UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

Reacción inflamatoria inducida en abdomen de rata utilizando bilis, clips y gasas como agentes inflamatorios

ISAAC ECHEVERRÍA VALENZUELA

MÉDICO Y CIRUJANO

Guatemala, octubre de 2003.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

Reacción inflamatoria inducida en abdomen de rata utilizando bilis, clips y gasas como agentes inflamatorios

Estudio clínico controlado

Departamento de Cirugía y Sección de Patología
Hospital Roosevelt, febrero-octubre 2,003

TESIS

Presentada a la Honorable Junta Directiva
de la Facultad de Ciencias Médicas
de la Universidad de San Carlos de Guatemala

Por

ISAAC ECHEVERRÍA VALENZUELA

Previo a conferírsele el Título de

MÉDICO Y CIRUJANO

Guatemala, octubre de 2003.

EL DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

HACE CONSTAR

Que el bachiller:

Isaac Echeverría Valenzuela
Carné Universitario 97 10318

Previo a optar al título de Médico y Cirujano, ha presentado el trabajo de tesis titulado:

Reacción Inflamatoria inducida en abdomen de rata
Estudio clínico controlado
utilizando bilis, clips y gasa como agentes inflamatorios
Hospital Roosevelt, Sección de Patología
febrero – octubre 2,003

Trabajo asesorado por: DR. Julio César Morales Linares.

y revisado por: DR. Jorge Francisco Braham de la Riva

Quienes lo avalan y firman conformes, por lo que se emite y sella la presente

ORDEN DE IMPRESIÓN

Dado en la Ciudad de Guatemala, el seis de octubre de dos mil tres.

IMPRÍMASE

DR. CARLOS ALBERTO ALVARADO DUMAS
DECANO

Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Médicas
Centro de Investigaciones de las Ciencias de la pSalud
Unidad de Tesis

Guatemala, octubre del 2003.

Señores
UNIDAD DE TESIS
Facultad de Ciencias Médicas
Centro Universitario Metropolitano
Presente

Señores:

Se les informa que el bachiller:

ISAAC ECHEVERRÍA VALENZUELA

Con carné 9710318 ha presentado su Informe Final de Tesis titulado:

"REACCIÓN INFLAMATORIA A BILIS, CLIPS Y GASAS EN EL ABDOMEN DE LA RATA"
Ensayo Clínico Controlado Experimental

Del cual, asesor, revisor y autor nos hacemos responsables por el contenido, metodología, confiabilidad y validez de los datos y resultados obtenidos, así como de la pertinencia de las conclusiones y recomendaciones expuestas.

Isaac Echeverría Valenzuela
Autor

Dr. Julio César Morales Lima
Firma y Sello
Asesor

DR. JULIO C. MORALES L.
MEDICO Y CIRUJANO
COLEGIADO No. 6495

Dr. Jorge Braham
Firma y Sello
Revisor

Dr. JORGE FRANCISCO BRAHAM DE LA RIVA
MEDICO Y CIRUJANO
COLEGIADO 2189

Hospital Roosevelt

Guatemala, octubre del 2003.

Dr. Edgar De León
UNIDAD DE TESIS
Facultad de Ciencias Médicas
Centro Universitario Metropolitano
USAC
Presente

Estimado Doctor De León:

Se les informa que el bachiller:

ISAAC ECHEVERRÍA VALENZUELA

Con carné 9710318 ha presentado su Informe Final de Tesis titulado:

"REACCIÓN INFLAMATORIA A BILIS, CLIPS Y GASAS EN EL ABDOMEN DE LA RATA"
Ensayo Clínico Controlado Experimental

Del cual, como Jefe del Departamento de Cirugía del Hospital Roosevelt he revisado y aprobado los resultados y conclusiones de esta investigación.

Sin otro particular, me suscribo atentamente.

Dr. Juan De Dios Maldonado
Jefe. Departamento de Cirugía.
Hospital Roosevelt

HOSPITAL ROOSEVELT
JEFATURA DE CIRUGIA
GUATEMALA, C.A.

HOSPITAL ROOSEVELT

AREA DE SALUD GUATEMALA
Calzada Roosevelt zona 11, PBX 4711441 al 43
Guatemala, C.A.

refiera su respuesta al oficio
No. ___

Guatemala, 12 de septiembre de 2003

Dr. Edgar De León
Unidad de Tesis
Facultad de Ciencias Médicas
Universidad de San Carlos
Presente.

Estimado Dr. De León:

Por medio de la presente le informo que he revisado el Informe Final de la Tesis:

" Reacción Inflamatoria a Bilis, Clips y Gasas en el Abdomen de la Rata "

estando de acuerdo con los resultados y conclusiones expuestas, ya que, están de acuerdo con lo realizado en esta Institución.

Sin otro particular, me suscribo atentamente,

HOSPITAL ROOSEVELT SECCION DE PATOLOGIA LABORATORIOS GUATEMALA, C.A.

DR. JOSE RODOLFO GIL
JEFE SECCION DE PATOLOGIA
HOSPITAL ROOSEVELT

Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Médicas
Centro de Investigaciones de las Ciencias de la Salud
Unidad de Tesis

6 de octubre de 2,003.

Bachiller
Isaac Echeverría Valenzuela
Carné 97-10 318
Presente

Señor Bachiller:

Se le informa que el trabajo de tesis titulado:

Reacción Inflamatoria inducida en abdomen de rata
Estudio clínico controlado
utilizando bilis, clips y gasa como agentes inflamatorios
Hospital Roosevelt, Sección de Patología
febrero – octubre 2,003

Ha sido **REVISADO y CORREGIDO** y al establecer que cumple con los requisitos exigidos por esta Unidad, se le autoriza a continuar con los trámites correspondientes para someterse al Examen general público.

Sin otro particular me suscribo.

Atentamente,

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
COORDINACION ADMINISTRATIVO DOCENTE DE TESIS
USAC

Dr. Edgar Rodolfo de León Barillas
Coordinador
Unidad de Tesis

**EAVS
C/c archivo

El autor es el único responsable de los conceptos y opiniones expresados en el contenido del trabajo de tesis

Su aprobación de manera alguna implica responsabilidad para la Universidad de San Carlos de Guatemala

A Dios y su presencia
manifestada en todos y cada una de las personas
que colaboraron conmigo en esta investigación

El Autor

Indice

*	Contenido	Página
I.	Introducción	1
II.	Definición y Análisis del Problema	3
III.	Justificación	5
IV.	Revisión Bibliográfica	7
	1. Reacción Inflamatoria	7
	2. Cirugía Experimental	18
	3. Patología Quirúrgica Experimental	23
	4. Bioética Animal	24
	5. Colecistectomía y Reacción Inflamatoria	25
	6. Definición de Elementos	26
V.	Objetivos	27
VI.	Hipótesis	29
VII.	Materiales y Métodos	31
VIII.	Resultados	47
IX.	Discusión	55
X.	Conclusiones	59
XI.	Recomendaciones	61
XII.	Resumen	63
XIII.	Referencias Bibliográficas	65
XIV.	Anexos	73

I. Introducción

La reacción inflamatoria es una secuencia de procesos cuyo objetivo final es reparar un tejido dañado producido por una lesión en la unidad básica del tejido, la célula[22]. Cuando se realiza un procedimiento quirúrgico, se produce lesión celular al seccionar los tejidos con bisturí o inclusive al unirlos utilizando material de sutura con aguja[38]. En todos estos casos, el ser vivo mediante el proceso de reacción inflamatoria intenta reparar cualquier lesión a nivel celular, la cual es producida por muchos materiales o agentes inflamatorios tanto exógenos (materiales de sutura, prótesis, agentes químicos e infecciosos, instrumentos cortantes, etc.) como endógenos (agentes infecciosos; jugo gástrico, pancreático y biliar; etc.)[22].

Con el advenimiento de la tecnología, se han diseñado métodos para disminuir la lesión (trauma) durante los procedimientos quirúrgicos ya que en éstos generalmente ocurre lesión celular al utilizar agentes inflamatorios de tipo exógeno, como por ejemplo instrumentos cortantes, materiales de sutura, agentes químicos; y en ocasiones, diseminación de agentes endógenos de tipo químico e infeccioso al ocurrir perforación accidental de algunos órganos, como por ejemplo, tracto gastro intestinal y vesícula biliar [25,59]. En la colecistectomía abierta como videolaparoscópica pueden ocurrir complicaciones como perforación con derrame de bilis intraperitoneal produciendo bilioperitoneo posoperatorio, caída de clips y cálculos biliares [39]. Además, puede ocurrir retención accidental de cuerpos extraños (gasas, instrumental quirúrgico), entre otros [32,59,70]. Todo esto teóricamente produce reacción inflamatoria debido a que en estas circunstancias se expone el peritoneo a dichos agentes inflamatorios endógenos (bilis, cálculos biliares) y exógenos (clips, cuerpos extraños).

Este estudio buscó describir la reacción inflamatoria intraabdominal, exponiendo el peritoneo de las ratas a bilis, clips y fragmentos de gasa.

II. Definición y Análisis del Problema

La reacción inflamatoria es una secuencia compleja de procesos encaminados a la reparación celular luego de una lesión. Agentes inflamatorios endógenos y exógenos producen ésta última al entrar en contacto con los tejidos de un ser vivo[22]. Los procedimientos quirúrgicos en pacientes surgen como tratamiento para solventar problemas médicos, por ejemplo apendicitis, colecistitis; los cuales sin este tratamiento el riesgo de complicaciones es alto[13,59,93]. Durante las colecistectomías se produce derrame de bilis[31], cálculos biliares[8] y en algunas de ellas, clips[75] y gasas[78]. Cuando se produce derrame de bilis extenso (bilioperitoneo), ha sido necesario la reintervención quirúrgica para la resolución del problema[39,99]. La composición de los cálculos biliares también se ha relacionado con el desarrollo importante de reacción inflamatoria como granulomas, fístulas cutáneas, infecciones de herida operatoria y microabscesos[29,56]. En el caso de agentes exógenos o "cuerpos extraños" como gasas y clips, el 32% de éstos se "caen" y ocupan otra localización dentro del abdomen, es decir, migran[56,75,95]. Las complicaciones relacionadas con haber dejado accidentalmente gasas o compresas en el abdomen ha producido:

1) reintervenciones quirúrgicas
2) desarrollo de fístulas
3) obstrucción y perforación intestinal
4) muerte, y
6) ausencia de complicaciones[40,61,78,91,96].

Los factores de riesgo identificados para la retención accidental de cuerpos extraños en cirugía son:

1) cirugía de emergencia
2) cambio en el procedimiento quirúrgico planeado
3) índice de masa corporal elevado[40].

La retención éstos ocurre principalmente en cirugía abdominal y ginecológica[40,78] y, corresponden generalmente a gasas, en menor proporción a instrumental quirúrgico; en donde únicamente el 6% se detecta en las primeras 24 horas[40].

En esta investigación se analizan las complicaciones generadas por los agentes inflamatorios en el peritoneo de la rata. Como resultado de ésto se pretenderá traspolar algunos hallazgos a problemas similares detectados en pacientes adultos.

III. Justificación

La morbilidad secundaria a derrame de bilis y cuerpos extraños intraabdominales como clips y gasas quirúrgicas es difícil de determinar exactamente ya que en los centros hospitalarios nacionales no todos los pacientes asisten a su control postoperatorio y por lo tanto, los casos reportados son escasos, presentándose éstos únicamente como hallazgos incidentales o con síntomas y signos inespecíficos. Se ha documentado la migración de clips y retención de gasas[40,75,96]. En nuestro país, no existen reportes, ya que existe subregistro de casos y además, representa problema médico legal, principalmente si el cuerpo extraño retenido es una gasa.

Los procedimientos quirúrgicos en donde se utilizan clips y gasas, se realizan constantemente en nuestro medio. La magnitud y trascendencia del derrame biliar más el uso de clips y gasas respecto a la reacción inflamatoria que provocan, no se conoce. Conocer totalmente la incidencia de estas complicaciones es difícil y los casos reportados a la fecha tienen sesgo, ya que cuando estos elementos accidentalmente son dejados en la cavidad abdominal, no son reportados en el récord operatorio.

A partir del concepto de que la Cirugía Experimental "es la utilización de técnicas quirúrgicas en la fabricación de modelos experimentales para probar hipótesis"[28] se planteó el presente estudio en ratas utilizando la Cirugía y Patología Experimental para determinar si los agentes inflamatorios: bilis, clips de titanio y gasas (algodón) tienen importancia en cuanto a la severidad de reacción inflamatoria inducida.

IV. Revisión Bibliográfica

1. Reacción Inflamatoria

I. Definición

Reacción Inflamatoria (RI) es una secuencia compleja de acontecimientos que ocurren en los tejidos de los seres vivos luego de daño o lesión celular, cuya finalidad es la reparación celular y tisular. Se desarrolla generalmente luego de lesión en el tejido conjuntivo vascularizado de muchos tejidos y órganos, por ejemplo, el peritoneo[22].

II. Causas

La lesión celular ocurre por materiales o agentes inflamatorios o lesivos. Estos pueden clasificarse de acuerdo al origen (endógenos o exógenos), naturaleza (físicos o químicos), y potencial inmunológico (infecciosos o no infecciosos)[22]. En el Cuadro 1 se describen los diversos tipos de agentes inflamtorios.

III. Clasificación

El Cuadro 2 describe la definición, patrón morfológico y causas de los distintos tipos de reacción inflamatoria.

IV. Células Inflamatorias

Se refiere como células inflamatorias a aquellas que están involucradas en el proceso de reacción inflamatoria y son:

1) granulocitos o polimorfonucleares;
2) monocitos o macrófagos; y,
3) linfocitos.

Los granulocitos y monocitos se producen normalmente en la médula ósea conjuntamente con eritrocitos y plaquetas. Los linfocitos además, se producen en los órganos linfoides secundarios (timo, sistema retículo endotelial (SRE). Todas las células inflamatorias provienen de una célula madre originada en la médula ósea, la célula madre pluripotencial en donde cada tipo de ésta pasa por diversas étapas de crecimiento hasta resultar en célula inflamatoria madura [26].

En el Cuadro 3 se describe el origen, etapas de maduración, distribución corporal y función de los principales tipos de células involucradas en la reacción inflamatoria.

Cuadro 1. Tipos de Agentes Inflamatorios.

Agentes Inflamatorios	Definición	Ejemplos
Por su Origen:		
❍ Endógenos	· Sustancias producidas por un ser vivo que fuera de su sitio de origen pueden ocasionar lesión celular.	· Radicales Libres de Oxígeno[22], bilis[24,72], reflujo gastroesofágico[33,58]
❍ Exógenos	· Sustancias o materiales capaces de producir lesión celular al exponerlas a un ser vivo	· Materiales de sutura[67] y otros elementos utilizados en cirugía[71], exposición a tetracloruro de carbono[7,54,66], alcohol[89], formaldehído[55], endotoxinas[77], Silice[22], Asbesto[18]
Por su potencial antigénico		
❍ Antigénicos	· Sustancias o materiales capaces de desarrollar reacción inflamatoria inmunológica al exponerlas a un ser vivo debido a su potencial antigénico	· Materiales de sutura de fuente natural (catgut)[98]
❍ No Antigénicos	· Sustancias o materiales capaces de desarrollar reacción inflamatoria mínima al exponerlas a un ser vivo	· Materiales quirúrgicos sintéticos (nylon, polyglecaprone)[67,98]
Por su Infectividad:		
❍ Infecciosos	· Sustancias provenientes de microorganismos infecciosos (toxinas, proteasas) o el microorganismo en sí.	· Bacterias grampositivas (*S aureus*)[97], gramnegativas (*E coli*)[77], micobacterias[44], protozoarios (*E histolytica*)[42,86].
❍ No Infecciosos	· Sustancias o agente no provenientes de microorganismos infecciosos	· Radiación[19,57,65] y todo el resto de agentes inflamatorios no infecciosos

V. Fisiopatología

La reacción inflamatoria tiene como finalidad el aislamiento, la dilución o destrucción del agente inflamatorio con el objetivo de sanar y reconstruir el tejido lesionado[22,81]. Es importante notar que no siempre el agente que produce lesión celular se encuentra posteriormente. Esto depende de la naturaleza física y química del mismo. Por ejemplo, el formaldeído es muy volátil y se difunde ampliamente en los tejidos, el derrame de bilis es otro ejemplo. En estos casos el organismo desarrollará reacción inflamatoria con la finalidad de reparar el daño tisular provocado, aunque el agente ya se haya absorbido y excretado; el caso contrario es la presencia de un cuerpo extraño como la gasa quirúrgica (algodón) retenida en la cavidad peritoneal desencadenándose reacción inflamatoria destruyéndo o aislando la misma. Es importante notar que siempre se desarrollará reacción inflamatoria después de lesión celular, esté presente o no el agente inflamatorio que la provocó[22].

A continuación se describen detalladamente las fases de la reacción inflamatoria aguda y crónica.

Cuadro 2. Tipos de Reacción Inflamatoria (RI). Definición, patrón morfológico y causas.

Tipo	Definición	Patrón Morfológico	Ejemplos
Aguda	Reacción inicial que dura entre minutos y pocos días en respuesta a lesión celular[22].	Alteraciones Vasculares (dilatación de vasos pequeños y éstasis) y Tisulares con exudado de fluidos (edema) y extravasación de leucocitos, principalmente neutrófilos[22].	Colecistitis Aguda[32], Apendicitis Aguda[93], RI a material de sutura[67], Infección por *H. Pylori*[87].
Absceso	Sub-Tipo de RI Aguda[22].	Acumulación de detritus celulares y agregados de células polimorfonucleares (neutrófilos)[22].	Infección cutánea por *S. aureus*[32].
Crónica	Fase de la inflamación con duración prolongada en respuesta a estimulos que no pueden eliminarse con la reacción inflamatoria aguda[22].	· Presencia tisular de linfocitos y células plasmáticas[22]. · Angiogénesis y tejido de cicatrización[22].	Linfocitosis colónica[14].
Inflamación Granulomatosa - Reacción a Cuerpo Extraño	Sub-Tipo de RI Crónica secundaria a la persistencia o incapacidad del organismo de eliminar el agente inflamatorio[22].	RI Crónica aunada a la presencia de macrófagos activados (epitelioides) o fusionados formando células gigantes con múltiples núcleos en su interior[22]. **Granuloma** es una acumulación focal de Inflamación Granulomatosa, o bien la acumulación de células epitelioides rodeadas por anillo de linfocitos con presencia o no de células gigantes[22].	RI a material de sutura[67], Esquistosomiasis[62], Infección por *Mycobacterium ulcerans*[44].

V.1 Reacción inflamatoria aguda

Como se define en el Cuadro 2, ésta es la respuesta inicial del organismo a determinado tipo de lesión celular. En esta sección se enfatizará en las fases que conlleva, diagnóstico histopatológico (patrón morfológico) y marcadores inflamatorios[22].

Fases de Reacción Inflamatoria Aguda[22]

1. Alteraciones vasculares
2. Aumento de la permeabilidad vascular
3. Extravasación leucocitaria
4. Fagocitosis o eliminación del agente inflamatorio

Cuadro 3. Principales células involucradas en los procesos inflamatorios [22,26,81]

Célula Inflamatoria *(origen)*	Maduración	Distribución	Función
Neutrófilo *(CFU-G*)*	· Mieloblasto · Promielocito · Neutrófilo-Mielocito · Neutrófilo-Metamielocito · Neutrófilo en banda · Neutrófilo segmentado (maduro)	· Sangre · Endotelio vascular (marginación) · Exudado inflamatorio purulento · Secreciones glandulares varias (saliva, etc.)	· Fagocitosis de agentes inflamatorios generalmente de tipo infeccioso.
Linfocitos *(precursor T/NK** cell; precursor B cell)*	· Pro-linfocitos (B, T y NK)	· Sangre (80-90% linfocitos T, 20-10% linfocitos B) · Organos linfoides	· Inmunidad celular (linfocitos T y NK**) · Inmunidad humoral (linfocitos B y células plasmáticas)
Epitelioides y Células Gigantes *(CFU-M***)*	· Monoblasto · Mieloblasto · Promonocito · Monocito (maduro)	· Sangre (monocitos) · Macrófagos (tejidos varios) · Células de Kupffer (hígado) · Histiocitos sinusoidales (bazo y ganglios linfáticos	· Inmunidad celular y humoral. · Fagocitosis de agentes inflamatorios como infecciosos y cuerpos extraños.

* *CFU-G*=Unidad formadora de colonias de granulocitos; ** *NK*=células asesinas naturales;. *** *CFU-M*=Unidad formadora de colonias de monocitos.

Aquí se hace referencia a la reacción inflamatoria aguda pero estas fases son comunes para todos los tipos de células inflamatorias (leucocitos) dependiendo del tipo de agente que produjo la lesión. En esta sección nos referiremos al neutrófilo.

V.1.1 Alteraciones vasculares.

Luego de lesión en determinado sitio del organismo, a nivel local se produce vasoconstricción arteriolar fugaz seguida de vasodilatación arteriolar y capilar produciendo incremento en el flujo sanguíneo, prolongándose éste dependiendo del agente inflamatorio que la produjo[22].

V.1.2 Aumento de la Permeabilidad Vascular

Este es el patrón de mayor especificidad de la reacción inflamatoria aguda y se produce con la finalidad de permitir la extravasación de elementos celulares y plasmáticos[22]. Los mecanismos de esta fase se describen en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Mecanismos de las alteraciones de la permeabilidad vascular en reacción inflamatoria aguda[22,81,92]

Mecanismo	Descripción
❍ Contracción del endotelio venular	Activado por la histamina, bradicinina, leucotrienos y otros mediadores químicos; dura alrededor de 15 a 30 minutos.
❍ Retracción de las uniones interendoteliales	Activado por citocinas como la IL-1 (interleucina 1), FNT (factor de necrosis tumoral) y IFN-γ (interferón gamma) reorganizando el citoesqueleto celular produciendo uniones y canales interendoteliales. Se desencadena luego de cuatro a seis horas de la lesión y dura más de 24 horas.
❍ Lesión necrotizante	Cuando ocurre lesión y muerte endotelial (necrosis) directa por un agente inflamatorio ocurre desprendimiento de éstas células produciendo aumento en la permeabilidad de todos los vasos sanguíneos afectados ocurriendo filtración del contenido intravascular al extravascular.
❍ Lesión endotelial causada por leucocitos	Dependiendo del agente lesivo los leucocitos que se adhieren al endotelio (marginación) liberan múltiples sustancias tóxicas (radicales libres de óxigeno, etc.) que produce mayor lesión endotelial y aumento de la permeabilidad vascular.
❍ Aumento de la permeabilidad a través de vasos sanguíneos en regeneración	La angiogénesis inicial desarrollada en un tejido lesionado ocasiona aumento de la permeabilidad hasta que los vasos sanguíneos nuevos se tapizan con endotelio maduro y uniones interendoteliales estables.

Como consecuencia de este aumento de la permeabilidad vascular en los vasos sanguíneos afectados, se produce además, disminución del flujo sanguíneo, debido a que los elementos sanguíneos del plasma salen del espacio intravascular al extravascular. Estos elementos del plasma son proteínas, restos celulares, lo que se denomina ***exudado***[22].

V.1.3 Extravasación leucocitaria

La presencia de leucocitos en el tejido dañado es imprescindible ya que éstos destruyen el agente inflamatorio mediante excreción de sustancias tóxicas o por degradación enzimática. Sin embargo, una respuesta exagerada de éstos puede desencadenar mayor reacción inflamatoria y además, prolongarla[22]. La extravasación leucocitaria tiene tres etapas, las cuales son:

1) Marginación y Adhesión leucocitaria;
2) Diapédesis o Transmigración endotelial; y,
3) Migración extravascular hacia estímulos quimiotácticos (ver Cuadro 5).

