



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO O. D.

EFECTO DE OXÍGENO HIPERBÁRICO SOBRE
LA ANASTOMOSIS DE COLON EN UN MODELO DE
SEPSIS ABDOMINAL EN RATAS: ESTUDIO PILOTO

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN

CIRUGÍA GENERAL

PRESENTA:

DANIEL URBINA LEÓN

ASESOR DE TESIS:

DR. CÉSAR ATHIÉ GUTIÉRREZ



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.



Facultad de Medicina



Efecto de oxígeno hiperbárico sobre la anastomosis de colon en un modelo de sepsis abdominal en ratas: estudio piloto

SERVICIO

Unidades de Cirugía General del Hospital General de México

INVESTIGADORES:

Daniel Urbina León
MÉDICO RESIDENTE DE CIRUGÍA GENERAL
AUTOR DE LA TESIS
RFC: UILD811126KV1
Teléfono: 5532223036
Correo electrónico: urbinadan@hotmail.com

JEFE DE SERVICIO CIRUGÍA GENERAL HGM y ASESOR COORDINADOR DE INVESTIGACIÓN:

Dr. César Athié Gutiérrez
RFC: AICG361103
Teléfono: 27892000 Ext. 1015
Correo electrónico: drcesarathie@prodigy.net

ASESORES COLABORADORES:

Dra. Sandra C. López Romero
Médico Adscrito a la Unidad 306 Cirugía General HGM
Coordinadora de Nutrición Clínica Cirugía General HGM
RFC: LORS691112
Teléfono: 54405845
Correo electrónico: lororizo@hotmail.com

Dr. Ernesto Cuauhtémoc Sánchez Rodríguez:

Jefe de la Unidad de Medicina Hiperbárica Hospital Dr. Agustín O' Horán, Mérida, Yucatán.
RFC: SARE571031RP2
Teléfono: 045-999-930-30-54
Correo electrónico: cuau57@hotmail.com

Dr. Ludwing Erick González Mena

Médico Adscrito a la Unidad de Citopatología HGM
RFC: GOML660306MGA
Teléfono: 044-55-14-51-68-37
Correo electrónico: ludop.92@yahoo.com.mx

Dr. Rafael Zaldivar Ramírez

Médico Adscrito a la Unidad 307 Cirugía General, HGM
RFC: ZARF680216CZ7
Teléfono: 044-55-14-74-12-98
Correo electrónico: rafaelzaldivar@yahoo.com



Facultad de Medicina



Agradecimientos:

Al Hospital General de México por adoptarme, por formarme como cirujano, por cambiarme en muchos aspectos de mi vida y por mostrarme la realidad de México.

A todos mis maestros. Aprendí que las personas más honorables que conozco son cirujanos generales. A la Dra. López que admiro por su dedicación a la enseñanza y a trabajar bien cómo se debe. A mi maestro el Dr. Hurtado el cual ha sido un ejemplo como cirujano, como persona, que me a orientado y apoyado con desinterés y generosidad que caracteriza a los que saben mucho y no se jactan de ello.

A mis amigos de la residencia particularmente a Mariel y a Xóchitl que me han dado muestras incondicionales de solidaridad compañerismo y afecto, sin duda, con toda tranquilidad, mi vida la pondría en sus manos. A Gabita que también quiero, admiro, es una gran amiga y maestra.

A los especialistas en medicina hiperbárica que fueron importantes para que me animara llevar a cabo éste trabajo. Dr. Darío Gómez que me introdujo a los tratamientos con oxígeno hiperbárico. A la Dra. Jena Rosado que me orientó amablemente. Al Dr. Cuauhtémoc Sánchez que aportó su conocimiento, su cámara hiperbárica, y su tiempo cotizado aun con sus múltiples ocupaciones.

A mis papás, que les debo todo lo que soy.



Facultad de Medicina



Contenido	Página
Resumen y Palabras clave	5
Abreviaturas	5
Marco Teórico	6
Planteamiento del problema	32
Justificación	32
Hipótesis	33
Objetivos	33
Metodología	34
Definición de las variables	42
Cronograma de Actividades	43
Relevancia y expectativas	44
Resultados	45
Análisis estadístico de los resultados	59
Discusión	71
Conclusiones	73
Referencias	74



Facultad de Medicina



Resumen:

La falla anastomótica y la sepsis abdominal continúan siendo un problema quirúrgico con morbilidad elevada. El oxígeno hiperbárico tiene múltiples efectos benéficos e indicaciones terapéuticas en procesos con un fondo infeccioso, isquémico o de alteración en la cicatrización, así como potenciar el efecto de algunos antibióticos como amikacina y disminuir el daño por isquemia-reperusión. Tradicionalmente se evita la construcción de anastomosis en peritonitis fecal en múltiples entidades patológicas tales como: apendicitis complicadas, enfermedad diverticular complicada o trauma de colon con contaminación extensa por el alto riesgo de fallo en las mismas. La integridad anastomótica se puede evaluar con la medición de “bursting pressure” (BP) o fuerza de ruptura intraluminal, la cual se correlaciona con la cicatrización y la síntesis de colágena. El presente estudio piloto evalúa el efecto del oxígeno hiperbárico por sí solo y en combinación con antibiótico amikacina sobre la integridad de una anastomosis de colon realizada en un modelo de sepsis abdominal polimicrobiana con peritonitis fecal.

28 ratas *Wistar* de 8 semanas de edad \bar{x} 222gr. \pm 11gr. hembras se les practicó en el día 1 el modelo de *Wichterman* “*Cecal ligature and puncture*” (CLP) para inducir una peritonitis fecal. En el día 2, 6 ratas fallecieron y a 20 ratas se les realizó la resección de ciego perforado e isquémico y se practicó la sección y anastomosis de colon izquierdo a 3 cm del margen anal con sutura *Prolene* 5/0s con puntos de *Halsted*. Se dividieron en 4 grupos de 5 ratas cada uno y se excluyeron 2 ratas del estudio al azar a las cuales no se les realizó anastomosis. Grupo A: 5 ratas, grupo de grupo control con anastomosis de colon. Grupo B: 5 ratas, antibiótico amikacina 15mg/kg cada 24 horas intramuscular iniciando el día de la anastomosis en el postoperatorio inmediato. Grupo C: 5 ratas sometidas a Oxígeno Hiperbárico 1hr a 2 ATA (atmósferas) cada 12 horas iniciando a las 24 horas de la anastomosis. Grupo D: 5 ratas sometidas a Oxígeno hiperbárico a 2 atmósferas (ATA) 2 veces al día iniciando a las 24 horas de la anastomosis + antibiótico amikacina 15mg/kg cada 24 horas intramuscular iniciándose el día de la anastomosis en el postoperatorio inmediato. Se realizó la observación clínica cada 12 horas registrando signos de respuesta inflamatoria sistémica descritos en estudios previos (piloerección, diarrea, exudados oculares y presencia exudado mucoso nasal), reactividad/hiporreactividad, distensión e infección de herida quirúrgica. Al día 5 de realizada la anastomosis de colon, bajo anestesia general, se realizó laparotomía, se determinó el hallazgo quirúrgico y escala de *Hinchey* y se midió la BP *in vivo*. Se realizó eutanasia y se tomó el segmento anastomótico para análisis histopatológico con tinción de hematoxilina/eosina y tricrómica de *Masson*. Se valoró cualitativamente el infiltrado inflamatorio, vasos de neoformación, presencia de colonias bacterianas y presencia de colágena.

En la presencia de signos de respuesta inflamatoria sistémica se encontró diferencia significativa en la comparación por promedios de rango *Kruskal-Wallis* ($p=0.030^*$). En la escala de *Hinchey* no hubo diferencia significativa *Kruskal-Wallis* ($p=0.083$) entre los grupos. En la medición de BP se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.001^{**}$) por test de ANOVA y al aplicar la prueba de *Bonferroni (post Hoc)* el grupo D tuvo la fuerza de ruptura intraluminal mayor que el resto de los grupos. Grupo A \bar{x} 10 \pm 0 mmHg, Grupo B \bar{x} 25 \pm 20.61mmHg, Grupo C \bar{x} 32 \pm 26.29mmHg y Grupo D \bar{x} 95 \pm 5.00mmHg. 100% de las ratas en el control tuvieron falla anastomótica. La mortalidad atribuible al modelo de sepsis fue de 21.4%. En el análisis histopatológico hubo diferencia significativa en infiltrado de células inflamatorias *Kruskal-Wallis* ($p=0.009^{**}$), en la presencia de colonias bacterianas *Kruskal-Wallis* ($p=0.035^*$) y en la formación de colágena *Kruskal-Wallis* ($p=0.021^*$). No hubo diferencia significativa en la presencia de vasos de neoformación *Kruskal-Wallis* ($p=0.146$).

Conclusiones: La terapia con OHB y antibiótico resulta en un efecto positivo en la calidad de las anastomosis de colon en presencia de una peritonitis fecal sin influir sobre la mortalidad. El tratamiento conjunto de OHB y antibiótico aumenta la BP, disminuye el infiltrado de células inflamatorias, disminuye la presencia de colonias bacterianas en los tejidos, y aumenta la formación de colágena en la línea anastomótica.

Palabras clave:

Cicatrización, anastomosis de colon, sepsis abdominal, ratas, oxígeno hiperbárico, amikacina



Facultad de Medicina



Abreviaturas:

OHB: oxígeno hiperbárico
UHMS: *Undersea and Hyperbaric Medical Society*
ECHM: *European Committee for Hyperbaric Medicine*
RLO: Radicales Libres de Oxígeno
ON: Óxido Nítrico
BP: *Bursting Pressure*
BS: *Breaking Strength*
CLP: *Cecal Ligature and Puncture*
MIC: Concentración Inhibitoria Mínima
MBC: Concentración Bactericida Mínima

Marco Teórico:

Antecedentes Históricos: Oxígeno Hiperbárico:

Los primeros antecedentes de utilización de aire presurizado con finalidad terapéutica datan del siglo XVII en Inglaterra donde se adquirió cierta popularidad para el tratamiento de ciertas enfermedades los “baños de aire comprimido” [1]. La primera publicación en una revista de referencia se realizó en 1855 en el British Medical Journal. [2].

El primer congreso de Medicina Hiperbárica tuvo lugar en 1963 en Ámsterdam a cargo del profesor Boerema, pionero de la aplicación de OHB en el tratamiento de la mionecrosis clostrídica donde quedan establecidas en las actas redactadas durante el congreso interesantes reflexiones metodológicas y el llamado al rigor científico acorde a los resultados obtenidos. [3]

En 1968 se creó en Bethesda, Maryland, Estados Unidos, la “*Undersea Medical Society (UMS)*” que en 1987 se convirtió en la “*Undersea and Hyperbaric Medical Society (UHMS)*.” En Europa, desde el célebre Instituto Karolinska de Estocolmo, Suecia, se creó en 1973 la *European Underwater and Barometric Medical Society (EUBS)*.

Ante los éxitos obtenidos en diferentes entidades patológicas con el OHB en un principio existió un fuerte rechazo por parte de las personas e instituciones contra la terapéutica particularmente por no ser parte de la industria farmacológica ya que se ofrece como alternativa de menor costo que algunos medicamentos dentro de sus indicaciones. [3]



Facultad de Medicina



Sin embargo abundan los centros de medicina estética y otras disciplinas que extienden la utilización de OHB con indicaciones de validez no establecida apoyándose en propaganda y criterios comerciales más que científicos.

En 1976 a partir de la UHMS surgen los Comités de Oxigenación Hiperbárica, cuya labor consistió en filtrar la abundante documentación existente y clasificarla en 4 niveles según la solidez de sus resultados, la viabilidad del método utilizado y la validez de los estudios experimentales. Una similitud importante con los llamados “niveles e evidencia” que muchos años después se han establecido como referencia para la validación racional de la terapéutica farmacológica. [2]

En Europa surge el *European Committee for Hyperbaric Medicine* ECHM fundado en Lille, Francia en 1990 el cual organizó el primer Congreso Europeo de Consenso en la misma ciudad en 1994 [4] donde se debate, por expertos, defensores de tendencias e incluso con especialistas ajenos a la terapia con OHB, las aplicaciones, los resultados en base a evidencia y se declara en consenso a puerta cerrada la situación actual de la terapia de OHB. Es ahí por ejemplo, donde se ha establecido las indicaciones del OHB para el tratamiento del pie diabético, las lesiones secundarias a radioterapia formando parte del comité personal interdisciplinario con especialistas en diabetes, oncología, radio-oncólogos, hiperbaristas, cirujanos vasculares y endocrinólogos. Las ponencias íntegras, la discusión y las conclusiones del jurado de los congresos son recopiladas después en forma de libro de actas, accesibles en medios convencionales. [5]

En Latinoamérica, Cuba tuvo hasta el año 2000, el mayor número de cámaras de OHB por millón de habitante (5.2cámaras/1000 000). En México se inicia el empleo de la OHB en la década de los 60's en el Hospital “20 de noviembre” en el ISSSTE. [6]

Oxígeno hiperbárico: mecanismo de acción terapéutica:

El OHB es una modalidad terapéutica que se fundamenta en la obtención de presiones parciales de oxígeno elevadas, al respirar oxígeno puro de manera intermitente en el interior de una cámara hiperbárica a una presión superior a la atmosférica. [7]. Se trata de una aplicación nueva de una tecnología vieja y establecida para algunos problemas de salud que en ocasiones se han mencionado en la literatura como sin remedio. [7].

La OHB genera efectos fisiológicos algunos dependientes del aumento de la presión ambiental y otros por el aumento de la presión parcial de oxígeno, mismos que obedecen leyes físicas fundamentales, aunque bajo un panorama de condición patológica el OHB desencadena mecanismos especiales que constituyen los efectos indirectos o terapéuticos [7].



Facultad de Medicina



Efectos directos o fisiológicos del oxígeno hiperbárico:

Estos son los que derivan de las leyes físicas de los gases fundamentales.

Efectos Volumétricos:

La presión atmosférica normal a nivel del mar es de 1 atmósfera absoluta (ATA). La presión ejercida por una columna de 10 metros de agua de mar equivale aproximadamente a 1 ata de presión. Para cálculos rápidos y sencillos, se puede asumir que, por cada 10 metros de profundidad, la presión aumenta 1 ATA ó 1 bar. Por lo tanto: 1,013 bar= 1 atm. La presión ejercida sobre un cuerpo a 10 m bajo la superficie del mar es de 2 bar (1 ATA = Presión atmosférica + 1 bar Presión hidrostática) [7]

Según la *ley Boyle-Mariotte*, toda elevación de la presión ambiental disminuye el volumen de las cavidades orgánicas aéreas que no están en contacto con las vías respiratorias (vejiga, tracto digestivo, órgano de audición, senos paranasales) de forma inversamente proporcional. Su efecto remite de manera espontánea al restablecer el valor de la presión atmosférica. [3]. A 1 ATA el volumen relativo de un espacio es el 100%. A 2 ATA, el equivalente a 10 metros bajo el agua, el volumen relativo es $\frac{1}{2}$ y sufre una reducción del 50%. A 3 ATA, el equivalente a 30 metros bajo el agua, el volumen relativo es de $\frac{1}{3}$ y se sufrirá una disminución al 33% del volumen original. Así sucesivamente por cada atmósfera a la cual las cavidades son sometidas, de tal manera que a 6 ATA, equivalente a 50 metros bajo el agua, el volumen relativo es e $\frac{1}{6}$ lo que tendrá un 16.7% del tamaño con respecto al original. (Tabla 1)

Tabla 1: Variaciones de volumen de cavidades corporales y espacios aéreos en función de su presión. *Ley Boyle- Mariotte* [3]

Profundidad (m/agua)	Presión (ATA)	Volúmen Relativo	Implosión (100%)
0	1	1	-
10	2	$\frac{1}{2}$	50
20	3	$\frac{1}{3}$	33.3
30	4	$\frac{1}{4}$	25
40	5	$\frac{1}{5}$	20
50	6	$\frac{1}{6}$	16.7

Efectos Solumétricos:

De acuerdo a la ley de *Henry*, respirar oxígeno puro en un medio hiperbárico produce un aumento de la solubilidad y de la presión parcial de oxígeno arterial, la cuál es directamente proporcional a la presión absoluta [3, 7].



Facultad de Medicina



La *ley de Dalton* habla que el contenido gaseoso de la mezcla respiratoria puede ser modificado a voluntad y la presión parcial de cada gas será proporcional a su concentración en la mezcla. El oxígeno de dispositivos normobáricos (ventiladores, máscaras tipo ventury o de tipo CPAP generan leves aumentos en la oxigenación del 100 al 150% de saturación [3, 8]. En situación de OHB se utilizan dispositivos herméticos de bajo flujo, que impiden la mezcla con aire ambiental. Al combinarse este efecto con un aumento de presión absoluta del medio aumenta considerablemente la presión parcial del gas, alcanzando valores de presión arterial de oxígeno superiores a 2000mmHg, cuando la presión de la cámara alcanza el valor de tres atmósferas. [3, 8-10].

La hemoglobina es la molécula transportadora de oxígeno y lleva el 99.7% del gas unido a su grupo Hem y solo 0.3% permanece disuelto en plasma. En condiciones de OHB se obtiene rápidamente la saturación de la hemoglobina y el resto circula en disolución plasmática, el cual, aumenta de manera logarítmica. A 3 ATA el transporte plasmático de oxígeno se incrementa más de 23 veces. En la circulación venosa, la presión parcial puede superar 600mmHg y la presión tisular de oxígeno puede sobrepasar los 400mmHg. Es un oxígeno “libre” que accede a los tejidos por difusión simple a favor de gradientes de presión no dependientes de la perfusión del tejido. Por lo tanto, en trastornos metabólicos como diabetes, estados que alteran la microcirculación, en intoxicaciones por monóxido de carbono, así como alteraciones de drenaje linfático y venoso, como lesiones radioinducidas o bien enfermedades inflamatorias o necrotizantes, no hay cambios en el transporte de oxígeno. [3]

Vasoconstricción no hipoxemiante:

Ante un medio de OHB, el cuerpo se protege de la hiperoxia con un efecto vasomototor. La oxigenoterapia genera una vasoconstricción hiperóxica que contrarresta la elevada presión parcial de oxígeno, sin embargo a pesar de esto el saldo de oxígeno a los tejidos siempre es favorable, lo cual ha sido demostrado con técnicas de capilaroscopia por Mathieu y Wattel. [3]

Producción de radicales libres:

Otro de los efectos potentes de la OHB es la producción de radicales libres de oxígeno (RLO). En un inicio se pensó era un efecto adverso. Sin embargo los estudios han demostrado que su presencia eleva y favorece una respuesta rápida de antioxidantes, en especial catalasas, peroxidasas, superoxidismutasas las cuales sobrepasan por mucho el estímulo inicial. Una sola sesión de OHB produce suficientes antioxidantes para prevenir el estrés oxidativo. Este mecanismo protector se relaciona con la formación de óxido nítrico de la sintetasa endotelial (ON). [3]

Efectos indirectos o terapéuticos del oxígeno hiperbárico:

En todas las enfermedades en que exista hipoxia tisular general o local como actor etiopatogénico o como parte de su proceso fisiopatológico, el OHB puede proporcionar un efecto terapéutico. [3]



Facultad de Medicina



Disminución de embolias gaseosas:

Disminuye el tamaño de burbujas aeroembólicas al aumentar la presión parcial de oxígeno y reducir la del nitrógeno. Se acelera la reabsorción a favor de un gradiente hasta lograr su eliminación, lo que se conoce como “ventana de oxígeno”. [3, 11, 12]

Efecto “Robin-Hood”:

En los tejidos sanos la hiperoxia genera una vasoconstricción. En estados de hipoxia local como en vasculopatías periféricas, síndromes compartimentales, edema maligno, angiopatías periféricas, entre otros, el tejido hipóxico se beneficia del volumen plasmático obtenido a expensas de la vasoconstricción de los tejidos sanos. Los tejidos sanos “ricos en flujo” sufren de vasoconstricción lo que genera un efecto compensatorio al tejido “pobre” aumentando el flujo sanguíneo. [3, 13, 14]

Estímulo de la angiogénesis, microvascularidad y formación de colágena:

El OHB favorece los mecanismos oxidativos para la formación de tejido de granulación de forma exuberante, en patologías donde este mecanismo reparador está disminuido o abolido. Tal es el caso del pie diabético, tejidos sometidos a radioterapia, arteriopatías avanzadas, enfermedad de Crohn, vasculitis, enfermedad de Raynaud y otros. La alternancia de ciclos de hiperoxia/normoxia constituyen un estímulo angiogénico. [3, 15-17]

En incisiones quirúrgicas no complicadas, con un adecuado flujo sanguíneo, la tensión de oxígeno adecuada para la cicatrización es óptima en un medio normobárico y no en un medio hiperbárico. Esto se demostró en un estudio en ratas tratadas a con OHB a 2 ATA comparadas con un grupo respirando aire ambiental. En medio hiperbárico la fuerza tensil de las heridas de piel fue significativamente menor que en medio normobárico. Se encontró menor cantidad de lisis y prolil hidroxilasas, menor cantidad de DNA y RNA que en el grupo control. [8, 18] Por el contrario, al inducir isquemia en los bordes de las heridas, el OHB aumentó y favoreció la cicatrización y el cierre de heridas contrarrestando el efecto hipóxico de la alteración circulatoria. [8, 19].

El OHB en la cicatrización de heridas genera aumento de factores de crecimiento particularmente en el VEGF (factor de crecimiento vascular endotelial) y el PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas). En un modelo experimental de úlceras isquémicas en orejas de conejo utilizando OHB y PDGF-BB recombinante, se demostró que la terapia con OHB aumentó la expresión de receptores alfa para PDGF, por efecto del oxígeno, al producirse especies reactivas RLO que actuaban como transductores de señal. El efecto deletéreo de la isquemia en el tejido con hipoperfusión revirtió completamente sanando las heridas [8, 20].

