, McCullough M. Current spectrum of intestinal obstruct. Br J Surg 1987; 74: 976-80.
- 18.- Mucha P. Small intestinal obstruct. Surg Clin North Am 1987; 67: 597-620.
- 19.- Menzies D, Ellis H. Intestinal obstruct. From adhesions-how big is the problem? Ann R Coll Surg Engl 1990; 72: 60-3.
- 20.- Nemir P Jr. Intestinal obstruct: ten year survey at the Hospital of the University of Pennsylvania. Ann Surg 1952; 135: 367-75.
- 21.- diZerega GS. Contemporary adhesion prevention. Fertil Steril 1994; 61: 219-35.
- 22.- Lundorff P et al. Adhesion formation after laparoscopic surg in tubal pregnancy: a randomized trial versus laparo- tomy. Fertil Steril 1991; 55: 911-15.
- 23.- Fayez JA, Schneider PJ. Prevention of pelvic adhesion formation by different modalities of treatment. Am J Obstet Gynecol 1987; 57: 1184-8.

- 24.- diZerega GS, Campeau JD. Use of instillates to prevent intraperitoneal adhesions: crystalloid and dextran. *Infertil Reprod Med Clin North Am* 1994; 5: 463-78.
- 25.- 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.
- 26.- Operative Laparoscopy Study Group: Postoperative adhesion development after operative laparoscopy: Evaluation at early second-look procedures. *Fertil Steril* 1991; 55: 700-4.
- 27.- Damario MA, Rock JA. Methods to prevent postoperative adhesion formation in gynecol surg. *J Gynecol Technol* 1995; 1: 77-88.
- 28.- 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.
- 29.- 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.
- 30.- 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.
- 31.- Myomectomy Adhesion Multicenter Study Group: an expanded polytetrafluoroethylene barrier (Gore-Tex surgical membrane) reduces post-myomectomy adhesion formation. *Fertil Steril* 1995; 63: 491-3.
- 32.- 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.
- 33.- 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.

- 34.- DeCherney AH, et al. Wound healing. Surg Clin North Am 1977; 77: 671-88.
- 35.- 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.
- 36.- diZerega G.S. The peritoneum and its response to surgical injury. Prog Clin Biol Res 1990;358:1.
- 37.- González-Ruvalcaba R. Íleo y obstrucción intestinal. Aguirre Rivero R & De la Garza Villaseñor L. Editores. Tratado de cirugía general. Primera edición. Editorial manual moderno. México DF. 2003. Cap. 90 Págs 747- 759.
- 38.- Elizondo JL et al. Estudio Piloto experimental para la prevención de adherencias con estreptocinasa en roedores. Cir Gen 2004;26:93-96.
- 39.- Niessen FB et al. On the nature of hypertrophic scars and Keloids: a review. PlastReconstrSurg 1999;104:1435-1458.
- 40.- Schlesinger SL et al. Zafirlukast (Accolate): A New Treatment for Capsular Contracture. Aesthetic Surg J 2002;22:329-336.
- 41.- Greene AK, Alwayn IPJ, Nose V, Flynn E, Sampson D, Zurakowski , Folkman J, Puder M. Prevention of intra-abdominal adhesions using the anti-angiogenic COX-2 inhibitor celecoxib. Ann Surg 2005;242(1):140-146.
- 42.- Cassone EJ, Arzuza G, Cassone E. Efecto del alopurinol en las adherencias peritoneales postoperatorias: estudio experimental. Rev Argent Cir 1999 77(5):155-61.
- 43.- Aarons CB et al. Statins (HMG-CoA reductase inhibitors) decrease postoperative adhesions by increasing peritoneal fibrinolytic activity. Ann Surg 2007;245(2):176-84.
- 44.- Haney AF. Identification of macrophages at the site of peritoneal injury: Evidence supporting a direct role for peritoneal macrophages in healing injured peritoneum. Fertil Steril 2000;73:988