Cuadro 5. Etapas de la Extravasación Leucocitaria[22,81]

Fase	Descripción
❍ **Marginación y Adhesión**	· Disminución del flujo sanguíneo con marginación leucocitaria al endotelio mediada por selectinas, integrinas e inmunoglobulinas.
⇓	· IL-1 e FNT estimulan la expresión de moléculas de adhesión y promueven activación leucocitaria.
	· Las selectinas participan en la marginación y las moléculas ICAM-1 y β_2 LFA-1, por ejemplo, promueven adhesión fuerte al endotelio facilitando así la diapédesis.
❍ **Diapédesis**	· Los leucocitos adheridos al endotelio emiten pseudópodos a través de las uniones interendoteliales hasta llegar al espacio extravascular.
⇓	
❍ **Migración Extravascular**	· Luego, los leucocitos emiten pseudópodos migrando hacia estímulos quimiotácticos producidos en el sitio de la lesión (productos bacterianos, complemento (C5a), leucotrienos (LB4) y citocinas (IL-1, FNT, IL-8, PAF).

IL-1: interleucina 1; *FNT:* factor de necrosis tumoral; *ICAM-1* y *β2 LFA-1:* inmunoglobulina e integrina, respectivamente; *C5a:* fracción de complemeto 5a; *LB4*: leucotrieno B4; *IL-8:* interleucina 8; *PAF:* factor activador de plaquetas.

Para que un leucocito pueda llegar al sitio de la lesión necesita unirse al endotelio venular, es decir, marginarse y adherirse. Esto se realiza por medio de proteínas y receptores específicos que se resumen en el Cuadro 6.

V.1.4 Fagocitosis o eliminación del agente inflamatorio

Los leucocitos (neutrófilos y macrófagos activados) acumulados en el lugar de la lesión o donde se encuentra el agente inflamatorio, realizan fagocitosis y liberan enzimas para eliminar el mismo. Las etapas de ésta fase son:

1) Reconocimiento y contacto;

2) Englobamiento; y,

3) Degradación enzimática (Ver Cuadro 7).

Cuadro 6. Proteínas reguladoras de la Marginación y Adhesión Leucocitaria[22,26,49,81]

Proteína	Ubicación	Función
Selectinas		
· E-selectina	· Endotelio y Leucocitos	· Marginación
· P-selectina	· Endotelio y Plaquetas	· Marginación
· L-selectina	· Leucocitos	· Marginación
Inmunoglobulinas		
· ICAM-1	· Endotelio y Leucocitos	· Adhesión Intercelular
· VCAM-1	· Endotelio y Leucocitos	· Adhesión Vascular
Intregrinas		
· β2 LFA-1	· Leucocitos	· Adhesión Intercelular (Receptor de ICAM-1)
· MAC-1	· Leucocitos	· Adhesión Intercelular (Receptor de ICAM-1)
· β1 VLA-4 (integrina α4β1)	· Leucocitos	· Adhesión Vascular (Receptor de VCAM-1)

E=endotelio; *P*=plaquetas; *L*=leucocitos; *ICAM*=inmunoglobulina de adhesión intercelular; *VCAM*=inmunoglobulina de adhesión vascular; *β2 LFA-1, MAC-1, β1 VLA-4*=integrinas receptoras de inmunoglobulinas.

Cuadro 7. Eliminación del agente inflamatorio mediado por células[9,12,22,81,88,94]

Etapas	Descripción
o ***Reconocimiento y contacto con el agente inflamatorio***	El agente inflamatorio es recubierto por moléculas del complemento (C3b) e inmunoglobulinas (Fc). Estas moléculas se unen con receptores específicos en el leucocito (CR, FcγR) para proceder con el englobamiento.
o ***Englobamiento del agente inflamatorio***	La unión de las moléculas C3b-CR por ejemplo, desencadena reacciones enzimáticas intraleucocitarias con emisión de pseudópodos para fagocitar o englobar el agente inflamatorio produciendo un fagolisosoma
o ***Degradación enzimática del agente inflamatorio***	Hacia el fagolisosoma ocurre degranulación enzimática de radicales libres y enzimas para degradar el agente inflamatorio

C3b=fracción del complemento 3b; *Fc*=fracción c de inmunoglobulina; *CR*=receptor de complemento; *FcγR*=receptor de la fracción c de gammaglobulina.

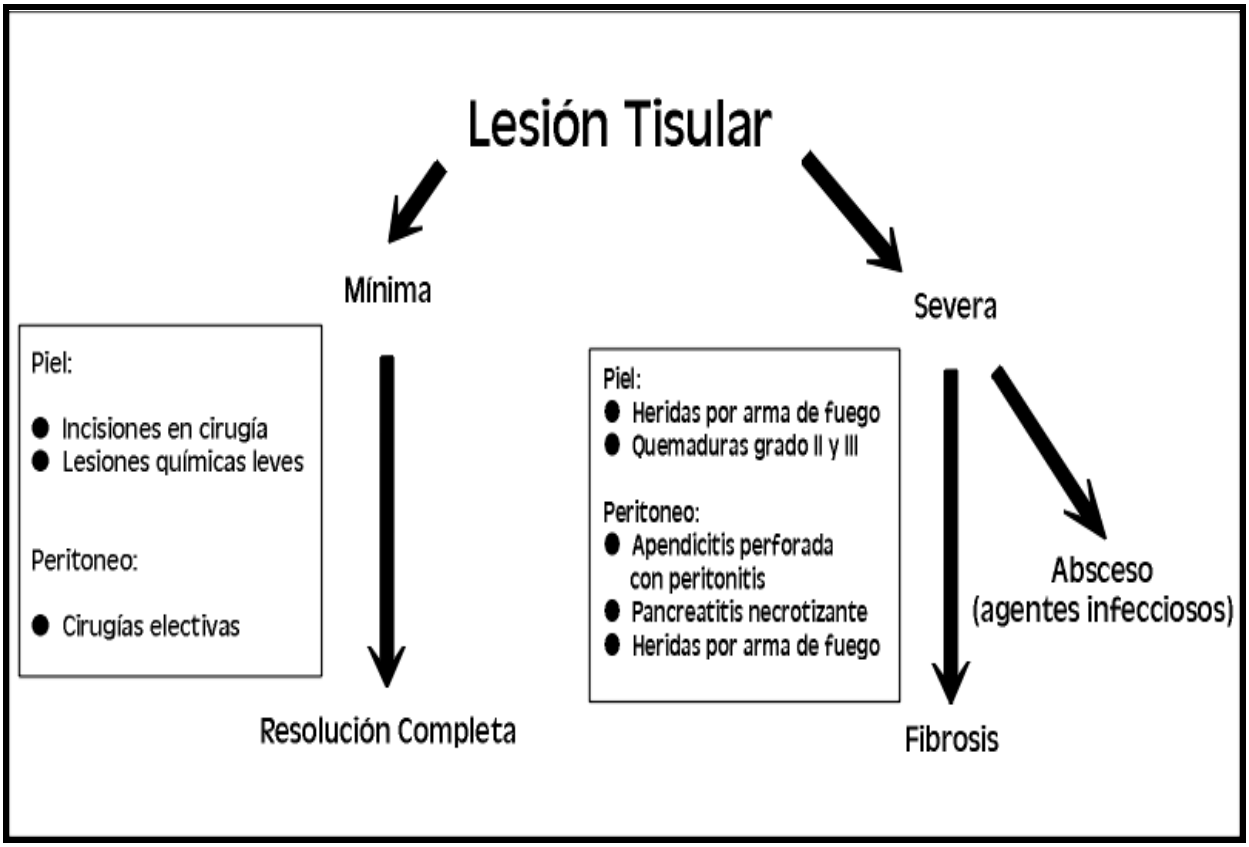
Evolución de Reacción Inflamatoria Aguda

Luego de desencadenadas todas las fases y etapas de la reacción inflamatoria aguda, ésta puede seguir subsecuentes etapas hacia la resolución de la enfermedad o progresión a inflamación crónica. Éstas etapas son:

1) **Resolución:** sucede cuando se elimina totalmente el agente y la lesión tisular es mínima reparándose sin secuelas;
2) **Fibrosis:** sucede cuando el agente inflamatorio produce lesión tisular importante (pérdida de estructuras, luego de formación de absceso) ocasionando sustitución del tejido lesionado por tejido conjuntivo;
3) **Absceso:** ocurre por agentes infecciosos piógenos como el *S. aureus*[22,97] (Ver Figura 1).

Figura 1. Evolución de la Reacción Inflamatoria Aguda[22,36,51]

V.2 Reacción inflamatoria crónica.



Como se define en el Cuadro 1, la reacción inflamatoria crónica se desarrolla luego de la respuesta al agente inflamatorio que no puede eliminarse por los procesos de fagocitosis en la reacción inflamatoria aguda, por lo tanto es una respuesta tardía hacia el mismo. Esto ocurre, por ejemplo hacia:

1) Agentes inflamatorios de tipo infeccioso persistentes en el organismo en enfermedades como tuberculosis, sífilis y por algunos tipos de hongos;
2) Agentes inflamatorios endógenos o exógenos como en el caso de la aterosclerosis y silicosis, respectivamente; y
3) En reacciones autoinmunitarias como en artritis reumatoide y lupus eritematoso[22,44].

Fases de Reacción Inflamatoria Crónica[22]

1) Infiltración por células inflamatorias mononucleares
2) Destrucción tisular por células inflamatorias
3) Reparación por tejido conjuntivo (angiogénesis y fibrosis)

V.2.1 Infiltración por células inflamatorias mononucleares

Los monocitos conjuntamente con los neutrófilos comienzan a migrar del espacio intravascular al extravascular en las etapas iniciales de la reacción inflamatoria aguda y alrededor del tercer día (luego de 48 horas) los macrófagos son el tipo de célula inflamatoria predominante e intervienen directamente en la **resolución** de la lesión tisular cuando el agente inflamatorio es eliminado. Sin embargo, cuando se elimina los macrófagos persisten en el sitio de la lesión o donde éste se encuentra debido a proliferación local y por la continua producción de estímulos quimiotácticos (C5a, Il-8, entre otros) para la migración de monocitos y otras células inflamatorias de la circulación sanguínea, además de su inmovilización por la producción del factor inhibidor de los macrófagos secretado por linfocitos T. Además, los macrófagos secretan monocinas, que son sustancias que activan a los linfocitos para la segregación de sustancias inflamatorias[22,49]. Los linfocitos como ya se mencionó, actúan en la inmunidad celular y humoral contra agentes inflamatorios adyuvando a los macrófagos, secretando sustancias como el interferón gama (IFN-γ), que producen la activación de éstos a epitelioides. Las células plasmáticas producen inmunoglobulinas (anticuerpos) contra el agente inflamatorio o hacia los componentes de las células tisulares dañadas favoreciendo así el reconocimiento de los anticuerpos por macrófagos que se encargan de fagocitar el agente y los detritus celulares. Los eosinófilos se encuentran presentes tanto en reacciones inmunitarias de hipersensibilidad como en infecciones por parásitos, como helmintos[22,26,62].

V.2.2 Destrucción tisular por células inflamatorias

Los macrófagos contribuyen a la persistencia de la reacción inflamatoria crónica debido

a que secretan sustancias tóxicas al espacio extracelular como radicales libres de oxígeno, óxido nítrico, proteasas, y metabolitos del ácido araquidónico (prostaglandinas y leucotrienos), sustancias que son importantes para la atenuación y degradación de los agentes inflamatorios, produciendo mayor lesión celular[26,81].

E.2.c Reparación por tejido conjuntivo

Se denomina cicatrización al proceso de reparación por tejido conjuntivo y ocurre al finalizar el proceso inflamatorio, tanto agudo como crónico. Si ocurre resolución completa (ver Figura 1) la cicatriz será mínima, en cambio si la lesión tisular fue severa ocurrirá fibrosis.

Las etapas que ocurren en la cicatrización de una herida son:

1) angiogénesis
2) migración y proliferación de fibroblastos
3) depósito de matriz extracelular
4) remodelación del tejido fibroso cicatrizal[22,26].

En el paciente quirúrgico, existen diversas formas de denominarse la fibrosis dependiendo del área anatómica involucrada y generalmente se produce unión de dos órganos vecinos fusionándose entre sí mediante tejido conjuntivo (ver Cuadro 8).

Cuadro 8. Formas de fibrosis en diversas áreas anatómicas

Nombres relativos a fibrosis	Area Anatómica	Secuela de
❍ Adherencias	Cavidad peritoneal Espacio pleural	Cirugía[85], lesiones peritoneales[45] Empiema y pleuritis[90]
❍ Sinequia	Utero	Legrado (Síndrome de Asherman)[80]
❍ Plica	Cavidad articular	Lesiones deportivas[63]

Inflamación Granulomatosa (Reacción a cuerpo extraño)

A diferencia de la reacción inflamatoria crónica linfocítica[14,22] mencionada en las secciones anteriores, la inflamación granulomatosa o reacción a cuerpo extraño [13,44,62] es un tipo de reacción inflamatoria crónica caracterizada por la presencia de células epitelioides (macrófagos activados). Este tipo de inflamación se observa en enfermedades inmunitarias (sarcoidosis), reacciones a cuerpo extraño (materiales de sutura, silicosis) y reacciones a agentes infecciosos persistentes (tuberculosis, sífilis, esquistosomiasis). Un **granuloma** es el equivalente al *absceso* de la reacción inflamatoria crónica y se define como zona focal de inflamación granulomatosa. En ocasiones, las células epitelioides pueden fusionarse para formar **células gigantes multinucleadas**, caracterizadas por ser de gran tamaño con múltiples núcleos en su interior. Cuando éstos se alinean en la periferia de la célula gigante se denominan "**tipo Langhans**" y cuando se disponen a nivel central se denominan "**tipo cuerpo extraño**", debido a que las primeras se observan en enfermedades inmunitarias, y las segundas, en reacciones a algunos agentes inflamatorios exógenos. Sin embargo, ambos tipos pueden encontrarse conjuntamente en algunas enfermedades como la sarcoidosis[22,62,67].

2. Cirugía Experimental

La Cirugía Experimental nace de la necesidad de solventar problemas observados en la práctica cotidiana del cirujano en la atención de pacientes mediante la realización de modelos quirúrgicos experimentales para la prueba de hipótesis[28], además de la perfección en animales de técnicas quirúrgicas nuevas como convencionales.

2.1 La rata como animal de experimentación

La rata es un animal adecuado para la cirugía experimental y quizás el más utilizado en la investigación quirúrgica. Posee ciertas ventajas para su utilización en el laboratorio: tiene un bajo costo, se alimenta poco, ocupa poco espacio en el laboratorio, se adapta fácilmente a los medios ambientales, se puede manipular fácilmente sin riesgos, y tiene alto índice de reproducción. Otra ventaja es que tolera un mínimo grado de contaminación quirúrgica al no desarrollar infecciones, sin embargo, cuando se rompen ciertos criterios de esterilidad como contaminación del campo quirúrgico con orina o heces del animal, deben utilizarse antibióticos. Es importante para el investigador estandarizar las condiciones experimentales pudiendo generar en ésta, cepas isogénicas para diversos modelos experimentales[68].

2.2 Anatomía de la rata

Es muy similar a la del ser humano pudiendo utilizarse para modelos farmacológicos y quirúrgicos experimentales en tejido nervioso[89], pulmón[60], hígado[16,53], riñón[77], cavidad peritoneal [45,98], paratiroides[17]. La cavidad abdominal posee casi las mismas características del ser humano, a diferencia de que en la rata no se encuentra vesícular biliar[68,83] (Ver Figura 2).

2.3 Fisiología de la rata

El Cuadro 9 describe los parámetros fisiológicos más importantes de la rata. En cirugía experimental es impráctico cuantificar estos parámetros. Sin embargo, es imprescindible poner atención a algunos de ellos en algunas situaciones. Por ejemplo, observación y cuantificación de: *frecuencia respiratoria* en la inducción y conducción de la anestesia inhalada con éter; *temperatura rectal*, cuando hay signos de infección como eritema alrededor de la herida operatoria, dehiscencia operatoria con exudación de fibrina, disminución de la actividad fisiológica diurna y noctura y disminución en la alimentación[68,69,83].

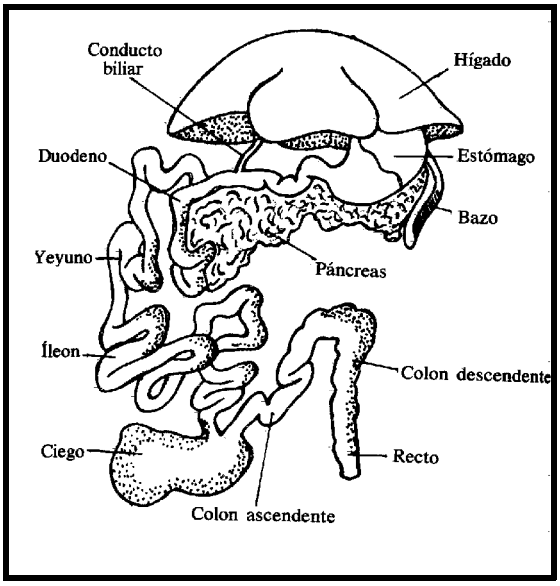


Figura 2. Anatomía Abdominal de la rata[68].

Cuadro 9. Parámetros Fisiológicos de la rata[68,69,83]

Parámetro	Valor
Vida	2. - 3.5 a
Gestación	18 - 23 d (6 crías por embarazo)
Peso corporal (macho)	
12 semanas	200 - 400 g
adulto	300 - 800 g
Peso corporal (hembra)	
12 semanas	150 - 270 g
adulta	250 - 400 g
Ciclo menstrual	4 - 6 d
Frecuencia Cardíaca	250 - 500 lpm
Presión Arterial	
Sistólica	75 - 120 mmHg
Diastólica	60 - 90 mmHg
Frecuencia Respiratoria	65 - 110 rpm
Volumen Respiratorio Tidal	1.6 mL
Temperatura rectal	35.5 - 38.9 °C
Ingesta de sólidos	5 - 6 g/ 100 gp / d
Ingesta de líquidos	8 - 12 mL / 100 gp / d
Tránsito Gastrointestinal	12 - 24 h
Volumen urinario	5.5 mL / 100 gp / d
Agua corporal total	167 mL
Líquido intracelular	92.8 mL
Líquido extracelular	74.2 mL
Volumen plasmático	3.08 - 3.67 mL / 100 gp
Volumen sanguíneo	6 - 7 % del peso corporal o 5.6 - 7.1 mL / 109 gp

a=años; d=día; g=gramos; °C=grados centígrados; lpm=latidos por minuto; mmHg=milímetros de mercurio; rpm=respiraciones por minuto; gp= gramos de peso; h=horas; mL=mililitros.

2.4 Procedimiento Quirúrgico en ratas

2.4.1 Planteamiento de un Procedimiento Quirúrgico

En el Cuadro 10 se describen los aspectos que deben considerarse antes de plantear un experimento quirúrgico.

Cuadro 10. Aspectos necesarios para la realización de un procedimiento quirúrgico[84].

Aspecto	Consideraciones
❍ Animales	Selección de especie, raza, sexo, peso, salud
❍ Personal	Médicos, técnicos, estudiantes de medicina
❍ Area de trabajo	Laboratorio, bioterio
❍ Materiales físicos y equipo	Lámparas, botes de basura, bolsas para desechos biológicos, gasas, equipo quirúrgico, materiales de sutura
❍ Materiales químicos	Fármacos, anestésicos, antisépticos
❍ Procedimiento Quirúrgico	Técnica aséptica, procedimiento a realizar, tipo de cirugía
❍ Cuidados postoperatorios	Area de recuperación y seguimiento

2.4.2 Tipos de Cirugía

Los procedimientos quirúrgicos se pueden clasificar de la siguiente forma[84]:

- *Mayores:* Cuando se incide la cavidad corporal y se induce deterioro físico o fisiológico.
- *Menores:* Cuando no se incide la cavidad corporal, pero no existe estrés físico o fisiológico.
- *De supervivencia:* Cuando se espera que el animal vuelva a la conciencia después del procedimiento anestésico y quirúrgico.
- *De **no** supervivencia:* Cuando luego del procedimiento quirúrgico no se espera que el animal vuelva a la conciencia y se procede a la eutanasia.

2.4.3 Fases de un Procedimiento Quirúrgico

Para la realización de un procedimiento quirúrgico en la rata es importante tomar en cuenta ciertos aspectos de acuerdo a tres momentos importantes: preoperatorio, operatorio y post-operatorio[84] (ver Cuadro 11). Un procedimiento quirúrgico experimental no puede realizarse por una persona[84], por lo que es importante conformar adecuadamente el personal que integrará el equipo de trabajo. En

el Cuadro 12, se esquematiza ésta organización.

Cuadro 11. Aspectos a considerar en un Procedimiento Quirúrgico Experimental[84]

Fase	Consideraciones
Preoperatoria	· Selección de lugar de trabajo apropiada - Bioterio (para el cuidado de animales) - Sala operatoria · Selección de animales de experimentación - Sin evidencia de enfermedad - Proporcionados por establecimientos confiables · Organización de los procedimientos a realizar por el equipo investigador - Preparación del animal (ayuno, recorte de pelo, fijación) - Anestesia - Procedimiento quirúrgico (técnica aséptica) - Eutanasia - Toma de muestras - Analisis histopatológico · Uso de medicamentos - Antibióticos cuando se rompan condiciones estériles
Operatoria	· Técnica quirúrgica cuidadosa · Utilización de equipo quirúrgico y materiales (agujas, material de sutura) de tamaño apropiado para el animal
Postoperatoria (procedimiento de supervivencia)	· Recuperación anestésica · Seguimiento - Observación de herida operatoria vigilando cicatrización, signos de infección, dehiscencia - Documentar signos de dolor (hipoactividad, pérdida de peso, disminución en la ingesta, automutilación.

Cuadro 12. Esquematización de las Actividades del Personal del Equipo de Trabajo

Recurso Humano	Actividades
Cirujanos	Procedimiento Quirúrgico
Estudiantes de Medicina	Procedimiento Quirúrgico, Observación, Descripción de hallazgos en Boleta de Recolección de Datos, Tomar fotografías y video
Técnico	Anestesia, Manipulación del animal
Médico Veterinario	Anestesia, Evaluación de signos vitales del animal

2.5 Eutanasia

Eutanasia (*eû*=bien; *thánatos*=muerte) es la muerte natural programada sin dolor en un animal de experimentación. En ratas, los métodos más comunes son la sobredosis anestésica generalmente por vía inhalada. Otras opciones son la dislocación y decapitación. Cualquier método que se utilice deberá ser rápido para disminuir el estrés, ansiedad y dolor del animal. Generalmente se utiliza la sobredosis con éter inhalado para lograr eutanasia fácil, rápida y a bajo costo. Este tipo de anestesia se realiza colocando al animal de experimentación en recipiente transparente y cerrado herméticamente con abundante algodón humedecido con éter, hasta que se observe cese de signos vitales. La única desventaja del éter es el riesgo de explosión, ya que es muy volátil poniendo en riesgo al personal que lo utiliza[84].

3. Patología Quirúrgica Experimental

La patología (*pathos*: sufrimiento; *logos*: estudio) es una rama de la medicina que estudia los cambios estructurales y funcionales en las células utilizando diversas técnicas de laboratorio para explicar los fenómenos que ocurren en el ser vivo sometido al estrés de una noxa o enfermedad. Muchos ensayos experimentales en animales tanto farmacológicos como quirúrgicos van seguidos de la documentación histológica de los cambios celulares inducidos. Además, en la realización de ensayos clínicos controlados en humanos, un requisito es la "experimentación básica y animal previa"[37] hecho que conlleva análisis histopatológico. La Patología Quirúrgica Experimental realiza análisis histopatológico de tejidos desde la toma de muestras de un animal de experimetanción hasta la observación de los cortes histológicos en laminillas teñidas a través de un microscopio[23]. En el Cuadro 13 se describen los procedimientos que deben seguir cirujano, técnico de laboratorio de patología y patólogo para la preparación de un tejido.

Cuadro 13. Procedimientos para la preparación de un tejido[1-3,5,48,73,74].

Procedimiento	Descripción
1. Toma de muestras (cirujano)	Resección cuidadosa de órganos o muestras de tejidos de animales vivos o muertos para su análisis posterior
2. Fijación (cirujano)	Colocación del tejido resecado en un agente fijador como el formaldehído con la finalidad de mantener intactas las estructuras celulares del tejido
3. Análisis macroscópico y preparación posterior (patólogo)	Observación de órganos o tejidos fijados. Estos se cortan en segmentos más pequeños para el procesamiento posterior
4. Procesamiento de Tejidos (técnico de laboratorio de patología)	Incluye: deshidratación, aclaración, inclusión en parafina, cortes micrométricos, tinciones (por ejemplo, hematoxilina y eosina Y) y montaje de laminillas
5. Análisis microscópico (patólogo)	Analisis de laminillas preparadas en microscopio de luz

4. Bioética Animal

4.1 Etica y Bioética en la Investigación Experimental con Animales

Experimentación con animales hace referencia al estudio científico en éstos con el objetivo de obtener nuevos conocimientos o comprobar hipótesis a partir de problemas biológicos observados en diferentes ciencias, tanto humanas como veterinarias[50].