Reactivación de la capacidad fagocítica de los polimorfonucleares dependiente de oxígeno:

Cuando la perfusión tisular disminuye por debajo de 30mmHg los polimorfonucleares (PMN) pierden su capacidad fagocítica. Al utilizar OHB y aumentar la presión tisular de O₂, los PMN recuperan su capacidad y los mecanismos de leuco-diapédesis reaparecen. Además, en infecciones por *S. aureus* y



Facultad de Medicina



P. aeruginosa que el OHB presenta un efecto sinérgico con la tobramicina en experimentos *in vivo* en osteomielitis crónica en conejos. [3, 21, 22]

Acciones bacteriostáticas sobre anaerobios no formadores de esporas:

Estudios con *Bacterioides fragilis*, *Actinomices*, *Rhizopus* y otros anaerobios, que adoptan el perfil anaeróbico como mecanismo de resistencia, han demostrado que el uso de OHB tiene un efecto bacteriostático. [3, 23].

Acción potenciadora de antibióticos:

En múltiples estudios se ha visto que en medios anaeróbicos hay cambios significativos en la Concentración Inhibidora Mínima (MIC) y en la Concentración Bactericida Mínima (MBC) disminuyendo la actividad de muchos antibióticos. Los aminoglucósidos, en anaerobiosis aumentan de manera considerable su MIC para infecciones por *E.coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Staphylococcus* y *Streptococcus sp.*[8]. La disminución de la actividad de aminoglucósidos depende de la penetración de citoplasmática de oxígeno en las membranas. Por tal motivo, las bacterias anaerobias no son susceptibles a la acción de aminoglucósidos y bacterias potencialmente anaerobias disminuyen su susceptibilidad a los aminoglucósidos en condiciones con hipoxia, anoxia y acidosis [8]. También se demostró que la actividad de otros antibióticos disminuye en anaerobiosis por mecanismos aun no bien comprendidos. Tal es el caso de la actividad bacteriostática de Trimetoprim/Sulfametoxazol contra *E.coli*, *Klebsiella sp.* y *Staphylococcus sp.* La MIC de cefazolina, cefalotina, cloranfenicol, clinamicina, piperacilina no se alteran con estados anaerobios. En el caso del Metronidazol su actividad es mucho mayor en medios anaerobios y se potencializa disminuyéndose el potencial redox. [8]

OHB también genera cambios en el efecto postantibiótico de varios fármacos. Bayer observó que en una pO₂ de 80mmHg comparada con 40mmHg la amikacina, como bactericida contra *Pseudomonas aeruginosa*, duplicaba su efecto postantibiótico [8]. Park demostró que la hiperoxia aumenta el efecto postantibiótico de la tobramicina contra *Pseudomonas aeruginosa*. [8] La terapia con OHB aumenta significativamente la actividad bacteriostática del TMP/SMX contra *P.aeruginosa*, *Corynebacterium diphtheriae*. OHB aumenta la actividad de la nitrofurantina contra *E.coli*. [8]

En otros estudios se probó que OHB, en comparación a cefalotina, tiene una efectividad comparable eliminando *S.aureus* en modelos para estudio de Osteomielitis crónica [8]

En el estudio realizado por Marzella se determinó el efecto aditivo y potenciador del OHB con antibióticos cultivos polimicrobiano. Se vio que OHB aumenta la actividad de piperacilina, clindamicina, vancomicina, más no el metronidazol ya que este último trabaja mejor en medio anaerobio.



Facultad de Medicina



Se puede resumir el efecto de la OHB y su acción sinérgica con los antibióticos en: [8]

- Aumento en la presión de oxígeno en tejido isquémico aumentando la acción de aminoglucósidos, sulfas, quinolonas, vancomicina, trimetoprim.
- Aumento de la duración del efecto postantibiótico de macrólidos en infecciones por *Pseudomonas*
- Por cambios en el potencial redox aumento en la actividad de nitrofurantoina por aumentar la cantidad de metabolitos intermedios reactivos y disminución de la efectividad de agentes como metronidazol que requieren un potencial redox bajo.

En 1986 Thom demostró la utilidad de OHB en modelo de peritonitis en ratas en las cuales se inoculó una combinación de *E.coli*, *Enterococos*, *Bacterioides fragilis* como flora fecal. [8, 24]. Muhvich *et al* demostraron la efectividad de OHB, cirugía y antibióticos en el mismo modelo de peritonitis con inóculos selectivos de *E. coli* y *B. fragilis*. [8, 25] También se reportó en estudios más recientes por Stevens y Hirn el beneficio de OHB, cirugía y antibióticos en peritonitis. [8, 26, 27]

Las presiones hiperbáricas de oxígeno menores a 1.5 ATA pueden estimular el desarrollo de bacterias aerobias incluso de anaerobios facultativos. Pero su crecimiento se inhibe en presiones mayores a 1.5 ATA con 100%O₂. Se ha visto un efecto bacteriostático en *E. coli*, *Enterobacter sp. P.aeruginosa* y *Enterococcus faecalis* entre 1.5 y 3 ATA incluso en exposiciones cortas. La exposición a 3 ATA al 100% ha demostrado un efecto bactericida en *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* y *Salmonella typhi*. [8] En la mayoría de los estudios se prueba la terapia con OHB en exposiciones cortas de 2 horas entre 1.8 y 2.5 hasta 3 ATA. [8]

Acción bactericida sobre anaerobios formadores de esporas:

Los trabajos de Boerema, considerado el padre de la medicina hiperbárica, probaron en 1961, que OHB a 3 ATA genera lisis directa de especies de *Clostridium*, responsables de infecciones gangrenosas de tejidos blandos. [3]

Bloqueo de acción de toxinas clostridiales:

Aun más significativo que la lisis de *Clostridium* es el efecto que genera a la inhibición de sus toxinas particularmente la alfa y teta leucitinas las cuales son responsable del daño y la necrosis que produce el microorganismo. Al aumentar el potencial oxido-reducción se inhibe de manera eficaz la producción de las toxinas de manera inmediata. [3, 28]

Eliminación de carboxihemoglobina y restablecimiento de respiración celular mitocondrial:

En la intoxicación por monóxido de carbono (CO) se forma una molécula de carboxihemoglobina la cual es 240 veces más estable que la oxihemoglobina. Su vida media en aire ambiental es de 520mins, con oxígeno normobárico al 100% la vida media es de 80 minutos y en un medio con OHB a



Facultad de Medicina



3 ATA se reduce a 23 mins. Además se ha demostrado que el OHB limita el daño del CO en la respiración celular a nivel mitocondrial. [3].

Estimulación de formación de células madre:

Experimentos de Thom en Estados Unidos probaron que la producción de células madre en un medio con OHB se multiplica hasta 8 veces más que con técnicas convencionales. [3, 29].

Radiosensibilización tumoral:

A pesar del estímulo angiogénico del OHB y la caótica neovascularización de algunos tumores, el uso de OHB se encuentra en estudio ya que para algunos casos se ha demostrado que la hiperoxia puede aumentar la radiosensibilidad al aumentar el flujo sanguíneo y el potencial reactivo del oxígeno con la radioterapia. [3]

Síntesis de óxido nítrico:

El óxido nítrico ha sido implicado en múltiples efectos terapéuticos farmacológicos, el papel del OHB en la síntesis de ON ha sido bien documentado tanto experimental como clínicamente lo que abre un campo enorme a la investigación para indicaciones terapéuticas diversas, que abarcan problemas cardiovasculares, urológicos, neumológicos, etc. [3, 30]

Síndromes de isquemia-reperfusión:

La formación de radicales libres es tan exuberante bajo condiciones hiperbáricas que una sola sesión de OHB protege del estrés oxidativo en animales de experimentación. [3]

OHB reduce la pérdida de compuestos fosfatados de alta energía en la fase primaria de la lesión de isquemia-reperfusión. Evita la conversión de xantina deshidrogenasa a xantina oxidasa y desactiva a ésta. Modula la expresión de ICAM-1 (molécula de adhesión intracelular 1) e integrinas Beta 2 evitando la fase secundaria de la lesión de isquemia-reperfusión. Asimismo, modula la producción de citocinas proinflamatorias IL-1 (interleucina 1), IL-6 (interleucina-6), TNFalfa (factor de necrosis tumoral alfa), iNOS (sintetasa inducible de óxido nítrico) y PAF (factor activador de plaquetas) modulando así la respuesta inflamatoria sistémica [6] lo que resulta altamente atractivo para el tratamiento de la sepsis abdominal y para múltiples tratamientos quirúrgicos en los que el control de la respuesta inflamatoria sistémica resulta crucial para el beneficio terapéutico de pacientes. [31]

Efectos no demostrados:

Siendo los efectos demostrados significativos, la difusión por medios informativos informales, ha generado mala información sobre usos de OHB no demostrados.

OHB no tiene ningún efecto sobre la tersura de la piel, no previene envejecimiento, tampoco tiene efectos sobre las neuronas en caso de Parkinson, ni es un estimulante para el órgano reproductor, y tampoco tiene efectos sobre la cicatrización de tejidos sanos. Desafortunadamente a pesar de las



Facultad de Medicina



normas internacionales ya establecidas no hay una regulación formal para evitar este tipo de información errónea. [3]

Efectos adversos secundarios a la oxigenación hiperbárica:

Lesiones barotraumáticas:

De acuerdo a lo explicado en la ley de *Boyle* sobre las cavidades huecas en el organismo, los cambios de presión pueden ocurrir durante la terapéutica de OHB, las cuales pueden producir lesiones traumáticas de tímpano, senos paranasales, pulmones con glotis cerradas y barodontalgias en amalgamas mal posicionadas que presenten atrapamiento de aire en los molares. Es vital la capacitación de pacientes para tomar medidas preventivas a estas complicaciones, las cuales fácilmente se pueden evitar al compensar con los oídos y garganta el efecto de la presión sobre el aparato auditivo con simples movimientos de mandíbula o soplar y una evaluación dental en caso de presentarse algún tipo de molestia durante el tratamiento con OHB. [3]

Toxicidad por oxígeno:

Las presiones parciales de oxígeno elevadas pueden causar irritación cortical lo que puede generar convulsiones tónicas las cuales ceden de inmediato al retirar la mascarilla de oxígeno durante la sesión. Se alternan ciclos de aire “descansos de aire”, para evitar este efecto secundario. Es raro y ocurre en una vez cada 5000 sesiones. Las convulsiones son de carácter benigno. [3]. Debe tenerse especial atención en el control térmico ya que la entrada a la cámara hiperbárica genera el aumento de la temperatura corporal en un grado centígrado, así que un paciente con fiebre puede presentar una crisis convulsiva si entra a la cámara, situación que se controla con antipiréticos.

Efectos sobre la capacidad vital pulmonar:

Conocido como efecto *Lorrain-Smith*, descrito en 1899, el OHB genera una disminución de capacidad vital luego de 200hrs acumulativas o exposición de 10hrs continuas. [3, 32] por un efecto secundario a estrés oxidativo generado a nivel alveolar que favorece la deposición de colágena que genera disminución en la capacidad vital pulmonar. Se recomienda vigilancia estrecha a pacientes neumópatas y es una contraindicación para los pacientes con EPOC de patrón obstructivo, así como pacientes asmáticos. [3]



Facultad de Medicina



Efectos oculares:

Algunos pacientes pueden experimentar trastornos visuales transitorios conocidos como “miopía hiperbárica” por una deformación transitoria del globo ocular a grandes presiones. En el caso de ancianos, la hipermetropía la cual es común, el OHB genera un efecto favorable transitorio que es referido como mejoría visual. Sin embargo esta deformidad transitoria revierte al cabo de unos días de finalizar el tratamiento. [3, 33] Otro efecto en paciente con cataratas ya establecidas es que presentan una aceleración en su evolución, mas no en ojos sanos. Sin embargo, utilizando presiones máximas de 3 ATA con duraciones menores a 3 hrs, OHB resulta una modalidad segura con un margen terapéutico muy amplio que evita este tipo de complicación. [3, 34]

Medidas de seguridad y precauciones:

El medio generado por OHB acelera potencialmente el proceso de combustión por lo que existe un riesgo de deflagración importante. Se toman todas las medidas pertinentes como evitar al máximo el uso de productos combustibles en el interior de la cámara. La ropa utilizada por pacientes debe ser de algodón, se debe entrar sin aparatos electrónicos, libros, revistas o cualquier cosa que pueda generar electricidad estática ya que una pequeña descarga implica un riesgo mayor de producir una combustión. En cámaras multiplaza, la presurización se realiza con aire ambiental lo cual disminuye el riesgo. A pesar de esto el número de accidentes y de incendios reportados en centros hiperbáricos son contados. [3]



Facultad de Medicina



Indicaciones y Contraindicaciones de OHB:

Indicaciones:

Los múltiples usos de OHB han sido demostrados con medicina basada en evidencias por la UHMS y en Europa por la ECHM. En 2004 en Lille, Francia se realizó una conferencia de Consenso Internacional donde las condiciones de uso de OHB se clasificó en niveles de la A a la F donde las condiciones A, B, C se aceptaron como evidencia para aceptarse como indicaciones de OHB terapéuticas. [3].

Se categorizaron las recomendaciones en 3 diferentes [3]:

- I. Indicaciones preferentes: donde OHB constituye el único tratamiento eficaz o es esencial para su tratamiento junto con otras intervenciones clínico-terapéuticas.
- II. Indicaciones complementarias: OHB posee efecto benéfico, no es imprescindible pero ha sido probado en estudios clínicos y experimentales.
- III. Indicaciones experimentales: OHB posee un efecto terapéutico aceptable, interesante basado en una hipótesis terapéutica, aplicable a estudios controlados.



Facultad de Medicina



Tabla 2 Indicaciones de OHB [8]

CONDICIÓN	Aceptadas			No aceptadas		
	Nivel de Evidencia					
	A	B	C	D	E	F
Tipo I						
Intoxicación por monóxido de carbono		X				
Síndromes por aplastamiento		X				
Prevención de ostioradionecrosis después de extracción dental		X				
Ostioradionecrosis de mandíbula		X				
Radionecrosis de tejido blando (cistitis)		X				
Accidentes por descompresión (buceo)		X				
Embolismo gaseoso			X			
Infecciones por anaerobios o polimicrobianas			X			
Tipo II						
Lesiones por Pie Diabético		X				
Colgajo musculocutáneo e injerto cutáneo comprometidos			X			
Osteoradionecrosis de otros huesos			X			
Proctitis y enteritis por radiación			X			
Lesiones radioinducidas de tejidos blandos			X			
Cirugía e implantes en tejido radiado (acción preventiva)			X			
Sordera Súbita			X			
Ulceras isquémicas			X			
Osteomielitis crónica refractaria			X			
Neuroblastoma en estadio IV			X			



Facultad de Medicina



CONDICIÓN	Aceptadas			No aceptadas		
	Nivel de Evidencia					
	A	B	C	D	E	F
Tipo III						
Encefalopatía anóxico-isquémica			X			
Radionecrosis de laringe			X			
Lesión radioinducida de sistema nervioso central			X			
Síndrome de reperfusión vascular			X			
Reimplantación de miembros			X			
Quemaduras mayor a 20% superficie corporal y de 2º grado			X			
Episodios agudos isquémicos oftalmológicos			X			
Heridas crónicas de difícil cicatrización secundarias a procesos inflamatorios			X			
Pneumatosis cystoides intestinalis			X			
Otras Indicaciones (aun en estudio, falta evidencia sólida)						
Mediastinitis post-esternotomía				X		
Evento vascular cerebral				X		
Anemia de células falciformes				X		
Otitis externa maligna				X		
Infarto agudo de miocardio				X		
Necrosis de cabeza femoral				X		
Retinitis pigmentosa					X	
Tinnitus					X	
Cistitis Intestinal					X	
Parálisis de Bell					X	
Parálisis cerebral						X
Esclerosis Múltiple						X
Insuficiencia fetoplacentaria						X



Facultad de Medicina



Contraindicaciones:

La única contraindicación absoluta es el neumotórax no tratado para evitar el neumotórax a tensión.[31] Algunas requieren el planteamiento cuidadoso y como en todo tratamiento médico deberá valorarse el riesgo beneficio. El antecedente de toracotomía, antecedente de neumotórax espontáneo, *status epilepticus*, infecciones de vías respiratorias altas, dispepsias con meteorismo y flatulencias, sinusitis aguda y crónica, catarata ya establecida obligan a aumentar la cautela, sin embargo hay reportes de llevar a cabo terapéuticas de OHB pese a estas condiciones tomando las medidas y precauciones necesarias para evitar los efectos adversos. [3]

Anastomosis intestinales:

Antecedentes históricos:

En el siglo XIII se reporta por Lanfranc el uso de segmentos de tráquea para conectar intestinos los cuales fueron seccionados. En 1792 Ramdohr reseco un segmento de 2 pies de intestino con gangrena y reconectó los segmentos introduciendo el segmento proximal dentro del extremo distal invaginándolo y asegurándolo con algunos puntos de sutura. Cooper en 1804 realizó experimentos con suturas en intestinos de caninos. En 1824 Jobert realizó anastomosis termino-laterales en perros y gatos utilizando sutura cubierta con cera. En 1826 Lembert desarrolló la técnica de puntos invaginantes interrumpidos los cuales atraviesan las capas de la pared intestinal excepto por la mucosa. Bilioth 1881 realizó múltiples experimentos de anastomosis de intestino delgado en casos de obstrucción intestinal y en 1885 reportó un tratamiento exitoso de resección de cáncer de pílora realizando una gastro-duodenoanastomosis, procedimiento el cual continúa realizándose con el nombre de *procedimiento de Bilioth*. En 1890 Bilioth reportó una serie de 41 casos de gastrectomías por cáncer logrando una tasa de éxito de 46.5%. En 1884 Reybard reportó un caso de resección de cáncer de colon con anastomosis exitosa. En 1897 Shlatter realizó la primera gastrectomía total con anastomosis de esófago con asa de intestino delgado. [35]

Tipos de anastomosis intestinales:

Dentro técnicas para realizar anastomosis, se dividen en mecánicas y manuales. Dentro de las mecánicas, el uso de engrapadoras ha permitido realizar anastomosis cercanas al margen anal en cirugía colorectal y con menor tiempo quirúrgico. Sin embargo en múltiples estudios se ha demostrado que en la falla anastomótica es similar tanto en anastomosis manuales y el costo en las anastomosis mecánicas es mucho mayor.

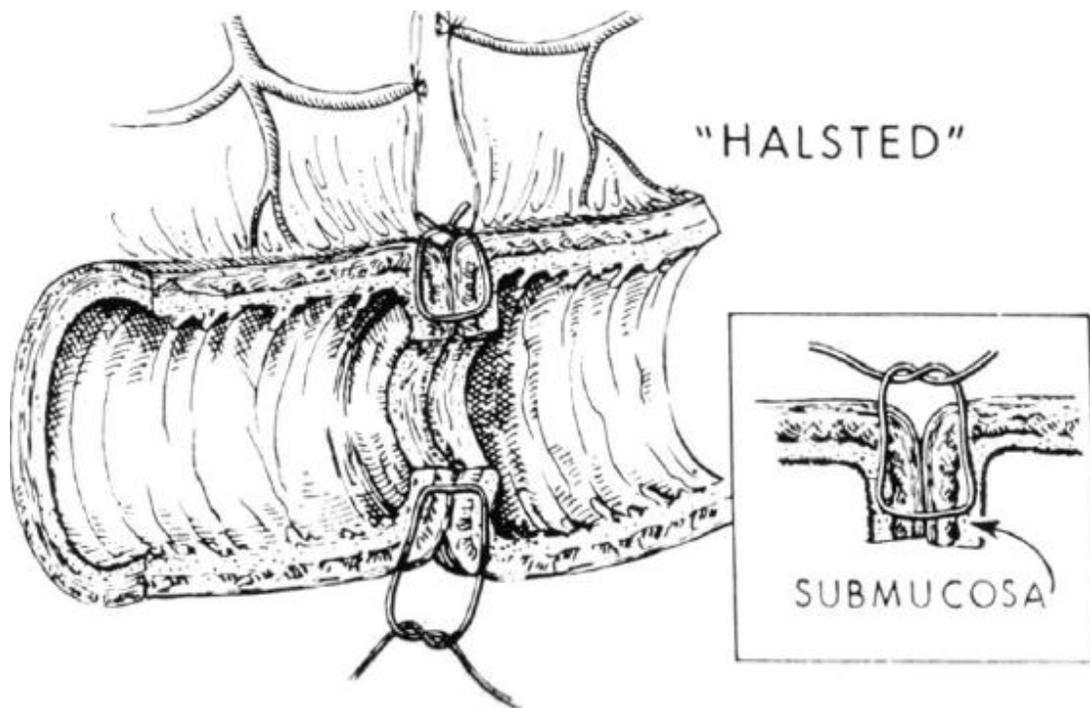


Facultad de Medicina



Si bien existen múltiples técnicas para la sutura manual gastrointestinal, se ha reportado resultados similares en múltiples técnicas. Las generalidades aceptadas son que un plano es suficiente, consume menor tiempo de cirugía, menor cantidad de recursos, y menor isquemia de la línea anastomótica que las anastomosis en 2 planos. También se probó que la falla anastomótica es menor con puntos en los cuales hay inversión más no eversión de la mucosa. En el siglo XIX Halsted propuso una sutura con puntos interrumpidos extramucosos los cuales han sido evaluados en múltiples estudios retrospectivos y prospectivos encontrando una falla anastomótica del 1.3 al 6% en múltiples circunstancias. [36]

Fig. 1 Esquema representativo de Puntos de Halsted. La mucosa no es atravesada por la sutura y tiende a invaginarse. [37]





Facultad de Medicina



Cicatrización del tracto gastrointestinal:

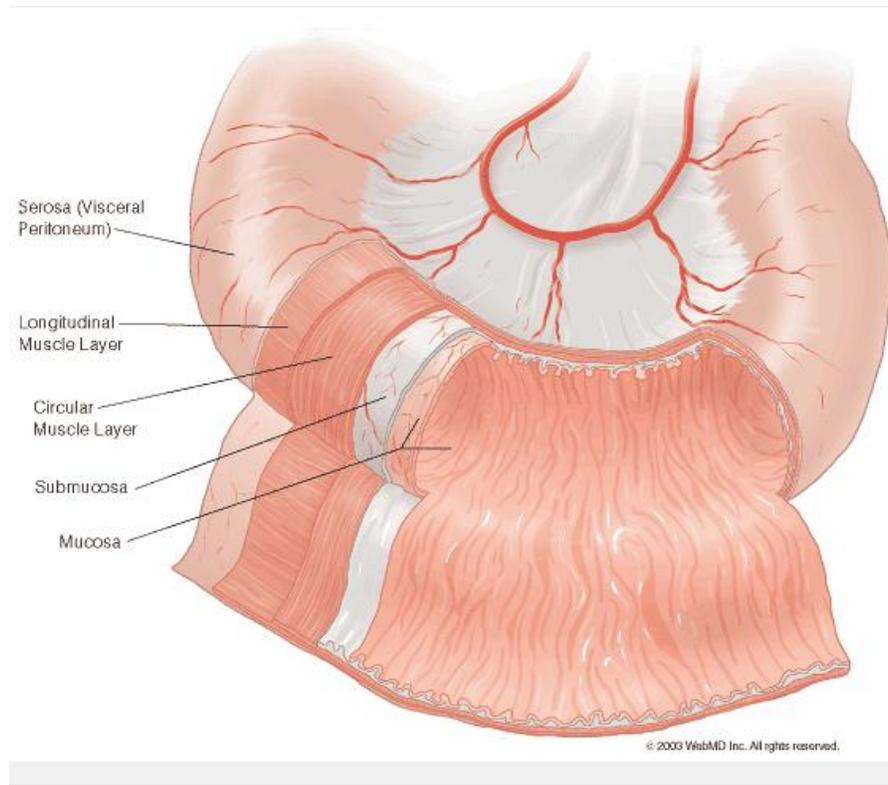
El tracto gastrointestinal ha sido el foco central en la cirugía general desde hace siglos, los procedimientos quirúrgicos gastrointestinales son los más comunes realizados. La cicatrización del tracto gastrointestinal representa un campo de estudio muy amplio por su complejidad. Las intervenciones terapéuticas para entender y modificar este proceso han sido objeto de investigaciones muy amplias. Se revisarán algunas generalidades para la aplicación de este estudio.