- 45.- Boland G.M., Weigel R.J. Formation and prevention of postoperative abdominal adhesions. *J Surg Res* 2006;132:3.
46. - Saed G.M., Diamond M.P. Molecular characterization of postoperative adhesions: The adhesion phenotype. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 2004;11:307.
- 47.- De Vriese A.S. et al. Myofibroblast transdifferentiation of mesothelial cells is mediated by RAGE and contributes to peritoneal fibrosis in uraemia. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:2549.
- 48.- Lopez-Cabrera M. t al. Ex vivo analysis of dialysis effluent derived mesothelial cells as an approach to unveiling the mechanism of peritoneal membrane failure. *Perit Dial Int* 2006;26:26.
- 49.- De Vriese AS. The John F. Maher recipient lecture 2004: Rage in the peritoneum. *Perit Dial Int* 2005;25:8.
- 50.- Jimenez-Heffernan J.A. et al. Immuno histochemical characterization of fibroblast subpopulations in normal peritoneal tissue and in peritoneal dialysis induced fibrosis. *Virchows Arch* 2004;444:247.
- 51.- Ray N.F. et al. Abdominal adhesiolysis: Inpatient care and expenditures in the United States in 1994. *J Am Coll Surg* 1998;186:1.
- 52.- Cheong Y.C. et al. Peritoneal healing and adhesion formation/reformation. *Hum Reprod Update* 2001; 7:556.
- 53.- Imudia A.N. t al. Pathogenesis of Intra abdominal and pelvic adhesion development. *Semin Reprod Med* 2008;26:289.
- 54.- Hirano A. et al Pirfenidone moludates airway responsiveness, inflammation and remodeling after repeated challenge. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2006; 35: 366-77.
- 55.- Iyer S. N. et al. Effects of pirfenidone on transforming growth factor-beta gene expression at the transcriptional level in bleomycin hamster model of lung fibrosis. *J Pharmacy Exp Ther* 1999; 291: 367-373.

- 56.- Oku H. et al. Antifibrotic action of pirfenidone and prednisolone: different effects on pulmonary cytokines and growth factors in bleomycin-induced murine pulmonary fibrosis. *Eur J Pharmacol* 2008; 590:400-408.
- 57.- Schaefer C.J. et al. Antifibrotic activities of pirfenidone in animal models. *Eur Respir Rev* 2011; 20: 120,85-97. doi: 10.1183/09059180.00001111
- 58.- Macias-Barragan J. et al The multifaceted role of pirfenidone and its novel targets. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2010;3:16
- 59.- Jackson R. M., Gomez-Marin O. Development and utility of pirfenidone in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: Review of preclinical science and recent clinical trials. *Transpl res risk manag* 2011; 3: 55-63.
- 60.- Oku H. et al. Antifibrotic action of pirfenidone and prednisolone: different effects on pulmonary cytokines and growth factors in bleomycin induced murine pulmonary fibrosis. *Eur J Pharmacol* 2008; 590 (1-3): 400-408
- 61.- European Medicines Agency. Esbriet: CHMP assessment report (EMA/CHMP/115147/2011) [online]. Available from URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/human/002154/WC500103073.pdf
- 62.- Iyer S.N. et al. Effects of pirfenidone on procollagen gene expression at the transcriptional level in bleomycin hamster model of lung fibrosis. *J Pharmacol Exp Ther* 1999 Apr; 289 (1): 211-8
- 63.- Iyer S.N. et al. Dietary intake of pirfenidone ameliorates bleomycin induced lung fibrosis in hamsters. *J Lab Clin Med* 1995; 125: 779-85
- 64.- Schaefer C.J., et al. Antifibrotic activities of pirfenidone in animal models. *Eur Respir Rev* 2011 Jun 1; 20 (120): 85-97
- 65.- Kakugawa T., et al. Pirfenidone attenuates expression of HSP47 in murine bleomycin induced pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2004 Jul; 24 (1): 57-65