La **Bioética Animal** se refiere a la aplicación de normas éticas en el comportamiento y relaciones del hombre con los animales. Surge en base al reconocimiento de Derechos Animales y por el resurgimiento de grupos de Defensa Animal. El principio *"nil non nocere"* no sólo se refiere al ser humano, sin a todos los seres vivos, y de aquí que la bioética se refiera en general a las ciencias de la vida. Un principio bioético es que todas los investigaciones realizadas en humanos, debieran ser precedidas de estudios in vitro e in vivo en animales de experimentación, garantizando así la aceptación de medicamentos, pruebas y procedimientos quirúrgicos en seres humanos[6,37]. Las acusaciones en el pasado de diferentes grupos de defensa animal contra grupos de experimentación con animales eran porque los experimentos se realizaban sin considerar el dolor y sufrimiento de ellos durante los estudios[4]. En el Cuadro 14 se resumen algunos principios de Bioética Animal.

Cuadro 14. Principios y Requisitos Bioéticos para el uso de animales de experimentación en investigaciones[4]

Principios y requisitos relacionados con el personal médico
1. Los ***experimentación animal*** debe ser realizada bajo la supervición de científicos calificados (investigadores y veterianarios, por ejemplo).
2. El ***cuidado*** del animal de experimentación debe ser supervisado por un científico entrenado (veterinario o técnico de bioterio)
Principios y requisitos relacionados con la investigación o el experimento
1. Realizarse para el bien de la sociedad y no innecesaria
2. Basarse en el conocimiento previo de la enfermedad o problema
3. Evitar cualquier daño y sufrimiento innecesario en los animales
4. Cuando se realice eutanasia, ésta no deberá producir sufrimiento alguno al animal

5. Colecistectomía y Reacción Inflamatoria

La Colecistectomía sigue siendo el estándard de oro para el tratamiento de inflamación de la vesícula biliar con o sin cálculos[59]. En la cirugía del árbol biliar ocurre derrame de bilis, caída de cálculos biliares y clips; en muy raras ocasiones puede dejarse inadvertidamente gasas/compresas no sólo en este tipo de cirugía sino en cualquier otro.

Aunque se han reportado altas tasas de éxito en colecistectomía laparoscópica en nuestro medio, no dejan de ocurrir complicaciones (ver Cuadro 15).

Cuadro 15. Complicaciones en Colecistectomía Laparoscópica

Hospital	LVB % (n)	BP % (n)	CBR % (n)	Total % (n)
Denver Health Medical Center CO, USA[10]	0.8 (5)	1 (6)	0.7 (4)	2.5 (15)
Hospital Roosevelt Guatemala, ciudad[76]	1.2 (2)	1.2 (2)	-	2.4 (4)

LVB=Lesión de vía biliar; BP=Bilioperitoneo; CBR=Cálculos biliares retenidos en vía biliar.

Cuando se expone la cavidad peritoneal a agentes inflamatorios endógenos experimentalmente con bilis y cálculos biliares, la reacción inflamatoria concurrente es muy variable resultando en reacción inflamatoria aguda, crónica, granulomatosa con formación de granulomas o no, fibrosis y además, infección[46]. Existen casos reportados de fuga biliar tanto reportes aislados[31] como en series de casos[76]. La retención de agentes inflamatorios exógenos (generalmente gasas) dentro de la cavidad peritoneal conlleva obstrucción intestinal[96], adherencias peritoneales, migración[56,61,75,95], encapsulación[78], sepsis y muerte por fallo multiorgánico[40].

6. Definición de Elementos

- **Bilis:** Sustancia secretada por el hígado a través de los conductos biliares que drena al intestino delgado a través del conducto biliar y se compone de agua, sales biliares, bilirrubina, colesterol, lecitina y electrolitos[34,47].

- **Clip:** Pieza de titanio que se utiliza para ligar el conducto y arteria cística en la colecistectomía[75].

- **Gasa:** Material confeccionado de algodón de diversos tamaños que se utiliza como absorbente de fluidos corporales y sangre durante una cirugía[1].

- **Peritoneo:** Membrana formada por tejido conjuntivo laxo recubierta por mesotelio que tapiza las vísceras abdominales (peritoneo visceral) y la cara posterior de la pared abdominal (peritoneo parietal)[35].

---

[1] Fuente: Diccionario terminológico de Ciencias Médicas. Editorial Salvat. 13a Edición. España, 1992. p535.

V. Objetivos

1. Comprobar la reacción inflamatoria inducida por bilis, clips de titanio y gasas en el abdomen de la rata.

2. Comparar el tipo y grado de severidad de reacción inflamatoria inducida por bilis, clips de titanio y gasas en el abdomen de la rata.

VI. Hipótesis

Hipótesis Nula (H_0): Todas las ratas expuestas a un agente inflamatorio dentro del abdomen desarrollarán el mismo tipo y grado de reacción inflamatoria que el grupo control.

$H_0 : R_{b,c,g} = R_{co}$

Hipótesis Alterna (H_A): Todas las ratas expuestas a un agente inflamatorio dentro del abdomen no desarrollarán el mismo tipo y grado de reacción inflamatoria que el grupo control.

$H_A : R_{b,c,g} \neq R_{co}$

$R_{b,c,g}$	=	Reacción inflamatoria a bilis, clips y gasas
R_{co}	=	Reacción inflamatoria en grupo control

VII. Materiales y Métodos

A. Metodología

A.1 Tipo de Estudio:

Ensayo Clínico Controlado.

A.2 Objeto de Estudio:

Reacción Inflamatoria (RI) en el peritoneo de la rata.

A.3 Población de animales de experimentación:

Se tomó como población total 100 ratas de la especie Wistar.

A.3.a Condiciones de los animales

A.3.a.1	**Sexo:**	Hembra o Macho
A.3.a.2	**Peso:**	Mayor de 250 gramos
A.3.a.3	**Condiciones generales:**	Sin evidencia clínica de enfermedad

A.3.b Distribución preliminar por grupos

Se designaron 25 códigos de tres cifras numéricas cada uno producidos por método aleatorio en computador mediante una base de datos convencional (QuatroPro versión 8.0) para cada uno de los siguientes grupos:

Grupo 1:	Bilis
Grupo 2:	Clips de titanio
Grupo 3:	Gasas
Grupo 4:	Control

Los códigos y los grupos se imprimieron en tarjetas de 1 x 1.5 pulgadas cuadradas (100 en total) (Ver Figura 1) y se introdujeron en un sobre oscuro que se identificó "Sobre 1 de Distribución Aleatoria". Se preparó otro sobre oscuro identificado como "Sobre 2 de Distribución Aleatoria" vacío con la finalidad de introducir en éste las tarjetas del primer sobre conforme se fue realizando la Distribución Aleatoria. Esta fase se realizó con la finalidad de que tanto el personal quirúrgico como el de patología no conociera el significado del código tanto en el seguimiento como en el análisis histológico garantizando así que el estudio fuera ciego.

Figura 1.

GRUPO (B, C, G, CO)
CÓDIGO (###)

A. Ejemplo de identificación de tarjetas para distribución aleatoria simple.

B. Fotografía de una de las tarjetas.

A.4 Variables a estudiar

- **Dependientes**:

A. Hallazgos macroscópicos

2. *Seguimiento*
   - 1.1 Infección de herida operatoria
   - 1.2 Mortalidad

3. *Posmortem*
   - 2.1 Adherencias intraperitoneales
   - 2.2 Migración del agente inflamatorio exógeno

B. Hallazgos histopatológicos

1. *Reacción Inflamatoria*
   - 1.1 Presente
   - 1.2 Ausente

2. *Tipo de Reacción Inflamatoria*
   - 2.1 Aguda
   - 2.2 Crónica
   - 2.3 Absceso
   - 2.4 Granulomatosa
   - 2.5 Granuloma

3. *Grado de Severidad en 2.1 y 2.2*
   - 3.1 Ausente
   - 3.2 Leve
   - 3.3 Moderada
   - 3.4 Severa

- **Independiente**:

A. Inducción Inflamatoria:

1. *Agente inflamatorio endógeno:*
   - a) Bilis

2. *Agentes inflamatorios exógenos:*
   - b) Clip (titanio)
   - c) Gasa (algodón)

3. *Sin agente inflamatorio*
   - d) Grupo Control

A.4.a Operacionalización de variables

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Escala	Indicadores
Infección de Herida Operatoria	Proceso infeccioso localizado en la herida operatoria	**Criterio clínico:** presencia de eritema, dehiscencia o secreción purulenta en pared abdominal	Nominal	a) Sí b) No
Mortalidad	Interrupción definitiva del ciclo vital del animal de experimentación	Observación del cese de signos vitales de la rata durante el seguimiento	Nominal	a) Sí b) No
Adherencias	Es una secuela manifestada por union por tejido fibroso de órganos normalmente separados	Presencia de adherencias dentro de cavidad peritoneal de la rata hacia el sitio de inducción inflamatoria	Nominal	a) Sí b) No
Migración	Clip: Hallazgo del mismo en localización diferente de donde se colocó. Gasa: Migración de la misma a través de estructuras vecinas.	1. Clip encontrado en lugar diferente de la región hepatobiliar 2. Gasa migrando a través de hígado o vísceras huecas vecinas.	Nominal	a) Sí b) No
Reacción inflamatoria	Proceso encaminado a reparación tisular luego de lesión celular	Documentación microscópica del proceso inflamatorio	Nominal	a) Presente b) Ausente
Tipo de reacción inflamatoria	Reacción inflamatoria caracterizada por distintos tipos de células inflamatorias (patrón morfológico) dependiendo de las características de la lesión o del agente inflamatorio (físico, químico o infeccioso) que la provocó.	Patrones morfológicos en peritoneo: **Aguda:** presencia de leucocitos polimorfonucleares **Crónica:** presencia de linfocitos y células plasmáticas **Absceso:** acumulación focal de reacción inflamatoria aguda **Inflamación granulomatosa:** células epitelioides o células gigantes **Granuloma:** acumulación focal de inflamación granulomatosa	Nominal	a) Aguda b) Crónica c) Absceso d)Inflamación Granulomatosa e) Granuloma

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Escala	Indicadores
Grado de severidad de reacción inflamatoria aguda y crónica	Subdivisión en grados dependiendo de la concentración de células inflamatorias a un aumento de 40X en microscopio de luz.	Recuento manual del infiltrado inflamatorio en los casos en que se documentó reacción inflamatoria aguda y crónica	Ordinal	a) Ausente b) Leve c) Moderada d) Severa
Inducción Inflamatoria producida por el agente endógeno / exógeno	Inducción de reacción inflamatoria con o sin agente inflamatorio dentro de la cavidad peritoneal de la rata	Inducción de reacción inflamatoria o no luego de colocar un agente inflamatorio	Nominal	1. Bilis 2. Clip 3. Gasa 4. Grupo Control

A.5 Instrumentos de recolección de datos y medición de las variables

Se utilizaron Boletas de Recolección de Datos distribuidas y enumeradas de la siguiente manera (Ver sección de Anexos):

1. Procedimiento quirúrgico de inducción inflamatoria y seguimiento posoperatorio
2. Procedimiento quirúrgico posmortem y hallazgos macroscópicos
3. Estandarización de criterios subjetivos de RI Aguda y Crónica en base a grados de severidad por dos patólogos expertos en análisis preliminar de cortes histológicos
4. Recuento manual de cortes histológicos por patólogo experto distinto al paso 3.
5. Hallazgos microscópicos

A.6 Fases de la Investigación

A.6.a Estudio piloto

Se realizó procedimiento quirúrgico de supervivencia (laparotomía) con la finalidad siguiente:

a) Reconocer claramente las estructuras intraabdominales del espécimen
b) Identificar la vía biliar y lóbulos hepáticos

Se operaron 3 ratas utilizando anestesia inhalada con éter.

Procedimiento Quirúrgico

Se realizó incisión mediana supraumbilical con tijera de disección identificando hígado y vía biliar. Se cerró pared abdominal con seda 4-0. En las primeras dos ratas se seccionó parcialmente uno de los conductillos hepáticos lobulares utilizando tijera de disección (ver Figura 2). Ambas ratas murieron: la primera por exceso de anestesia debido a exceso de tiempo quirúrgico (más de 20 minutos) y la segunda, por bilioperitoneo (+/- 2 cc de bilis) identificado en la necropsia luego de 8 horas del procedimiento quirúrgico.

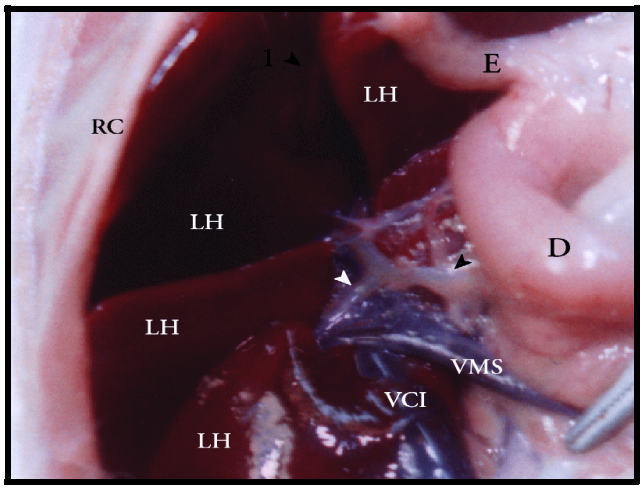


Figura 2. Vía biliar de la rata. *Punta de flecha blanca:* conductillo lobular hepático; *Punta de flecha negra*: conducto biliar común. D=duodeno; E=epiplón; LH=Lóbulo hepático; RC=reborde costal; VCI=vena cava inferior; VMS=vena mesentérica superior. Foto original.

En la tercera rata se cambió el procedimiento quirúrgico puncionando el conducto biliar único con aguja fina no. 27 (jeringa de insulina) produciendo fístula bilioperitoneal mínima. Esta rata sobrevivió y posteriormente se realizó laparotomía electiva a las 48 horas para revisar la fístula producida. Se identificó el conducto biliar puncionado el cual estaba cicatrizado y no se documentó bilioma. Con esto se procedió a estandarizar el procedimiento quirúrgico para todas las ratas, a las cuales se les puncionaría la vía biliar.

A.6.b Inducción de RI

Fase Preoperatoria

i) **Preparación y Obtención de los Recursos Físicos, Humanos y Animales para el Procedimiento Quirúrgico**

Procedimiento quirúrgico y seguimiento fueron realizados en Laboratorio de Cirugía Experimental y Bioterio de la Facultad de Medicina, UFM, respectivamente.

ii) **Selección y obtención de ratas de acuerdo a las condiciones enumeradas en el inciso**

A.3

iii) **Conformación del personal del equipo quirúrgico:**

- Cirujano principal
- Cirujanos ayudantes
- Técnico de Bioterio
- Médico Veterinario
- Estudiantes de medicina

iv) **Procedimiento de Distribución Aleatoria**

Previo a la inducción anestésica de cada animal, el ayudante destinado únicamente a esta fase (ver sección A.3.b) siguió el siguiente procedimiento:

1) Escogió a ciegas una tarjeta del sobre de distribución aleatoria 1,
2) Anotó el código en la boleta de recolección de datos 1,
3) Etiquetó la jaula con el código,
4) En voz alta se mencionó el grupo que correspondía a esa rata,
5) La tarjeta se colocó en el Sobre 2,
6) Este procedimiento se realizó de igual forma para cada animal.

v) **Inducción y Conducción de la Anestesia. Preparación del Animal**

- **Inducción.**
  - Se introdujo al animal seleccionado en recipiente cerrado (campana) en cuyo interior había algodón humedecido con éter.
  - El animal permaneció en la campana por varios minutos hasta que se verificó adormecimiento del mismo.
  - Luego, se sacó de la campana para colocarlo en la mesa quirúrgica.

- **Preparación del Animal.** En la mesa quirúrgica se fijó cada pata del animal con esparadrapo y se colocaron campos quirúrgicos cubriendo las áreas genital y anal.

- **Conducción.** Se colocó a cinco centímetros aproximadamente de la cabeza del animal un recipiente abierto con algodón humedecido con éter para mantener la bajo efectos de anestesia. Luego, se procedió a operar.

Fase Operatoria

i) **Incisión**

Se realizó incisión mediana supraumbilical con tijera de disección en todos los animales involucrando piel, tejido celular subcutáneo, línea alba y peritoneo.

ii) **Introducción del agente inflamatorio (variable independiente)**

- **Bilis.** Se observó la vía biliar separando los lóbulos hepáticos, luego se identificó el conducto biliar único. Posteriormente, se colocó sonda acanalada por detrás de éste y se realizó punción con aguja fina no. 27 creando fístula bilio-peritoneal transitoria. Se verificó hemostasia.

- **Clips de Titanio.** Medían 0.28 mm de diámetro obtenidos de una engrapadora TA® 90 LONG-4.8. Se colocó uno por animal en la región subhepática o biliar, los cuales estaban estériles.

- **Gasa.** Se colocó fragmento de gasa estéril de aproximadamente 0.5 x 1.0 cm^2 en la región subhepática o biliar.

- **Control.** Se observó únicamente la vía biliar separando minuciosamente las estructuras anatómicas.

iii) **Cierre de Pared Abdominal.**

Se realizó con material de sutura en dos planos:

1) peritoneo, músculo y fascia anterior con puntos continuos
2) piel con puntos simples.

iv) **Documentación fotográfica y de video.**

Se tomó fotografías y video para cada uno de los procedimientos: bilis, clips y gasa.

Fase Postoperatoria

i) **Recuperación Anestésica.**

Luego del cierre de la pared abdominal se procedió a lo siguiente:

a) Ubicación del animal en jaula individual
b) Identificación de la jaula con código
c) Se colocó agua en bebedero
d) Se esperó varios minutos hasta que el animal se recuperara.
e) Se agregó viruta a cada jaula para garantizar calefacción para el animal.

ii) **Seguimiento.**

Las ratas se observaron por un lapso de seis semanas anotando los cambios de actividad y de herida operatoria en la boleta de recolección de datos 1 diariamente seis veces por semana. Fueron alimentadas con agua y comida *ad libitum* por técnico de bioterio y mantenidas a temperatura ambiente. Cuando se presentó dehiscencia e infección de la misma se procedió a curarla con solución salina estéril y antiséptico (gluconato de clorhexidina al 10%) hasta que sanara completamente. Cuando se presentó muerte de algún animal se procedió según lo descrito en *Toma de muestras* en la sección A.6.c.

A.6.c Eutanasia de ratas para observación de hallazgos macroscópicos y toma de muestras de tejido

Eutanasia

Se introdujo el animal en un recipiente cerrado con algodón que contenía sobredosis de éter. Al cesar los signos vitales se procedió a la recolección de muestras.

Recolección de muestras y fijación de tejidos

- *Preparación del animal.*

  Se colocó y fijó el animal en una mesa quirúrgica.

- *Procedimiento Quirúrgico*

  Se realizó laparotomía exploradora y luego se procedió a resecar parcialmente la pared abdominal anterior para identificar completamente las estructuras de la cavidad abdominal, y llevar piezas a estudio.

- *Hallazgos macroscópicos operatorios*

  Se buscó clip o fragmento de gasa en cada animal identificando el área subhepática. Se anotó si en este lugar se encontraron adherencias. Se documentaron los hallazgos a través de fotografías y video.

- *Recolección de muestras*

  En todos los casos se tomó muestras de hígado, vía biliar e intestino delgado. Se resecó pared abdominal (peritoneo parietal) cuando se encontraron adherencias a estructuras hepáticas. En los casos en que se identificaron estructuras adheridas a clips de titanio o gasas se resecaron en su totalidad.

- *Fijación de tejidos.*

  Todas las muestras obtenidas de cada animal se colocaron en recipiente con formol neutro y estabilizado al 10% en volumen 5-10 veces superior al de los tejidos resecados. Los tejidos permanecieron en formol por un mínimo de 48 horas.

Tratamiento de tejidos

- *Corte*

  Se hicieron fragmentos como máximo de 0.5 x 1.0 x 0.4 cm^3 a partir de los tejidos fijados y se introdujeron en casetas de plástico para tratamiento posterior.

- *Deshidratación, Aclaramiento, e Inclusión en parafina*

  Las casetas preparadas en la sección anterior se introdujeron en máquina automática especial para este procedimiento. Al finalizar, se obtuvieron bloques de parafina con los tejidos en su interior.

- *Microtomía*

  Utilizando un micrótomo rotatorio se obtuvieron cortes finos de 3 micrómetros (µm) de cada bloque de parafina y se colocaron en láminillas portaobjetos.

- *Tinción con Hematoxilina y Eosina Y*

  Todas las laminillas obtenidas para cada caso se colorearon con el método de Hematoxilina y Eosina de Harris

- *Montaje de laminillas histológicas*

  Se montaron con glicerina y laminillas cubreobjetos.

A.6.d Clasificación objetiva de severidad de reacción inflamatoria peritoneal aguda y crónica de severidad en grados

○ Justificación de esta fase de la investigación

La finalidad de realizar la Clasificación Objetiva de Severidad de reacción inflamatoria en peritoneo fue en primer lugar porque no existe alguna en la literatura médica y, en segundo lugar, proporcionar a los investigadores una escala de valoración objetiva de los parámetros que se utilizaron en esta investigación para determinar los grados de severidad, además porque es imprescindible utilizar un patrón específico, propio, y cuantificable objetivamente para dar mayor validez y confiabilidad a los resultados obtenidos[69].

El patólogo en su práctica diaria clasifica la severidad "subjetivamente"en grados leve (1), moderada (2) o severa (3) sin utilizar un patrón objetivo, por lo que fue necesario comparar dichos patrones objetivamente en forma preliminar, analizándose la reacción inflamatoria desarrollada mediante la evaluación parcial de las laminillas histológicas por parte de una patóloga (Jefa de Residentes de la Sección de Patología del Hospital Roosevelt) quien además documentó fotográficamente en microscopio a aumento de 40X, los hallazgos más importantes. El Procedimiento de la Creación de la Escala Objetiva se resume en lo siguiente:

a) Estandarización de criterios subjetivos de severidad en reacción inflamatoria peritoneal
   - Documentación fotográfica preliminar de las laminillas por Jefe de Residentes
   - Proyección de las fotografías a dos patólogos expertos quienes dieron su diagnóstico por separado en base a su experiencia;
   - Cálculo del índice de concordancia de kappa intra e interobservador;

b) Recuento manual de las fotografías por otro patólogo experto para cuantificar las células inflamatorias;

c) Análisis de resultados del paso (a) y (b) en relación a las fotografías en concordancia;

d) Creación de la Escala objetiva de reacción inflamatoria peritoneal aguda y crónica en grados de severidad.

A continuación se describe detalladamente este proceso.

a) Estandarización de criterios subjetivos de severidad en reacción inflamatoria peritoneal

- **Análisis preliminar de laminillas por patólogo general y documentación fotográfica**

  Participó un patólogo de la Sección de Patología del Hospital Roosevelt como "general" en base al tiempo de experiencia laboral y se le solicitó que observara en microscopio de luz las laminillas identificando los grados de reacción inflamatoria aguda y crónica desarrollados en los animales del estudio, tomando fotografías a aumento de 40X de las imágenes más significativas según los grados subjetivos: ausente, leve, moderada y severa.

- **Preparación de fotografías con base a los Grados de Severidad Subjetivos encontrados**

  Las fotografías tomadas por el patólogo general fueron introducidas por el autor en un programa de computador para fotos (Ulead iPhoto Plus Versión 4.0) estandarizándolas en relación a tamaño, color y cortando segmentos que pudieran actuar como factores recordatorios evitando así sesgo de memoria. Las fotografías se ordenaron y enumeraron con un código desconocido para los patólogos expertos distribuyéndose aleatoriamente en dos órdenes distintos para la presentación de las mismas en dos sesiones distintas.