Anatomía:

El tracto gastrointestinal excepto por el esófago y el recto distal consiste en 4 capas. Mucosa, submucosa, muscular propia y serosa. [38] La mucosa se compone de 3 capas: epitelio (variable según la sección del tracto), lámina propia (vasos sanguíneos, linfáticos, células mesenquimatosas, inflamatorias) y muscular de la mucosa (músculo liso). La lesión causada a la mucosa durante la cirugía y la realización de anastomosis se repara por migración y proliferación de células epiteliales, sellando el defecto y creando una barrera impermeable a los contenidos luminales. La aposición directa de la mucosa en la técnica quirúrgica es clave para que se produzca dicho sello hermético y ocurre tan rápido como 72 hrs a comparación de si existe eversión o inversión de la mucosa. [38, 39]. La submucosa provee la mayor fuerza tensil y representa el anclaje para las suturas que mantienen la anastomosis íntegra. [38, 40] La submucosa consiste en tejido conectivo con matriz extracelular compuesta de colágena, fibras nerviosas, ganglios linfáticos, vasos sanguíneos y linfáticos. La colágena predominante es la tipo I (68%), seguida de tipo II (20%) y por último la tipo V (12%). La muscular propia se conforma de una capa circular interna y longitudinal externa de células de músculo liso entremezclada con fibras de colágena. La serosa es la capa externa del tracto gastrointestinal y contiene células mesoteliales, vasos sanguíneos y linfáticos. Las partes del tracto gastrointestinal libre de serosa (esófago y recto distal) tienen un riesgo mayor de falla anastomótica. [38].



Fig. 2: Capas histológicas del Tracto Gastrointestinal [36]

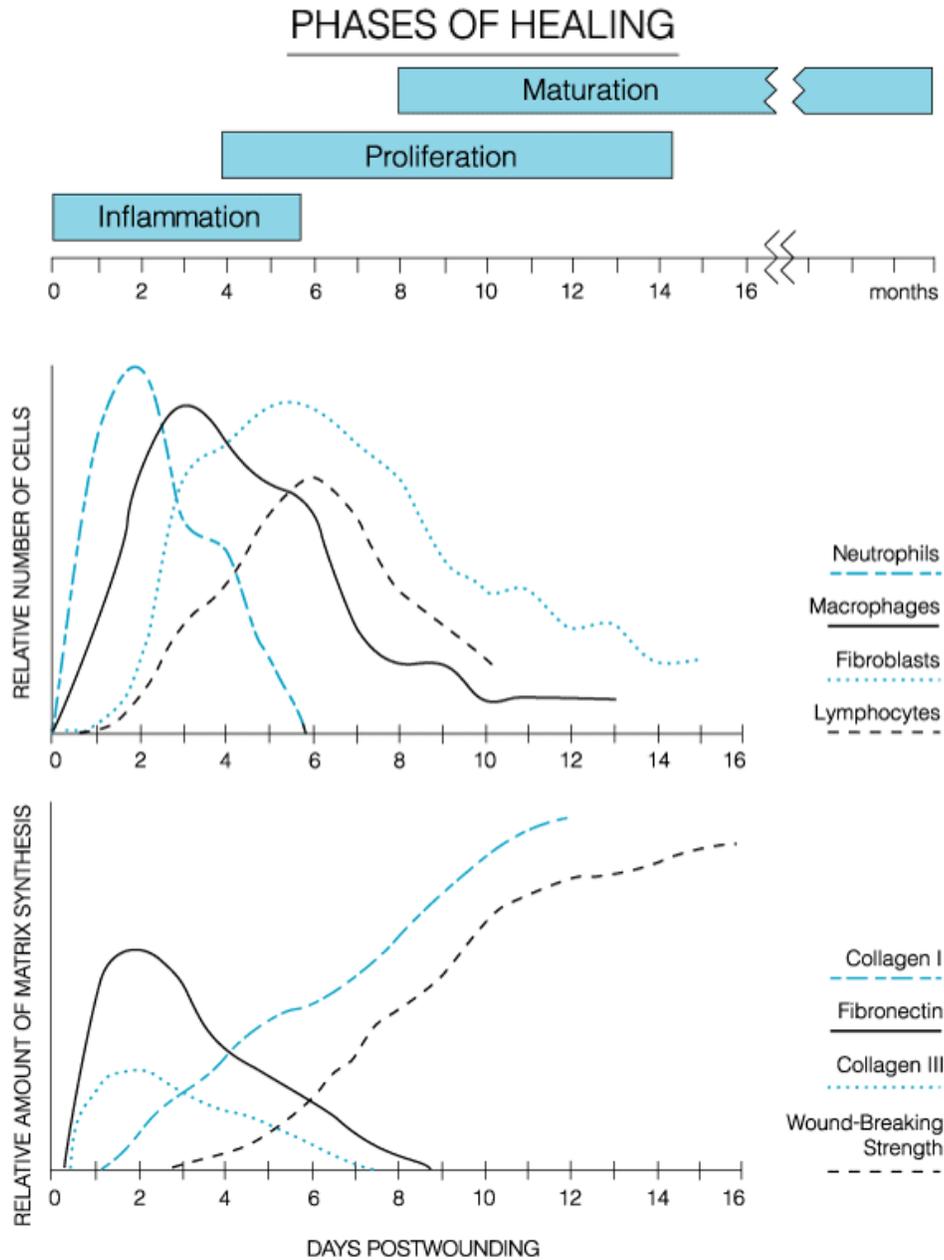


Fisiología de la cicatrización gastrointestinal:

Si la mucosa o la serosa son dañadas, sanan rápidamente por restitución epitelial sin generar tejido de cicatrización. Sin embargo las lesiones de espesor completo de la pared requieren mecanismos adicionales de reparación que involucran a poblaciones celulares no epiteliales, un proceso inflamatorio y respuesta fibroblástica que lleva a la formación de la cicatriz del tejido gastrointestinal. [38, 41]

John Hunter (1872-1793) describió “....La lesión sola tiene en sí la tendencia a producir la disposición y los medios para su cura”. La cicatrización de heridas tiene un patrón predecible que puede dividirse en fases que se traslapan definida por la población celular presente y la actividad bioquímica en diferentes fases: (a) hemostasia e inflamación (b) proliferación (c) maduración y remodelación. Es un proceso dinámico que abarca desde la lesión hasta la resolución hasta restablecer la integridad del tejido.

Fig. 3: fases de la cicatrización [42]





Facultad de Medicina

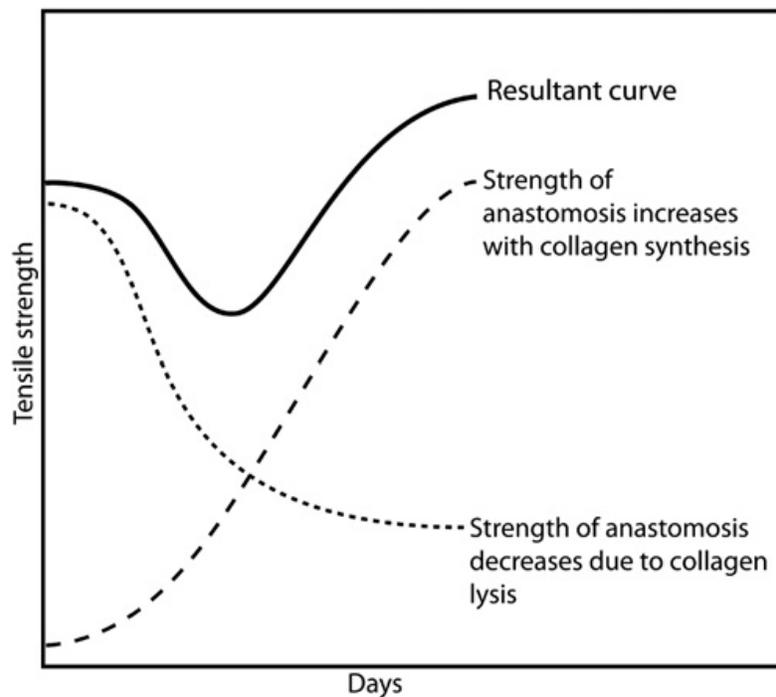


La agresión quirúrgica desencadena los mecanismos de cicatrización: hemostasia, vasoconstricción seguida de la vasodilatación y el aumento en la permeabilidad capilar (inducida por citocinas). Esto permite la diapedesis de polimorfonucleares (PMN) que marcan el inicio de la etapa inflamatoria, que se caracteriza también por formarse edema en la región subepitelial y en la submucosa, que puede persistir hasta 2 semanas. Los PMN predominan en las primeras 24 horas y los macrófagos predominan después de 48 horas, los cuales sintetizan y liberan factores de crecimiento que amplifican la respuesta de cicatrización. [38, 39]. La formación de un sello de fibrina en la serosa y la cicatrización de la serosa es esencial para que rápidamente se adquiera un sello hermético de una anastomosis. Se ha observado falla anastomótica con mayor frecuencia en los segmentos extraperitoneales que carecen de serosa, tal es el caso del esófago y el recto. En el recto la falla aumenta entre más cercana sea al margen anal, con un promedio de falla de 10% y reportándose en algunas series falla hasta del 70% en anastomosis ultrabajas. La integridad de la anastomosis depende también la fuerza de anclaje de la sutura en la submucosa. [38, 42] Una técnica quirúrgica adecuada, la aposición correcta de los tejidos, evitando inversiones o eversiones de la pared, así como el sello hermético son importantes para evitar la falla anastomótica en esta etapa.

En la fase proliferativa, aproximadamente a las 72 horas, la aparición de tejido de granulación aparece en la línea anastomótica. En esta etapa se da la síntesis y lisis de colágena, tanto por células de músculo liso como por fibroblastos [38, 43] aunque en mayor proporción en las primeras. La lisis de colágena se da por activación de colagenasas que contribuyen a la disminución de la fuerza anastomótica en esta etapa de cicatrización. [38, 43, 44]. **Se ha demostrado que la falla anastomótica, la dehiscencia o fuga es mayor durante los primeros 3 a 10 días.** Gradualmente los fibroblastos y las células de músculo liso inician a sintetizar colágeno que aumentan la fuerza y la integridad anastomótica de manera progresiva. **Claramente, cualquier factor que aumente la lisis de colágena o disminuya su síntesis resulta en una anastomosis débil con mayor riesgo de falla.** [38]. Es aquí donde se ve una oportunidad para el tratamiento con OHB, como ya se explicó hay un aumento en la síntesis de colágena, disminución de estrés oxidativo, y modulador de la respuesta inflamatoria.



Fig. 4. Contribución de la colagenolisis y colagenogénesis a la fuerza anastomótica general, la depresión en la curva resultante se da en los 3 a los 10 días de la anastomosis. [38]



El epitelio se restablece en su totalidad después de 1 a 2 semanas sobre un fondo granulomatoso que consiste en leiomiocitos y fibroblastos proliferando activamente. [38, 42, 45] **Siendo que el OHB aumenta el tejido de granulación de manera exuberante, puede contribuir a la reparación tisular y la cicatrización en la línea anastomótica.**

La fase final de la cicatrización involucra la maduración y la remodelación de la red de colágena la cual resulta en una anastomosis más delgada pero más fuerte. [38].



Facultad de Medicina



Factores que afectan la cicatrización del tracto gastrointestinal: falla anastomótica

Se definirá para fines de este trabajo como falla anastomótica la fuga o dehiscencia de una anastomosis.

Shakelford reporta hasta un 2 a 5% de falla anastomótica en colon en su parte intraperitoneal, cifra que aumenta de manera considerable hasta un 10% de falla en anastomosis colorectales.

H.K.Antosen reporta filtraciones globales para anastomosis rectales del 15% pero se analizan por nivel: las del tercio superior fallan 3.3%, para el tercio medio (anastomosis bajas) 22% y para el tercio inferior (ultrabajas) un 41%, con una mortalidad para los pacientes con falla anastomótica de del 2.8%. [46]

Hay varios factores que sin duda alteran el proceso complejo de cicatrización en una anastomosis, estos se pueden clasificar en locales o sistémicos y a su vez en intrínsecos y extrínsecos. [38] Se mencionarán los relacionados con el proyecto.

Tabla 3: Factores asociados con efectos negativos en la cicatrización de anastomosis:

Factores	Locales	Sistémicos
Intrínsecos	Tensión de anastomosis	Choque/Hipovolemia
	Hipoperfusión tisular	Sepsis
	Infección Local	Inmunodeficiencia
Extrínsecos	Lesión por radiación	Transfusiones
	Preparación intestinal	Medicamentos
		Desnutrición

Perfusión Tisular:

La mucosa intestinal es muy sensible a la isquemia la cual rápidamente progresa a un espesor total y de manera irreversible. La restauración del flujo sanguíneo a un segmento previamente isquémico lleva a una lesión por reperfusión causando daño tisular importante que frecuentemente excede los límites de la agresión isquémica original. Por lo tanto una anastomosis creada justo después de un evento de isquemia-reperfusión tiene una alta probabilidad de falla.



Facultad de Medicina



Una adecuada oxigenación es un requisito crítico para la hidroxilación de la lisina y la prolina para la formación de nuevos puentes de colágena. [38, 47] La formación de colágena falla cuando la PO₂ tisular cae por debajo de 40mmHg, y la angiogénesis, epitelización y la producción de factores de crecimiento se alteran cuando la PO₂ tisular cae por debajo de 10mmHg.[38, 48, 49] Se ha mostrado en modelos animales que el preacondicionamiento isquémico, la terapia con OHB, el uso de antioxidantes, anticomentos, antileucocitos, perfluorocarbonos, óxido nítrico y suplementación de glutamina/glicina ayudan a la perfusión tisular de las anastomosis. [38, 50].

La anemia por sí sola no promueve la falla anastomótica siempre y cuando se mantenga una perfusión tisular adecuada con volumen sanguíneo y gasto cardiaco conservados. Sin embargo, una hemorragia genera pérdida de factores de coagulación, deficiencia de vitamina C, lo cual sí puede afectar negativamente la fuerza anastomótica. [38]

Nutrición:

Los experimentos en animales con desnutrición crónica y aguda llevan a la conclusión de que la formación de colágeno se inhibe y se genera una disminución significativa en la fuerza de ruptura anastomótica intraluminal.[38] Se ha visto mayor número de dehiscencias en ratas desnutridas y por el contrario, un aumento en la capacidad de fijación de suturas a los tejidos en ratas bien nutridas. [38] La desnutrición genera una deficiencia en elementos cruciales para la síntesis de colágeno tales como vitamina A, C, Zinc, Cobre, así como también aumenta el riesgo de infección por la inmunosupresión secundaria. Kiyama *et al* realizaron anastomosis de colon con sepsis abdominal en un modelo experimental en ratas a los cuales se les dio comida a libre demanda de manera inmediata posterior a la cirugía demostrándose un efecto favorable, estadísticamente significativo, sobre la fuerza anastomótica de ruptura intraluminal “*Bursting Pressure*” así como la cantidad de colágena estructural en la anastomosis. [51]

Infección peritoneal y anastomosis:

La presencia de infección en la cavidad abdominal altera la cicatrización en la anastomosis. **La sepsis abdominal resulta en una disminución en la formación de colágena en las anastomosis y disminuye significativamente la fuerza de ruptura intraluminal [38, 52].** La disminución del contenido de colágena es provocada por disminución de la síntesis y el aumento en la colagenolisis por las colagenasas de la cavidad peritoneal y de los PMNs presentes en el evento inflamatorio-infeccioso [38, 53]. **La peritonitis también altera la expresión génica de la colágena.**

La presencia de sepsis abdominal representa un riesgo muy alto de falla anastomótica, por tal motivo la conducta quirúrgica actual evita la construcción e anastomosis primarias en la presencia de peritonitis fecal. No hay reportes exactos en la literatura respecto a la cifras duras de falla anastomótica en colon en presencia de sepsis abdominal con peritonitis fecal.



Facultad de Medicina



Actualmente la recomendación de guías clínicas en el caso de enfermedades que cursan con peritonitis fecal severa, en las que es necesaria la resección de un segmento afectado, es el *procedimiento de Hartmann* [54]: resección de colon, colostomía derivativa cierre de muñón de colon en bolsa de fondo de saco ciego, técnica descrita desde 1967 por Hartmann. Sin embargo, las pautas para el criterio de realizar un estoma han cambiado de acuerdo a la medicina basada en evidencia. La tendencia actual es realizar mayor número de anastomosis primarias tanto en lesiones traumáticas de colon así como en enfermedad diverticular complicada siempre y cuando la peritonitis no sea fecal, con la finalidad de evita una nueva agresión quirúrgica a los pacientes.

Otro aspecto importante a mencionar es la morbilidad y gastos que generan al paciente el someterse a *procedimiento de Hartmann*. Shakelford reporta que el procedimiento de restitución de tránsito conlleva una morbilidad muy alta hasta 30% por diversas causas y hasta un 16% de falla anastomótica. [54]

En el diagnóstico y tratamiento para enfermedad diverticular complicada y adaptable a otros tipos de peritonitis se puede utilizar frecuentemente la *clasificación de Hinchey*. [55]

Tabla 4: Clasificación de Hinchey para severidad de peritonitis: [55]

Grado	Descripción
Grado I	Inflamación de la grasa pericolónica o absceso pericólico
Grado II	Absceso Pélvico o distal
Grado III	Peritonitis purulenta generalizada
Grado IV	Peritonitis fecal generalizada

Algunas publicaciones y una revisión sistemática de diversos estudios en enfermedad diverticular reportan resultados favorables de anastomosis primaria aun en presencia de sepsis abdominal clasificación *Hinchey* III reportando únicamente una falla anastomótica de 3.6% en anastomosis primaria de colon aunque no recomiendan la anastomosis de colon en casos de peritonitis fecal *Hinchey* IV. [55-57]



Facultad de Medicina



Evaluación de la cicatrización intestinal: métodos de medición:

La mayor parte de la información de las características mecánicas de las anastomosis surge de los estudios experimentales en animales. La información relevante particularmente en una línea de tiempo y la respuesta de la cicatrización puede variar mucho de la práctica clínica, pero su importancia en la validación de principios biológicos no debe ser subestimada [38].

Los métodos para evaluar la integridad anastomótica pueden ser mecánicos y bioquímicos.