- 66.- Oku H., et al. Pirfenidone sup- presses tumor necrosis factor-a, enhances interleukin-10 and protects mice from endotoxic shock. *Eur J Pharmacol* 2002 Jun 20; 446 (1-3): 167-76
- 67.- Nakazato H., et al. A novel anti-fibrotic agent pirfenidone suppresses tumor necrosis factor-a at the translational level. *Eur J Pharmacol* 2002 Jun 20; 446 (1-3): 177-85.
- 68.- Ozel H et al. Induction and assesment methods used in experimental adhesion studies. *Wound Rep Reg* 2005;13:358-64.
- 69.- Koveker GB, Coercer S, Gottwald T. The role of wound healing in the formation of peritoneal adhesions. In Treutner KH, Schumpelick V Eds. *Peritoneal adhesions*. Berlin, Springer Verlag 1997;22-28.
- 70.- Hellebrekers BWJ et al. Effects of five different barrier materials on postsurgical adhesion formation in the rat. *Human Reproduction* 2000;15(6):1358- 1363.
- 71.- Müller SA et al. Effect of Intraperitonealantiadhesive fluids in a Rat Peritonitis Model. *Arch Surg*. 2003;138:286-290.
- 72.- Müller SA et al. Efficacy of adhesion prevention and impact in wound healing of intraperitonealphospolipids. *J Surg Res* 2001;96:68- 74.
- 73.- Swolin K. Experimental study of prophylaxis of intraabdominal adhesions. *ActaObstetricaGynecolScand* 1966;45:473-98.
- 74.- Moreno A. et al. Influence of abdominal incisión on the formation of postoperative peritoneal adhesions: an experimental study in rats. *Eur J Surg* 1996;162:181-5.
- 75.- Knightly JJ, Agostino D, Clifton EE. The effect of fibrinolysin and heparin on the formation of peritoneal adhesion. *Surgery* 1962;52:250-8.
- 76.- Phillips JD et al. Effects of chronic corticosteroids and vitamin A on the healing of intestinal anastomoses. *Am J Surg* 1992;163:71–7.

XIV. Anexos

(1) Tablas y Prueba Kruskal-Wallis

Tabla de Variables					
Variable	Naturaleza	Tipo	Técnica de Medición	Escala de Medición	Análisis Estadístico
Administración de Pirfenidona	Independiente	Cualitativa normal	Presencia o ausencia	Si o No (1 o 0)	
Administración de Placebo	Independiente	Cualitativa normal	Presencia o ausencia	Si o No (1 o 0)	
Tipo de adherencias	Dependiente	Cualitativa Ordinal	Visual macroscópica	Clasificación de Granat	Prueba de Kruskal-Wallis, frecuencias y porcentajes.
Características de las adherencias	Dependiente	Cualitativa Ordinal	Visual macroscópica	Clasificación de Granat	Prueba de Kruskal-Wallis, frecuencias y porcentajes
Infiltrado inflamatorio	Dependiente	Cualitativa Ordinal	Colorimetría microscópica	Escala de Ehrlich y Hunt modificada	Prueba de Kruskal-Wallis, frecuencias y porcentajes.

Grupo	Grado de adherencias				
	0	1	2	3	4
1	0 (0%)	0 (0%)	2 (16.67%)	3 (25%)	7 (58.33%)
2	0 (0%)	0 (0%)	1 (8.33%)	4 (33.33%)	7 (58.33%)
3	10 (83.33%)	2 (16.67%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

1: control, 2: Placebo, 3: Pirfenidona

Prueba de Kruskal-Wallis

Rangos			
Grupos	N	Rango promedio	
Granat 1	12	24,29	
2	12	24,71	
3	12	6,50	
Total	36		

Prueba de Kruskal-Wallis 1

Prueba de Kruskal-Wallis

Prueba de Kruskal-Wallis 1a

Estadísticos de prueba^{a,b}

	Granat
gl	2
Sig. asintótica	0,000003
Significación exacta	,000
Probabilidad en el punto	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis.