- **Proyección y diagnóstico de fotografías**
  - En la Sección de Patología del Hospital Roosevelt, a primera hora de la mañana (8:00)

se proyectaron en computador portátil 30 fotos con reacción inflamatoria aguda, crónica, ambas y ausente; de acuerdo a la severidad: leve, moderada y severa.

- Se realizaron dos sesiones separadas por 7 días cada una a dos patólogos considerados "expertos" por el tiempo de experiencia laboral.
- Se llenó la Boleta de Recolección de Datos 3 para cada una de las sesiones.

- **Cálculo del indice de concordancia de kappa intra e interobservador**

  Con los resultados del paso anterior, se introdujo las variables en el programa SPSS (Statistical Packages of Social Sciences) versión 8.0 para Estudiantes" y se calculó el "índice de concordancia de kappa intra e interobservador" y quiere decir:

  - *Intraobservador:* a la concordancia observada para el mismo patólogo en dos sesiones distintas
  - *interobservador:* a la concordancia observada entre ambos patólogos.

b) **Recuento manual de células inflamatorias en fotografías**

Un patólogo experto de la Facultad de Ciencias Médicas de la USAC realizó lo siguiente:

1) Observó las fotografías
2) Realizó recuento manual de las mismas
3) Anotó el número de células inflamatorias identificadas por fotografía en la Boleta de Recolección de Datos 4.
4) Este procedimiento se realizó independientemente del paso (a).

c) **Análisis de los resultados del paso (a) y (b)**

Se estandarizó el criterio en base al valor de kappa obtenido en el paso (a) y se cruzaron éstos resultados con los del paso (b) a excepción de cinco fotografías que fueron excluídas debido a que en ellas hubo confusión respecto al patrón morfológico de la reacción inflamatoria y por lo tanto, no pudo determinarse la concordancia en éstas.

d) **Creación de escala objetiva de grados para reacción inflamatoria Aguda y Crónica en base a recuento manual**

Los resultados de la sección anterior fueron consolidados para la creación de la Escala Objetiva. En este estudio no pudo realizarse tratamiento estadístico para los resultados del recuento manual debido a que el número de observaciones (fotografías) analizadas fueron mínimas, caso contrario de la estandarización de criterios en que el tratamiento estadístico se realizó satisfactoriamente. Por lo tanto, se utilizaron únicamente los datos obtenidos del recuento manual ubicándolos en rangos para cada grado de severidad. Luego se creó la Escala Objetiva en Grados.

En el Cuadro 1se puntualizan las actividades que realizó cada uno de los patólogos.

Cuadro 1. Actividades realizadas por patólogos en la Creación de Escala Objetiva

Patólogo	Procedimiento
○ Jefa de Residentes -Hospital Roosevelt-	Documentación fotográfica y selección subjetiva de la reacción inflamatoria
○ Patólogos Expertos -Hospital Roosevelt- (2)	Estandarización de criterios
○ Patólogo Experto -USAC-	Recuento manual

A.6.e Análisis Histológico por patólogos expertos

Todas las laminillas se observaron en microscopio de luz a los aumentos 10X, 40X y 100X para determinar la presencia o ausencia de reacción inflamatoria. Para este procedimiento se utilizó la Boleta de Recolección de Datos 5.

A.7 Pruebas de Hipótesis

- Se utilizó rangos, media y riesgo relativo para la fase descriptiva del estudio (hallazgos macroscópicos).
- Los métodos Chi cuadrado y Regresión Logística para las variables independientes y dependientes se determinaron utilizando el programa de la compañía SPSS (Statistical Packages of Social Sciences) versión 8.0 para Windows.
- Se presentan en los resultados las abreviaturas: 1) ***p***: probabilidad dada por el método estadístico en la obtención de cada uno de los resultados; y, 2) ***RR***: Riesgo Relativo.
  - p: quiere decir la significancia que el método estadístico, por ejemplo la Regresión Logística alcanzó para una variable específica. Si el valor es ≤ 0.05 quiere decir que se alcanzó un nivel de significancia del 95% con una probabilidad de error ≤ a 5 %[27].
  - RR: es el riesgo relativo de ocurrir un evento al exponerse la rata a un factor de riesgo como los agentes inflamatorios. Si RR es ≤ 1 es un factor protector y si es > 1 es un factor de riesgo[27].

A.8 Aspectos Eticos

Los estudios experimentales en animales de experimentación como la rata son un paso obligatorio en los Ensayos Controlados (FASE I) para determinar la eficacia de algún medicamento nuevo. También en Cirugía Experimental está indicada la intervención de animales de experimentación para desarrollar habilidades y destreza con el cirujano en entrenamiento[68]. El estudio de complicaciones quirúrgicas y posibilidades terapéuticas con sacrificio de animales también se ha realizado ampliamente en el Campo Experimental sin que tenga repercusiones éticas con los animales, ya que su indicación está centrada en el análisis de los fenómenos que ocurren en los animales, planteando posibilidades terapéuticas que pudieran traspolarse al ser humano[79].

B. Recursos

B.1 Materiales

- *Espacio físico, instrumental quirúrgico y materiales de sutura.* Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Francisco Marroquín
- *Microscopio de luz, equipo y materiales para el procesamiento y tinción de tejidos.* Sección de Patología del Hospital Roosevelt
- *Cien jaulas.* Dirección General de Servicios de Salud. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala.
- *Anestesia y accesorios anestésicos.* Autor de la Tesis. Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Francisco Marroquín.
- *Clips de Titanio y materiales de sutura.* Departamento de Cirugía del Hospital Roosevelt.
- *Cámara fotográfica y de video.* Asesor y autor de la tesis. Estudiante de medicina.

B.2 Humanos

Médicos-Cirujanos-Profesores de Medicina

- Dr. Julio César Morales Linares. Jefe de Servicio del Departamento de Cirugía del Hospital Roosevelt y Profesor de Cirugía Titular IV, USAC. (Asesor de tesis).
- Dr. Jorge Braham. Coordinador del Pre y Post grado de Cirugía; Profesor de Cirugía Titular VI (Revisor de tesis).
- Dr. Marco Antonio Peñalonzo. Director del Area de Cirugía Experimental. Facultad de Medicina. UFM. (Autorizó que el proyecto se realizara en el Bioterio de la UFM).

Análisis histológico y Estandarización de Criterios Subjetivos

- Dr. Rodolfo Gil. Jefe de la Sección de Patología del Hospital Roosevelt.
- Dr. Orlando Rodas. Patólogo adscrito de la Sección de Patología del Hospital Roosevelt.

Recuento Manual

- Dr. René Blanco. Profesor Titular VII del Curso de Patología. Facultad de Ciencias Médicas. Fase II. Centro Universitario Metropolitano -CUM-, USAC.

Valoración subjetiva inicial de la Reacción Inflamatoria y Documentación Fotográfica-Histológica

- Dra. Silvia Makepeace. Jefa de Residentes de la Sección de Patología del Hospital Roosevelt.

Asesoría en Patología Quirúrgica Experimental

- Dra. Ingrid Arrillaga. Patóloga de la Sección de Patología del Hospital Roosevelt.

Medicina Veterinaria y Bioterio

- Javier Mendizábal. Médico Veterinario y Jefe de Bioterio. Facultad de Medicina. UFM.
- Eder Nicolás Tsoc. Técnico de Bioterio. Facultad de Medicina. UFM.

Bioestadística

- Dr. Fredy de Mata. Profesor Titular V. Unidad de Evaluación. Facultad de Ciencias Médicas, Centro Universitario Metropolitano -CUM-, USAC.

Estudiantes de Medicina. USAC.

- Carlos Bernardo García Pérez (3er año)
- Héctor Alejandro Campos Ordóñez (3er año)
- Juan Carlos Pérez Sánchez (4to año)

B.3 Obtención de Animales

- Bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC.
- Bioterio del Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP).

B.4 Económicos

Todos los gastos estuvieron a cargo del investigador:

- Obtención de estanterías, bebederos, concentrado, viruta para el cuidado de animales en el Bioterio.
- Obtención de ratas
- Materiales para el procedimiento quirúrgico y eutanasia, éter, gasas, materiales de sutura, guantes descartables.
- Documentación videofotográfica: rollos de revelado y videocintas.
- Honorarios del Técnico de Bioterio para el cuidado y alimentación de ratas.
- Honorarios de Técnicos de la Sección de Patología para el procesamiento de tejidos. Hospital Roosevelt.

VIII. Presentación de Resultados

A. Clasificación objetiva de severidad de la reacción inflamatoria aguda y crónica

A.1 Análisis preliminar de laminillas

Se analizaron 115 laminillas de un total de 296 de forma preliminar. Se seleccionaron 30 fotografías de un total de 45 excluyendo aquellas que tuvieran "factores recordatorios" como presencia de material de sutura que pudieran sesgar los resultados del análisis.

A.2 Estandarización de Criterios Subjetivos en grados de severidad de la Reacción Inflamatoria Aguda y Crónica

Con base a los diagnósticos de dos patólogos expertos obtenidos, luego de la evaluación de las fotografías se obtuvo el índice de concordancia de kappa intra e interobservador. Los resultados se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Valores de kappa para criterios subjetivos de severidad de la reacción inflamatoria aguda y crónica

Indice de Concordancia	Valor de kappa
Intraobservador (experto 1)	0.834
Intraobservador (experto 2)	0.759
Interobservadores (expertos 1 y 2)	0.572

Cuadro 2. Valores de kappa (κ) y grados de acuerdo[64]

κ	grado de acuerdo
< 0	Ninguno
0 - 0.2	Insignificante
0.2 - 0.4	Bajo
0.4 - 0.6	Moderado
0.6 - 0.8	Bueno
0.8 - 1	Muy bueno

Los grados de acuerdo con base a los valores de kappa se describen en el Cuadro 2[64]. La variabilidad entre individuos (pacientes u observadores) es bien reconocida[11] justificándose la determinación de concordancia intraobservador en nuestro estudio, principalmente debido a que se evaluó un criterio diagnóstico subjetivo. Los resultados fueron excelentes con una concordancia "buena" para cada uno de los patólogos concluyendo que la variabilidad entre sus diagnósticos fue mínima y además superó en buen grado a lo que hubieran concordado por azar[27,43]. En otras palabras, los criterios leve, moderada y severa para reacción inflamatoria aguda y crónica (aunque de forma subjetiva) para cada uno de los patólogos fueron bastante precisos.

Cuando se compararon los criterios de ambos patólogos (concordancia interobservadores) hubo acuerdo "moderado" (ver Cuadro 1 y 2). Aunque el valor de kappa hizo disminuir un grado de acuerdo, la concordancia fue alta en comparación con lo que hubiera sucedido por el azar, por lo que se consideró convenientemente que ambos patólogos participaran en análisis de las laminillas para esta investigación.

Con los resultados de la estandarización de criterios y el recuento manual de células inflamatorias de las fotografías se obtuvo la Escala objetiva (ver Cuadro 3).

Cuadro 3. Escala Objetiva en grados de severidad para Reacción Inflamatoria Aguda y Crónica en peritoneo†

Grado (Severidad)	Reacción Inflamatoria Aguda*	Reacción Inflamatoria Crónica**
Leve	1 - 8	1 - 28
Moderada	9 - 50	29 - 99
Severa	> 51	> 100

† Las cifras corresponden al número de células inflamatorias a aumento de 40X;
* Neutrófilos;
** Células plasmáticas y linfocitos.

B. Hallazgos Macroscópicos

B.1 Del seguimiento

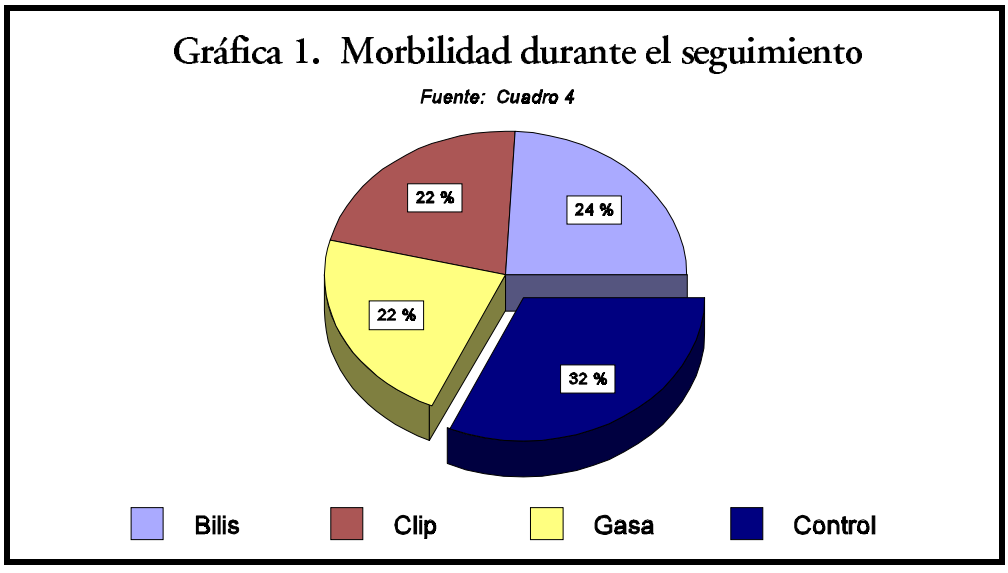
Morbilidad

En el Cuadro 4 y Gráfica 1 se describe y esquematiza la morbilidad observada.

Cuadro 4. Morbilidad documentada durante el seguimiento

Grupo	Casos	RR
Bilis	10 / 25	0.77
Clip	9 / 25	0.72
Gasa	9 / 25	0.72
Control	13 / 25	-
Total	41 %	

No hubo significancia estadística entre grupos.



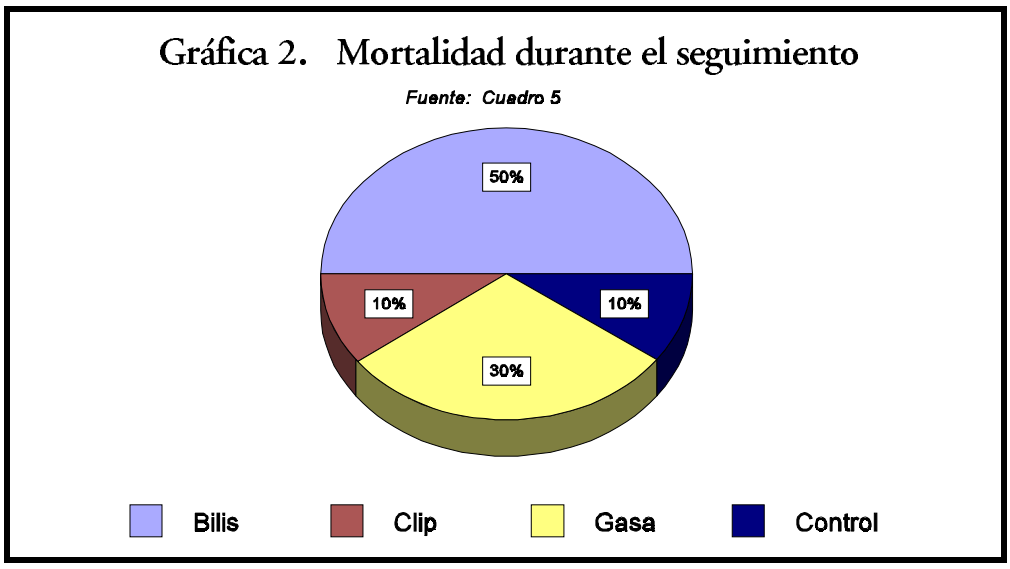
Mortalidad

En el Cuadro 5 y Gráfica 2 se describe y esquematiza la mortalidad observada.

Cuadro 5. Mortalidad observada durante el seguimiento

Grupo	Casos	RR	Vida en días (media)	Diagnósticos
Bilis	5 / 25	5	1 - 8 (3.4)	Peritonitis biliar (RI aguda) RI crónica moderada
Clip	1 / 25	1	9 (9)	-
Gasa	3 / 25	3	9 - 40 (24)	Infección de HOP, adherencias, RI aguda y crónica
Control	1 / 25	-	27 (27)	Infección de HOP
Total	10 %		1 - 40 (12.5)	-

No hubo significancia estadística entre grupos.



B.2 Hallazgos Postmortem

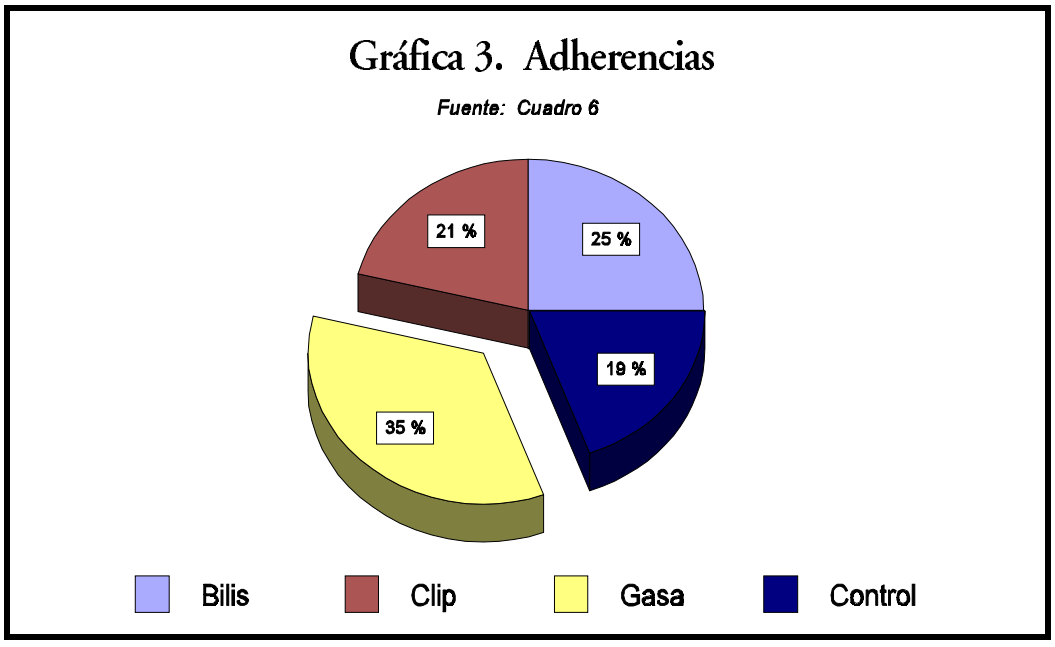
Adherencias

En el Cuadro 6 y Gráfica 3 se describen y esquematizan las adherencias intraabdominales encontradas.

Cuadro 6. Adherencias intraabdominales

Grupo	Casos	RR
Bilis	13 / 25	1.3
Clip	11 / 25	1.1
Gasa	18 * / 25	1.8
Control	10 / 25	-
Total (% del Total)	52 %	-

* $p < 0.05$



C. Hallazgos Microscópicos

A continuación se presentan los diagnósticos de los patólogos expertos al examinar las laminillas obtenidas a partir de la recolección de muestras.

Presencia de Reacción Inflamatoria

En el Cuadro 7 y Gráfica 4 se describe y esquematiza la presencia de reacción inflamatoria.

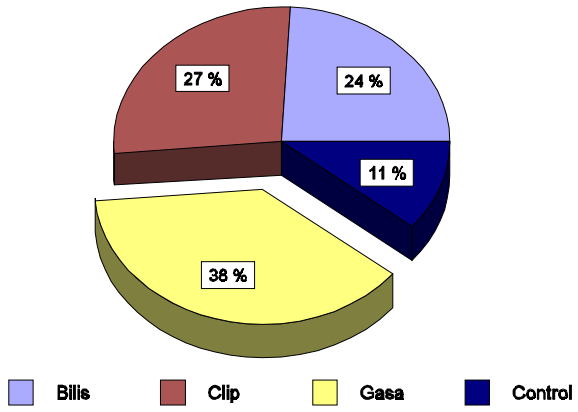
Cuadro 7. Presencia de Reacción Inflamatoria

Grupo	Casos*	RR
Bilis	9 / 25	2.2
Clip	10 / 25	2.5
Gasa	14 / 25	3.5
Control	4 / 25	-
Total (% del Total)	37 %	-

* p=0.04

Gráfica 4. Presencia de Reacción Inflamatoria

Fuente: Cuadro 7



Reacción Inflamatoria Aguda y Crónica

En el Cuadro 8 se describe la presencia de reacción inflamatoria aguda, crónica o ambas.

Cuadro 8. Reacción inflamatoria aguda, crónica o ambas

Reacción inflamatoria	Aguda	Crónica*		Aguda y crónica	
Grupo	Casos	Casos	RR	Casos	RR
Bilis	-	7 / 25	1.75	2 / 25	0.5
Clip	-	10 / 25	2.5	-	-
Gasa	-	13 / 25	3.25	1 / 25	0.25
Control	-	4 / 25	-	-	-
Total (% del Total)	0 (0)	34 %	-	3 %	-

* p = 0.05

Grados de severidad en reacción inflamatoria aguda y crónica

La reacción inflamatoria aguda observada fue únicamente en tres casos y se manifestó conjuntamente con reacción inflamatoria crónica. Los grupos "bilis, clip y gasa "indujeron reacción inflamatoria crónica leve y moderada en similares proporciones. Unicamente los grupos "bilis y gasa" desarrollaron reacción inflamatoria severa pero en casos aislados (1 y 2, respectivamente).

Absceso, inflamación granulomatosa y granulomas

En el Cuadro 9 se describen los hallazgos de abscesos, inflamación granulomatosa y presencia de granulomas.

Cuadro 9. Observación de absceso, inflamación granulomatosa (o reacción a cuerpo extraño) y granuloma

Tipo de RI	Absceso	I. Granulomatosa	Granuloma
Grupo/Grado	Casos	Casos	Casos
Bilis	-	-	-
Clip	-	-	-
Gasa	1 / 25	11 / 25	8 / 25
Control	1 / 25	-	-
Total (% del Total)	2 %	11 %	8 %

No hubo significancia estadística.

IX. Discusión

En este estudio se investigó la reacción inflamatoria secundaria a varias lesiones inducidas en el abdomen de la rata como consecuencia de la colocación en el peritoneo de los agentes inflamatorios bilis, clip y gasa. A pesar del control estricto que se tuvo al realizar la técnica quirúrgica aséptica en el momento de la inducción inflamatoria (laparotomía) y realizar limpieza diaria de la jaula del animal, se observó morbilidad total del 41% secundario a infección de herida operatoria. La infección de herida operatoria en ratas varía de 0% hasta 6% cuando se deja un cuerpo extraño en el abdomen de éstas[21,46]. No se demostró que los agentes inflamatorios mencionados la provocaran, sino al contrario en estos grupos la observación de la misma fue menor que en el grupo control. Para esto se pueden atribuir factores intrínsecos del microambiente de la rata, ya que ésta se mantiene en la jaula 24 horas hasta que se limpie de nuevo, contaminádose la herida operatoria con orina, heces, saliva (la rata se lame la herida) y viruta no esterilizada, factores que contribuyen a esta morbilidad[84]. Otro factor adicional, es que en esta investigación no se utilizaron antibióticos.

En estudios experimentales quirúrgicos en ratas, la mortalidad varía entre 0 a 11%[21,82] por causas ajenas al estudio. La mortalidad total fue del 10 % sin significancia estadística para los grupos. Se observó mayor proporción en los grupos "bilis y gasa", siendo ambos factores de riesgo para la misma (RR= 5.0 y 3.0, respectivamente) justificándose ésta debido a que en el primer grupo el procedimiento quirúrgico fue *limpio-contaminado*[30] y además, en dos casos se documentó peritonitis biliar. En el segundo grupo, la mortalidad fue 12%. En los grupos "clip y control", la proporción fue la misma (1 caso).