Los métodos bioquímicos incluyen la medición de la deposición de colágena determinando ya sea la cantidad de hidroxiprolina o mediciones directas de colágena. También se han utilizado métodos histológicos de tinciones, medición de cruces de colágeno, inmunohistoquímicas, cromatografías y microscopía electrónica. [38, 51]

Los métodos mecánicos incluyen la **fuerza de desgarro lineal “Breaking Strenght” (BS)** que mide la ruptura de la anastomosis con fuerzas longitudinales en contra de la anastomosis. Y la **fuerza de ruptura intraluminal “Bursting Pressure” (BP)** la cual mide la fuerzas intraluminales de la anastomosis. La BS es poco sensible para medir los cambios tempranos en la cicatrización, y se adquiere más lento que la BP. El 50% de la BS se adquiere a los 10 días de la agresión quirúrgica. El uso de BS ha sido criticada ya que es difícil aplicar una fuerza de igual magnitud en todo el perímetro anastomótico. **La BP se define como la fuerza en que hay disrupción anastomótica aplicando una fuerza intraluminal ya sea con agua o con aire medida con un sensor de presión en mmHg.** La BP es menor durante los 3 días después de realizada la anastomosis y aumenta progresivamente. **El 50% de la BP se adquiere a los 3 días del procedimiento y se aproxima al 100% a los 7 días. Por lo tanto la BP resulta una aproximación útil de medir los cambios mecánicos de la cicatrización en la primera semana de crear una anastomosis. [38, 45, 58-60]** BP se ha aplicado en múltiples estudios experimentales encontrando mediciones desde el día 3 de anastomosis hasta el 5º, 6º, 7º y 8º día de realizada la anastomosis. [51, 61-64]

Se reportó en el experimento de Kiyama *et al* que la media de la BP en anastomosis de colon en un experimento con un modelo de sepsis abdominal en ratas fue de 200 ± 11 mmHg [51] al día 7. En el estudio de Aytakin *et al* se midió la BP al 6º día de realizada una anastomosis utilizando el *modelo de sepsis CLP de Witcherman* en ratas reportándose BP media de 115 ± 5 mmHg y Kaemer *et al* realizaron experimentos de anastomosis de colon realizando mediciones de BP a las 72hrs y al día 5. [63] En el estudio de Kosmidis en ratas se realizaron anastomosis de colon izquierdo y se asignaron a 2 grupos, el primer grupo sacrificados en el día 3 encontrando una media de BP 20.6 ± 3.5 mmHg y en el día 7 una BP media 148.8 ± 9.6 mmHg en las cuales se vio un incremento significativo en miofibroblastos con al 7º día concluyendo que posterior a este el riesgo de falla anastomótica es mucho menor.[61]

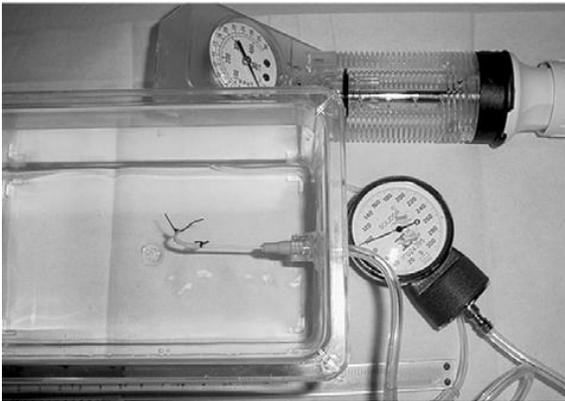


Facultad de Medicina



En el estudio realizado por Teke *et al* se realizó la medición *in vivo* de BP en anastomosis de colon izquierdo en ratas insertando un punzocat No. 16 vía anal, fijando con seda 3/0s el catéter y ligando una porción de colon proximal a la anastomosis con seda 3/0s. [65]

Fig. 5 y 6 : Modelo para medir BP utilizando un medidor aneroide de esfigomanómetro y llave de 3 vías. [66]



Modelos de sepsis abdominal en ratas y su correlación con sepsis en humanos:

Se considera actualmente que el modelo aceptado para reproducir la sepsis abdominal con peritonitis fecal es la ligadura de ciego y punción “*Cecal Ligature and Puncture*” (CLP) [67]. Descrito por Witcherman *et al* y modificado por varios autores como Kiyama *et al*. [51, 68]. El ciego en las ratas se liga por la mitad con una seda. Se punciona 2 veces el ciego con un punzocat No.18 y se regresa a la cavidad peritoneal, se produce una sepsis polimicrobiana fecal que simula estados como apendicitis, y enfermedad diverticular complicada. Se ha probado en múltiples animales tanto en ratas, ratones, borregos y perros con buenos resultados. [69]

La respuesta metabólica a la sepsis en humanos consta de 2 fases una hiperdinámica y una hipodinámica con transición clínica progresiva. En el *modelo de Witcherman*, en ratas, se produce una fase hiperdinámica temprana entre las 2 a 10 horas de la CLP caracterizada por un aumento en el gasto cardiaco, aumento en perfusión tisular, disminución de las resistencias vasculares y aumento en el consumo y distribución de oxígeno en tejidos periféricos. La fase hipodinámica de la sepsis ocurre a las 16 horas de la CLP caracterizada por disminución del gasto cardiaco, perfusión tisular disminuida, aumento en la resistencia vascular y disminución en la distribución de oxígeno.



Facultad de Medicina



Witcherman reporta una mortalidad de 98% a las 48hrs de la CLP. El modelo produce sepsis aguda sin embargo se puede inducir un estado crónico de sepsis disminuyendo el tamaño el catéter utilizado para la punción, el número de punciones, el uso de antibióticos y con apoyo hidroelectrolítico reanimando a la rata vía subcutánea o intraperitoneal con soluciones. En el estudio reportado por Kiyama *et al* [51, 68] se realizó una sola punción con una aguja No.23 en un grupo de 20 ratas reportándose la presencia de manifestaciones clínicas de sepsis: exudado ocular, piloerección, moco y diarrea, mismas que cedieron al realizarse la segunda laparotomía a las 24 horas haciendo resección del ciego perforado, administrando antibiótico y realizando un aseo peritoneal con una gasa húmeda con solución fisiológica 0.9%. Se reportó una supervivencia del 100%.

Existen otros modelos para sepsis abdominal tales como el modelo CASP (*colon ascendens stent peritonitis*) [67] que consiste en introducir un *stent* en colon ascendente, fijarlo para que drene de manera continua materia fecal a la cavidad peritoneal sin embargo requiere más tiempo y una técnica meticulosa con respecto al modelo CLP. También se ha utilizado el implante de coágulos infectados en cavidad, colonias aisladas de *E. coli* con resultados variables. Otro método que ha resultado efectivo es el de Brealy *et al* [67, 69] también utilizado en trabajos en el Hospital General de México por el Dr. Athié *et al* [70] que consiste en implantar materia fecal del mismo animal en la cavidad con una mortalidad del 40% a las 48hrs.

Caecal ligation and puncture (CLP)

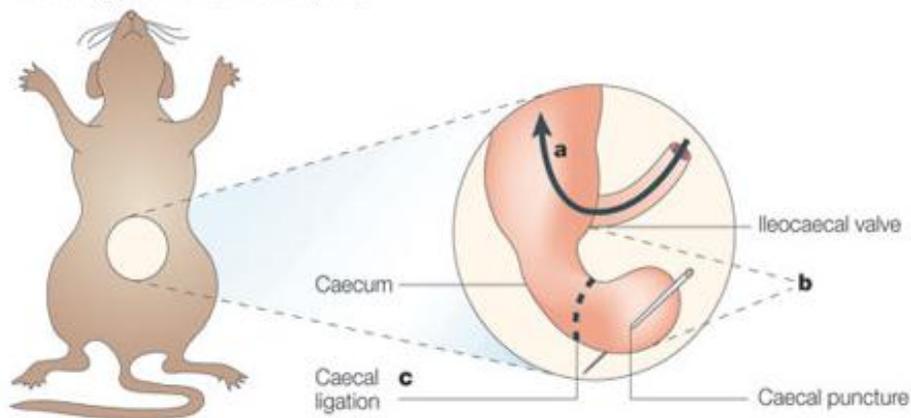


Fig. 7: esquema representativo de ligadura y punción de ciego (CLP) de Witcherman para modelo de sepsis abdominal [71]



Facultad de Medicina



Planteamiento del Problema:

El oxígeno hiperbárico es una modalidad terapéutica que ha demostrado ser efectiva en mejorar la respuesta de cicatrización de los tejidos y adyuvante en el tratamiento de procesos infecciosos y/o isquémicos. Se ha demostrado en algunos estudios que el uso de OHB tiene un efecto benéfico en condiciones de sepsis abdominal y también se ha hablado de su efecto potenciador de la respuesta de antibióticos. No hay estudios experimentales sobre cirugía gastrointestinal en presencia de sepsis abdominal en los cuales se utilice oxígeno hiperbárico.

Justificación:

La falla anastomótica resulta un problema significativo en la cirugía gastrointestinal, la morbilidad y mortalidad asociados son considerables y resultan en un alto costo hospitalario ya que su tratamiento implica gastos en antibióticos, nutrición parenteral, múltiples fármacos, laboratorios seriados, etc.

La sepsis abdominal aun representa un reto terapéutico para el cirujano y otros especialistas a pesar de los avances médicos y quirúrgicos. En patologías como enfermedad diverticular complicada, trauma de colon, apendicitis aguda complicada existe la posibilidad de requerir la resección de segmentos del tracto gastrointestinal y particularmente cuando existe una peritonitis severa o fecal se recomienda hacer cirugía derivativa con la formación de estomas y hacer un procedimiento diferido de restitución de tránsito intestinal. Las colostomías tienen implicaciones psicológicas, complicaciones, costos y cuidados que resultan indeseables para los pacientes. La tendencia quirúrgica actual es ser menos invasivos y realizar la menor proporción de cirugías en el mismo paciente por sus implicaciones en costos, estancia hospitalaria y morbimortalidad. En estudios y guías clínicas recientes se ha descrito la posibilidad de realizar anastomosis primaria de colon en pacientes con peritonitis localizada y también cuando es generalizada purulenta con resultados satisfactorios [55-57]. Sin embargo el proceso fisiopatológico de la sepsis abdominal severa con peritonitis fecal representa un problema para realizar anastomosis primaria, incluso se contraindica por su alta tasa de falla anastomótica [36, 51, 54-57].

El oxígeno hiperbárico es una alternativa segura y un coadyuvante terapéutico en muchos padecimientos que cursan con infección, hipoxia, isquemia y alteración de la cicatrización. La hiperoxigenación a altas presiones tiene múltiples efectos fisiológicos directos y terapéuticos indirectos con mínimos efectos secundarios o adversos: aumenta la síntesis de colágena, tiene un efecto bacteriostático y bactericida en múltiples patógenos, mejorar la perfusión, favorece la angiogénesis en tejidos con fondo isquémico, aumenta el efecto terapéutico post-antibiótico de



Facultad de Medicina



varios fármacos y tiene un costo accesible que puede reducir días de estancia hospitalaria y disminuir costos terapéuticos de algunas enfermedades. [3, 4, 7, 8]

Hipótesis:

El oxígeno hiperbárico en conjunto con antibiótico mejora la cicatrización, disminuye la inflamación y aumenta la fuerza intraluminal de ruptura “Bursting pressure” en anastomosis colon izquierdo en el modelo sepsis abdominal con peritonitis fecal de *Wichterman* en ratas *Wistar*.

Objetivos:

General:

Demostrar que la terapia con oxígeno hiperbárica en combinación con antibiótico mejora la cicatrización, disminuye la inflamación y aumenta la BP en las anastomosis de colon en presencia de peritonitis fecal.

Específicos:

Demostrar que la terapia de OHB con antibiótico aumenta la BP en la anastomosis de colon izquierdo en el modelo de *Wichterman* de sepsis abdominal con peritonitis fecal en ratas *Wistar*.

Determinar si es factible realizar anastomosis primaria de colon en presencia de peritonitis fecal peritonitis fecal si se utiliza terapia adyuvante con OHB y antibiótico.

Observar si con la terapia de OHB con antibiótico se encuentra como hallazgo quirúrgico un grado menor en la Escala de *Hinchey* para peritonitis.

Relacionar si el uso de OHB mejora la respuesta clínica de las ratas a la sepsis abdominal

Valorar si el uso de OHB con aumenta la formación y deposición de colágena, aumenta la neovascularización y disminuye la inflamación en la línea anastomótica en presencia de peritonitis.



Facultad de Medicina



Metodología:

Tipo y diseño del estudio:

Estudio experimental en modelo animal, tipo piloto, prospectivo, longitudinal y prolectivo.

Población y tamaño de la muestra:



28 ratas *Wistar* hembras 222 ± 11 gr. de 8 semanas de edad.

Fig. 8: Ratas *Wistar* utilizadas en el experimento

Tabla 5: organización de grupos en experimento:

Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
CLP	CLP	CLP	CLP
Enteroanastomosis	Enteroanastomosis	Enteroanastomosis	Enteroanastomosis
		OHB	OHB
	Antibiótico		Antibiótico



Facultad de Medicina



Recursos humanos y material utilizados:

Residente de 4º año de cirugía general

Médico especialista en medicina hiperbárica Dr. Ernesto Cuauhtémoc Sánchez Rodríguez

Médico especialista en patología Dr. Ludwing Erick González Mena

Médico especialista en Medicina Hiperbárica Dr. Ernesto Cuauhtémoc Sánchez Rodríguez

Material utilizado:

- 5 jaulas de acrílico con bebedero
- 28 ratas *Wistar* de 250gr. hembras
- Dieta similar para rata
- Viruta de madera para acondicionar jaulas
- 28 ratas *Wistar* hembras jóvenes 8 semanas edad entre 200-250gr. de peso
- Cámara hiperbárica para investigación en animales
- Equipo de cirugía menor
- 28 paquetes de sutupak sedas 3/0s
- 28 paquetes de sutupak sedas 4/0s
- 28 *Prolenes* 5/0s
- 3 Punzocat No. 22 o de menor diámetro
- 28 Punzocat No. 16
- 7 ampollas de amikacina 100mg. (aprox. 100mg x día)
- 2 tablas de corcho de 30 x 30cm
- Tachuelas
- Caja de clips
- Caja de ligas de hule
- 3 rollos de Tela adhesiva
- 3 frascos de clorhidrato de Xilazina y 3 frascos de clorhidrato de Ketamina
- Perilla de goma
- Cámara de OHB
- Esfingomanómetro
- Llave de 3 vías
- Solución Fisiológica 4 soluciones de 1000ml al 0.9%
- Lámpara de 100watts
- 60 Agujas No. 20
- 28 jeringas de 10ml
- 100 jeringas de insulina con aguja
- Gasas estériles.
- Cubrebocas
- Guantes No.7.5 10 pares.
- Equipo de protección universal
- Hisopos de Rayón estéril y medios de cultivo Agar Gelosa Sangre
- Guante para manipular ratas
- Rasuradora eléctrica.



Facultad de Medicina



Fig.9: jaulas de acrílico para conservación de ratas utilizadas

Ambiente:

Se mantuvieron a las ratas en jaulas de acrílico acondicionadas con viruta de madera, ciclos de luz-vigilia de 12 horas cada uno, proporcionándose dieta similar para roedor y agua *ad libitum*. La manipulación de animales se realizó con medidas de seguridad universales y el control del bioterio realizado por veterinario.

Lugar de realización de estudio:

Laboratorio de Zoonosis, Instituto de Investigaciones “Hideyo Noguchi”, Mérida Yucatán con la colaboración de el Dr. Ernesto Cuauhtémoc Sánchez Rodríguez médico especialista en Medicina Hiperbárica, Jefe de la Unidad de Medicina Hiperbárica Hospital “Agustín d’ Horán”, Mérida Yucatán (asesor colaborador) con el aval de la Universidad Autónoma de Yucatán por parte del Dr. Mario A. Barrera Pérez Responsable del Laboratorio de Zoonosis y otras Enfermedades de Transmisión por Vectores, del Instituto de Investigaciones “Hideyo Noguchi”, Mérida, Yucatán.

Aspectos éticos y de bioseguridad:

El protocolo se encuentra apegado a la Ley General de Salud y su Reglamento en Materia de Investigación, y las Guías de la conferencia Internacional de Armonización (ICH) sobre la Buena Práctica Clínica (GCP)

Criterios de inclusión, exclusión y eliminación:

Inclusión:

Ratas *Wistar* sanas, hembras, peso entre 200 a 250gr. de 8 semanas de edad

Exclusión:

Ratas a las que no se les realizó anastomosis de colon.

Eliminación:

Ratas que fallezcan durante el experimento

Ratas sin sepsis abdominal con cultivo negativo



Facultad de Medicina



Procedimiento:

1. Preparación para el experimento:

Se aplicó a todas las 28 ratas el modelo de sepsis abdominal CLP de *Witcherman* [51, 67-69, 71]. Se pesaron. A todas las ratas se les dio anestesia general con Ketamina (*Anesket* PiSA®*) 50mg/kg y Xilazina (*Procin* PiSA®*) 20mg/kg intra muscular.



Fig.10: anestésicos empleados Xylacina y Ketamina

2. Procedimiento CLP:

Se realizó laparotomía por línea media de aprox. 2cm. Se identificó el ciego y se ligó por la mitad con seda 4/0s

Se realizaron 2 punciones de ciego en cara mestenérica y antimesentérica con una aguja No.22 y se regresó el ciego a la cavidad abdominal. Se reanimaron con 100ml/kg con cristaloides solución fisiológica 0.9% vía subcutánea de acuerdo al esquema *Witcherman et al* [51] y se realizó cierre 1 plano de piel y pared abdominal con surgete de Nylon trenzado 4/0s (*Nurolon* Ethicon®*).

Se colocaron ratas en bajo una lámpara irradiante para evitar hipotermia.

Se les ofreció Agua y alimento similar *ad libitum*

Se inició observaron clínicamente a las 24 cada 12 horas valorando presencia de exudados oculares, diarrea, piloerección [51], moco nasal, reactividad/hiporreactividad, distensión abdominal e infección de herida quirúrgica.

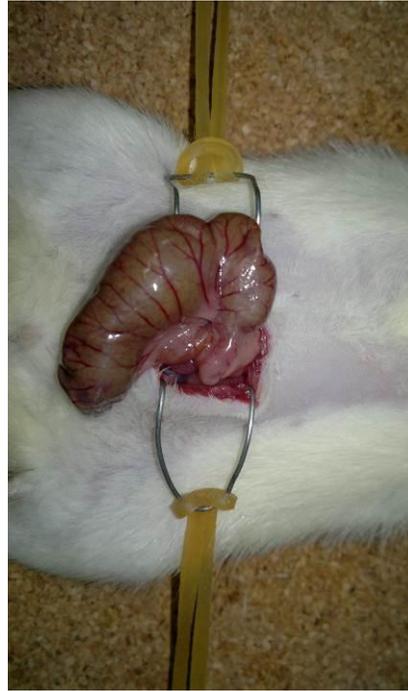


Fig. 11 y 12: Laparotomía e identificación de ciego



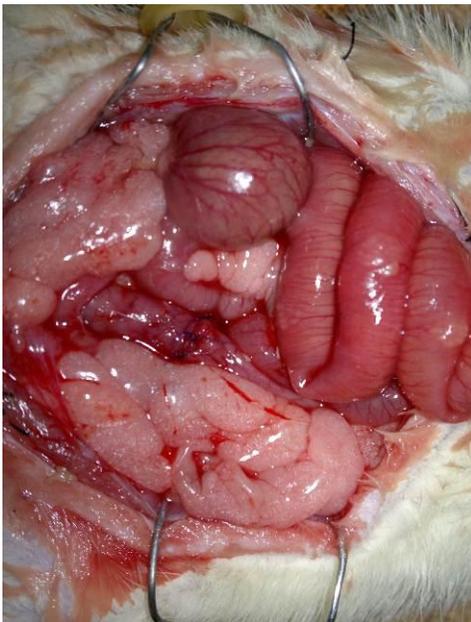
Fig. 13: Ligadura y punción de ciego con punzocat No. 22

3. Resección de ciego ligado y anastomosis de colon izquierdo

A las 24 horas de realizado el procedimiento quirúrgico de CLP
Anestesia general a las ratas.

Fig. 14: Aspecto isquémico del ciego y peritonitis fecal a las 24 horas de CLP

Se realizó Laparotomía por línea media ampliando incisión previa hasta 4cm, se tomaron muestras para cultivo con hisopo de rayón estéril en Agar Gelosa Sangre para cultivo polimicrobiano (*Dibico*®) y se realizó resección de ciego con hoja de bisturí con fines de eliminar el foco séptico de la cavidad abdominal. Se realizó aseo de cavidad abdominal con 40ml de solución fisiológica tibia.



Se identificó colon izquierdo 3 a 4cm arriba del margen anal, se realizó ventana en meso en porción avascular con pinza de Kelly y realizó sección completa del colon con bisturí. Se realiza anastomosis de colon con 8 a 10 puntos *Halsted* de *Prolene 5/0s* (*Serralene* Serral*®).

Se inició antibiótico Amikacina (GI) 15mg/kg vía intramuscular a **Grupo B y D únicamente**.

Se da reanimación con solución fisiológica al 0.9% tibia 100ml/kg vía subcutánea.

Fig. 15: Anastomosis de Colon Izquierdo



Facultad de Medicina



Se realiza cierre de cavidad en 1 plano con súrgete de Nylon 4/0s trenzado (*Nurolon** *Ethicon®*).

Se colocaron bajo lámpara irradiante para recuperación.

Se ofreció agua y dieta similar *ad libitum*

Se valoró respuesta clínica cada 12 horas con los parámetros ya mencionados.

4. Terapia con OHB:

A las 24 horas de realizada la anastomosis se inicia la terapia con OHB a los grupos **Grupo C, D** a terapia OHB 60mins a 2 ATA con O₂ al 100% + tiempo de presurización 2 veces por día.



Fig. 16, 17 y 18: Terapia con O₂ Hiperbárico a 2ATA. 60 minutos de tratamiento cada 12 horas no incluyendo el tiempo de la presurización y despresurización el cual tomó alrededor de 10 minutos cada uno.