b. Variable de agrupación:
Grupos

Prueba de Kruskal-Wallis

Prueba de Kruskal-Wallis 2

Rangos

Grupos	N	Rango promedio
Granat 2	12	18,50
3	12	6,50
Total	24	

Estadísticos de prueba^{a,b}

	Granat
Chi-cuadrado	19,219
gl	1
Sig. asintótica	0,000012
Significación exacta	,000
Probabilidad en el punto	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación:
Grupos

Prueba de Kruskal-Wallis

Prueba de Kruskal-Wallis 3

Rangos

Grupos	N	Rango promedio
Granat 1	12	18,50
3	12	6,50
Total	24	

Estadísticos de prueba^{a,b}

	Granat
Chi-cuadrado	19,172
gl	1
Sig. asintótica	0,000012
Significación exacta	,000
Probabilidad en el punto	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación:
Grupos

Presencia y porcentaje de granulocitos por grupo (n = 12 por grupo)			
Granulocitos	Control (%)	Placebo	Pirfenidona
Minimo (< 10%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Leve (11 - 25%)	1 (8.3%)	0 (0)	8 (66.66%)
Moderado (26 - 50%)	3 (25%)	4 (33.33%)	4 (33.33%)
Intenso (> 51%)	8 (66.6%)	8 (66.66%)	0 (0)
Total	12 (100%)	12 (100%)	12 (100%)

Presencia y porcentaje de mononucleares por grupo (n = 12 por grupo)			
Granulocitos	Control (%)	Placebo	Pirfenidona
Minimo (< 10%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Leve (11 - 25%)	2 (16.67%)	1 (8.34)	9 (75%)
Moderado (26 - 50%)	4 (33.3%)	3 (25%)	3 (25%)
Intenso (> 51%)	6 (50%)	8 (66.66%)	0 (0)
Total	12 (100%)	12 (100%)	12 (100%)

Prueba de Kruskal-Wallis

Prueba de Kruskal-Wallis 4

Rangos			
	Grupo	N	Rango promedio
Granulocitos	1	12	23,17
	2	12	24,00
	3	12	8,33
	Total	36	