La presencia de adherencias luego de lesión física del peritoneo visceral en la rata ocurre en el 100% de los casos, disminuyéndose a 10 % con la administración de fármacos anti-inflamatorios[45]. El contacto del peritoneo con el talco de los guantes y otros instrumentos también se han relacionado como factor causal[15,52]. Gürleyik *et al* observó 100% de adherencias hacia cálculos biliares humanos en el peritoneo de la rata[46]. En esta investigación se observó incidencia total de 52 % de adherencias peritoneales. La presencia de estas en la región subhepática fue significativa para el grupo gasa (35%; $p < 0.05$) siendo además un factor de riesgo para la presencia de las mismas (RR = 1.8). Los demás grupos presentaron similar proporción mencionándose en orden descendente los agentes inflamatorios "bilis, clip y control" (25 %, 21% y 19%, respectivamente). Con estos hallazgos, se puede mencionar que la patogenia de las adherencias se atribuye a la presencia crónica del cuerpo extraño en los grupos gasa ($p < 0.05$) y clip, y a la manipulación quirúrgica de tejidos en los grupos bilis y control.

En la mitad de los casos (50 ratas), se colocó un agente inflamatorio exógeno (clips y gasas). Está documentado que los clips en el abdomen migran en 36% hacia otra posición de donde fueron dejados inicialmente[75]. Con relación a las gasas se ha reportado que migran de diferente forma: a través de las estructuras vecinas[13,91] hasta 28%[95]. En nuestro estudio los clips fueron dejados en forma libre en la región subhepática de la rata y todos se encontraron adheridos a estructuras vecinas y 28% (7 casos) migraron hacia la pared abdominal con epiplón adherido. No se puede negar que la "gravedad"[2] juega un papel importante en la migración de los clips "flojos"[75] debido a que en los humanos la mayoría se encuentran en estructuras pélvicas y en las ratas todos se encontraron en el peritoneo visceral de la pared abdominal anterior. Un estudio experimental menciona que la probabilidad de que una gasa retenida migre es del 58% a seis meses[95]. En esta investigación, ninguna gasa migró.

La presencia de reacción inflamatoria en general fue significativa para todos los agentes inflamatorios estudiados. La incidencia total fue de 33% contra 4% del grupo control ($p < 0.05$) pero sin mostrar ésta diferencia hacia un grupo específico. El grupo que mayor reacción inflamatoria indujo fue la "gasa", siguiéndole los "clips" y la "bilis". Estos agentes fueron un factor de riesgo para el desarrollo de la misma ($RR > 2$).

La reacción inflamatoria aguda se observó en menor proporción que la crónica (3 % contra 34%), observándose la primera conjuntamente con la segunda en los grupos "bilis y gasa" sin demostrarse significancia estadística para éstos. La reacción inflamatoria crónica se observó de forma significativa ($p = 0.05$) para los grupos "bilis, clips y gasa", siendo en proporción descendente para el grupo "gasa" siguiéndole los grupos "clip y bilis", y todos estos fueron un factor de riesgo para el desarrollo de la misma ($RR > 1.75$).

La hipotesis específica planteada de que un agente inflamatorio orgánico "bilis y gasa" induce mayor reacción inflamatoria que uno inorgánico o inerte no pudo comprobarse estadísticamente. Los tres grupos de inducción inflamatoria "bilis, clip y gasa" indujeron reacción inflamatoria crónica leve y moderada en iguales proporciones (15 casos respectivamente). Unicamente los grupos " bilis y gasa" desarrollaron reacción inflamatoria severa, pero fue únicamente en un caso para la "bilis" y dos para "gasa", lo cual no tuvo significancia estadística. La reacción inflamatoria aguda observada fue únicamente en tres y se manifestó conjuntamente con reacción inflamatoria crónica por lo que el análisis de severidad en la misma, tampoco demostró significancia estadística. Por lo tanto, la severidad de la reacción inflamatoria crónica desarrollada hacia bilis, clips y gasas es en general leve y moderada, observándose en algunos casos del tipo severo específicamente, hacia la bilis y las gasas.

---

[2] *Gravedad:* Fuerza que atrae todos los cuerpos situados en nuestro planeta hacia su centro. Referencia: Diccionario Larousse, 1996.

La presencia de abscesos fue aislada en dos casos (grupos gasa y control, respectivamente) y en ambos hubo infección de herida operatoria, sin demostrarse preferencia por alguno de éstos. La observación de inflamación granulomatosa y granulomas fue específica para el primero y ésto se atribuye a la presencia crónica del potencial antigénico de la gasa (algodón) en el abdomen de la rata, a diferencia del grupo clip, que a pesar de permanecer de la misma manera en la cavidad peritoneal, no desarrolló inflamación granulomatosa y únicamente reacción inflamatoria crónica[22].

Ante derrame peritoneal de bilis o sospecha de bilioperitoneo postoperatorio, el cirujano debe considerar el lavado transoperatorio con solución salina y la colocación oportuna de drenajes, monitorizando cuidadosamente al paciente postoperado, debido a que en las etapas iniciales se desarrolla peritonitis biliar y puede producir mortalidad si no se resuelve el mismo. Sin estos cuidados, la lesión permanece a las seis semanas en 52% produciendo adherencias hepáticas y reacción inflamatoria crónica en menor proporción[39,76].

En síntesis se documentó reacción inflamatoria a la bilis, la cual puede ser aguda y crónica. Cuando se interviene quirúrgicamente a humanos se ha observado que el proceso inflamatorio originado por la bilis en el abdomen se resuelve luego de drenar el bilioperitoneo con una morbilidad mínima del 2%[76] y mortalidad de 0% cuando se proporciona tratamiento oportuno[20,39,41,75].

En la actualidad se utiliza en forma constante el uso de clips de titanio no sólo para la colecistectomía videolaparoscópica sino para hemostasis. Todos los clips libres se adhieren a estructuras vecinas y es un hecho que lo comprobamos en nuestro estudio que los clips migran en 28% hacia donde la fuerza de gravedad indica y además, producen adherencias en 44% con reacción inflamatoria crónica en menor proporción y mortalidad mínima. Por lo tanto, si se deja un clip "flojo" el cirujano debe documentar esto en el record operatorio, justificando así la realización de radiografía simple de abdomen[75] postoperatoria en el seguimiento de estos pacientes. La reacción inflamatoria desarrollada es crónica.

Ahora bien, qué sucede con las gasas (¿?), la morbi-mortalidad en nuestra investigación fue baja, no significativa pero sí produce reacción inflamatoria crónica y no aguda como podría sospecharse. Es por esto que se identificaron granulomas y reacción a cuerpo extraño.

En este momento es importante recordar casos que se han operado y en donde "casualmente" se encuentra un textiloma. El mensaje final sería que el cirujano tiene la responsabilidad de ser cauteloso, minucioso en cualquier tipo de cirugía en donde maneje y manipule vías biliares, clips de titanio y gasas o compresas, porque la reacción inflamatoria a estos agentes siempre estará presente y en determinados casos podría complicar la evolución de los enfermos intervenidos quirúrgicamente.

X. Conclusiones

1. La exposición del abdomen de la rata a agentes inflamatorios como bilis, clips y gasas desarrolla reacción inflamatoria significativa ($p < 0.05$) y es en su mayoría del tipo crónico ($p = 0.05$).

2. La severidad de la reacción inflamatoria crónica desarrollada hacia los agentes inflamatorios bilis, clips y gasas es en general leve y moderada, observándose en algunos casos del tipo severo, específicamente hacia "bilis y gasas".

3. La documentación de abscesos intraabdominales se observó conjuntamente con infección de herida operatoria sin influir en su desarrollo los grupos de inducción inflamatoria.

4. El grupo "gasa" desarrolla específicamente inflamación granulomatosa en el 44% de los casos y de éstos, la mayoría forma granulomas.

5. Las adherencias se desarrollan en general en 42 % cuando se colocan agentes inflamatorios y se relacionan con la presencia crónica del cuerpo extraño (grupos clip y gasa).

6. Los clips migran en 28 % cuando éstos se colocan libremente en la cavidad abdominal, y parece que la "gravedad" juega un papel importante en la misma. Las gasas no migran en un período menor o igual a seis semanas.

7. La morbilidad en ratas (infección de herida operatoria) no se relaciona con la colocación de agentes inflamatorios intraabdominales y ésta se desarrolla por factores propios del hábitat de la misma.

8. La punción de la vía biliar con derrame peritoneal de bilis y, la presencia intraabdominal de gasas son factores de riesgo para mortalidad en ratas pero sin mostrar significancia estadística cuando estos factores están ausentes.

XI. Recomendaciones

- Realizar estudios experimentales ya que esta práctica quirúrgica genera más ideas y aportes a la ciencia médica.

XII. Resumen

Introducción: La Reacción Inflamatoria (RI)es una secuencia de procesos cuyo objetivo final es reparar un tejido dañado producido por lesión en la unidad básica del tejido, la célula[22]. La colecistectomía conlleva la utilización de clips, gasas y generalmente ocurre derrame de bilis. La RI hacia estos agentes se describe en este estudio.

Metodología: Se comparó la RI hacia bilis, clips y gasas en el peritoneo de 100 ratas tipo Wistar realizando laparotomía exponiendo su cavidad abdominal a los agentes inflamatorios "bilis", "clip" y "gasa", comparándolas con un grupo "control" (n=100). Las hipótesis planteadas fueron: 1) agentes inflamatorios desarrollarán RI; 2) agentes inflamatorios orgánicos (bilis y gasa) desarrollarán mayor RI que los inorgánicos (clip). Las variables medidas fueron: 1) Seguimiento: morbilidad, mortalidad; 2) Hallazgos macroscópicos postmortem: adherencias y migración del "clip" o la "gasa"; y, 3) Hallazgos microscópicos: presencia de RI, tipo y grado de severidad. Los especímenes se observaron por seis semanas y luego fueron reintervenidos para recolección de muestras. Los grados de severidad (leve, moderada y severa) para RI aguda y crónica fueron determinados objetivamente mediante análisis patológico y bioestadístico preliminar.

Resultados: La morbilidad y mortalidad observada fue del 41% y 10% respectivamente. En la primera, no se determinó ningún factor causal de la misma a excepción de factores del habitat de la rata; en la segunda, el grupo bilis y gasa fueron factores de riesgo para ésta pero sin significancia estadística. En todos los grupos se desarrollaron adherencias pero en mayor proporción para las gasas ($p < 0.05$). La migración observada fue de 28% y 0% para los clips y gasas, respectivamente. La colocación de cualquiera de los agentes inflamatorios "bilis, clips y gasas" desarrolló significantivamente reacción inflamatoria en la evaluación microscópica (37%; $p < 0.05$). La reacción inflamatoria predominante fue crónica (34%; $p < 0.05$) siendo en proporción menor para los grupos "gasa, clip y bilis", respectivamente. La reacción inflamatoria aguda se desarrolló conjuntamente con la crónica en casos aislados (3%). La severidad de la reacción inflamatoria crónica fue leve y moderada para los grupos "bilis, clips y gasas" sin comprobarse la hipótesis (2) de severidad. La observación de abscesos fue incidental y la inflamación granulomatosa con formación de granulomas fue específica para el grupo gasa atribuyéndose esto a la capacidad antigénica y persistencia crónica de la misma.

Conclusiones: Los agentes inflamatorios "bilis, clips y gasa" desarrollan significativamente reacción inflamatoria la cual es en su mayoría del tipo crónico. Estos agentes producen adherencias en 42% con morbi-mortalidad mínima. El cirujano debe ser cauteloso en cirugías relacionadas con estos agentes inflamatorios debido a que esto es trascendental para los pacientes.

XIII. Referencias Bibliográficas

1. Achstetter, V.A. Microtomía. *En*: Prophet, E.B.; B. Mills, et al. Métodos histotecnológicos del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP). Washington, DC: Registro de Patología de los EUA (ARP), 1995. (pp. 47-54)

2. Allen, T.C. Hematoxilina y Eosina. *En*: Prophet, E.B.; B. Mills, et al. Métodos histotecnológicos del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP). Washington, DC: Registro de Patología de los EUA (ARP), 1995. (pp. 55-60)

3. Allen, TC. Medios de Montaje. *En*: Prophet, E.B.; B. Mills, et al. Métodos histotecnológicos del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP). Washington, DC: Registro de Patología de los EUA (ARP), 1995. (pp. 61-3)

4. Anaya-Velásquez, F. y M.F. Garay-Sevilla. Investigación en animales de laboratorio. *En:* Hernández Arriaga, J.L. Ética en la investigación biomédica. México: El Manual Moderno, 1999. (pp. 81-96)

5. Arrington, J.B. y E.B. Prophet. Preparación de Soluciones. *En*: Prophet, E.B.; B. Mills, et al. Métodos histotecnológicos del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP). Washington, DC: Registro de Patología de los EUA (ARP), 1995. (pp. 15-24)

6. Bakke, O.M. Requerimientos para el estudio clínico de nuevos fármacos: estudios de toxicidad in vitro y animales. ICB 2001; 37:4-8.

7. Basu, S. Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients. Toxicology 2003; 189 (1-2):113-27.

8. Bauer, A.W.; A.B. Winick, et al. Intrapelvic calculi demonstrated in a patient after laparoscopic laser cholecystectomy: a case report. J Lap Surg 1992; 2 (1):49-52.

9. Bauhofer, A.; B. Stinner, et al. Granulocyte colony-stimulating factor but not peritoneal lavage increases survival rate after experimental abdominal contamination and infection. Br J Surg 2002; 89 (11):1457-64.

10. Biffl, W.L.; E.E. Moore, et al. Routine intraoperative laparoscopic ultrasonography with selective cholangiography reduces bile duct complications during laparoscopic cholecystectomy. J Am Coll Surg 2001; 193 (3):272-80.

11. Bland, J.M. y D.G. Altman. Measurement error. BMJ 1996; 312:1654.

12. Borregaard, N. y B.J. Cowland. Granules of the human neutrophilic polymorphonuclear leukocyte. Blood 1997; 89:3503-21.

13. Braveman, P.; V.M. Schaaf, et al. Insurance-related differences in the risk of ruptured appendix. N Engl J Med 1994 Aug 18; 331 (7):444-9.

14. Bryant, D.A.; E.D. Mintz, et al. Colonic epithelial lymphocytosis associated with an epidemic of chronic diarrhea. Am J Surg Pathol 1996; 20 (9):1102-9.

15. Cancarini, G.C.; M. Sandrini, et al. Clinical aspects of peritoneal sclerosis. J Nephrol 2001; 14 (suppl. 4):S39-S47.

16. Cano Morales, C.E. y M. Martínez-Noack. Cambios enzimáticos luego de resecciones hepáticas mayores. Rev Guatem Cir 2001 sep-dic; 10 (3):69-71.

17. Castellanos, H. y M.A. Peñalonzo. Cambios histológicos en las glándulas paratiroides originados por hipotiroidismo producido experimentalmente en ratas. Rev Fac Med UFM 2002; 8 (1):14-16.

18. Chapman, S.F.; W.O.C. Cookson, et al. Benign asbestos pleural diseases. Curr Opin Pulm Med 2003; 9 (4):266-271.

19. Chautems, R.C.; X. Delgadillo, et al. Formaldehyde application for haemorrhagic radiation-induced proctitis: a clinical and histological study. Colorectal Dis 2003; 5 (1):24-8.

20. Church, N.G.; G. May, et al. A minimally invasive approach to bile duct injury after blunt liver trauma in pediatric patients. J Pediatr Surg 2002; 37:773-5.

21. Connolly, J.P.; Z.J. Liu, et al. A custom mandibular distraction device for the rat. J Craniofac Surg 2002; 13 (3):445-52.

22. Cotran, R.S.; V. Kumar; et al. Inflamación y reparación. *En*: Cotran, R.S.; V. Kumar; et al. Patología Estructural y Funcional. 5ed. Madrid: McGraw-Hill/Interamericana, 1995. (pp. 57-104)

23. Cotran, R.S.; V. Kumar, et al. Lesión y muerte celular. *En*: Cotran, R.S.; V. Kumar, et al. Patología Estructural y Funcional. 5ed. Madrid: McGraw-Hill/Interamericana, 1995. (pp. 1-37)

24. Csendes, A.; G. Smok, et al. Histological findings of gallbladder mucosa in 95 control subjects and 80 patients with asymptomatic gallstones. Dig Dis and Scienc 1998; 43 (5):931-4.

25. Cunningham, A.J. y S.J. Brull. Laparoscopic cholecystectomy: anesthetic implications. Anesth Analg 1993; 76:1120-33.

26. Davey, F.R. y R.E. Hutchison. Hematopoiesis. *En:* Henry, J.B. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 20ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. (pp. 520-41)

27. Dawson-Saunders, B. y R.G. Trapp. Resumen de datos en investigación médica. *En*: Dawson-Saunders, B. y R.G. Trapp. Bioestadística Médica. México, D.F.: El Manual Moderno, 1993. (pp. 49-72)

28. De-la-Sierra, T. ¿Qué es la cirugía experimental? Cir Gen 1996; 18:2-3.

29. Diez, J.; C.J. Arozamena, et al. Relation between postoperative infections and gallbladder bile leake during laparoscopic cholecystectomies. Surg Endosc 1996; 10:529-532.

30. Dunn, D.L. y O.D. Rotstein. Diagnosis, prevention, and treatment of infection in surgical patients. *En:* Greenfield, L.J.; M.W. Mulholland, et al. Surgery: scientific principles and practice. 3ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2001. (pp. 178-202)

31. Edelman, D.S. Bile leak from the liver bed following laparoscopic cholecystectomy. Surg Endosc 1994; 8:205-7.

32. Eldar, S.; E. Sabo, et al. Laparoscopic cholecystectomy for the various types of gallbladder inflammation. Surg Laparosc Endosc 1998; 8 (3):200-7.

33. Euler, A.R. Upper respiratory tract complications of gastroesophageal reflux in adult and pediatric-age patients. Dig Dis 1998; 16 (2):111-7.

34. Fawcet, D.W. Hígado y Vesícula Biliar. Fawcet, D.W. *En:* Tratado de histología. 12ed. Madrid: Interamericana/McGraw-Hill, 1995. (pp. 713-48)

35. Fawcet, D.W. Tejido Conjuntivo. Fawcet, D.W. *En:* Tratado de histología. 12ed. Madrid: Interamericana/McGraw-Hill, 1995. (pp. 148-88)

36. Fine, N.A. y T.A. Mustoc. Wound healing. *En:* Greenfield, L.J.; M.W. Mulholland, et al. Surgery: scientific principles and practice. 3ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2001. (pp. 69-85)

37. Fortin, C. Ética de la investigación Bioetimed. Boletín de Bietica y Deontología Médica. Guatemala: Asociación Guatemalteca de Bioética/Suplemento Nuevo Milenio, 2003. (pp. 5-9)

38. Fry, D.E. Surgical site infection: pathogenesis and prevention. Continuing Medical Education (CME). Medscape 2003: Feb 13, 19p. URL disponible online: http://www.medscape.com/viewprogram/2220_pnt (28/08/03)

39. Fujii, T.; H. Maguchi, et al. Efficacy of endoscopic diagnosis and treatment for postoperative biliary leak. Hepatogastroenterology 1998; 45 (21):656-61.

40. Gawande, A.A.; D.M. Studdert, et al. Risk factors for retained instruments and sponges after surgery. N Engl J Med 2003 Jan 16; 348 (3):229-35.

41. Goldman, R.; M. Zilkoski, et al. Delayed celiotomy for the treatment of bile leak, compartment syndrome, and other hazards of nonoperative management of blunt liver injury. Am J Surg 2003; 185 (5):492-7.

42. Gómez-Méndez, T.J.M.; J.C. Morales-Linares, et al. Colitis amebiana fulminante con perforación. Rev Guatem Cir 2003 ene-abr; 12 (1):25-8.

43. Gordis, L. Assessing the validity and reliability of diagnostic and screening tests. *En*: Epidemiology. 2ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2000. (pp. 63-81)

44. Guarner, J.; J. Barlett, et al. Histopathologic features of *Mycobacterium ulcerans* infection. Emerg Infect Dis 2003 June; 9 (6). URL disponible online: http:// www.cdc.gov/ncidod/EID/vol9no6/02-0485.htm (10/06/2003)

45. Guerra, R. y L.A. Muralles. Prevención de bridas post operatorias: dexametasona y heparina en lavado peritoneal. Rev Guatem Cir 1996 sep-dic; 5 (3):89-91.

46. Gürleyik, E.; G. Gürleyik, et al. Does chemical composition have an influence on the fate of intraperitoneal gallstone in rat? Surg Laparosc Endosc 1998; 8 (2):113-6.

47. Guyton, A.C. y J.E. Hall. Funciones secretoras del aparato digestivo. *En*: Guyton, A.C. y J.E. Hall. Tratado de fisiología médica. 9ed. México, D.F.: Interamericana/McGraw-Hill, 1997. (pp. 883-902)

48. Hall, J. Inclusión. *En*: Prophet, E.B.; B. Mills, et al. Métodos histotecnológicos del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP). Washington, DC: Registro de Patología de los EUA (ARP), 1995. (pp. 41-5)

49. Harwell, D.W.; T.N. Mayadas, et al. Role of P-Selectin cytoplasmic domain in granular targeting in vivo and in early inflammatory responses. J Cell Biol 1998; 143 (4):1129–1141.

50. Hernández-Arriaga, J.L. Bioética: orígenes, división y corrientes. *En:* Hernández-Arriaga, J.L. Ética en la investigación biomédica. México: El Manual Moderno, 1999. (pp. 9-16)

51. Hoyt, D.B.; R. Coimbra, et al. Trauma. *En:* Greenfield, L.J.; M.W. Mulholland, et al. Surgery: scientific principles and practice. 3ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2001. (pp. 269-430)

52. Jahoda, A.E.; D.M. Albala, et al. Fibrin sealant inhibits connective tissue deposition in a murine model of peritoneal adhesion formation. Surgery 1999; 125 (1):53-9.

53. Jin, Y-L; H. Enzan, et al. Tissue remodeling following submassive hemorrhagic necrosis in rat livers induced by an intraperitoneal injection of dimethylnitrosamine. Virchows Arch 2003; 442:39-47.

54. Kanno, K.; S. Tazuma, et al. AT1A-deficient mice show less severe progression of liver fibrosis induced by Ccl(4). Biochem Biophys Res Commun 2003; 308 (1):177-83.

55. Kralinger, M.T,: J. Hinterholzl, et al. Elevated levels of secretoneurin in the rabbit aqueous humor in response to formaldehyde irritation. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2003; 241 (7):577-81.

56. Lin, T.Y.; C.K. Chuang, et al. Gossypiboma: migration of retained surgical gauze and spontaneous transurethral protrusion. BJU International 1999; 84:879-880.

57. Linard, C.; A. Ropenga, et al. Abdominal irradiation increases inflammatory cytokine expression and activates NF-{kappa}B in rat ileal muscularis layer. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2003; 285 (3):G556-G565.

58. Lock, G.; M. Pfeifer, et al. Association of esophageal dysfunction and pulmonary function impairment in systemic sclerosis. Am J Gastroenterol 1998; 93 (8):341-5.

59. Lujan, J.A.; P. Parrilla, et al. Laparoscopic cholecystectomy vs open cholecystectomy in the treatment of acute cholecystitis. Arch Surg 1998: 133 (2):173-5.

60. Machic-De León, G. y S. Estupinian. Efecto protector del azul de metileno a nivel pulmonar después de la isquemia reperfusión intestinal en ratas. Rev Guatem Cir 2001 sep-dic; 10 (3):62-4.

61. Menteş, B.; E. Yilmaz, et al. Transgastric migration of a surgical sponge. J Clin Gastroenterol 1997; 24 (1):55-7.

62. Meshikhes, A.W.N.; C.J. Chandrashekar, et al. Schistosomal appendicitis in the eastern province of Saudi Arabia: A Clinicopathological Study. Ann Saudi Med 1999; 19 (1):12-4.

63. Moehring, H.D. Orthopedic Surgery. *En:* Greenfield, L.J.; M.W. Mulholland, et al. Surgery: Scientific Principles and Practice. 3ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2001. (pp. 2081-2140)

64. Molinero, L.M. Medidas de concordancia para variables cualitativas. Asociación de la Sociedad Española de Hipertención (SHE). España: 2001. URL disponible online: http://www.seh-lelha.org/concor2.htm (15/07/2003)

65. Molla, M.; M. Gironella, et al. Relative roles of ICAM-1 and VCAM-1 in the pathogenesis of experimental radiation-induced intestinal inflammation. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2003; 57 (1):264-73.