5. Medición de la BP de la anastomosis de colon in vivo y eutanasia de animales:

Al 5º día de realizada la anastomosis

Bajo anestesia general se realizó laparotomía, se identificó grado de peritonitis por escala de *Hinchey* y se registró el hallazgo quirúrgico. Se localizó anastomosis de colon. Se ligó aproximadamente 2cm proximal a la anastomosis. Se introdujo camisa de punzocat 16 a través del ano identificando la entrada al lumen del colon por palpación fijándose al recto con seda 3.0s. Se conectó punzocat con llave de 3 vías a lector de mmHg aneroide y a insuflador. Se irriga cavidad con solución fisiológica y se insufló a intervalos de 20mmHg y se registrándose BP en mmHg al caer súbitamente la presión en el lector aneroide y al observar salida de burbujas de aire a través de la anastomosis.

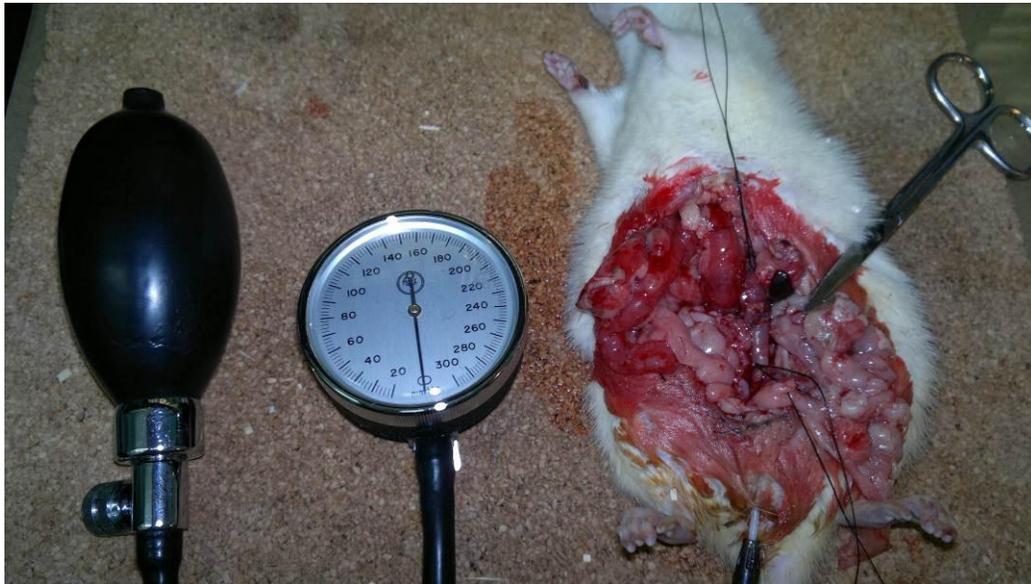


Fig. 19: Medición de "Bursting Pressure" con llave de 3 vías medidor e insuflador de un esfingomanómetro aneroide

- 6. Sección de la anastomosis de colon transversa y colocación en medio de conservación con formaldehído al 10% con buffer de fosfatos.**
- 7. Histopatología: tinción de Hematoxilina/Eosina y tricrómica de Masson.**



Facultad de Medicina



Definición de las variables:

Tabla 6: definición de variables

Tipo de Variable						
Nominal	Datos clínicos de respuesta inflamatoria sistémica: - Exudados oculares - Piloerección - Diarrea - Moco Nasal	Reactividad o Hiporreactividad	Presencia o ausencia de distensión abdominal	Presencia o ausencia de infección de herida quirúrgica	Presencia o ausencia de sepsis con positividad de cultivo	Presencia o ausencia de Plastrón Perianastomótico
	Presencia o ausencia de falla anastomótica	Presencia o ausencia de liquido libre en cavidad	Presencia o ausencia de absceso en cavidad	Presencia o ausencia de oclusión proximal a la anastomosis	Presencia o ausencia de abscesos criptoglandulares	Presencia o ausencia de peritonitis por histopatología
Ordinal	Escala de <i>Hinchey</i> : I, II, III y IV	Infiltrado Inflamatorio: +, ++, +++	Vasos de Neoformación: +, ++, +++	Colonias bacterianas +, ++, +++	Colágena +, ++, +++	
Continua	Peso en gr. De los animales.	<i>Bursting Pressure</i> en mmHg				



Facultad de Medicina



Cronograma de Actividades :

Documentación, elaboración de marco teórico y protocolo:

Julio 2011 a diciembre 2011

Experimentación:

1º de febrero a 7 de febrero 2012

Tabla 7: Cronograma de experimentación

Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
<ul style="list-style-type: none"> • Pesar Ratas • Anestesia general • Procedimiento CLP 	<ul style="list-style-type: none"> • Anestesia general • Inicio de antibiótico grupo B y D (día 0) • Toma de muestra para cultivo cavidad abdominal • Resección de ciego • Anastomosis de Colon izquierdo • Valorar respuesta clínica cada 12 horas 	<ul style="list-style-type: none"> • Anastomosis (día1) • Antibiótico grupo B y D (día 1) • Tratamiento con OHB grupo C y D (día 0) • Valorar respuesta clínica cada 12 hrs 	<ul style="list-style-type: none"> • Anastomosis (día2) • Antibiótico grupo B y D (día 2) • Tratamiento con OHB grupo C, D cada 12 hrs (día 1) • Valorar respuesta clínica cada 12 hrs
Día 5	Día 6	Día 7	
<ul style="list-style-type: none"> • Anastomosis (día3) • Antibiótico grupo B y D (día 3) • Tratamiento con OHB grupo C, D (día 2) • Valorar respuesta clínica cada 12hrs 	<ul style="list-style-type: none"> • Anastomosis (día 4) • Antibiótico grupo B y D (día 4) • Tratamiento con OHB grupo C, D (día 3) • Valorar respuesta clínica cada 12hrs 	<ul style="list-style-type: none"> • Anastomosis (día5) • Laparotomía y registro de escala <i>Hinchey</i> y hallazgos quirúrgicos • Medición <i>in vivo</i> de <i>Bursting Pressure</i> • Sacrificio de Ratas • Resección de Colon transverso • Colocan en medio de conservación la anastomosis. • Resultado de cultivos 	

Análisis estadístico y elaboración de conclusiones:

20 de febrero 2012 – 8 de mayo 2012

Presentación de tesis:

18 de mayo 2012



Facultad de Medicina



Relevancia y expectativas:

El conocimiento generado en este estudio podrá ser aplicable para múltiples procedimientos quirúrgicos gastrointestinales, que cursen con sepsis abdominal. Si se demuestra que el OHB genera una mejoría en la calidad anastomótica, será una base importante para realizar más estudios experimentales en otros modelos animales que eventualmente lleven a reconsiderar los principios quirúrgicos en el manejo de paciente séptico que requiera resecciones gastrointestinales. El modelo es aplicable a diferentes patologías tales como enfermedad diverticular complicada, apendicitis aguda complicada, trauma de colon en los cuales se debe valorar si se realiza una anastomosis o un procedimiento derivativo como colostomía. Éste estudio incluso puede retar los paradigmas actuales sobre las anastomosis en presencia de sepsis abdominal severa con peritonitis fecal ya que la tendencia actual es realizar procedimientos derivativos en presencia de sepsis fecal abdominal. Es factible publicarse el trabajo, realizar carteles, y generar una línea de investigación nueva en aplicaciones de terapia con OHB en cirugía gastrointestinal.



Facultad de Medicina



Resultados:

Día 1

Se realiza a 28 ratas hembra Wistar entre 200 y 250gr. procedimiento “*Cecal Ligature and Puncture*” de Witcherman *et al.*

Se organizan los grupos experimentales de la siguiente manera:

Tabla 8: Día 1

Grupo A Grupo Control CLP + Anastomosis	Peso	Grupo B Grupo de Antibiótico CLP + Anastomosis	Peso	Grupo C Grupo de OHB CLP + Anastomosis	Peso	Grupo D Grupo OHB + Antibiótico CLP + Anastomosis	Peso
1 a	210	1b	220	1c	215	1d	210
2 a	213	2b	215	2c	220	2d	230
3 a	215	3b	235	3c	232	3d	210
4 a	205	4b	240	4c	225	4d	225
5 a	230	5b	215	5c	215	5d	240
6 a	225	6b	210	6c	230	6d	220
7 a	228	7b	245	7c	235	7d	225

Día 2

A las 24 horas se encuentra que fallecieron 6 ratas por sepsis abdominal. Se realizan 20 procedimientos quirúrgicos de resección de ciego y anastomosis de colon izquierdo quedando 2 ratas con CLP a las cuales no se les realizó la anastomosis las cuales se excluyeron del estudio. Se reasignan los grupos de la siguiente manera. Se inicia el antibiótico en **Grupo B y Grupo D** amikacina 15mg/kg IM c/24hrs al término de la anastomosis de colon. Se inicia la observación clínica de los animales cada 12 horas.

Tabla 9: día 2

Grupo A Grupo Control CLP + Anastomosis	Grupo B Grupo de Antibiótico	Grupo C Grupo OHB CLP + Anastomosis	Grupo D Grupo OHB + Antibiótico CLP + Anastomosis
1 a	1 b	1 c	1 d
2 a	2 b	2 c	2 d
3 a	3 b	3 c	3 d
4 a	4 b	4 c	4 d
5 a	5 b	5 c	5 d



Se valora la presencia de signos de respuesta inflamatoria sistémica descrita en experimentos previos: Exudados oculares (**E**), Piloerección (**P**), Diarrea (**D**), Exudado nasal mucoso (**M**) así como la reactividad de las ratas definiéndose como reactivas a las ratas las cuales tienen una respuesta rápida al intentar colocarlas en decúbito supino (**R**) o bien si presentaban una respuesta lenta al intentar colocarlas en decúbito supino (**H**). Se valoró la presencia o ausencia de Distensión abdominal, la cual era palpable como un abdomen tenso y doloroso. Se evaluó la presencia o ausencia de infección de herida quirúrgica observándose en éste caso si había observación de eritema en la herida y salida de material purulento a través de la misma.

Fig. 20: Infección de Herida Quirúrgica con salida de material purulento a través de la misma y bordes eritematosos

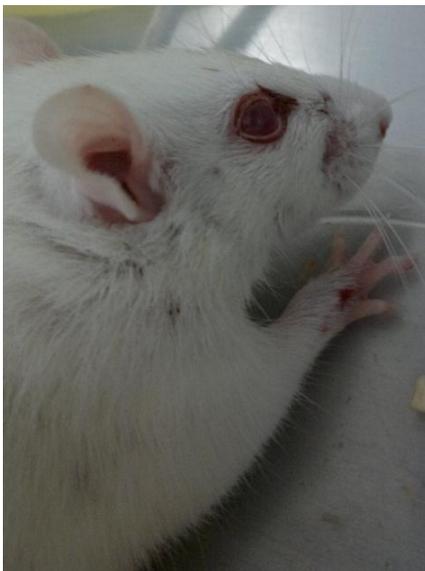


Fig. 21(izq): Exudados Oculares



Fig. 22 (der): Piloerección



Facultad de Medicina



Observación clínica de animales de experimentación. Además se tomaron muestras de líquido peritoneal para cultivo en Agar Gelosa Sangre, los cuales se conservaron en medio ambiente.

Tabla 10: resultados día 2

Día de Experimento: 2		Día Antibiótico: 0				Día Anastomosis: 1			
Hrs. transcurridas CLP		24hrs				36hrs			
Grupo	Sujeto	Resp.Inflam	Reactividad	Distensión	Infección	Resp.Inflam	Reactividad	Distensión	Infección
A	1 a	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	2 a	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	3 a	E P	H	-	-	E P	R	-	-
	4 a	E P	R	-	-	E P	H	-	-
	5 a	E P	R	-	-	E P	R	-	-
B	1 b	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	2 b	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	3 b	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	4 b	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	5 b	E P	R	-	-	E P	R	-	-
C	1 c	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	2 c	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	3 c	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	4 c	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	5 c	E P	H	-	-	E P	R	-	-
D	1 d	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	2 d	E P	R	-	-	E P	H	-	-
	3 d	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	4 d	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	5 d	E P	R	-	-	E P	R	-	-

(E) Exudados Oculares (P) Piloerección (M) Exudado Mucoso Nasal (D) Diarrea (R) Reactividad (H) Hiporreactividad



Facultad de Medicina



Día 3:

Se inicia tratamiento con OHB a **Grupo C y Grupo D**. Se dan 2 sesiones por día de 60 minutos cada una a 2 ATA + tiempo de presurización. Fallece sujeto 3c por la tarde por sepsis abdominal sin falla anastomótica.

Sesión 1 OHB

Inicia presurización OHB: 15:32
23:33
Inicia tratamiento OHB: 15:43
Termina tratamiento OHB: 16:43
00:44
Termina presurización: 16:54

Sesión 2 OHB

Inicia presurización OHB:

Inicia tratamiento OHB: 23:44
Termina tratamiento OHB:

Termina presurización: 00:50

Tabla 11: resultados día 3

Día de Experimento: 3		Día Antibiótico: 1				Día Anastomosis: 1		Día OHB: 1	
Hrs. transcurridas CLP		48hrs				60hrs			
Grupo	Sujeto	Resp.Inflam	Reactividad	Distensión	Infección	Resp.Inflam	Reactividad	Distensión	Infección
A	1 a	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	2 a	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	3 a	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	4 a	E P	H	-	-	E P	H	+	+
	5 a	E P	H	-	-	E P	H	-	-
B	1 b	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	2 b	E P	R	-	-	E	R	-	-
	3 b	E P	R	-	-	E	R	-	-
	4 b	E P	R	-	-	E	R	-	-
	5 b	E P	R	-	-	E P	R	-	-
C	1 c	E P	R	-	-	E	R	-	-
	2 c	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	3 c	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	4 c	E P	R	-	-	E P	R	-	-
	5 c	E P	H	-	-	† Fallece			
D	1 d	E P	R	-	-	E	R	-	-
	2 d	E P	H	-	-	E P	H	-	+
	3 d	E P	R	-	-	E	R	-	-
	4 d	E P	R	-	-	E P	H	-	+
	5 d	E P	R	-	-	E	R	-	-

(E) Exudados Oculares (P) Piloerección (M) Exudado Mucoso Nasal (D) Diarrea (R) Reactividad (H) Hiporreactividad



Facultad de Medicina



Día 4:

Se observó el día de hoy que TODOS los cultivos fueron positivos para *Escherichia coli* de acuerdo a las especificaciones del fabricante de Gelosa mostrando colonias bacterianas grandes y grisáceas así como, colonias de *Staphylococcus aureus*.

Sesión 3 OHB

Inicia presurización OHB: 8:22
 Inicia tratamiento OHB: 8:32
 Termina tratamiento OHB: 9:32 :
 Termina presurización: 9:42

Sesión 4 OHB

Inicia presurización OHB: 19:08
 Inicia tratamiento OHB: 19:18
 Termina tratamiento OHB: 20:18
 Termina presurización: 20:25

Tabla 12: resultados día 4

Día de Experimento: 4		Día Antibiótico: 2			Día Anastomosis: 2		Día OHB: 2			
Hrs. transcurridas CLP		72hrs				84hrs				
Grupo	Sujeto	Resp.Inflam	Reactividad	Distensión	Infección	Resp.Inflam	Reactividad	Distensión	Infección	Cultivo
A	1 a	E	R	-	-	E P	R	+	-	+
	2 a	E P	R	-	-	E	R	-	-	+
	3 a	E P	R	-	-	E P	R	+	-	+
	4 a	E P	H	-	+	†Fallece				+
	5 a	† Fallece								+
B	1 b	E	R	-	-	E	R	-	-	+
	2 b	E P	R	-	-	E P	H	+	+	+
	3 b	E	R	-	-	E P	H	+	-	+
	4 b	E	R	-	-	E	R	-	-	+
	5 b	E	R	-	-	E	R	-	-	+
C	1 c	E	R	-	-		R	-	-	+
	2 c	E	R	-	-		R	-	-	+
	3 c	E	R	-	-	E	R	-	-	+
	4 c	E	R	-	-		R	-	-	+
	5 c									+
D	1 d		R	-	-		R	-	-	+
	2 d	† Fallece								+
	3 d		R	-	-		R	-	-	+
	4 d	E P D	H	+	+	E P D	H	+	+	+
	5 d		R	-	-		R	-	-	+

(E) Exudados Oculares (P) Piloerección (M) Exudado Mucoso Nasal (D) Diarrea (R) Reactividad (H) Hiporreactividad



Facultad de Medicina

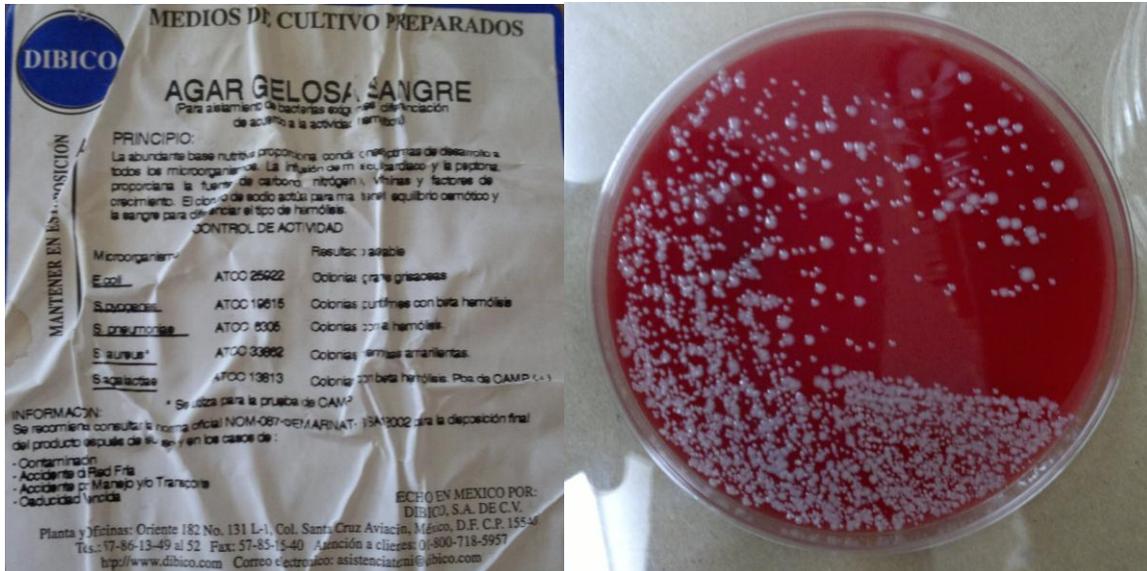


Fig. 23 y 24: El 100% de los cultivos fueron positivos al día 4 del experimento, a las 48 horas de realizada la siembra en las placas. Se acuerdo a las especificaciones del fabricante del Agar Gelosa Sangre DIBICO® las colonias crecidas corresponden a *E. coli* con colonia blanco grisáceas blancas y a *S. aureus* con colonias blancas amarillentas.



Facultad de Medicina



Día 5:

Sesión 6 OHB

Inicia presurización OHB: 7:11
15:20
Inicia tratamiento OHB: 7:21
Termina tratamiento OHB: 8:21
16:30
Termina presurización: 8:31

Sesión 7 OHB

Inicia presurización OHB:
Inicia tratamiento OHB: 15:30
Termina tratamiento OHB:
Termina presurización: 16:40

Tabla 13: resultados día 5

Día de Experimento: 5		Día Antibiótico: 3				Día Anastomosis: 3				Día OHB: 3			
Hrs. transcurridas CLP		96hrs				112hrs							
Grupo	Sujeto	Resp.Inflam	Reactividad	Distensión	Infección	Resp.Inflam	Reactividad	Distensión	Infección				
A	1 a	E	R	+	-	E	R	+	-				
	2 a	E P	H	-	+	E P M	H	+	+				
	3 a	E P M	H	+	+	E P M	R	+	+				
	4 a												
	5 a												
B	1 b	E	R	-	-		R	-	-				
	2 b	E M	R	-	+	E P	H	+	-				
	3 b	E	R	-	-	E	R	+	-				
	4 b	E	R	-	-		R	-	-				
	5 b	E	R	-	-		R	-	-				
C	1 c		R	-	-		R	-	-				
	2 c		R	-	-		R	-	-				
	3 c		R	-	-		R	-	-				
	4 c		R	-	-		R	-	-				
	5 c												
D	1 d		R	-	-		R	-	-				
	2 d												
	3 d		R	-	-		R	-	-				
	4 d	E P M D	H	-	+	E P M D	H	+	+				
	5 d		R	-	-		R	-	-				

(E) Exudados Oculares (P) Piloerección (M) Exudado Mucoso Nasal (D) Diarrea (R) Reactividad (H) Hiporreactividad



Facultad de Medicina



Día 6:

Sesión 8 OHB

Inicia presurización OHB: 8:25
18:21
Inicia tratamiento OHB: 8:35
Termina tratamiento OHB: 9:35
19:32
Termina presurización: 9:45

Sesión 9 OHB

Inicia presurización OHB:

Inicia tratamiento OHB: 18:32
Termina tratamiento OHB:

Termina presurización: 19:38

Tabla 14: resultados día 6

Día de Experimento: 6		Día Antibiótico: 4				Día Anastomosis: 4				Día OHB: 4			
Hrs. transcurridas CLP		124hrs				136hrs							
Grupo	Sujeto	Resp.Inflam	Reactividad	Distensión	Infección	Resp.Inflam	Reactividad	Distensión	Infección				
A	1 a	E	R	+	-	E M D	H	-	-				
	2 a	E P	R	+	+	E M D	H	+	+				
	3 a	E M	R	+	+	E D	H	-	+				
	4 a												
	5 a												
B	1 b	E	R	-	-		R	-	-				
	2 b	E M D	H	-	-	E M	H	-	-				
	3 b		R	-	-		R	-	-				
	4 b		R	-	-		R	-	-				
	5 b	D	R	-	-		R	-	-				
C	1 c		R	-	-		R	-	-				
	2 c	D	R	-	+	D	R	-	+				
	3 c	D	R	-	-	D	R	-	-				
	4 c		R	-	-		R	-	-				
	5 c												
D	1 d		R	-	-		R	-	-				
	2 d												
	3 d		R	-	-		R	-	-				
	5 d	† Fallece											
	5 d		R	-	-		R	-	-				

(E) Exudados Oculares (P) Piloerección (M) Exudado Mucoso Nasal (D) Diarrea (R) Reactividad (H) Hiporreactividad



Facultad de Medicina



Día 7:

Día de medición de “Bursting Pressure” se sometieron a anestesia general, se introduce Punzocat No.16 a través del recto, se fija con seda 3.0s y se liga por arriba de anastomosis con seda 3.0s. Se mide BP con insuflador y medidor de un esfigmomanómetro aneroide conectado a llave de 3 vías. Se determina escala de Hinchey y se reporta hallazgo quirúrgico.