Estadísticos de prueba ^{a,b}	
	Granulocitos
gl	2
Sig. asintótica	0,000063

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación:
Grupo

Prueba de Kruskal-Wallis

Prueba de Kruskal-Wallis 5

Rangos

	Grupo	N	Rango promedio
Granulocitos	1	12	17,33
	3	12	7,67
Total		24	

Estadísticos de prueba^{a,b}

	Granulocitos
gl	1
Sig. asintótica	0,000377

- a. Prueba de Kruskal Wallis
- b. Variable de agrupación: Grupo

Prueba de Kruskal-Wallis

Prueba de Kruskal-Wallis 6

Rangos

	Grupo	N	Rango promedio
Granulocitos	2	12	17,83
	3	12	7,17
Total		24	

Estadísticos de prueba^{a,b}

	Granulocitos
gl	1
Sig. asintótica	0,000090

- a. Prueba de Kruskal Wallis
- b. Variable de agrupación: Grupo

Prueba de Kruskal-Wallis

Prueba de Kruskal-Wallis 7

Rangos

	Grupo	N	Rango promedio
Monocitos	1	12	20,92
	2	12	24,08
	3	12	10,50
Total		36	

Estadísticos de prueba^{a,b}

	Monocitos
gl	2
Sig. asintótica	,002

- a. Prueba de Kruskal Wallis
- b. Variable de agrupación: Grupo

Prueba de Kruskal-Wallis

Prueba de Kruskal-Wallis 8

Rangos

	Grupo	N	Rango promedio
Monocitos	1	12	16,00
	3	12	9,00
	Total	24	

Estadísticos de prueba^{a,b}

	Monocitos
gl	1
Sig. asintótica	,010

- a. Prueba de Kruskal-Wallis
- b. Variable de agrupación: Grupo

Prueba de Kruskal-Wallis 9

Prueba de Kruskal-Wallis

Rangos

	Grupo	N	Rango promedio
Monocitos	2	12	17,00
	3	12	8,00
	Total	24	

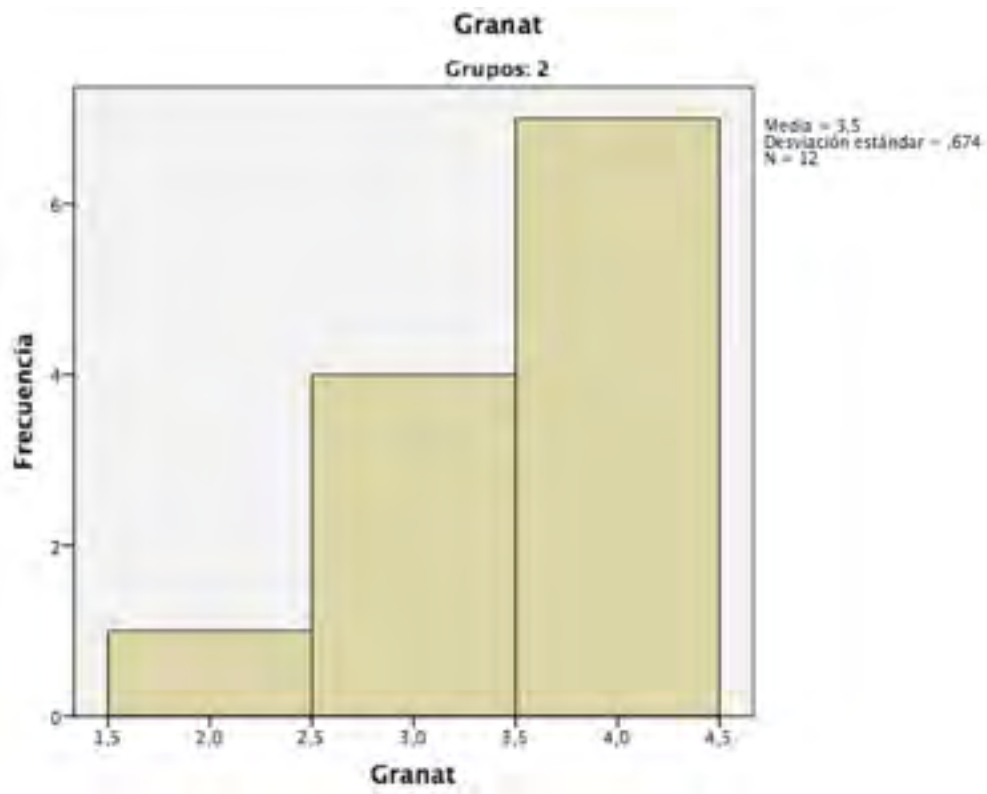
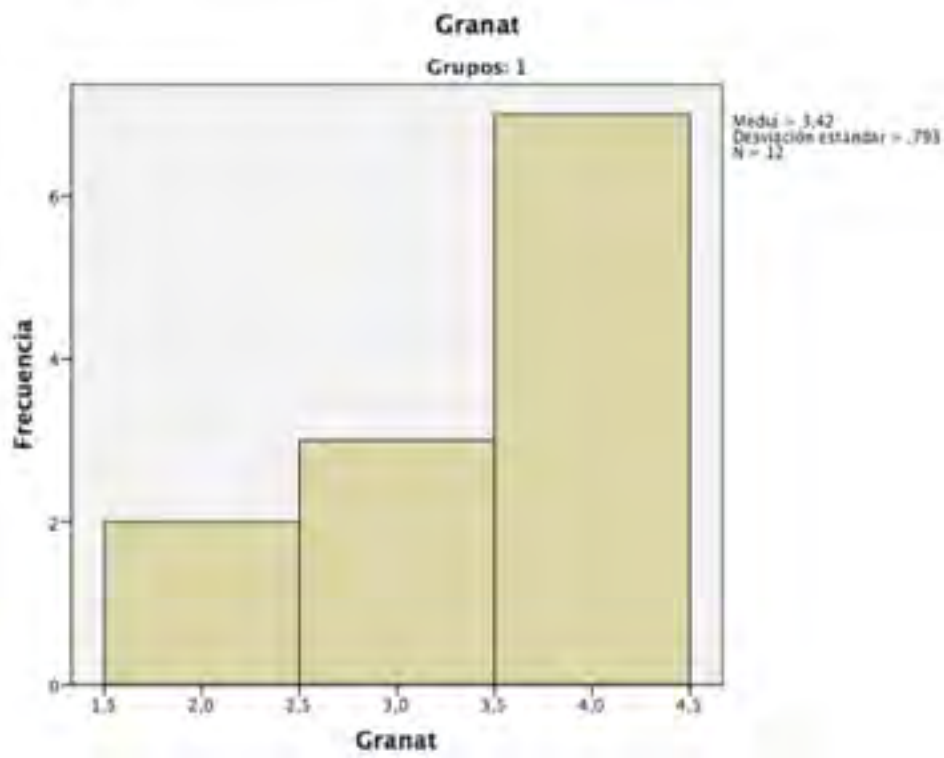
Estadísticos de prueba^{a,b}