66. Muriel, P.; F. Fernandez-Martinez, et al. Thalidomide ameliorates carbon tetrachloride induced cirrhosis in the rat. Eur J Gastroenterol Hepatol 2003; 15 (9):951-7.

67. Nary Filho, H.; M.A. Matsumoto, et al. Comparative study of tissue response to Polyglecaprone 25, Polyglactin 910 and Polytetrafluorethylene suture materials in rats. Braz Dent J 2002; 13 (2):86-91.

68. Padilla, L. y G. Valle. Manual de microcirugía. México, D.F.: Salvat Mexicana de Editoriales, 1983. p.167

69. Pass, D. y G. Freeth. The rat. ANZCCART News 1993; 6 (4): 1-4.

70. Pérez-Castro, E. y M.L. Ostos. Colecistectomía laparoscópica ambulatoria. Rev Gastroenterol Mex 2000; 65:123.

71. Petrus, M. Cellular reactions after intraocular lens implantation. Klin Oczna 1999; 101 (6):467-72.

72. Potter, G.D. Bile acid diarrhea. Dig Dis 1998; 16 (2):118-124.

73. Prophet, E.B. Fijación de Tejidos. *En*: Prophet, E.B.; B. Mills, et al. Métodos histotecnológicos del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP). Washington, DC: Registro de Patología de los EUA (ARP), 1995. (pp. 27-30)

74. Prophet, E.B. Procesamiento de Tejidos: Deshidratación, Aclaramiento e Infiltración. *En*: Prophet, E.B.; B. Mills, et al. Métodos Histotecnológicos del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP). Washington, DC: Registro de Patología de los EUA (ARP), 1995. (pp. 31-3)

75. Rawson, J.V. "Dropped" surgical clips following laparoscopic cholecystectomy. Surg Endosc 1996; 10:77-8.

76. Reyes, P.; D. Sánchez, et al. Colecistectomía Videolaparoscópica en Sala de Operaciones de Adultos, Hospital Roosevelt, Guatemala. *En*: XXIX Congreso Nacional de Cirugía (29: 2002: Abril 17-19: Guatemala, ciudad). Guatemala, ciudad: Asociación de cirujanos de Guatemala.

77. Robson, M.G.; H.T. Cook, et al. Antibody-mediated glomerulonephritis in mice: the role of endotoxin, complement and genetic background. Clin Exp Immunol 2003; 133 (3):326-33.

78. Rodríguez, G.; L. Ruso, et al. Corpus alienum intrabdominal. Cir Uruguay 1997; 67(2):80-3.

79. Santillán-Doherty, P. y T. Escalante Tattersfield. La cirugía experimental y el cirujano. *En*: Aguirre-Rivero, A. y L. de la Garza-Villaseñor. Tratado de cirugía general. México, D.F.: El Manual Moderno, 2002. (pp. 1551-9)

80. Schenker, J.C. y E.J. Margalioth. Intrauterine adhesions: an updated appraisal. Fertil Steril 1982; 37:593.

81. Schuchert, V.D. y T.R. Billiar. Inflammation. *En:* Greenfield, L.J.; M.W. Mulholland, et al. Surgery: scientific principles and practice. 3ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2001. (pp. 134-178)

82. Seify, H.; U. Bulky, et al. Effect of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis on TRAM flap harvesting after abdominoplasty. Plast Reconstr Surg 2003; 111 (3):1212-6.

83. Sharp, P. y M.C. La Regina. Important biological features. *En:* Sharp, P. y M.C. La Regina. The Laboratory Rat. Washington, D.C.: CRC Press LLC; 1998. p1-19.

84. Sharp, P. y M.C. La Regina. Veterinary care. *En:* Sharp, P. y M.C. La Regina. The laboratory rat. Washington, D.C.: CRC Press LLC; 1998. p65-127.

85. Soybel, D.I. Ileus and Bowel Obstruction. *En:* Greenfield, L.J.; M.W. Mulholland, et al. Surgery: scientific principles and practice. 3ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2001. (pp. 798-831)

86. Takahashi, T.;A. Gamboa-Dominguez, et al. Fulminant amebic colitis: analysis of 55 cases. Dis Colon Rectum 1997; 40 (11):1362-7.

87. Takahashi, S.; Y. Keto, et al. Pathological changes in the formation of Helicobacter pylori-induced gastric lesions in Mongolian gerbils. Dig Dis and Scienc 1998; 43 (4):754-65.

88. Teixeira, C.F.; S.R. Zamuner, et al. Neutrophils do not contribute to local tissue damage, but play a key role in skeletal muscle regeneration, in mice injected with Bothrops asper snake venom. Muscle Nerve 2003; 28 (4):449-59.

89. Tirapelli, L.F.; O.J. Tamega, et al. Ultrastructural changes of the choroid plexus of the lateral ventricles of rats (Rattus norvegicus) submitted to experimental chronic alcoholism, followed by alcohol withdrawal. Rev Chil Anat 1998; 16 (2):229-35.

90. Tsai, T-H. y P-C. Yang. Ultrasound in the diagnosis and management of pleural disease. Curr Opin Pulm Med 2003; 9 (4):282-90.

91. Uranüs, S.; C. Schauer, et al. Laparoscopic removal of a large laparotomy pad forgotten in situ. Surg Laparosc Endosc 1995; 5 (1):77-9.

92. van der Laken, C.J.; O.C. Boerman, et al. Preferential localization of systemically administered radiolabeled interleukin 1α in experimental inflammation in mice by binding to the type II receptor. J Clin Invest 1997; 100:2970–6.

93. Vargas-Domínguez, A.; S. López-Romero, et al. Apendicitis, factores de riesgo que influyen en el retraso del tratamiento. Cir Gen 2001; 23:154-7.

94. Vinas, O.; R. Bataller, et al. Human hepatic stellate cells show features of antigen-presenting cells and stimulate lymphocyte proliferation. Hepatology 2003; 38 (4):919-29.

95. Wattanasirichaigoon, S. Transmural migration of a retained surgical sponge into the intestinal lumen: an experimental study. J Med Assoc Thai 1996; 79 (7):415-422.

96. Wig, J.D.; M.K. Goenka, et al. Retained surgical sponge: an unusual cause of intestinal obstruction. J Clin Gastroenterol 1997; 24 (1):57-8.

97. Woo, P.C.; S.K. Lau, et al. Staphylococcus aureus subcutaneous abscess complicating acupuncture: need for implementation of proper infection control guidelines. New Microbiol 2003; 26 (2):169-74.

98. Yee-Seuret, S.; E.A. Medina-Villaseñor, et al. Efecto de la sutura peritoneal en la formación de adherencias post-operatorias: estudio experimental en ratas. Cir Gen 2002: 24 (1):22-27.

99. Zepeda, R.; S. Rivera-Lara, et al. Colecistectomía laparoscópica: reporte de 998 casos operados en un programa de cirugía ambulatoria. Rev Guatem Cir 2000 may-ago; 9 (2):39-42.

Universidad de Guatemala
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
OFICINA DE REGISTRO DE DOCUMENTOS

XIV.

A N E X O S

BOLETA DE RECOLECCIÓN DE DATOS No. 1

"REACCIÓN INFLAMATORIA A BILIS, CLIPS Y GASAS EN EL ABDOMEN DE LA RATA"

Procedimiento Quirúrgico de supervivencia y Seguimiento Postoperatorio

RATA: ☐☐ CÓDIGO: ☐☐☐

DATOS DE LA CIRUGÍA: **HORA: INICIO:** ____:____ **FINALIZACIÓN:** ____:____

FECHA DE LA CIRUGÍA: _____ / _____ / 2003

CIRUJANOS: 1. _____ 2. _____

* MATERIALES: SEDA: ☐ PROLENE: ☐ NYLON: ☐ MAXON: ☐ OTRO: _____ : ☐ * CIERRE: 1 PLANO: ☐ 2 PLANOS: ☐

COMPLICACIONES (MARCAR CON "X", "SÍ", "NO"):

1. INFECCIÓN DE HERIDA OPERATORIA: ☐ ; DÍAS POST-OP: _____ ;
   DEHISCENCIA: ☐ ; EVENTRACIÓN: ☐ ; CURACIÓN: ☐ ; FECHA: ____ / _____/ 2003.

2. CAMBIOS EN LA CONDUCTA:
   Nota: Anotar respectivamente la abreviatura en el seguimiento
   a) HIPERACTIVIDAD (HIPER-A): ☐ ; b) HIPOACTIVIDAD (HIPO-A): ☐ ;
   c) OTRO: ☐: _____ . * RESOLUCIÓN: ☐ ; FECHA: ____ / _____/ 2003.

3. MORTALIDAD: ☐ ; FECHA: ____ / _____/ 2003.

SEGUIMIENTO:

SEMANA / DÍA (am/pm)														
1														
2														
3														
4														
5														
6														

*** FECHA DE EUTANASIA: _____ / _____ / 2003**

BOLETA DE RECOLECCIÓN DE DATOS No. 2

"REACCIÓN INFLAMATORIA A BILIS, CLIPS Y GASAS EN EL ABDOMEN DE LA RATA"

Eutanasia, Procedimiento Quirúrgico no de supervivencia y Toma de muestras

Cirujanos:

1. _____

2. _____

3. Anotó: _____

CÓDIGO:

R ❑❑❑-❑❑❑

HALLAZGOS MACROSCÓPICOS

Pared Abdominal:
Cicatrización completa: SÍ: ❑ NO: ❑
Sutura presente: SÍ: ❑ NO: ❑ ¿Cual? _____
Observaciones: Eventración: ❑ ; Otra: _____

1. PERITONEO VISCERAL:

1.A HÍGADO: SÍ: ❑ NO: ❑

Adherencias: ❑ GI: ❑ No. ____ GII: ❑ No. ____ M: ❑

Epiplón involucrado: SÍ: ❑ NO: ❑

Absceso: Sí: ❑ No: ❑ ; Granuloma: Sí: ❑ No: ❑

Cambio de coloración: Sí: ❑ No: ❑ : ¿Cuál?: _____

1.B VISCERAS HUECAS: SÍ: ❑ NO: ❑

Adherencias: ❑ GI: ❑ No. ____ GII: ❑ No. ____ M: ❑

Epiplón involucrado: SÍ: ❑ NO: ❑

Absceso: Sí: ❑ No: ❑ ; Granuloma: Sí: ❑ No: ❑

Cambio de coloración: Sí: ❑ No: ❑ : ¿Cuál?: _____

1.C OTRA: (¿cuál?) _____: SÍ: ❑ NO: ❑

Adherencias: ❑ GI: ❑ No. ____ GII: ❑ No. ____ M: ❑

Epiplón involucrado: SÍ: ❑ NO: ❑

Absceso: Sí: ❑ No: ❑ ; Granuloma: Sí: ❑ No: ❑

Cambio de coloración: Sí: ❑ No: ❑ : ¿Cuál?: _____

2. PERITONEO PARITAL: SÍ: ❑ NO: ❑

Adherencias: ❑ GI: ❑ No. ____ GII: ❑ No. ____ M: ❑

Epiplón involucrado: SÍ: ❑ NO: ❑

Absceso: Sí: ❑ No: ❑ ; Granuloma: Sí: ❑ No: ❑

Cambio de coloración: Sí: ❑ No: ❑ : ¿Cuál?: _____

* OBSERVACIONES: _____

_____

_____

_____

BOLETA DE RECOLECCIÓN DE DATOS No. 3

Tesis: "Reacción Inflamatoria a Bilis, Clips y Gasas en el abdomen de la rata"

Clasificación del grado de
Reacción Inflamatoria (RI) Aguda, Crónica y Mixta peritoneal en ratas

Sección de Patología, Hospital Roosevelt
Universidad de San Carlos de Guatemala

PATÓLOGO: _____ DÍA: 1 ☐ 2 ☐

Fotografía							
1	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
2	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
3	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
4	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
5	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
6	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
7	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐

8	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
9	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
10	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
11	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
12	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
13	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
14	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
15	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
16	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
17	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐

18	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
19	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
20	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
21	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
22	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
23	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
24	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
25	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
26	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
27	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐

28	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
29	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐
30	RI :	Presente	☐	Ausente	☐		
	Tipo:	Aguda	☐	Crónica	☐	Mixta	☐
	Grado:	Leve	☐	Moderada	☐	Severa	☐

BOLETA DE RECOLECCIÓN DE DATOS No. 4

Reacción Inflamatoria a bilis, clips y gasas en el abdomen de la rata

Recuento Manual de Células Inflamatorias

Area de Patología. Facultad de Ciencias Médicas.
Universidad de San Carlos de Guatemala

Foto	Recuento de Células Inflamatorias por Foto			
	Neutrófilos	Linfocitos	Células Plasmáticas	Macrófagos
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				
21				
22				
23				
24				
25				
26				
27				
28				
29				
30				

Células inflamatorias = neutrófilos, células plasmáticas y linfocitos.

BOLETA DE RECOLECCIÓN DE DATOS No. 5

"REACCIÓN INFLAMATORIA A BILIS, CLIPS Y GASAS EN EL ABDOMEN DE LA RATA"

Diagnóstico Histopatológico

CASO:

R ❑❑❑ - ❑❑❑

HALLAZGOS (marque la casilla con una "X"): Patólogo: Dr. Gil: ❑ Dr. Rodas: ❑

Láminas a estudio: _____

· Lámina (as): _____

Tejido: H: ❑ VH: ❑ Mesoperitoneo: ❑ PP: ❑ O: ❑ Especifique: _____

Diagnóstico: 1. INFLAMACIÓN: SÍ: ❑ NO: ❑

2. TIPO: 2.1 Aguda: ❑ Crónica: ❑ Ambas: ❑

2.2 Fibrosis: ❑ Absceso: ❑ Granulomatosa: ❑ Otra: ❑ ¿Cuál?: _____

3. SEVERIDAD: L: ❑ M: ❑ S: ❑ (A: ❑ C: ❑) L: ❑ M: ❑ S: ❑ (A: ❑ C: ❑)

Documentación Fotográfica Digital: SÍ: ❑ NO: ❑ Número: _____

· Lámina (as): _____

Tejido: H: ❑ VH: ❑ Mesoperitoneo: ❑ PP: ❑ O: ❑ Especifique: _____

Diagnóstico: 1. INFLAMACIÓN: SÍ: ❑ NO: ❑

2. TIPO: 2.1 Aguda: ❑ Crónica: ❑ Ambas: ❑

2.2 Fibrosis: ❑ Absceso: ❑ Granulomatosa: ❑ Otra: ❑ ¿Cuál?: _____

3. SEVERIDAD: L: ❑ M: ❑ S: ❑ (A: ❑ C: ❑) L: ❑ M: ❑ S: ❑ (A: ❑ C: ❑)

Documentación Fotográfica Digital: SÍ: ❑ NO: ❑ Número: _____

· Lámina (as): _____

Tejido: H: ❑ VH: ❑ Mesoperitoneo: ❑ PP: ❑ O: ❑ Especifique: _____

Diagnóstico: 1. INFLAMACIÓN: SÍ: ❑ NO: ❑

2. TIPO: 2.1 Aguda: ❑ Crónica: ❑ Ambas: ❑

2.2 Fibrosis: ❑ Absceso: ❑ Granulomatosa: ❑ Otra: ❑ ¿Cuál?: _____

3. SEVERIDAD: L: ❑ M: ❑ S: ❑ (A: ❑ C: ❑) L: ❑ M: ❑ S: ❑ (A: ❑ C: ❑)

Documentación Fotográfica Digital: SÍ: ❑ NO: ❑ Número: _____

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

Reacción inflamatoria inducida en abdomen de rata utilizando bilis, clips y gasas como agentes inflamatorios

ISAAC ECHEVERRÍA VALENZUELA

MÉDICO Y CIRUJANO

Guatemala, octubre de 2003.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

Reacción inflamatoria inducida en abdomen de rata

utilizando bilis, clips y gasas como agentes inflamatorios

Estudio clínico controlado

Departamento de Cirugía y Sección de Patología
Hospital Roosevelt, febrero-octubre 2,003

TESIS

Presentada a la Honorable Junta Directiva

de la Facultad de Ciencias Médicas
de la Universidad de San Carlos de Guatemala

Por

ISAAC ECHEVERRÍA VALENZUELA

Previo a conferírsele el Título de

MÉDICO Y CIRUJANO

Guatemala, octubre de 2003.

EL INFRASCRITO DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR DE EL SALVADOR

A LOS CONSTAR

Que el bachiller

Oscar Roberto Valdez

Carné Universitario N° [illegible]

Presentó ante el Jurado de Prueba Pública, la actividad académica con el título:

"Prevalencia de [illegible] en [illegible] de [illegible] en [illegible]"

[illegible] [illegible] [illegible] [illegible] [illegible]

[illegible] – [illegible] [illegible]

Y habiendo cumplido con [illegible] de la Facultad de Ciencias Médicas

y [illegible] con [illegible] [illegible] [illegible] [illegible] [illegible]

Que le confiere el título de [illegible]

Y para los efectos correspondientes se extiende la presente en la ciudad de [illegible]

[illegible] DE [illegible]

Dado en la Ciudad de [illegible] de [illegible] de [illegible]

[illegible]

DR. CARLOS ALBERTO [illegible]
DECANO

El autor es el único responsable de los conceptos y

opiniones expresados en el contenido del trabajo de tesis

Su aprobación de manera alguna implica responsabilidad para la Universidad de San Carlos de Guatemala

A Dios y su presencia
manifestada en todos y cada una de las personas
que colaboraron conmigo en esta investigación

El Autor

Indice*

Contenido

I.	Introducción	1
II.	Definición y Análisis del Problema	3
III.	Justificación	5
IV.	Revisión Bibliográfica	7
5.	acción Inflamatoria	Re 7
6.	ugía Experimental	Cir 18
7.	ología Quirúrgica Experimental	Pat 23
8.	ética Animal	Bio 24
9.	ecistectomía y Reacción Inflamatoria	Col 25
10.	inición de Elementos	Def 26
V.	Objetivos	27
VI.	Hipótesis	29
VII.	Materiales y Métodos	31
VIII.	Resultados	47
IX.	Discusión	55
X.	Conclusiones	59
XI.	Recomendaciones	61
XII.	Resumen	63
XIII.	Referencias Bibliográficas	65

XIV. Anexos 73

I. Introducción

La reacción inflamatoria es una secuencia de procesos cuyo objetivo final es reparar un tejido dañado producido por una lesión en la unidad básica del tejido, la célula[22]. Cuando se realiza un procedimiento quirúrgico, se produce lesión celular al seccionar los tejidos con bisturí o inclusive al unirlos utilizando material de sutura con aguja[38]. En todos estos casos, el ser vivo mediante el proceso de reacción inflamatoria intenta reparar cualquier lesión a nivel celular, la cual es producida por muchos materiales o agentes inflamatorios tanto exógenos (materiales de sutura, prótesis, agentes químicos e infecciosos, instrumentos cortantes, etc.) como endógenos (agentes infecciosos; jugo gástrico, pancreático y biliar; etc.)[22].

Con el advenimiento de la tecnología, se han diseñado métodos para disminuir la lesión (trauma) durante los procedimientos quirúrgicos ya que en éstos generalmente ocurre lesión celular al utilizar agentes inflamatorios de tipo exógeno, como por ejemplo instrumentos cortantes, materiales de sutura, agentes químicos; y en ocasiones, diseminación de agentes endógenos de tipo químico e infeccioso al ocurrir perforación accidental de algunos órganos, como por ejemplo, tracto gastro intestinal y vesícula biliar [25,59]. En la colecistectomía abierta como videolaparoscópica pueden ocurrir complicaciones como perforación con derrame de bilis intraperitoneal produciendo bilioperitoneo posoperatorio, caída de clips y cálculos biliares [39]. Además, puede ocurrir retención accidental de cuerpos extraños (gasas, instrumental quirúrgico), entre otros [32,59,70]. Todo esto teóricamente produce reacción inflamatoria debido a que en estas circunstancias se expone el peritoneo a dichos agentes inflamatorios endógenos (bilis, cálculos biliares) y exógenos (clips, cuerpos extraños).

Este estudio buscó describir la reacción inflamatoria intraabdominal, exponiendo el peritoneo de las ratas a bilis, clips y fragmentos de gasa.

II. Definición y Análisis del Problema

La reacción inflamatoria es una secuencia compleja de procesos encaminados a la reparación celular luego de una lesión. Agentes inflamatorios endógenos y exógenos producen ésta última al entrar en contacto con los tejidos de un ser vivo[22]. Los procedimientos quirúrgicos en pacientes surgen como tratamiento para solventar problemas médicos, por ejemplo apendicitis, colecistitis; los cuales sin este tratamiento el riesgo de complicaciones es alto[13,59,93]. Durante las colecistectomías se produce derrame de bilis[31], cálculos biliares[8] y en algunas de ellas, clips[75] y gasas[78]. Cuando se produce derrame de bilis extenso (bilioperitoneo), ha sido necesario la reintervención quirúrgica para la resolución del problema[39,99]. La composición de los cálculos biliares también se ha relacionado con el desarrollo importante de reacción inflamatoria como granulomas, fístulas cutáneas, infecciones de herida operatoria y microabscesos[29,56]. En el caso de agentes exógenos o "cuerpos extraños" como gasas y clips, el 32% de éstos se "caen" y ocupan otra localización dentro del abdomen, es decir, migran[56,75,95]. Las complicaciones relacionadas con haber dejado accidentalmente gasas o compresas en el abdomen ha producido:

1) reintervenciones quirúrgicas
2) desarrollo de fístulas
3) obstrucción y perforación intestinal
4) muerte, y
6) ausencia de complicaciones[40,61,78,91,96].

Los factores de riesgo identificados para la retención accidental de cuerpos extraños en cirugía son:

1) ciru
gía de emergencia
2) ca
mbio en el procedimiento quirúrgico planeado
3) índi
ce de masa corporal elevado[40].

La retención éstos ocurre principalmente en cirugía abdominal y ginecológica[40,78] y, corresponden generalmente a gasas, en menor proporción a instrumental quirúrgico; en donde únicamente el 6% se detecta en las primeras 24 horas[40].

En esta investigación se analizan las complicaciones generadas por los agentes inflamatorios en el peritoneo de la rata. Como resultado de ésto se pretenderá traspolar algunos hallazgos a problemas similares detectados en pacientes adultos.

III. Justificación

La morbilidad secundaria a derrame de bilis y cuerpos extraños intraabdominales como clips y gasas quirúrgicas es difícil de determinar exactamente ya que en los centros hospitalarios nacionales no todos los pacientes asisten a su control postoperatorio y por lo tanto, los casos reportados son escasos, presentándose éstos únicamente como hallazgos incidentales o con síntomas y signos inespecíficos. Se ha documentado la migración de clips y retención de gasas[40,75,96]. En nuestro país, no existen reportes, ya que existe subregistro de casos y además, representa problema médico legal, principalmente si el cuerpo extraño retenido es una gasa.

Los procedimientos quirúrgicos en donde se utilizan clips y gasas, se realizan constantemente en nuestro medio. La magnitud y trascendencia del derrame biliar más el uso de clips y gasas respecto a la reacción inflamatoria que provocan, no se conoce. Conocer totalmente la incidencia de estas complicaciones es difícil y los casos reportados a la fecha tienen sesgo, ya que cuando estos elementos accidentalmente son dejados en la cavidad abdominal, no son reportados en el récord operatorio.

A partir del concepto de que la Cirugía Experimental "es la utilización de técnicas quirúrgicas en la fabricación de modelos experimentales para probar hipótesis"[28] se planteó el presente estudio en ratas utilizando la Cirugía y Patología Experimental para determinar si los agentes inflamatorios: bilis, clips de titanio y gasas (algodón) tienen importancia en cuanto a la severidad de reacción inflamatoria inducida.

IV. Revisión Bibliográfica

1. Reacción Inflamatoria

I. Definición

Reacción Inflamatoria (RI) es una secuencia compleja de acontecimientos que ocurren en los tejidos de los seres vivos luego de daño o lesión celular, cuya finalidad es la reparación celular y tisular. Se desarrolla generalmente luego de lesión en el tejido conjuntivo vascularizado de muchos tejidos y órganos, por ejemplo, el peritoneo[22].