Tabla 15: resultados día 7, Hinchey y BP

Día de Experimento: 7		Día Antibiótico: 5				Día Anastomosis: 5		
Hrs. transcurridas CLP		148hrs						
Grupo	Sujeto	Resp.Inflam	Reactividad	Distensión	Infección	Hinchey	Bursting Pressure mmHg	Hallazgo Quirúrgico
A	1 a	E M	H	-	-	III	<10	Plastrón perianastomótico, falla anastomótica, líquido libre
	2 a	E P M	H	+	+	III	<10	Plastrón perianastomótico, falla anastomótica, obstrucción proximal a la anastomosis, liq libre
	3 a	E M	H	-	+	III	<10	Plastrón perianastomótico, falla anastomótica
	4 a							
	5 a							
B	1 b	E	R	-	-	I	<10	Plastrón perianastomótico, falla anastomótica, oclusión proximal a la anastomosis
	2 b	E M	H	-	-	I	<10	Plastrón perianastomótico, falla anastomótica, oclusión proximal a la anastomosis
	3 b		R	-	-	I	<10	Plastrón perianastomótico, falla anastomótica, oclusión proximal a la anastomosis
	4 b		R	-	-	III	45	Plastrón perianastomótico, anastomosis íntegra, oclusión proximal a la anastomosis, líquido libre
	5 b		R	-	-	III	50	Plastrón perianastomótico, anastomosis íntegra, líquido libre
C	1 c		R	-	-	I	50	Plastrón perianastomótico, anastomosis íntegra.
	2 c		R	-	-	III	<10	Plastrón perianastomótico, falla anastomótica, líquido libre
	3 c		R	-	-	III	60	Plastrón perianastomótico, anastomosis íntegra, líquido libre en cavidad
	4 c		R	-	-	III	<10	Plastrón perianastomótico, falla anastomótica, líquido libre
	5 c							
D	1 d		R	-	-	I	100	Plastrón perianastomótico, anastomosis íntegra
	2 d							
	3 d		R	-	-	I	95	Plastrón perianastomótico, anastomosis íntegra
	4 d							
	5 d		R	-	-	I	90	Plastrón perianastomótico, anastomosis íntegra

(E) Exudados Oculares (P) Piloerección (M) Exudado Mucoso Nasal (D) Diarrea (R) Reactividad (H) Hiporreactividad



Facultad de Medicina



Resultados de la histopatología:

Se encontró que 100% de los cortes presentaban algún grado histopatológico de peritonitis ya que en todas las muestras cuando menos se encontró presencia de células inflamatorias en la serosa del colon así como bacterias en grados variables dependiendo el grupo. Las observaciones se realizaron a 5x, 10x y 40x. Se realizó una valoración cualitativa en tinción Hematoxilina/Eosina y en tricrómica de Masson:

Hematoxilina/Eosina:

1. Infiltrado de células inflamatorias: +, ++ ó +++
2. Vasos de neoformación en línea anastomótica: +, ++ ó +++
3. Presencia de colonias bacterianas: +, ++ ó +++
4. Presencia de Edema y Absceso Criptoglandular

En tinción tricrómica de Masson:

1. Valoración de síntesis de colágena: +, ++ ó +++

Grupo	Sujeto	Hematoxilina /Eosina						Tricrómico Masson
		Peritonitis	Infiltrado Inflamatorio	Vasos de Neoformación	Colonias Bacterianas	Absceso Criptoglandular	Edema	Colágena
A	1 a	+	+++	++	+++			+
	2 a	+	+++	++	+++	+		+
	3 a	+	+++	+++	+++			++
	4 a							
	5 a							
B	1 b	+	+++	++	+			++
	2 b	+	+++	+++	+++	+		+
	3 b	+	+++	++	+		+	++
	4 b	+	+++	++	+			+
	5 b	+	+++	++	+		+	+
C	1 c	+	++	++	+		+	++
	2 c	+	++	++	+	+		++
	3 c	+	+++	++	++			+++
	4 c	+	++	+++	+			++
	5 c							
D	1 d	+	+	+++	+			+++
	2 d							
	3 d	+	+	+++	+			+++
	4 d							
	5 d	+	++	+++	+		+	+++

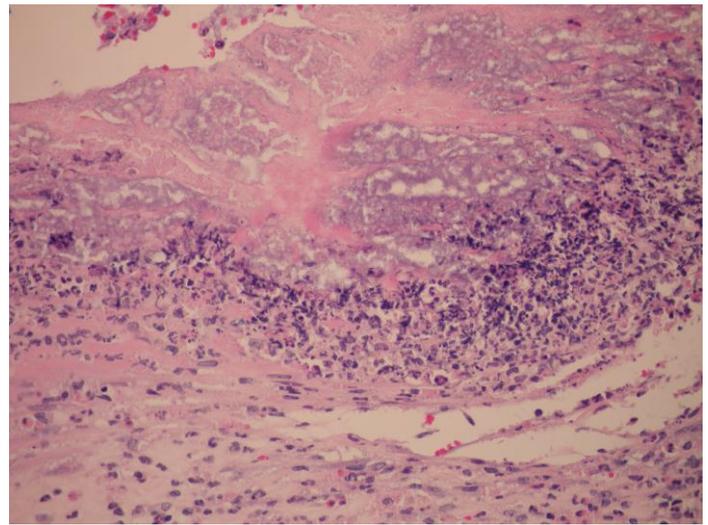


Fig.25 (izq.) 5x y fig. 26 (der) 40x Grupo A (2a): Tinciones de Hematoxilina/Eosina con absceso criptoglandular, infiltrado inflamatorio +++, vasos de neoformación ++, colonias bacterianas +++

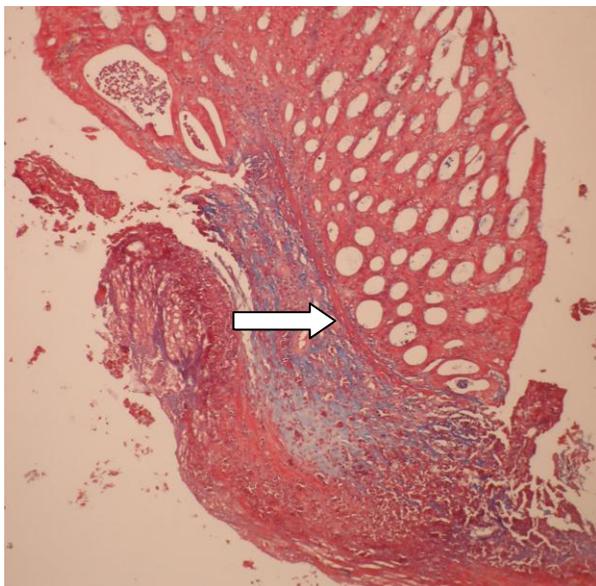
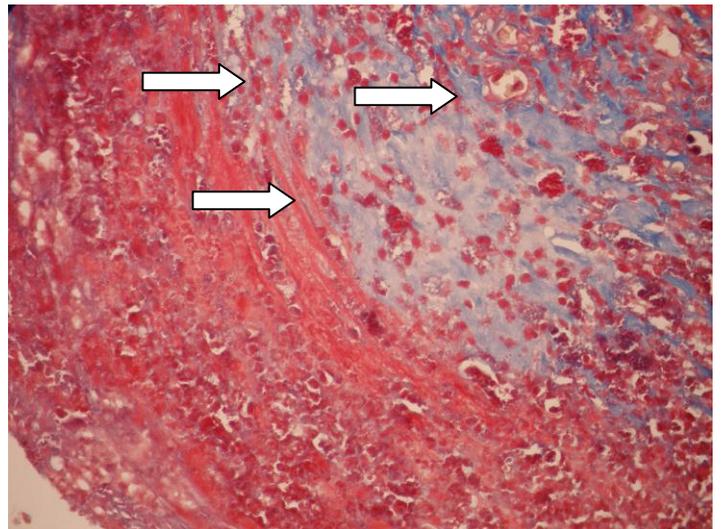


Fig. 27 (izq.) 5x y fig. 28(der.) 40x : Grupo A (2a) : Tinción tricrómica de Masson con fibras de colágena dispersas +



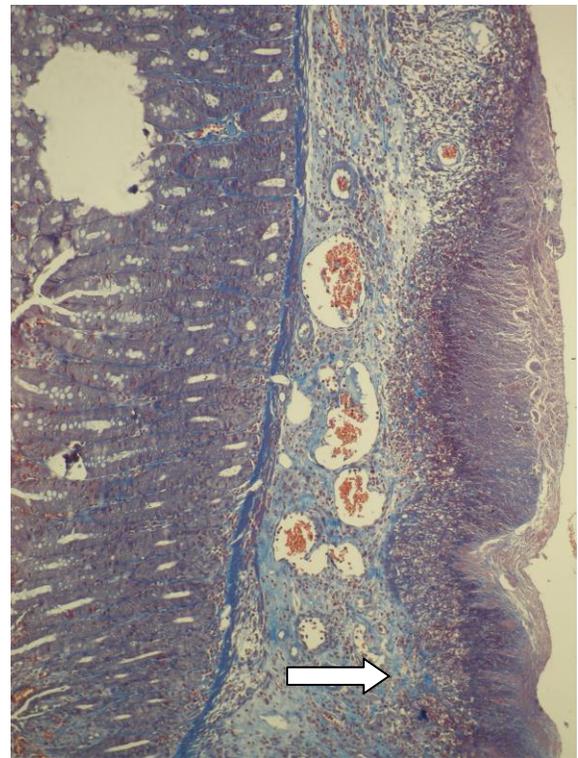
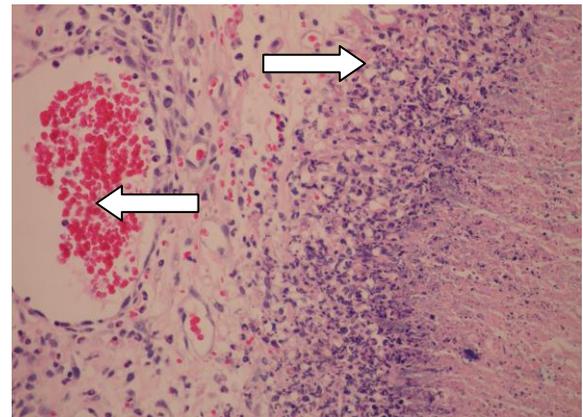
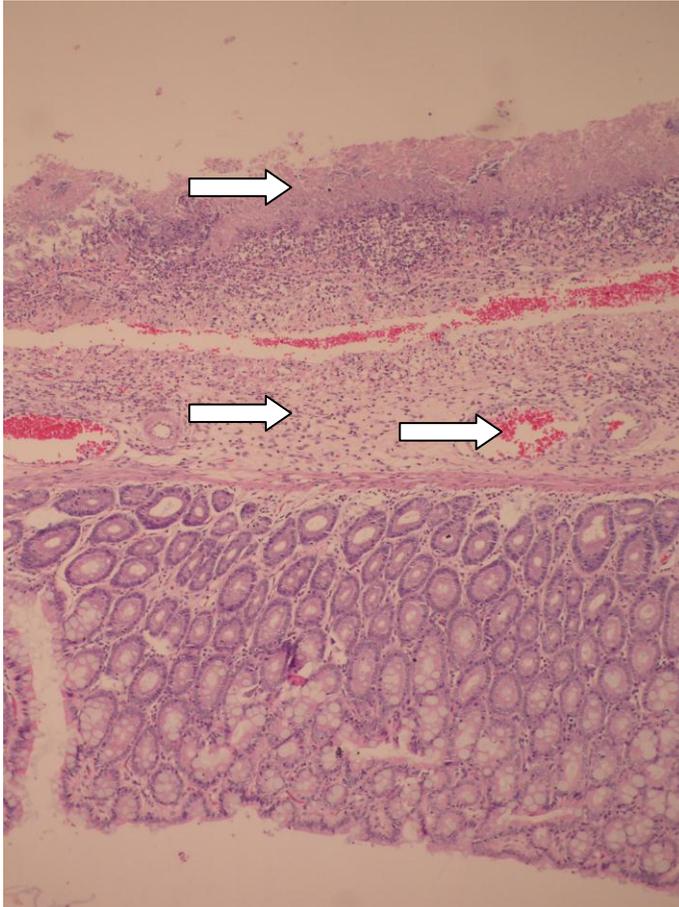


Fig 29 (izq.) 5x y fig. 30 (der. arriba) 40x Grupo B (5b) : Tinción de H/E parches necróticos de serosa, infiltrado inflamatorio +++, vasos de neoformación ++, bacterias +.

Fig 31 (der. abajo) 10x : Grupo B (5b) : Masson donde se observan fibras de colágena + entre los vasos de neoformación.

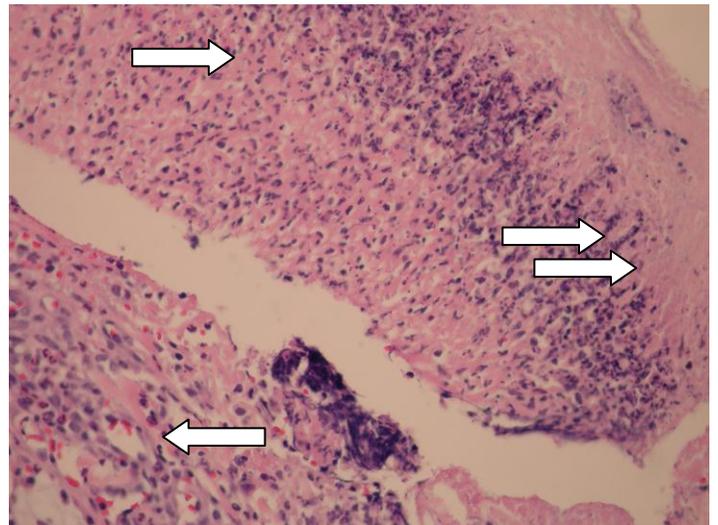
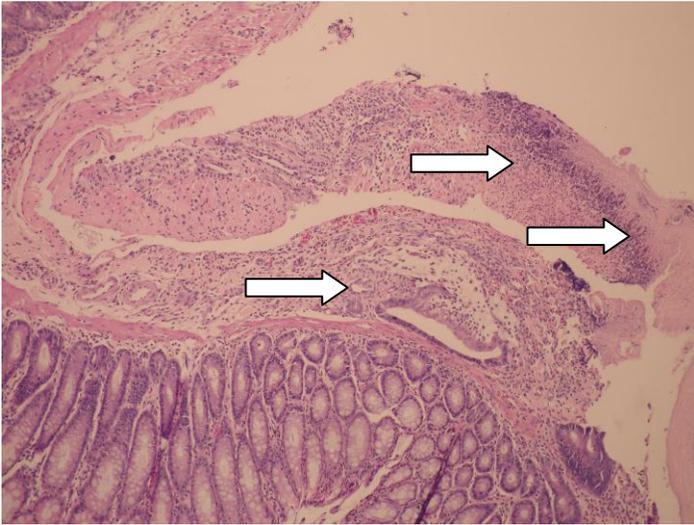


Fig. 32 (izq) 10x y fig 33 (der) 40x Grupo C (2c) : Tinción H/E Infiltrado inflamatorio ++, vasos de neoformación ++, Bacterias +.

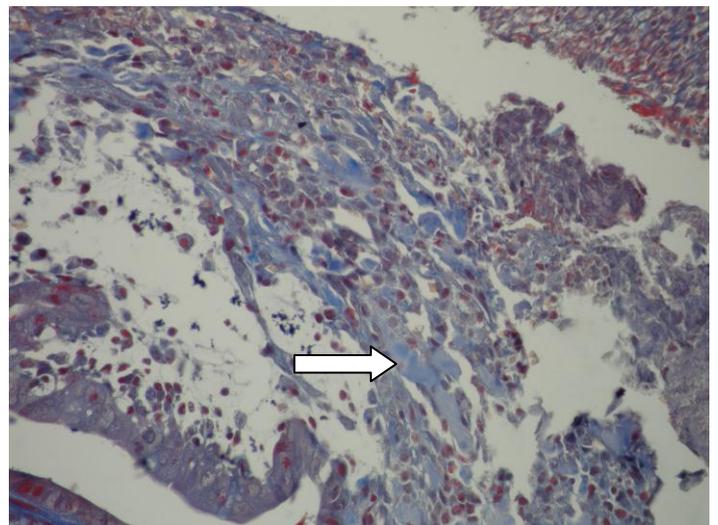
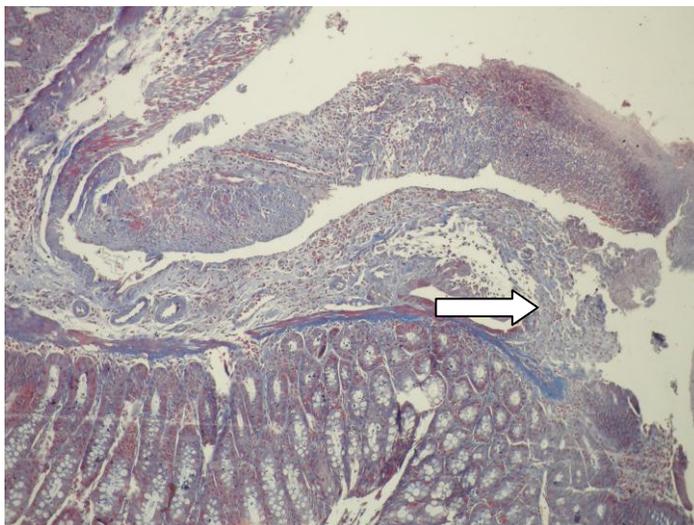


Fig. 34 (izq.) 10x y fig. 35. (der) 40x Grupo C (2c) : Tricrómico Masson con fibras de colágena ++.