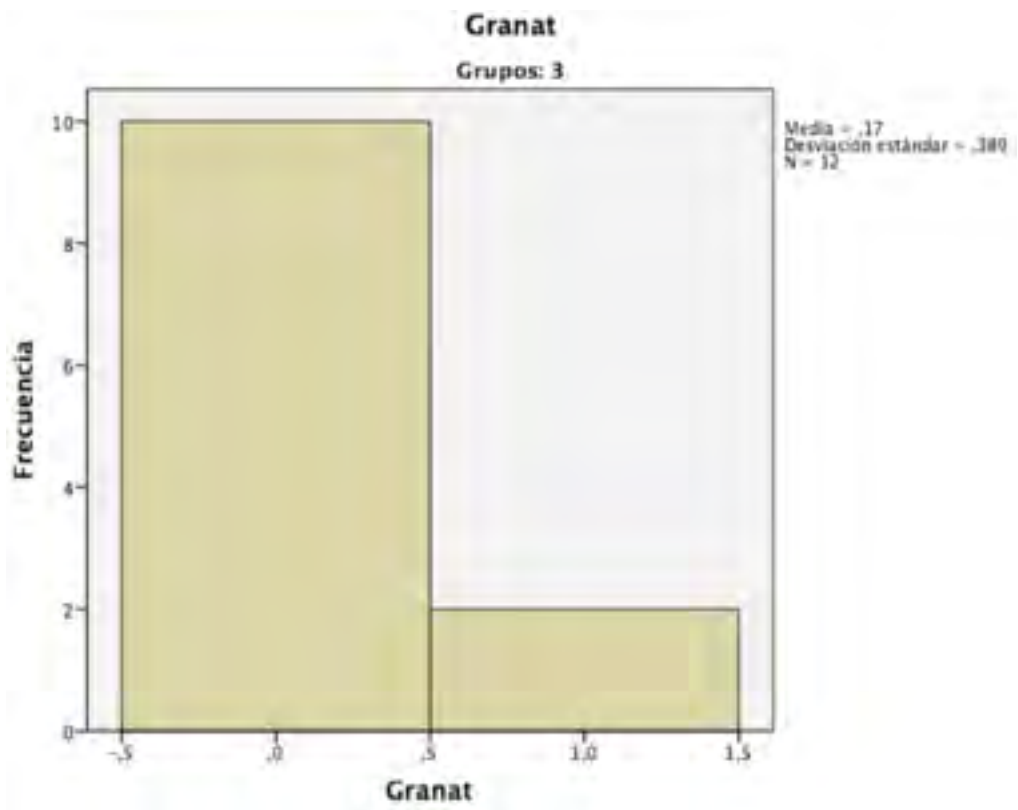
	Monocitos
gl	1
Sig. asintótica	,001

- a. Prueba de Kruskal-Wallis
- b. Variable de agrupación: Grupo

(2) Gráficos de frecuencia y foto de procedimiento

Histograma





Procedimiento de creación de adherencias