II. Causas

La lesión celular ocurre por materiales o agentes inflamatorios o lesivos. Estos pueden clasificarse de acuerdo al origen (endógenos o exógenos), naturaleza (físicos o químicos), y potencial inmunológico (infecciosos o no infecciosos)[22]. En el Cuadro 1 se describen los diversos tipos de agentes inflamtorios.

III. Clasificación

El Cuadro 2 describe la definición, patrón morfológico y causas de los distintos tipos de reacción inflamatoria.

IV. Células Inflamatorias

Se refiere como células inflamatorias a aquellas que están involucradas en el proceso de reacción inflamatoria y son:

2) granulocitos o polimorfonucleares;
3) monocitos o macrófagos; y,
4) linfocitos.

Los granulocitos y monocitos se producen normalmente en la médula ósea conjuntamente con eritrocitos y plaquetas. Los linfocitos además, se producen en los órganos linfoides secundarios (timo, sistema retículo endotelial (SRE). Todas las células inflamatorias provienen de una célula madre originada en la médula ósea, la célula madre pluripotencial en donde cada tipo de ésta pasa por diversas étapas de crecimiento hasta resultar en célula inflamatoria madura [26].

En el Cuadro 3 se describe el origen, etapas de maduración, distribución corporal y función de los principales tipos de células involucradas en la reacción inflamatoria.

Cuadro 1. Tipos de Agentes Inflamatorios.

Agentes Inflamatorios	Definición	Ejemplos
Por su Origen: ❍ Endógenos ❍ Exógenos	· Sustancias producidas por un ser vivo que fuera de su sitio de origen pueden ocasionar lesión celular. · Sustancias o materiales capaces de producir lesión celular al exponerlas a un ser vivo	· Radicales Libres de Oxígeno[22], bilis[24,72], reflujo gastroesofágico[33,58] · Materiales de sutura[67] y otros elementos utilizados en cirugía[71], exposición a tetracloruro de carbono[7,54,66], alcohol[89], formaldehído[55], endotoxinas[77], Silice[22], Asbesto[18]
Por su potencial antigénico ❍ Antigénicos ❍ No Antigénicos	· Sustancias o materiales capaces de desarrollar reacción inflamatoria inmunológica al exponerlas a un ser vivo debido a su potencial antigénico · Sustancias o materiales capaces de desarrollar reacción inflamatoria mínima al exponerlas a un ser vivo	· Materiales de sutura de fuente natural (catgut)[98] · Materiales quirúrgicos sintéticos (nylon, polyglecaprone)[67,98]
Por su Infectividad: ❍ Infecciosos ❍ No Infecciosos	· Sustancias provenientes de microorganismos infecciosos (toxinas, proteasas) o el microorganismo en sí. · Sustancias o agente no provenientes de microorganismos infecciosos	· Bacterias grampositivas (*S aureus*)[97], gramnegativas (*E coli*)[77], micobacterias[44], protozoarios (*E histolytica*)[42,86]. · Radiación[19,57,65] y todo el resto de agentes inflamatorios no infecciosos

V. Fisiopatología

La reacción inflamatoria tiene como finalidad el aislamiento, la dilución o destrucción del agente inflamatorio con el objetivo de sanar y reconstruir el tejido lesionado[22,81]. Es importante notar que no siempre el agente que produce lesión celular se encuentra posteriormente. Esto depende de la naturaleza física y química del mismo. Por ejemplo, el formaldeído es muy volátil y se difunde ampliamente en los tejidos, el derrame de bilis es otro ejemplo. En estos casos el organismo desarrollará reacción inflamatoria con la finalidad de reparar el daño tisular provocado, aunque el agente ya se haya absorbido y excretado; el caso contrario es la presencia de un cuerpo extraño como la gasa quirúrgica (algodón) retenida en la cavidad peritoneal desencadenándose reacción inflamatoria destruyéndo o aislando la misma. Es importante notar que siempre se desarrollará reacción inflamatoria después de lesión

celular, esté presente o no el agente inflamatorio que la provocó[22].

A continuación se describen detalladamente las fases de la reacción inflamatoria aguda y crónica.

Cuadro 2. Tipos de Reacción Inflamatoria (RI). Definición, patrón morfológico y causas.

Tipo	Definición	Patrón Morfológico	Ejemplos
Aguda	Reacción inicial que dura entre minutos y pocos días en respuesta a lesión celular[22].	Alteraciones Vasculares (dilatación de vasos pequeños y éstasis) y Tisulares con exudado de fluidos (edema) y extravasación de leucocitos, principalmente neutrófilos[22].	Colecistitis Aguda[32], Apendicitis Aguda[93], RI a material de sutura[67], Infección por *H. Pylori*[87].
Absceso	Sub-Tipo de RI Aguda[22].	Acumulación de detritus celulares y agregados de células polimorfonucleares (neutrófilos)[22].	Infección cutánea por *S. aureus*[32].
Crónica	Fase de la inflamación con duración prolongada en respuesta a estimulos que no pueden eliminarse con la reacción inflamatoria aguda[22].	· Presencia tisular de linfocitos y células plasmáticas[22]. · Angiogénesis y tejido de cicatrización[22].	Linfocitosis colónica[14].
Inflamación Granulomatosa - Reacción a Cuerpo Extraño	Sub-Tipo de RI Crónica secundaria a la persistencia o incapacidad del organismo de eliminar el agente inflamatorio[22].	RI Crónica aunada a la presencia de macrófagos activados (epitelioides) o fusionados formando células gigantes con múltiples núcleos en su interior[22]. **Granuloma** es una acumulación focal de Inflamación Granulomatosa, o bien la acumulación de células epitelioides rodeadas por anillo de linfocitos con presencia o no de células gigantes[22].	RI a material de sutura[67], Esquistosomiasis[62], Infección por *Mycobacterium ulcerans*[44].

V.1 Reacción inflamatoria aguda

Como se define en el Cuadro 2, ésta es la respuesta inicial del organismo a determinado tipo de lesión celular. En esta sección se enfatizará en las fases que conlleva, diagnóstico histopatológico (patrón morfológico) y marcadores inflamatorios[22].

Fases de Reacción Inflamatoria Aguda[22]

1. Alteraciones vasculares

2. Au
mento de la permeabilidad vascular
3. Ext
ravasación leucocitaria
4. Fag
ocitosis o eliminación del agente inflamatorio

Cuadro 3. Principales células involucradas en los procesos inflamatorios [22,26,81]

Célula Inflamatoria *(origen)*	***Maduración***	***Distribución***	***Función***
Neutrófilo (CFU-G)*	· Mieloblasto · Promielocito · Neutrófilo-Mielocito · Neutrófilo-Metamielocito · Neutrófilo en banda · Neutrófilo segmentado (maduro)	· Sangre · Endotelio vascular (marginación) · Exudado inflamatorio purulento · Secreciones glandulares varias (saliva, etc.)	· Fagocitosis de agentes inflamatorios generalmente de tipo infeccioso.
Linfocitos *(precursor T/NK** cell; precursor B cell)*	· Pro-linfocitos (B, T y NK)	· Sangre (80-90% linfocitos T, 20-10% linfocitos B) · Organos linfoides	· Inmunidad celular (linfocitos T y NK**) · Inmunidad humoral (linfocitos B y células plasmáticas)
Epitelioides y Células Gigantes *(CFU-M***)*	· Monoblasto · Mieloblasto · Promonocito · Monocito (maduro)	· Sangre (monocitos) · Macrófagos (tejidos varios) · Células de Kupffer (hígado) · Histiocitos sinusoidales (bazo y ganglios linfáticos	· Inmunidad celular y humoral. · Fagocitosis de agentes inflamatorios como infecciosos y cuerpos extraños.

* *CFU-G*=Unidad formadora de colonias de granulocitos; ** *NK*=células asesinas naturales;. *** *CFU-M*=Unidad formadora de colonias de monocitos.

Aquí se hace referencia a la reacción inflamatoria aguda pero estas fases son comunes para todos los tipos de células inflamatorias (leucocitos) dependiendo del tipo de agente que produjo la lesión. En esta sección nos referiremos al neutrófilo.

V.1.1 Alteraciones vasculares.

Luego de lesión en determinado sitio del organismo, a nivel local se produce vasoconstricción arteriolar fugaz seguida de vasodilatación arteriolar y capilar produciendo incremento en el flujo sanguíneo, prolongándose éste dependiendo del agente inflamatorio que la produjo[22].

V.1.2 Aumento de la Permeabilidad Vascular

Este es el patrón de mayor especificidad de la reacción inflamatoria aguda y se produce con la finalidad de permitir la extravasación de elementos celulares y plasmáticos[22]. Los mecanismos de esta fase se describen en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Mecanismos de las alteraciones de la permeabilidad vascular en reacción inflamatoria aguda[22,81,92]

Mecanismo	**Descripción**

❍ **Contracción del endotelio venular**	Activado por la histamina, bradicinina, leucotrienos y otros mediadores químicos; dura alrededor de 15 a 30 minutos.
❍ **Retracción de las uniones interendoteliales**	Activado por citocinas como la IL-1 (interleucina 1), FNT (factor de necrosis tumoral) y IFN-γ (interferón gamma) reorganizando el citoesqueleto celular produciendo uniones y canales interendoteliales. Se desencadena luego de cuatro a seis horas de la lesión y dura más de 24 horas.
❍ **Lesión necrotizante**	Cuando ocurre lesión y muerte endotelial (necrosis) directa por un agente inflamatorio ocurre desprendimiento de éstas células produciendo aumento en la permeabilidad de todos los vasos sanguíneos afectados ocurriendo filtración del contenido intravascular al extravascular.
❍ **Lesión endotelial causada por leucocitos**	Dependiendo del agente lesivo los leucocitos que se adhieren al endotelio (marginación) liberan múltiples sustancias tóxicas (radicales libres de óxigeno, etc.) que produce mayor lesión endotelial y aumento de la permeabilidad vascular.
❍ **Aumento de la permeabilidad a través de vasos sanguíneos en regeneración**	La angiogénesis inicial desarrollada en un tejido lesionado ocasiona aumento de la permeabilidad hasta que los vasos sanguíneos nuevos se tapizan con endotelio maduro y uniones interendoteliales estables.

Como consecuencia de este aumento de la permeabilidad vascular en los vasos sanguíneos afectados, se produce además, disminución del flujo sanguíneo, debido a que los elementos sanguíneos del plasma salen del espacio intravascular al extravascular. Estos elementos del plasma son proteínas, restos celulares, lo que se denomina ***exudado***[22].

V.1.3 Extravasación leucocitaria

La presencia de leucocitos en el tejido dañado es imprescindible ya que éstos destruyen el agente inflamatorio mediante excreción de sustancias tóxicas o por degradación enzimática. Sin embargo, una respuesta exagerada de éstos puede desencadenar mayor reacción inflamatoria y además, prolongarla[22]. La extravasación leucocitaria tiene tres etapas, las cuales son:

1) Marginación y Adhesión leucocitaria;

1) Diapédesis o Transmigración endotelial; y,

2) Migración extravascular hacia estímulos quimiotácticos (ver Cuadro 5).

Cuadro 5. Etapas de la Extravasación Leucocitaria[22,81]

Fase	**Descripción**

❍ **Marginación y Adhesión** ⇓ ❍ **Diapédesis** ⇓ ❍ **Migración Extravascular**	· Disminución del flujo sanguíneo con marginación leucocitaria al endotelio mediada por selectinas, integrinas e inmunoglobulinas. · IL-1 e FNT estimulan la expresión de moléculas de adhesión y promueven activación leucocitaria. · Las selectinas participan en la marginación y las moléculas ICAM-1 y β_2 LFA-1, por ejemplo, promueven adhesión fuerte al endotelio facilitando así la diapédesis. · Los leucocitos adheridos al endotelio emiten pseudópodos a través de las uniones interendoteliales hasta llegar al espacio extravascular. · Luego, los leucocitos emiten pseudópodos migrando hacia estímulos quimiotácticos producidos en el sitio de la lesión (productos bacterianos, complemento (C5a), leucotrienos (LB4) y citocinas (IL-1, FNT, IL-8, PAF).

IL-1: interleucina 1; *FNT:* factor de necrosis tumoral; *ICAM-1* y *β2 LFA-1:* inmunoglobulina e integrina, respectivamente; *C5a:* fracción de complemeto 5a; *LB4*: leucotrieno B4; *IL-8:* interleucina 8; *PAF:* factor activador de plaquetas.

Para que un leucocito pueda llegar al sitio de la lesión necesita unirse al endotelio venular, es decir, marginarse y adherirse. Esto se realiza por medio de proteínas y receptores específicos que se resumen en el Cuadro 6.

V.1.4 Fagocitosis o eliminación del agente inflamatorio

Los leucocitos (neutrófilos y macrófagos activados) acumulados en el lugar de la lesión o donde se encuentra el agente inflamatorio, realizan fagocitosis y liberan enzimas para eliminar el mismo. Las etapas de ésta fase son:

1) Reconocimiento y contacto;

2) Englobamiento; y,

3) Degradación enzimática (Ver Cuadro 7).

Cuadro 6. Proteínas reguladoras de la Marginación y Adhesión Leucocitaria[22,26,49,81]

Proteína	Ubicación	Función
Selectinas		
· E-selectina	· Endotelio y Leucocitos	· Marginación
· P-selectina	· Endotelio y Plaquetas	· Marginación
· L-selectina	· Leucocitos	· Marginación
Inmunoglobulinas		
· ICAM-1	· Endotelio y Leucocitos	· Adhesión Intercelular
· VCAM-1	· Endotelio y Leucocitos	· Adhesión Vascular
Intregrinas		
· β2 LFA-1	· Leucocitos	· Adhesión Intercelular (Receptor de ICAM-1)
· MAC-1	· Leucocitos	· Adhesión Intercelular (Receptor de ICAM-1)
· β1 VLA-4 (integrina α4β1)	· Leucocitos	· Adhesión Vascular (Receptor de VCAM-1)

E=endotelio; *P*=plaquetas; *L*=leucocitos; *ICAM*=inmunoglobulina de adhesión intercelular; *VCAM*=inmunoglobulina de adhesión vascular; *β2 LFA-1, MAC-1, β1 VLA-4*=integrinas receptoras de inmunoglobulinas.

Cuadro 7. Eliminación del agente inflamatorio mediado por células[9,12,22,81,88,94]

Etapas	Descripción
Reconocimiento y contacto con el agente inflamatorio	El agente inflamatorio es recubierto por moléculas del complemento (C3b) e inmunoglobulinas (Fc). Estas moléculas se unen con receptores específicos en el leucocito (CR, FcγR) para proceder con el englobamiento.
Englobamiento del agente inflamatorio	La unión de las moléculas C3b-CR por ejemplo, desencadena reacciones enzimáticas intraleucocitarias con emisión de pseudópodos para fagocitar o englobar el agente inflamatorio produciendo un fagolisosoma
Degradación enzimática del agente inflamatorio	Hacia el fagolisosoma ocurre degranulación enzimática de radicales libres y enzimas para degradar el agente inflamatorio

C3b=fracción del complemento 3b; *Fc*=fracción c de inmunoglobulina; *CR*=receptor de complemento; *FcγR*=receptor de la fracción c de gammaglobulina.

Evolución de Reacción Inflamatoria Aguda

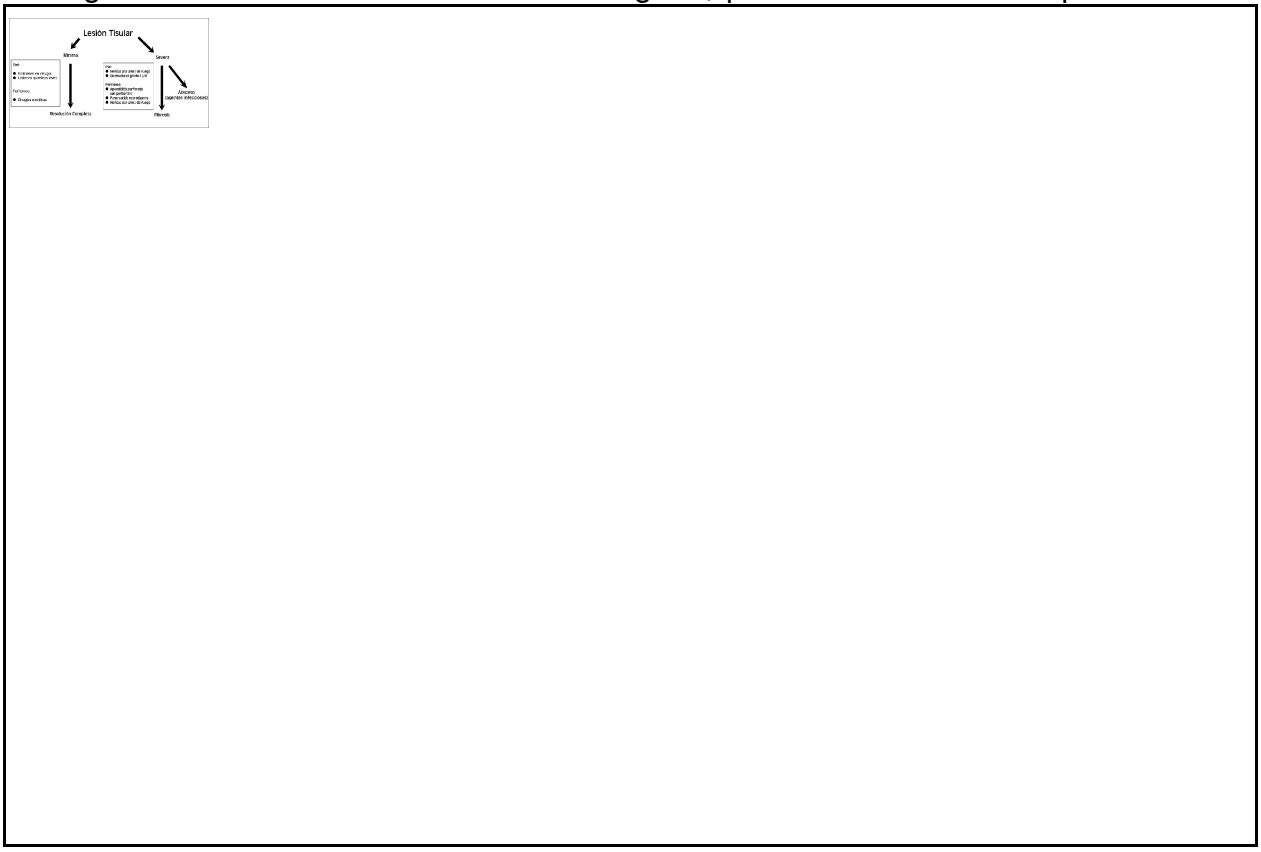
Luego de desencadenadas todas las fases y etapas de la reacción inflamatoria aguda, ésta puede seguir subsecuentes etapas hacia la resolución de la enfermedad o progresión a inflamación crónica. Éstas etapas son:

2) **Resolución:** sucede cuando se elimina totalmente el agente y la lesión tisular es mínima reparándose sin secuelas;
3) **Fibrosis:** sucede cuando el agente inflamatorio produce lesión tisular importante (pérdida de estructuras, luego de formación de absceso) ocasionando sustitución del tejido lesionado por tejido conjuntivo;
4) **Absceso:** ocurre por agentes infecciosos piógenos como el *S. aureus*[22,97] (Ver Figura 1).

Figura 1. Evolución de la Reacción Inflamatoria Aguda[22,36,51]

V.2 Reacción inflamatoria crónica.

Como se define en el Cuadro 1, la reacción inflamatoria crónica se desarrolla luego de la respuesta al agente inflamatorio que no puede eliminarse por los procesos de fagocitosis en la reacción inflamatoria aguda, por lo tanto es una respuesta tardía



hacia el mismo. Esto ocurre, por ejemplo hacia:

1) Agentes inflamatorios de tipo infeccioso persistentes en el organismo en

enfermedades como tuberculosis, sífilis y por algunos tipos de hongos;

2) Agentes inflamatorios endógenos o exógenos como en el caso de la aterosclerosis y silicosis, respectivamente; y

3) En reacciones autoinmunitarias como en artritis reumatoide y lupus eritematoso[22,44].

Fases de Reacción Inflamatoria Crónica[22]

2) Infiltración por células inflamatorias mononucleares
3) Destrucción tisular por células inflamatorias
4) Reparación por tejido conjuntivo (angiogénesis y fibrosis)

V.2.1 Infiltración por células inflamatorias mononucleares

Los monocitos conjuntamente con los neutrófilos comienzan a migrar del espacio intravascular al extravascular en las etapas iniciales de la reacción inflamatoria aguda y alrededor del tercer día (luego de 48 horas) los macrófagos son el tipo de célula inflamatoria predominante e intervienen directamente en la **resolución** de la lesión tisular cuando el agente inflamatorio es eliminado. Sin embargo, cuando se elimina los macrófagos persisten en el sitio de la lesión o donde éste se encuentra debido a proliferación local y por la continua producción de estímulos quimiotácticos (C5a, Il-8, entre otros) para la migración de monocitos y otras células inflamatorias de la circulación sanguínea, además de su inmovilización por la producción del factor inhibidor de los macrófagos secretado por linfocitos T. Además, los macrófagos secretan monocinas, que son sustancias que activan a los linfocitos para la segregación de sustancias inflamatorias[22,49]. Los linfocitos como ya se mencionó, actúan en la inmunidad celular y humoral contra agentes inflamatorios adyuvando a los macrófagos, secretando sustancias como el interferón gama (IFN-γ), que producen la activación de éstos a epitelioides. Las células plasmáticas producen inmunoglobulinas (anticuerpos) contra el agente inflamatorio o hacia los componentes de las células tisulares dañadas favoreciendo así el reconocimiento de los anticuerpos por macrófagos que se encargan de fagocitar el agente y los detritus celulares. Los eosinófilos se encuentran presentes tanto en reacciones inmunitarias de hipersensibilidad como en infecciones por parásitos, como helmintos[22,26,62].

V.2.2 Destrucción tisular por células inflamatorias

Los macrófagos contribuyen a la persistencia de la reacción inflamatoria crónica debido a que secretan sustancias tóxicas al espacio extracelular como radicales libres de oxígeno, óxido nítrico, proteasas, y metabolitos del ácido araquidónico (prostaglandinas y leucotrienos), sustancias que son importantes para la atenuación y degradación de los agentes inflamatorios, produciendo

mayor lesión celular[26,81].

E.2.c Reparación por tejido conjuntivo

Se denomina cicatrización al proceso de reparación por tejido conjuntivo y ocurre al finalizar el proceso inflamatorio, tanto agudo como crónico. Si ocurre resolución completa (ver Figura 1) la cicatriz será mínima, en cambio si la lesión tisular fue severa ocurrirá fibrosis.

Las etapas que ocurren en la cicatrización de una herida son:

2) angiogénesis
3) migración y proliferación de fibroblastos
4) depósito de matriz extracelular
5) remodelación del tejido fibroso cicatrizal[22,26].

En el paciente quirúrgico, existen diversas formas de denominarse la fibrosis dependiendo del área anatómica involucrada y generalmente se produce unión de dos órganos vecinos fusionándose entre sí mediante tejido conjuntivo (ver Cuadro 8).

Cuadro 8. Formas de fibrosis en diversas áreas anatómicas

Nombres relativos a fibrosis	**Area Anatómica**	**Secuela de**
❍ Adherencias	Cavidad peritoneal Espacio pleural	Cirugía[85], lesiones peritoneales[45] Empiema y pleuritis[90]
❍ Sinequia	Utero	Legrado (Síndrome de Asherman)[80]
❍ Plica	Cavidad articular	Lesiones deportivas[63]

Inflamación Granulomatosa (Reacción a cuerpo extraño)

A diferencia de la reacción inflamatoria crónica linfocítica[14,22] mencionada en las secciones anteriores, la inflamación granulomatosa o reacción a cuerpo extraño [13,44,62] es un tipo de reacción inflamatoria crónica caracterizada por la presencia de células epitelioides (macrófagos activados). Este tipo de inflamación se observa en enfermedades inmunitarias (sarcoidosis), reacciones a cuerpo extraño (materiales de sutura, silicosis) y reacciones a agentes infecciosos persistentes (tuberculosis, sífilis, esquistosomiasis). Un **granuloma** es el equivalente al *absceso* de la reacción inflamatoria crónica y se define como zona focal de inflamación granulomatosa. En ocasiones, las células epitelioides pueden fusionarse para formar **células gigantes multinucleadas**, caracterizadas por ser de gran tamaño con múltiples núcleos en su interior. Cuando éstos se alinean en la periferia de la célula gigante se denominan **"tipo Langhans"** y cuando se disponen a nivel central se denominan **"tipo cuerpo extraño"**, debido a que las primeras se observan en enfermedades inmunitarias, y las segundas, en reacciones a algunos agentes inflamatorios exógenos. Sin embargo, ambos tipos pueden encontrarse conjuntamente en algunas enfermedades como la sarcoidosis[22,62,67].