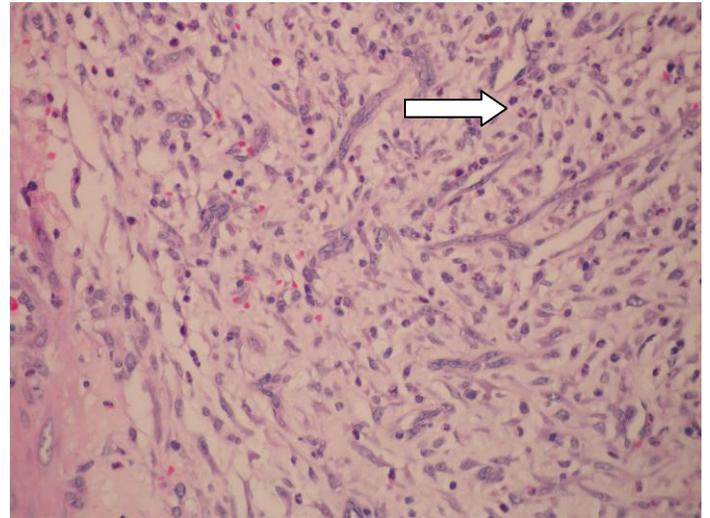
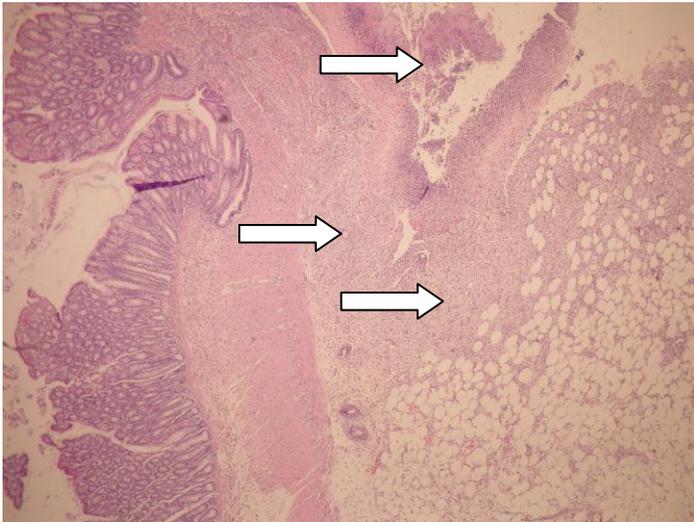


Fig. 36 (izq) 5x y fig 37 (der) 40x Grupo D (3d) : Tinción H/E infiltrado inflamatorio +, vasos de neoformación + ++, Bacterias +

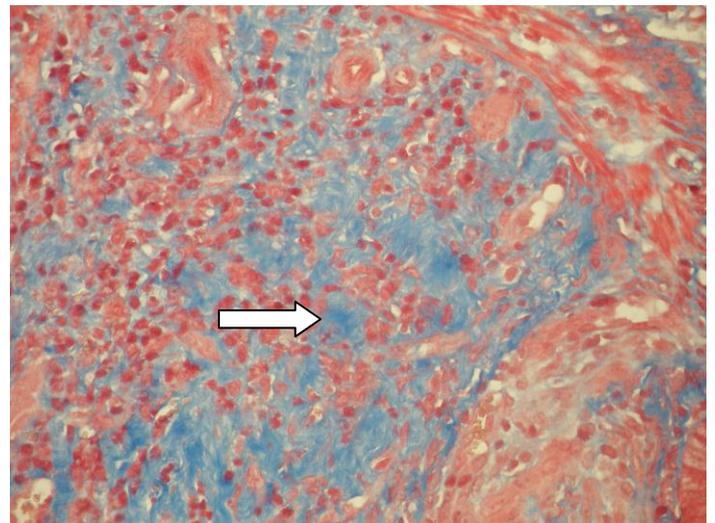
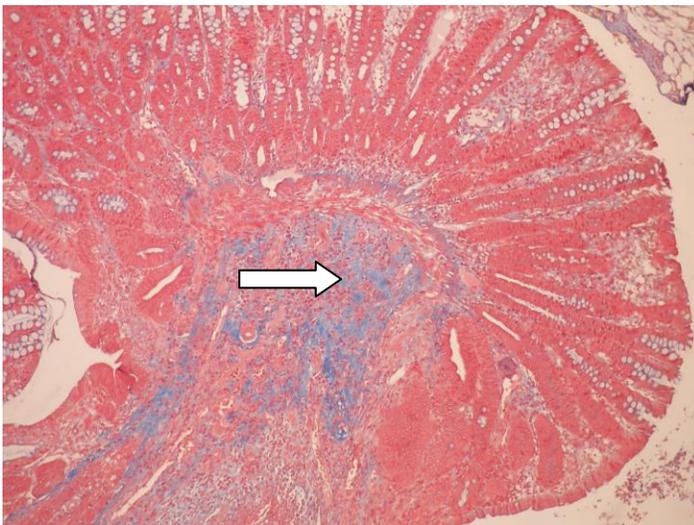


Fig. 38 (izq) 5x y fig 39 (der) 40x Grupo D (3d) : Tinción Masson fibras de colágena organizadas +++



Facultad de Medicina



Análisis estadístico de resultados:

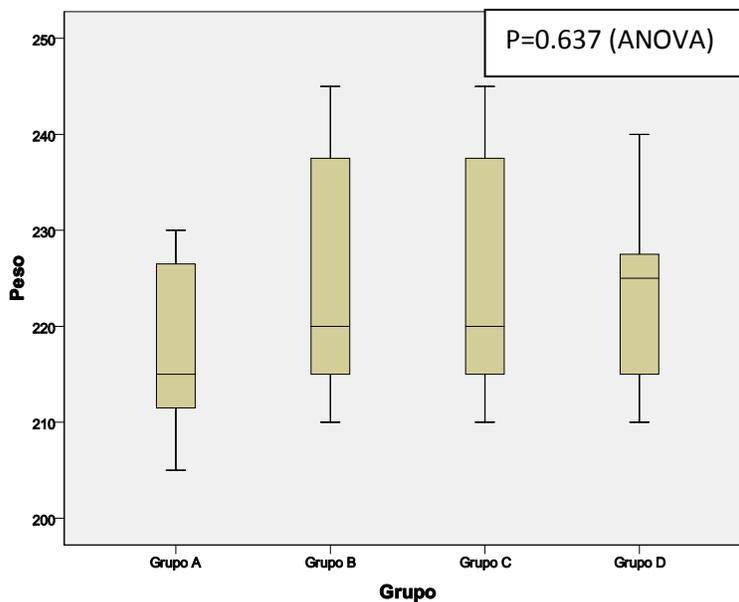
Peso

Tabla 16: pesos de las ratas por grupo

Grupo	Media	N
Control	214.60(± 9.39)	5
Antibiótico	229.60(±7.95)	5
Oxígeno Hiperbárico	222.40(±15.53)	5
Antibiótico + Oxígeno Hiperbárico	225.00(±7.90)	5
Total	222.63(±11.18)	22

La media del peso fue de 222.63gr, con desviación estándar de 11.18, sin presentarse diferencias significativas de peso entre grupos

Fig. 40: gráfica de peso por grupo





Facultad de Medicina



Respuesta Inflamatoria

Tabla 17: comparación de respuesta inflamatoria sistémica a las 24 y 148hrs de CLP

Presencia de signos de respuesta inflamatoria sistémica a las 24 hrs, Exudados oculares, Piloerección, Diarrea, Moco nasal					
Presencia de signos de respuesta inflamatoria sistémica a las 24 hrs, Exudados oculares, Piloerección, Diarrea, Moco nasal		Grupo			
		Control	Antibiótico	Oxígeno Hiperbárico	Antibiótico + Oxígeno Hiperbárico
Presentes	No.	5	5	2	2
	Porcentaje	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
Presencia de signos de respuesta inflamatoria sistémica a las 148 hrs, Exudados oculares, Piloerección, Diarrea, Moco nasal					
Presencia de signos de respuesta inflamatoria sistémica a las 148 hrs, Exudados oculares, Piloerección, Diarrea, Moco nasal		Grupo			
		Control	Antibiótico	Oxígeno Hiperbárico	Antibiótico + Oxígeno Hiperbárico
Presentes	No.	3	2	0	0
	Porcentaje	100.0%	40.0%	0.0%	0.0%

El grupo C y D presentaron respuesta negativa a los signos inflamatorios sistémicos: el Grupo B presentó una respuesta mixta y el grupo A (control) estuvieron presentes los signos inflamatorios sistémicos (gravedad). Por prueba *Kruskal-Wallis* ($p=0.030$) hubo diferencia significativa entre los diferentes grupos (*SPSS 15.0 para Windows Versión 15.0.1 LEAD Technologies Inc. 2006*).

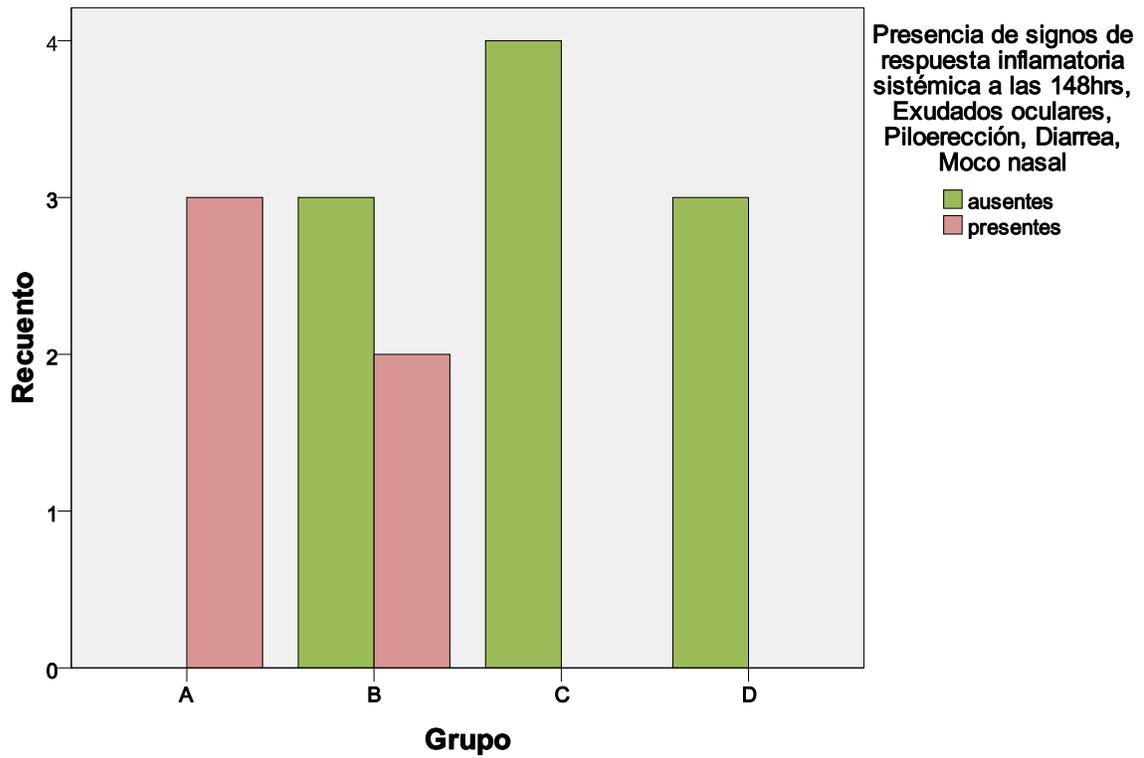


Facultad de Medicina



Figura 41: recuento de ratas con presencia o ausencia de signos de respuesta inflamatoria sistémica a las 148hrs.

Gráfico de barras





Facultad de Medicina

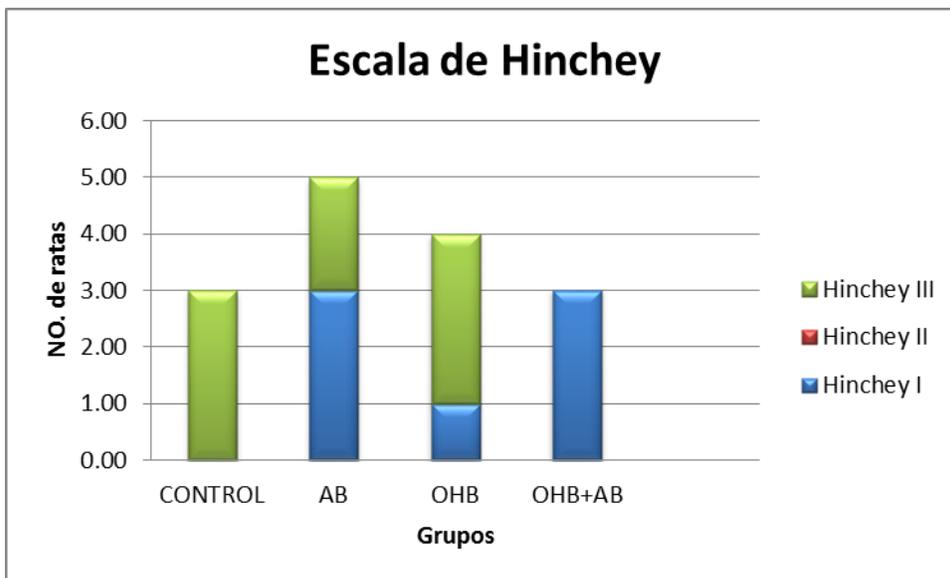


Escala de Hinchey

Al ver el grado de peritonitis que presentaron las ratas mediante la escala de Hinchey, se observó que **no hubo diferencia significativa** entre grupos en este parámetro, mediante el test de Kruskal-Wallis ($p=0.083$).

Las frecuencias las podemos observar en la grafica 27

Fig 42: Distribución por grupo de hallazgo en Escala de Hinchey al día 7





Facultad de Medicina



Bursting Pressure:

Mediante el test de ANOVA de *Bursting Pressure* se encontraron **diferencias significativas entre grupos ($p=0.001$)**. Al aplicar la prueba de Bonferroni (post Hoc) encontramos que el grupo D es el que tuvo la presión de ruptura mayor que el resto de los grupos.

Tabla 18 y 19

:

Medias de Bursting Pressure mmHg	
Control	N(3) 10.00 \pm 0
Antibiótico	N(5) 25.00 \pm 20.61
Oxígeno Hiperbárico	N(4) 32.00 \pm 26.29
Antibiótico + Oxígeno Hiperbárico	N(3) 95.00 \pm 5.00
Total	N(15) 38.00 \pm 34.73

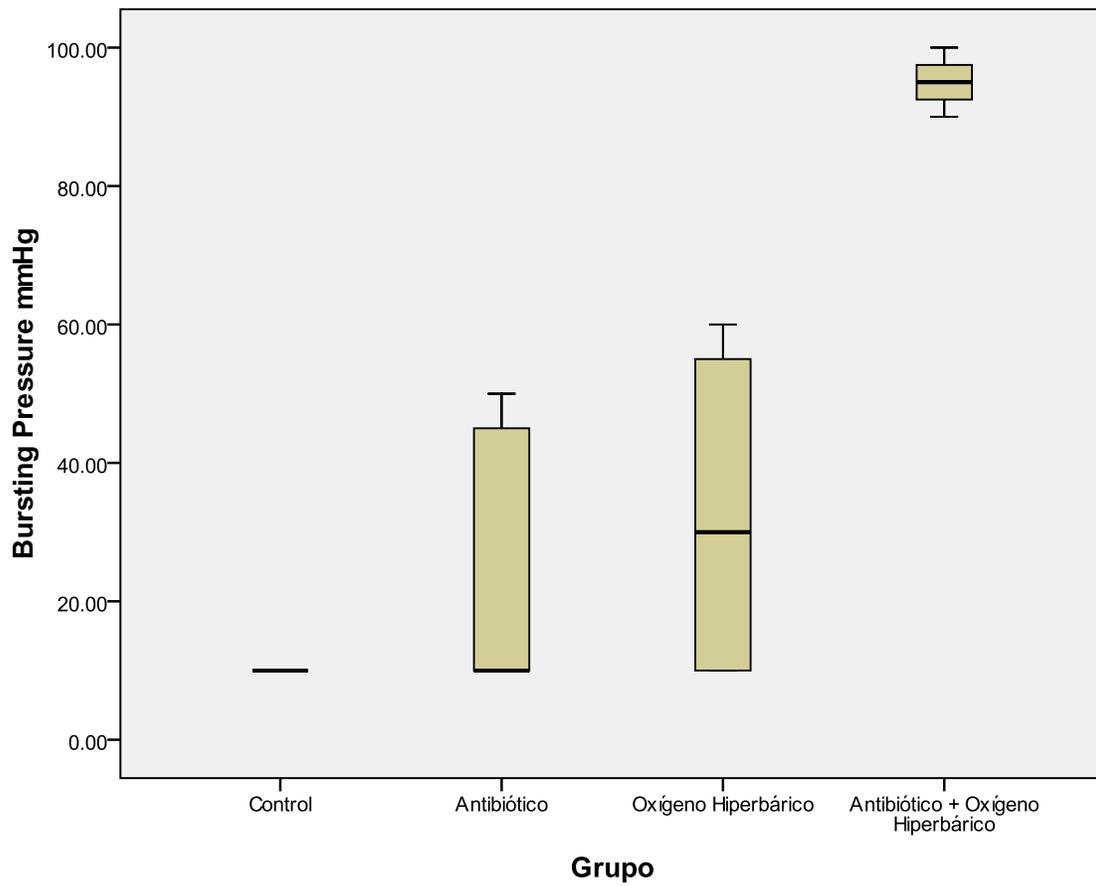
Bonferroni	Grupo B	Grupo C	Grupo D
Grupo A	1	0.855	0.001**
Grupo B		1	0.002**
Grupo C			0.007**



Facultad de Medicina



Figura 43: *Bursting Pressure* de distintos grupos medianas y desviaciones Estándar





Facultad de Medicina



Estado de la anastomosis:

Con respecto al estado de la anastomosis se puede observar que en el grupo A todas las ratas presentaron falla anastomótica y en el grupo D todas presentaron integridad anastomótica, sin embargo **no hubo diferencia significativa** por prueba de *Kruskal-Wallis* (**p=0.124**).

Tabla 20: Tabla comparativa del estado de la anastomosis de colon

Estado de la Anastomosis					
Estado de la Anastomosis		Grupo			
		Control	Antibiótico	Oxígeno Hiperbárico	Antibiótico + Oxígeno Hiperbárico
falla anastomótica	No.	3	3	2	0
	Porcentaje	100.0%	60.0%	50.0%	0.0%
anastomosis íntegra	No.	0	2	2	3
	Porcentaje	0.0%	40.0%	50.0%	100%
Total	No.	3	5	4	3
	Porcentaje Grupo	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%



Facultad de Medicina



Mortalidad:

Al realizar el modelo de sepsis en ratas hubo 6 fallecimientos con **una mortalidad de 21.4% antes de realizar procedimiento quirúrgico de anastomosis de colon, aseo peritoneal e iniciar los diversos tratamientos (OHB y Antibiótico).**

Posterior a la anastomosis y al iniciar los diversos tratamientos por grupos se presentó la mortalidad de acuerdo a la tabla siguiente

Tabla 21: Tabla de mortalidad por grupo a término de experimento

Grupo	No. Ratas fallecidas	Mortalidad al término de Experimento
A (N5)	2	40%
B (N5)	0	0%
C (N5)	1	20%
D (N5)	2	40%



Facultad de Medicina



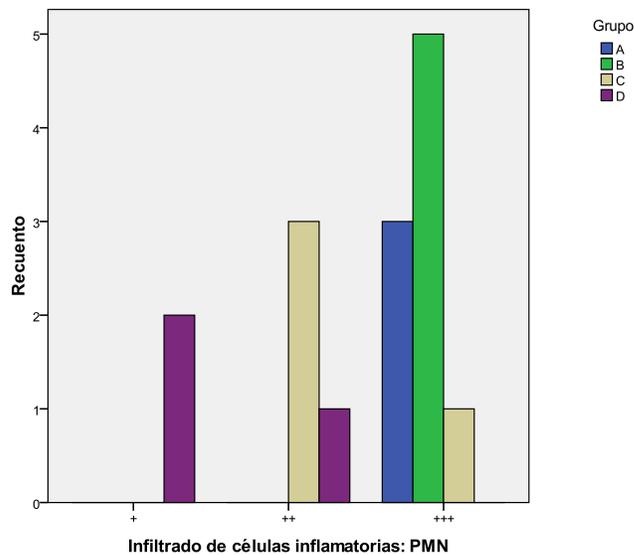
Infiltrado de células inflamatorias:

Se observó que el grupo A y B el infiltrado de células inflamatorias era mayor que el grupo C y D. Por prueba de *Kruskal-Wallis* en análisis por rangos se encontró una **diferencia estadísticamente significativa** con ($p=0.009^{**}$) intergrupos.

Tabla 22: Rangos del infiltrado de células inflamatorias por grupo

Grupo		N	Rango promedio
Infiltrado de células inflamatorias: PMN	Control	3	11
	Antibiótico	5	11
	Oxígeno Hiperbárico	4	6.13
	Antibiótico + Oxígeno Hiperbárico	3	2.5
	Total	15	

Fig. 44: Infiltrado de células inflamatorias por grupo





Facultad de Medicina



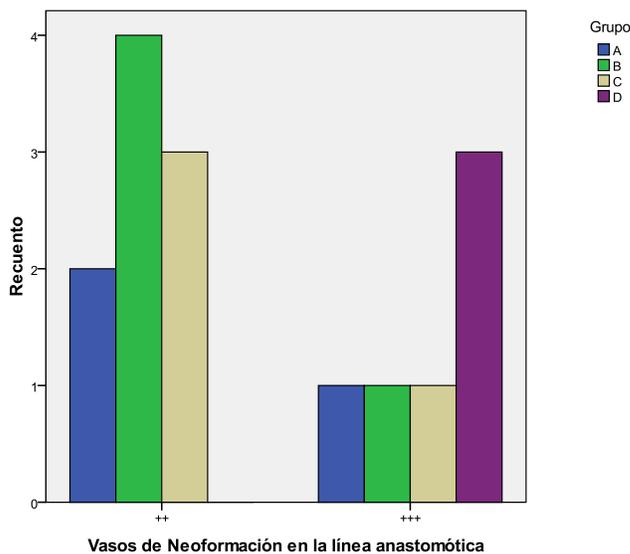
Vasos de neoformación:

En la prueba de *Kruskal-Wallis* aplicada por rangos, se observó que **no hubo diferencia significativamente estadística** en la neoformación de vasos ($p=0.146$) en los diferentes grupos. Sin embargo fue mayor el rango y la presencia de vasos de neoformación en el grupo D.

Tabla 23: Rangos promedio de grupo en presencia de vasos de neoformación

Grupo		N	Rango promedio
Vasos de Neoformación en la línea anastomótica	Control	3	7.5
	Antibiótico	5	6.5
	Oxígeno Hiperbárico	4	6.88
	Antibiótico + Oxígeno Hiperbárico	3	12.5
	Total	15	

Fig. 45: Vasos de neoformación en la línea anastomótica por grupo





Facultad de Medicina



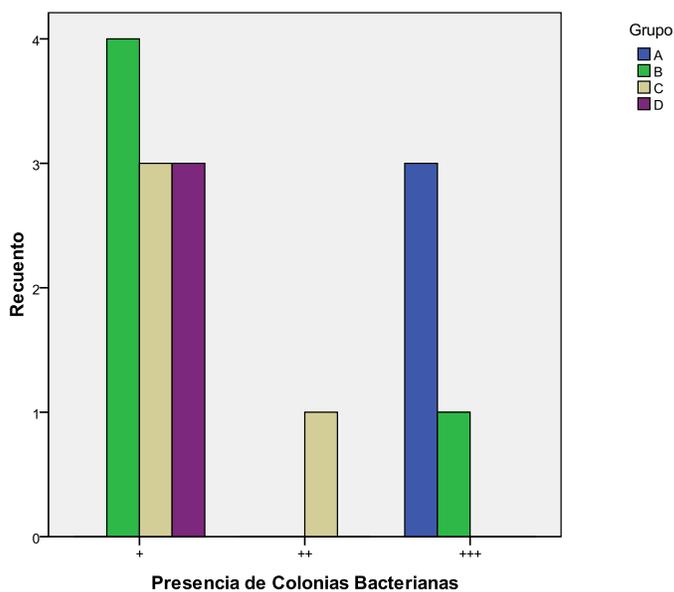
Colonias bacterianas:

En los grupos B, C, D hubo menor presencia de colonias bacterianas en los cortes de patología. En la prueba de *Kruskal-Wallis* se encontró una diferencia **estadísticamente significativa con (p=0.035)** entre los diferentes grupos.

Tabla 24: Rangos promedio de presencia de colonias bacterianas

Grupo		N	Rango promedio
Presencia de Colonias Bacterianas	Control	3	13.5
	Antibiótico	5	7.1
	Oxígeno Hiperbárico	4	6.88
	Antibiótico + Oxígeno Hiperbárico	3	5.5
	Total	15	

Fig. 46: Presencia de colonias bacterianas por grupo:





Facultad de Medicina



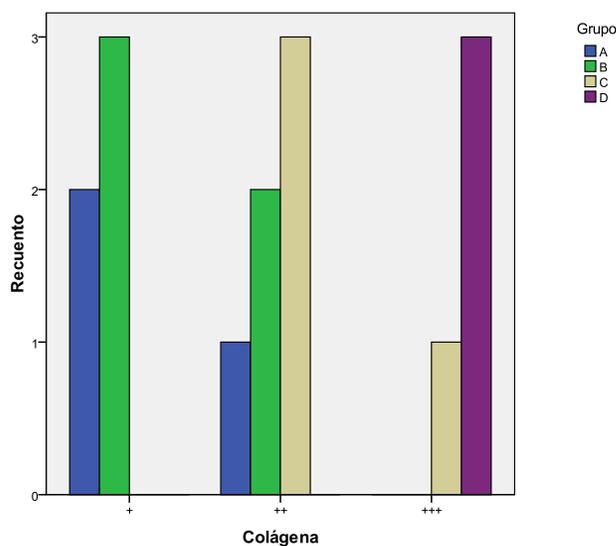
Colágena:

En el grupo de D hubo mayor número de ratas con colágena +++, y el rango promedio fue mayor en dicho grupo. En la prueba *Kruskal-Wallis* se encontró una diferencia **estadísticamente significativa (p=0.021)**.

Tabla 25: Rangos promedio de cruces de colágena

Grupo		N	Rango promedio
Colágena	Control	3	4.83
	Antibiótico	5	5.2
	Oxígeno Hiperbárico	4	9.75
	Antibiótico + Oxígeno Hiperbárico	3	13.5
	Total	15	

Fig. 47: Cruces de colágena por grupo





Facultad de Medicina



Discusión:

El OHB es una modalidad terapéutica adyuvante en todos los procesos patológicos que cursen con un fondo inflamatorio, isquémico, infeccioso y en situaciones donde la cicatrización y formación de colágena se encuentren comprometidas. En el presente estudio se observaron los efectos indirectos o terapéuticos de OHB. Hay un gran campo de aplicación y posibles líneas de investigación para generarse tanto en cirugía gastrointestinal y coloproctología ya que en la respuesta metabólica al trauma, el proceso de isquemia-reperusión, las complicaciones infecciosas de diversas patologías y cirugías pueden mejorar de manera importante con el uso de OHB. Se observó que la terapia con OHB en combinación con antibiótico tiene un efecto clínico favorable e histopatológico de la sepsis abdominal en ratas *Wistar*. Es necesario y justificable continuar con la experimentación y analizar sus beneficios en nuevos protocolos de investigación sobre el tema, así como evaluarse por las autoridades en medicina hiperbárica. Podría ser factible que el uso de OHB se aceptara como tratamiento adyuvante para mejorar la calidad de las anastomosis de colon con presencia de sepsis abdominal. El costo actual del tratamiento de sepsis abdominal y sus complicaciones es muy alto tanto para pacientes, médicos e instituciones. El uso de OHB en conjunto con antibiótico podría evaluarse en otros estudios para determinar si disminuye días de hospitalización, reducir costos y número de cirugías en particular con pacientes complejos que cursen con sepsis abdominal.

El *modelo de Wichterman* es aplicable a situaciones clínicas en las cuales se curse con una peritonitis fecal, tal es el caso de apendicitis aguda complicada, enfermedad diverticular complicada, trauma de colon con contaminación fecal. Se puede eliminar el foco séptico resecaando el ciego isquémico y perforado o bien dejarlo para perpetuar la sepsis. Sin embargo, observamos una mortalidad mayor 21.4% % en éste estudio con respecto a la observada en otros experimentos, como el de Kiyama *et al* [51] dónde se reportó que el 100% de las ratas con sepsis abdominal sobrevivieron. La muestra pequeña fue una limitante para el experimento por la mortalidad ya que limitó el análisis estadístico.

El tipo de tratamiento, ya sea oxígeno hiperbárico y/o antibiótico, no influye sobre la mortalidad ya que aun en los grupos con ambos tratamientos se presentaron decesos, probablemente atribuibles al modelo de sepsis. Lo que si fue relevante fue que la calidad de las anastomosis fue mejor en los grupos en tratamiento con oxígeno hiperbárico en conjunto con antibiótico, hasta un 90% más fuertes con respecto a su BP.



Facultad de Medicina



Las guías clínicas actuales y la literatura en general recomiendan que cuando existe una peritonitis fecal se realice una cirugía derivativa y formación de estomas, pero en estudios y guías clínicas se ha puesto en boga el paradigma de la cirugía derivativa buscando realizar mayor cantidad de anastomosis primarias aun con presencia de sepsis abdominal. El uso de OHB, en combinación con antibiótico, puede mejorar el caso de pacientes seleccionados en los cuales tengan necesidad de realizarse este tipo de cirugías. Podrían realizarse más estudios con muestras más grandes y significativas, así como modelos animales más realistas para evaluar la efectividad de OHB con antibiótico sobre las anastomosis de colon. Es posible que incluso pudiera tener algún efecto benéfico en cirugía programada donde ocurra respuesta metabólica al trauma y factores que favorezcan los efectos de OHB. Sin embargo habrá que estudiar de manera cautelosa ya que en los estudios de Meltzer y Ninikolski [8, 17, 18] OHB pudiera tener efecto deletéreo en la cicatrización de tejidos previamente sanos más que generar un benéfico. El efecto benéfico del OHB, es como ya se comentó, para padecimientos que tengan de fondo isquemia, hipoxia e infección.

Una de las mayores limitantes del estudio consistió en el tamaño de la muestra pequeña que limitó el poder estadístico del estudio.

La valoración cualitativa histopatológica de las anastomosis pudiera ser menos objetiva que el uso de mediciones cuantitativas de colágena o análisis cromatográficos cuantitativos de las muestras, pero éstas técnicas implican mayor costo. Sin embargo los hallazgos histopatológicos en las muestras correlacionaron con los efectos terapéuticos del OHB descritos en el marco teórico. Se puede inferir que el uso combinado de OHB con amikacina disminuye la presencia de colonias bacterianas en el tejido, disminuye la respuesta inflamatoria y se aumenta la síntesis de colágena. Sería interesante también realizar otros experimentos en los cuales se valore la resolución de los cuadros de peritonitis utilizando OHB y antibióticos.

Se sometió a los animales a terapia hiperbárica simulando una situación clínica en el hospital dónde se realizaría una cirugía urgente a paciente séptico. Se dejó pasar 24 horas antes del inicio de la terapia con OHB, pensando en el postoperatorio inmediato en la cual se realiza la vigilancia clínica estrecha. Se podría considerar que incluso a los pacientes se les puede llevar a terapia hiperbárica en su postoperatorio inmediato e incluso en su preoperatorio ya que por sus mecanismo también habría algún tipo de cambio en la respuesta inflamatoria sistémica, en el proceso infeccioso, isquémico. En fin, existen múltiples posibilidades para estudiar los beneficios de la terapia con OHB dentro de la cirugía general.



Facultad de Medicina



También los beneficios respecto a la isquemia-reperfusión podrían aplicarse a un estudio en modelo animal para valorar su posible beneficio en isquemia intestinal, donde aun existe una mortalidad muy alta.

Conclusiones:

En las anastomosis de colon en presencia de sepsis abdominal existe un efecto positivo con tratamiento de OHB en conjunto con antibiótico. Hay un aumento significativo en la BP anastomótica. El tipo de tratamiento, ya sea OHB o Antibiótico por separado y en combinación no influye sobre la mortalidad de las ratas con sepsis pero si mejora la calidad anastomótica un 90% más. No hay una diferencia significativa en la escala de *Hinchey* entre los diferentes grupos, ni con OHB ni con antibiótico. La presencia de signos de respuesta inflamatoria sistémica disminuyó al término del experimento con OHB y antibiótico, encontrándose una diferencia significativa. Con el uso de OHB y antibiótico se observa en la histopatología, a partir de un análisis cualitativo, mayor cantidad de colágena, menor cantidad de células inflamatorias, así como menor presencia de colonias bacterianas con diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos. No se encontró que hubiera una diferencia estadísticamente significativa en la presencia de vasos de neoformación.



Facultad de Medicina



Referencias:

1. Fotaïne, J., *Effets physiologiques et applications thérapeutiques de l'air comprimé*, Germer-Balliére, Editor. 1877.
2. Boerema I, B.W., Meijne NG, *Clinical Application of Hyperbaric Oxygen*. 2008: Flagstaff Best Publishing Co.
3. Desola, J., *Indicaciones actuales de oxigenoterapia hiperbárica*. FMC, 2009. **16**(8): p. 507-23.
4. *European Committee for Hyperbaric Medicine EDTC*. 2011; Available from: <http://www.echm.org>.
5. Marroni, A.M., D. Wattel, F., *The ECHM Collection*. Vol. 1-3. 2005-2008: Flagstaff Best Publishing Co.
6. Sánchez R, E.C. (2000) *Aplicaciones de la Oxigenación Hiperbárica en Anemias por Pérdida Sanguínea Aguda*. Revista Virtual de Medicina Hiperbárica.
7. *Undersea and Hyperbaric Medical Society* 2011; Available from: <http://www.uhms.org>
8. Mathieu, D., *Handbook on Hyperbaric Medicine*. 2006: COST Springer.
9. Calzia, E., et al., *Hyperoxia may be beneficial*. Crit Care Med, 2010. **38**(10 Suppl): p. S559-68.
10. Escrich, E.D., J., *Fisiología de la respiración en ambientes especiales*, in Tresguerres, T. JAF, Editor. 2005, McGraw Hill: Madrid. p. 663-72.
11. Behnke, A. *The isobaric (oxygen window) principle of decompression*. in *The New Thrust Seaward Trans 3rd Annual Conference on Marine Technology Society*. 1967. San Diego-Washington.
12. Vann, R., *The oxygen window*. Alert Diver, 1993: p. 14-16.
13. Mathieu, O., Nevriere, R, Millien, JP, et al, *Non invasive assessment of vasoconstrictive effects on hyperoxygenation in focal ischemia*. Acta Anestesiológica Itálica, 1994. **45**(Suppl 1): p. 55-59
14. Wattel, F.M., O., *Oxygénotherapie hyperbare et réanimation*. 1990, Paris: Masson.
15. Marx, R.E., et al., *Relationship of oxygen dose to angiogenesis induction in irradiated tissue*. Am J Surg, 1990. **160**(5): p. 519-24.
16. Knighton, D.R., I.A. Silver, and T.K. Hunt, *Regulation of wound-healing angiogenesis-effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration*. Surgery, 1981. **90**(2): p. 262-70.
17. Meltzer, T. and B. Myers, *The effect of hyperbaric oxygen on the bursting strength and rate of vascularization of skin wounds in the rat*. Am Surg, 1986. **52**(12): p. 659-62.
18. Niinikoski, J., *Effect of oxygen supply on wound healing and formation of experimental granulation tissue*. Acta Physiol Scand Suppl, 1969. **334**: p. 1-72.



Facultad de Medicina



19. Kivisaari, J. and J. Niinikoski, *Effects of hyperbaric oxygenation and prolonged hypoxia on the healing of open wounds*. Acta Chir Scand, 1975. **141**(1): p. 14-9.
20. Zhao, L.L., et al., *Effect of hyperbaric oxygen and growth factors on rabbit ear ischemic ulcers*. Arch Surg, 1994. **129**(10): p. 1043-9.
21. Mader, J.T., et al., *A mechanism for the amelioration by hyperbaric oxygen of experimental staphylococcal osteomyelitis in rabbits*. J Infect Dis, 1980. **142**(6): p. 915-22.
22. Mader, J.T., C.A. Hicks, and J. Calhoun, *Bacterial osteomyelitis. Adjunctive hyperbaric oxygen therapy*. Orthop Rev, 1989. **18**(5): p. 581-5.
23. Desola, J., *OXIGENOTERAPIA HIPERBARICA EN PATOLOGIA INFECCIOSA. REVISION Y PUESTA AL DIA*.
24. Thom, S.R., M.W. Laueremann, and G.B. Hart, *Intermittent hyperbaric oxygen therapy for reduction of mortality in experimental polymicrobial sepsis*. J Infect Dis, 1986. **154**(3): p. 504-10.
25. Muhvich, K.H., R.A. Myers, and L. Marzella, *Effect of hyperbaric oxygenation, combined with antimicrobial agents and surgery, in a rat model of intraabdominal infection*. J Infect Dis, 1988. **157**(5): p. 1058-61.
26. Stevens, D.L., et al., *Evaluation of therapy with hyperbaric oxygen for experimental infection with Clostridium perfringens*. Clin Infect Dis, 1993. **17**(2): p. 231-7.
27. Mathieu, D.N., R. Chagnon J.L. Wattel F., *Les infections anaérobies des tissus mous*. Réan Urg, 1994(7): p. 435-449.
28. Demello, F.J.H., T. Hitchcock, C.R. *The effect of hyperbaric oxygen on germination and toxin production of clostridium perfringens spores*. in *4th International Congress on Hyperbaric Medicine*. 1970. London: Balliere and Tindall.
29. Thom, S.R., et al., *Stem cell mobilization by hyperbaric oxygen*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006. **290**(4): p. H1378-86.
30. Boykin, J.V., Jr. and C. Baylis, *Hyperbaric oxygen therapy mediates increased nitric oxide production associated with wound healing: a preliminary study*. Adv Skin Wound Care, 2007. **20**(7): p. 382-8.
31. Sanchez, E.C., *Hyperbaric oxygenation in peripheral nerve repair and regeneration*. Neurol Res, 2007. **29**(2): p. 184-98.
32. Comroe, J.D., R. Dumke P, et al *Oxygen toxicity. The effect of inhalation of high concentrations of oxygen for 24 hours on normal men at sea level*. JAMA, 1945(128): p. 710-717.
33. Ross, M.E., et al., *Myopia associated with hyperbaric oxygen therapy*. Optom Vis Sci, 1996. **73**(7): p. 487-94.
34. Palmquist, B.M., B. Philipson, and P.O. Barr, *Nuclear cataract and myopia during hyperbaric oxygen therapy*. Br J Ophthalmol, 1984. **68**(2): p. 113-7.
35. Skandalakis, J.E.C., G.L, et al *Stomach, Colon*, in *Skandalakis' Surgical Anatomy, M.-H.s.A. Surgery*, Editor. 2004.



Facultad de Medicina



36. Britton, M.S., *Intestinal Anastomoses*, in *ACS:Surgery: Principles and Practice*. 2007, WebMD Inc. Professional Publishing.
37. Hamilton, J.E., *Reappraisal of open intestinal anastomoses*. *Ann Surg*, 1967. **165**(6): p. 917-24.
38. Munireddy, S., S.L. Kavalukas, and A. Barbul, *Intra-abdominal healing: gastrointestinal tract and adhesions*. *Surg Clin North Am*, 2010. **90**(6): p. 1227-36.
39. Ellison, G.W., *Wound healing in the gastrointestinal tract*. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)*, 1989. **4**(4): p. 287-93.
40. Halsted, W.S., *Circular suture of the intestine: an experimental study*. *Am J Med Sci*, 1887(94): p. 436-461.
41. Sturm, A. and A.U. Dignass, *Epithelial restitution and wound healing in inflammatory bowel disease*. *World J Gastroenterol*, 2008. **14**(3): p. 348-53.
42. Barbul, A., *Wound Healing*, in *Schwartz's Principles of Surgery 8th Ed.*, B. C.F., Editor. 2004, McGraw Hill's Acces Medicine.
43. H Woodward, S.C.P., E.J., *Healing of colonic anastomoses in the rat*. *Surg Gynecol Obstet*, 1964(119): p. 269-275.
44. Mansson, P., et al., *Anastomotic healing in the rat colon: comparison between a radiological method, breaking strength and bursting pressure*. *Int J Colorectal Dis*, 2002. **17**(6): p. 420-5.
45. Brasken, P., *Healing of experimental colon anastomosis*. *Eur J Surg Suppl*, 1991(566): p. 1-51.
46. Martínez, C.E., Márquez, J.R., Escobar J., et al, *Dehiscencia de las anastomosis rectales y anales*. *Rev Col Gastroenterol*, 2000(15): p. 111-115.
47. Whelan, J.I., R.R. , *Enterocutaneous fistulas: an overview*. *Eur J Trauma Emer Surg*, 2011(37): p. 251-258.
48. Kologlu, M., et al., *Effect of local and remote ischemia-reperfusion injury on healing of colonic anastomoses*. *Surgery*, 2000. **128**(1): p. 99-104.
49. Thompson, S.K., E.Y. Chang, and B.A. Jobe, *Clinical review: Healing in gastrointestinal anastomoses, part I*. *Microsurgery*, 2006. **26**(3): p. 131-6.
50. Mallick, I.H., et al., *Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury*. *Dig Dis Sci*, 2004. **49**(9): p. 1359-77.
51. Kiyama, T., et al., *Effect of early postoperative feeding on the healing of colonic anastomoses in the presence of intra-abdominal sepsis in rats*. *Dis Colon Rectum*, 2000. **43**(10 Suppl): p. S54-8.
52. Ahrendt, G.M., U.S. Tantry, and A. Barbul, *Intra-abdominal sepsis impairs colonic reparative collagen synthesis*. *Am J Surg*, 1996. **171**(1): p. 102-7; discussion 107-8.
53. Witte, M.B. and A. Barbul, *Repair of full-thickness bowel injury*. *Crit Care Med*, 2003. **31**(8 Suppl): p. S538-46.
54. Zuidema, G.Y., C., *Diverticular Disease*, in *Shakelford's Alimentary Tract 5th Ed.*. 2002, Saunders.
55. Biondo, S., Lopez Borao, M., Kreisler, E., *Current status of the treatment of acute colonic diverticulitis: a systematic review*. *Colorectal Dis*, 2011(14): p. e1-11.



Facultad de Medicina



56. Biondo, S., Jaurrieta, E., Jorba, R., et al, *Intraoperative colonic lavage an primary anastomosis in peritonitis and obstruction*. Br J Surg, 1997(84): p. 222-225.
57. Trenti, L., et al., *Generalized peritonitis due to perforated diverticulitis: Hartmann's procedure or primary anastomosis?* Int J Colorectal Dis, 2011. **26**(3): p. 377-84.
58. Hendriks, T. and W.J. Mastboom, *Healing of experimental intestinal anastomoses. Parameters for repair*. Dis Colon Rectum, 1990. **33**(10): p. 891-901.
59. Jiborn, H., J. Ahonen, and B. Zederfeldt, *Healing of experimental colonic anastomoses. I. Bursting strength of the colon after left colon resection and anastomosis*. Am J Surg, 1978. **136**(5): p. 587-94.
60. Jiborn, H., J. Ahonen, and B. Zederfeldt, *Healing of experimental colonic anastomoses. II. Breaking strength of the colon after left colon resection and anastomosis*. Am J Surg, 1978. **136**(5): p. 595-9.
61. Kosmidis, C., et al., *Myofibroblasts and colonic anastomosis healing in Wistar rats*. BMC Surg, 2011. **11**: p. 6.
62. Kaemmer, D.A., et al., *Erythropoietin (EPO) influences colonic anastomotic healing in a rat model by modulating collagen metabolism*. J Surg Res, 2010. **163**(2): p. e67-72.
63. Aytekin, F.O., et al., *Effects of a membrane-permeable radical scavenger, Tempol, on healing of colonic anastomoses in the cecal ligation and puncture model of polymicrobial sepsis in rats*. Am J Surg, 2007. **193**(6): p. 723-9.
64. Zacharakis, E., et al., *Contribution of insulin-like growth factor I to the healing of colonic anastomoses in rats*. J Invest Surg, 2007. **20**(1): p. 9-14.
65. Teke, Z., et al., *Effects of pyrrolidine dithiocarbamate on healing of colonic anastomoses in the cecal ligation and puncture model of intraperitoneal sepsis in rats*. World J Surg, 2007. **31**(1): p. 200-9.
66. Rocha, E.A.V. and C. De Souza, *The hemodynamic behavior of arterial anastomosis using fibrin sealant: experimental study in swine*. Artificial Organs, 2008. **32**(11): p. 835-839.
67. Dyson, A. and M. Singer, *Animal models of sepsis: why does preclinical efficacy fail to translate to the clinical setting?* Crit Care Med, 2009. **37**(1 Suppl): p. S30-7.
68. Wichterman, K.A., A.E. Baue, and I.H. Chaudry, *Sepsis and septic shock--a review of laboratory models and a proposal*. J Surg Res, 1980. **29**(2): p. 189-201.
69. Schein, M., Marshal, J., Wang, P. , *Experimental Models of Source Control*, in *Source Control a Guide to the Management of Surgical Infections* 2003, Springer: Italy. p. 17-23.
70. Athié, G.C., Vázquez, C.J., Valdez, G.R. , *Utilidad de la heparina de bajo peso molecular en la sepsis abdominal*. Rev Med Hosp Gral, 1995. **58**(2): p. 60-61.
71. Buras, J., Holzmann, B., Sitkovsky M, "Animal models of sepsis: setting the stage", *Nature Reviews Drugs Discovery*. Nat Rev Drug Disc, 2005(4): p. 854-865.