2. Cirugía Experimental

La Cirugía Experimental nace de la necesidad de solventar problemas observados en la práctica cotidiana del cirujano en la atención de pacientes mediante la realización de modelos quirúrgicos experimentales para la prueba de hipótesis[28], además de la perfección en animales de técnicas quirúrgicas nuevas como convencionales.

2.1 La rata como animal de experimentación

La rata es un animal adecuado para la cirugía experimental y quizás el más utilizado en la investigación quirúrgica. Posee ciertas ventajas para su utilización en el laboratorio: tiene un bajo costo, se alimenta poco, ocupa poco espacio en el laboratorio, se adapta fácilmente a los medios ambientales, se puede manipular fácilmente sin riesgos, y tiene alto índice de reproducción. Otra ventaja es que tolera un mínimo grado de contaminación quirúrgica al no desarrollar infecciones, sin embargo, cuando se rompen ciertos criterios de esterilidad como contaminación del campo quirúrgico con orina o heces del animal, deben utilizarse antibióticos. Es importante para el investigador estandarizar las condiciones experimentales pudiendo generar en ésta, cepas isogénicas para diversos modelos experimentales[68].

2.2 Anatomía de la rata

Es muy similar a la del ser humano pudiendo utilizarse para modelos farmacológicos y quirúrgicos experimentales en tejido nervioso[89], pulmón[60], hígado[16,53], riñón[77], cavidad peritoneal [45,98], paratiroides[17]. La cavidad abdominal posee casi las mismas características del ser humano, a diferencia de que en la rata no se encuentra vesícular biliar[68,83] (Ver Figura 2).

2.3 Fisiología de la rata

El Cuadro 9 describe los parámetros fisiológicos más importantes de la rata. En cirugía experimental es impráctico cuantificar estos parámetros. Sin embargo, es imprescindible poner atención a algunos de ellos en algunas situaciones. Por ejemplo, observación y cuantificación de: *frecuencia respiratoria* en la inducción y conducción de la anestesia inhalada con éter; *temperatura rectal*, cuando hay signos de infección como eritema alrededor de la herida operatoria, dehiscencia operatoria con exudación de fibrina, disminución de la actividad fisiológica diurna y noctura y disminución en la alimentación[68,69,83].

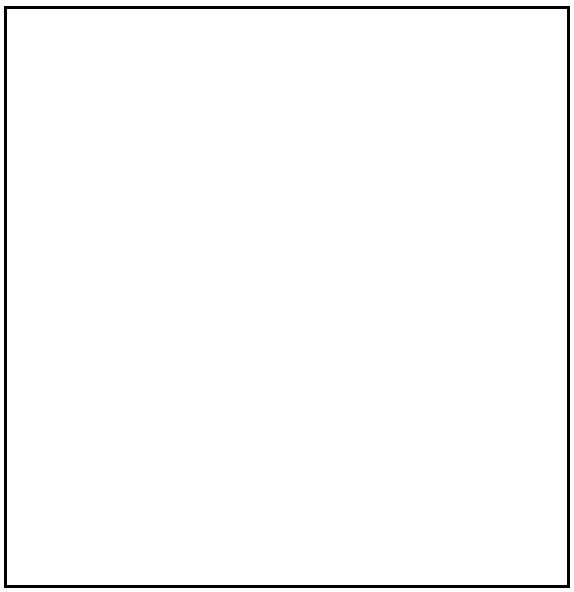


Figura 2. Anatomía Abdominal de la rata[68].

Cuadro 9. Parámetros Fisiológicos de la rata[68,69,83]

Parámetro	**Valor**
Vida	2. - 3.5 a
Gestación	18 - 23 d (6 crías por embarazo)
Peso corporal (macho)	
12 semanas	200 - 400 g
adulto	300 - 800 g
Peso corporal (hembra)	
12 semanas	150 - 270 g
adulta	250 - 400 g
Ciclo menstrual	4 - 6 d
Frecuencia Cardíaca	250 - 500 lpm
Presión Arterial	
Sistólica	75 - 120 mmHg
Diastólica	60 - 90 mmHg
Frecuencia Respiratoria	65 - 110 rpm
Volumen Respiratorio Tidal	1.6 mL
Temperatura rectal	35.5 - 38.9 ºC
Ingesta de sólidos	5 - 6 g/ 100 gp / d
Ingesta de líquidos	8 - 12 mL / 100 gp / d
Tránsito Gastrointestinal	12 - 24 h
Volumen urinario	5.5 mL / 100 gp / d
Agua corporal total	167 mL
Líquido intracelular	92.8 mL
Líquido extracelular	74.2 mL
Volumen plasmático	3.08 - 3.67 mL / 100 gp
Volumen sanguíneo	6 - 7 % del peso corporal o 5.6 - 7.1 mL / 109 gp

a=años; d=día; g=gramos; ºC=grados centígrados; lpm=latidos por minuto; mmHg=milímetros de mercurio; rpm=respiraciones por minuto; gp= gramos de peso; h=horas; mL=mililitros.

2.4 Procedimiento Quirúrgico en ratas

2.4.1 Planteamiento de un Procedimiento Quirúrgico

En el Cuadro 10 se describen los aspectos que deben considerarse antes de plantear un experimento quirúrgico.

Cuadro 10. Aspectos necesarios para la realización de un procedimiento quirúrgico[84].

Aspecto	Consideraciones
❍ **Animales**	Selección de especie, raza, sexo, peso, salud
❍ **Personal**	Médicos, técnicos, estudiantes de medicina
❍ **Area de trabajo**	Laboratorio, bioterio
❍ **Materiales físicos y equipo**	Lámparas, botes de basura, bolsas para desechos biológicos, gasas, equipo quirúrgico, materiales de sutura
❍ **Materiales químicos**	Fármacos, anestésicos, antisépticos
❍ **Procedimiento Quirúrgico**	Técnica aséptica, procedimiento a realizar, tipo de cirugía
❍ **Cuidados postoperatorios**	Area de recuperación y seguimiento

2.4.2Tipos de Cirugía

Los procedimientos quirúrgicos se pueden clasificar de la siguiente forma[84]:

- *Mayores:* Cuando se incide la cavidad corporal y se induce deterioro físico o fisiológico.
- *Menores:* Cuando no se incide la cavidad corporal, pero no existe estrés físico o fisiológico.
- *De supervivencia:* Cuando se espera que el animal vuelva a la conciencia después del procedimiento anestésico y quirúrgico.
- *De **no** supervivencia:* Cuando luego del procedimiento quirúrgico no se espera que el animal vuelva a la conciencia y se procede a la eutanasia.

2.4.3Fases de un Procedimiento Quirúrgico

Para la realización de un procedimiento quirúrgico en la rata es importante tomar en cuenta ciertos aspectos de acuerdo a tres momentos importantes: preoperatorio, operatorio y post-operatorio[84] (ver Cuadro 11). Un procedimiento quirúrgico experimental no puede realizarse por una persona[84], por lo que es importante conformar adecuadamente el personal que integrará el equipo de trabajo. En el Cuadro 12, se esquematiza ésta organización.

Cuadro 11. Aspectos a considerar en un Procedimiento Quirúrgico Experimental[84]

Fase	Consideraciones

Preoperatoria	· Selección de lugar de trabajo apropiada - Bioterio (para el cuidado de animales) - Sala operatoria · Selección de animales de experimentación - Sin evidencia de enfermedad - Proporcionados por establecimientos confiables · Organización de los procedimientos a realizar por el equipo investigador - Preparación del animal (ayuno, recorte de pelo, fijación) - Anestesia - Procedimiento quirúrgico (técnica aséptica) - Eutanasia - Toma de muestras - Analisis histopatológico · Uso de medicamentos - Antibióticos cuando se rompan condiciones estériles
Operatoria	· Técnica quirúrgica cuidadosa · Utilización de equipo quirúrgico y materiales (agujas, material de sutura) de tamaño apropiado para el animal
Postoperatoria (procedimiento de supervivencia)	· Recuperación anestésica · Seguimiento - Observación de herida operatoria vigilando cicatrización, signos de infección, dehiscencia - Documentar signos de dolor (hipoactividad, pérdida de peso, disminución en la ingesta, automutilación.

Cuadro 12. Esquematización de las Actividades del Personal del Equipo de Trabajo

Recurso Humano	**Actividades**
Cirujanos	Procedimiento Quirúrgico
Estudiantes de Medicina	Procedimiento Quirúrgico, Observación, Descripción de hallazgos en Boleta de Recolección de Datos, Tomar fotografías y video
Técnico	Anestesia, Manipulación del animal
Médico Veterinario	Anestesia, Evaluación de signos vitales del animal

2.5 Eutanasia

Eutanasia (*eû*=bien; *thánatos*=muerte) es la muerte natural programada sin dolor en un animal de experimentación. En ratas, los métodos más comunes son la sobredosis anestésica generalmente por vía inhalada. Otras opciones son la dislocación y decapitación. Cualquier método que se utilice deberá ser rápido para disminuir el estrés, ansiedad y dolor del animal. Generalmente se utiliza la sobredosis con éter inhalado para lograr eutanasia fácil, rápida y a bajo costo. Este tipo de anestesia se realiza colocando al animal de experimentación en recipiente transparente y cerrado herméticamente con abundante algodón humedecido con éter, hasta que se observe cese de signos vitales. La única desventaja del éter es el riesgo de explosión, ya que es muy volátil poniendo en riesgo al personal que lo utiliza[84].

3. Patología Quirúrgica Experimental

La patología (*pathos*: sufrimiento; *logos*: estudio) es una rama de la medicina que estudia los cambios estructurales y funcionales en las células utilizando diversas técnicas de laboratorio para explicar los fenómenos que ocurren en el ser vivo sometido al estrés de una noxa o enfermedad. Muchos ensayos experimentales en animales tanto farmacológicos como quirúrgicos van seguidos de la documentación histológica de los cambios celulares inducidos. Además, en la realización de ensayos clínicos controlados en humanos, un requisito es la "experimentación básica y animal previa"[37] hecho que conlleva análisis histopatológico. La Patología Quirúrgica Experimental realiza análisis histopatológico de tejidos desde la toma de muestras de un animal de experimetanción hasta la observación de los cortes histológicos en laminillas teñidas a través de un microscopio[23]. En el Cuadro 13 se describen los procedimientos que deben seguir cirujano, técnico de laboratorio de patología y patólogo para la preparación de un tejido.

Cuadro 13. Procedimientos para la preparación de un tejido[1-3,5,48,73,74].

Procedimiento	**Descripción**
1. Toma de muestras (cirujano)	Resección cuidadosa de órganos o muestras de tejidos de animales vivos o muertos para su análisis posterior
2. Fijación (cirujano)	Colocación del tejido resecado en un agente fijador como el formaldehído con la finalidad de mantener intactas las estructuras celulares del tejido
3. Análisis macroscópico y preparación posterior (patólogo)	Observación de órganos o tejidos fijados. Estos se cortan en segmentos más pequeños para el procesamiento posterior
4. Procesamiento de Tejidos (técnico de laboratorio de patología)	Incluye: deshidratación, aclaración, inclusión en parafina, cortes micrométricos, tinciones (por ejemplo, hematoxilina y eosina Y) y montaje de laminillas
5. Análisis microscópico (patólogo)	Analisis de laminillas preparadas en microscopio de luz

4. Bioética Animal

4.1 Etica y Bioética en la Investigación Experimental con Animales

Experimentación con animales hace referencia al estudio científico en éstos con el objetivo de obtener nuevos conocimientos o comprobar hipótesis a partir de problemas biológicos observados en diferentes ciencias, tanto humanas como veterinarias[50].

La **Bioética Animal** se refiere a la aplicación de normas éticas en el comportamiento y relaciones del hombre con los animales. Surge en base al reconocimiento de Derechos Animales y por el resurgimiento de grupos de Defensa Animal. El principio *"nil non nocere"* no sólo se refiere al ser humano, sin a todos los seres vivos, y de aquí que la bioética se refiera en general a las ciencias de la vida. Un principio bioético es que todas los investigaciones realizadas en humanos, debieran ser precedidas de estudios in vitro e in vivo en animales de experimentación, garantizando así la aceptación de medicamentos, pruebas y procedimientos quirúrgicos en seres humanos[6,37]. Las acusaciones en el pasado de diferentes grupos de defensa animal contra grupos de experimentación con animales eran porque los experimentos se realizaban sin considerar el dolor y sufrimiento de ellos durante los estudios[4]. En el Cuadro 14 se resumen algunos principios de Bioética Animal.

Cuadro 14. Principios y Requisitos Bioéticos para el uso de animales de experimentación en investigaciones[4]

Principios y requisitos relacionados con el personal médico
1. Los ***experimentación animal*** debe ser realizada bajo la supervición de científicos calificados (investigadores y veterianarios, por ejemplo).
2. El ***cuidado*** del animal de experimentación debe ser supervisado por un científico entrenado (veterinario o técnico de bioterio)
Principios y requisitos relacionados con la investigación o el experimento
1. Realizarse para el bien de la sociedad y no innecesaria
2. Basarse en el conocimiento previo de la enfermedad o problema
3. Evitar cualquier daño y sufrimiento innecesario en los animales
4. Cuando se realice eutanasia, ésta no deberá producir sufrimiento alguno al animal

5. Colecistectomía y Reacción Inflamatoria

La Colecistectomía sigue siendo el estándard de oro para el tratamiento de inflamación de la vesícula biliar con o sin cálculos[59]. En la cirugía del árbol biliar ocurre derrame de bilis, caída de cálculos biliares y clips; en muy raras ocasiones puede dejarse inadvertidamente gasas/compresas no sólo en este tipo de cirugía sino en cualquier otro.Aunque se han reportado altas tasas de éxito en colecistectomía laparoscópica en nuestro medio, no dejan de ocurrir complicaciones (ver Cuadro 15).

Cuadro 15. Complicaciones en Colecistectomía Laparoscópica

Hospital	**LVB % (n)**	**BP % (n)**	**CBR % (n)**	**Total % (n)**
Denver Health Medical Center CO, USA[10]	**0.8 (5)**	**1 (6)**	**0.7 (4)**	**2.5 (15)**
Hospital Roosevelt Guatemala, ciudad[76]	**1.2 (2)**	**1.2 (2)**	**-**	2.4 (4)

LVB=Lesión de vía biliar; BP=Bilioperitoneo; CBR=Cálculos biliares retenidos en vía biliar.

Cuando se expone la cavidad peritoneal a agentes inflamatorios endógenos experimentalmente con bilis y cálculos biliares, la reacción inflamatoria concurrente es muy variable resultando en reacción inflamatoria aguda, crónica, granulomatosa con formación de granulomas o no, fibrosis y además, infección[46]. Existen casos reportados de fuga biliar tanto reportes aislados[31] como en series de casos[76]. La retención de agentes inflamatorios exógenos (generalmente gasas) dentro de la cavidad peritoneal conlleva obstrucción intestinal[96], adherencias peritoneales, migración[56,61,75,95], encapsulación[78], sepsis y muerte por fallo multiorgánico[40].

6. Definición de Elementos

- **Bilis:** Sustancia secretada por el hígado a través de los conductos biliares que drena al intestino delgado a través del conducto biliar y se compone de agua, sales biliares, bilirrubina, colesterol, lecitina y electrolitos[34,47].

- **Clip:** Pieza de titanio que se utiliza para ligar el conducto y arteria cística en la colecistectomía[75].

- **Gasa:** Material confeccionado de algodón de diversos tamaños que se utiliza como absorbente de fluidos corporales y sangre durante una cirugía[1].

- **Peritoneo:** Membrana formada por tejido conjuntivo laxo recubierta por mesotelio que tapiza las vísceras abdominales (peritoneo visceral) y la cara posterior de la pared abdominal (peritoneo parietal)[35].

[1] Fuente: Diccionario terminológico de Ciencias Médicas. Editorial Salvat. 13a Edición. España, 1992. p535.

V. Objetivos

1. Comprobar la reacción inflamatoria inducida por bilis, clips de titanio y gasas en el abdomen de la rata.

2. Comparar el tipo y grado de severidad de reacción inflamatoria inducida por bilis, clips de titanio y gasas en el abdomen de la rata.

VI. Hipótesis

Hipótesis Nula (H_0): Todas las ratas expuestas a un agente inflamatorio dentro del abdomen desarrollarán el mismo tipo y grado de reacción inflamatoria que el grupo control.

$H_0 : R_{b,c,g} = R_{co}$

Hipótesis Alterna (H_A): Todas las ratas expuestas a un agente inflamatorio dentro del abdomen no desarrollarán el mismo tipo y grado de reacción inflamatoria que el grupo control.

$H_A : R_{b,c,g} \neq R_{co}$

$R_{b,c,g}$ = Reacción inflamatoria a bilis, clips y gasas R_{co} = Reacción inflamatoria en grupo control

VII. Materiales y Métodos

A. Metodología

A.1 Tipo de Estudio:

Ensayo Clínico Controlado.

A.2 Objeto de Estudio:

Reacción Inflamatoria (RI) en el peritoneo de la rata.

A.3 Población de animales de experimentación:

Se tomó como población total 100 ratas de la especie Wistar.

A.3.a Condiciones de los animales

A.3.a.1 Sexo: Hembra o Macho

A.3.a.2 Peso: Mayor de 250 gramos

A.3.a.3 Condiciones generales: Sin evidencia clínica de enfermedad

A.3.b Distribución preliminar por grupos

Se designaron 25 códigos de tres cifras numéricas cada uno producidos por método aleatorio en computador mediante una base de datos convencional (QuatroPro versión 8.0) para cada uno de los siguientes grupos:

Grupo 1: Bilis

Grupo 2: Clips de titanio

Grupo 3: Gasas

Grupo 4: Control

Los códigos y los grupos se imprimieron en tarjetas de 1 x 1.5 pulgadas cuadradas (100 en total) (Ver Figura 1) y se introdujeron en un sobre oscuro que se identificó “Sobre 1 de Distribución Aleatoria”. Se preparó otro sobre oscuro identificado como “Sobre 2 de Distribución Aleatoria” vacío con la finalidad de introducir en éste las tarjetas del primer sobre conforme se fue realizando la Distribución Aleatoria. Esta fase se realizó con la finalidad de que tanto el personal quirúrgico como el de patología no conociera el significado del código tanto en el seguimiento como en el análisis histológico garantizando así que el estudio fuera ciego.

Figura 1.

GRUPO (B, C, G, CO) CÓDIGO (###)

A. Ejemplo de identificación de tarjetas para distribución aleatoria simple.

B. Fotografía de una de las tarjetas.

A.4 Variables a estudiar

❍ **<u>Dependientes</u>:**

A. Hallazgos macroscópicos

3. *Seguimiento*
   1.1 Infección de herida operatoria
3. *Posmortem*
   2.2 Migración del agente inflamatorio exógeno

B. **Hallazgos histopatológicos**

1. *Reacción Inflamatoria*

1.1	Presente
1.2	Ausente

2. *Tipo de Reacción Inflamatoria*

2.1	Aguda
2.2	Crónica
2.3	Absceso
2.4	Granulomatosa
2.5	Granuloma

3. *Grado de Severidad en 2.1 y 2.2*

3.1	Ausente
3.2	Leve
3.3	Moderada
3.4	Severa

1. *Agente inflamatorio endógeno:*
   a) Bilis

1. *Agentes inflamatorios exógenos:*
1. *Sin agente inflamatorio*
   b) Grupo Control

❍ **<u>Independiente</u>:**

1.2 Mortalidad

2.1 Adherencias intraperitoneales

A. **Inducción Inflamatoria:**

b) Clip (titanio)
c) Gasa (algodón)

A.4.a Operacionalización de variables

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Escala	Indicadores

Infección de Herida Operatoria	Proceso infeccioso localizado en la herida operatoria	**Criterio clínico:** presencia de eritema, dehiscencia o secreción purulenta en pared abdominal	Nominal	a) Sí b) No
Mortalidad	Interrupción definitiva del ciclo vital del animal de experimentación	Observación del cese de signos vitales de la rata durante el seguimiento	Nominal	a) Sí b) No
Adherencias	Es una secuela manifestada por union por tejido fibroso de órganos normalmente separados	Presencia de adherencias dentro de cavidad peritoneal de la rata hacia el sitio de inducción inflamatoria	Nominal	a) Sí b) No
Migración	Clip: Hallazgo del mismo en localización diferente de donde se colocó. Gasa: Migración de la misma a través de estructuras vecinas.	1. Clip encontrado en lugar diferente de la región hepatobiliar 2. Gasa migrando a través de hígado o vísceras huecas vecinas.	Nominal	a) Sí b) No
Reacción inflamatoria	Proceso encaminado a reparación tisular luego de lesión celular	Documentación microscópica del proceso inflamatorio	Nominal	a) Presente b) Ausente
Tipo de reacción inflamatoria	Reacción inflamatoria caracterizada por distintos tipos de células inflamatorias (patrón morfológico) dependiendo de las características de la lesión o del agente inflamatorio (físico, químico o infeccioso) que la provocó.	Patrones morfológicos en peritoneo: **Aguda:** presencia de leucocitos polimorfonucleares **Crónica:** presencia de linfocitos y células plasmáticas **Absceso:** acumulación focal de reacción inflamatoria aguda **Inflamación granulomatosa:** células epitelioides o células gigantes **Granuloma:** acumulación focal de inflamación granulomatosa	Nominal	a) Aguda b) Crónica c) Absceso d)Inflamación Granulomatosa e) Granuloma

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Escala	Indicadores
Grado de severidad de reacción inflamatoria aguda y crónica	Subdivisión en grados dependiendo de la concentración de células inflamatorias a un aumento de 40X en microscopio de luz.	Recuento manual del infiltrado inflamatorio en los casos en que se documentó reacción inflamatoria aguda y crónica	Ordinal	a) Ausente b) Leve c) Moderada d) Severa
Inducción Inflamatoria producida por el agente endógeno / exógeno	Inducción de reacción inflamatoria con o sin agente inflamatorio dentro de la cavidad peritoneal de la rata	Inducción de reacción inflamatoria o no luego de colocar un agente inflamatorio	Nominal	1. Bilis 2. Clip 3. Gasa 4. Grupo Control

A.5 **Instrumentos de recolección de datos y medición de las variables**

Se utilizaron Boletas de Recolección de Datos distribuidas y enumeradas de la siguiente manera (Ver sección de Anexos):

1. Procedimiento quirúrgico de inducción inflamatoria y seguimiento posoperatorio
2. Procedimiento quirúrgico posmortem y hallazgos macroscópicos
3. Estandarización de criterios subjetivos de RI Aguda y Crónica en base a grados de severidad por dos patólogos expertos en análisis preliminar de cortes histológicos
4. Recuento manual de cortes histológicos por patólogo experto distinto al paso 3.
5. Hallazgos microscópicos

A.6 **Fases de la Investigación**

A.6.a Estudio piloto

Se realizó procedimiento quirúrgico de supervivencia (laparotomía) con la finalidad siguiente:

d) Reconocer claramente las estructuras intraabdominales del espécimen

e) Identificar la vía biliar y lóbulos hepáticos

Se operaron 3 ratas utilizando anestesia inhalada con éter.

Procedimiento Quirúrgico

Se realizó incisión mediana supraumbilical con tijera de disección identificando hígado y vía biliar. Se cerró pared abdominal con seda 4-0. En las primeras dos ratas se seccionó parcialmente uno de los conductillos hepáticos lobulares utilizando tijera de disección (ver Figura 2). Ambas ratas murieron: la primera por exceso de anestesia debido a exceso de tiempo quirúrgico (más de 20 minutos) y la segunda, por bilioperitoneo (+/- 2 cc de bilis) identificado en la necropsia luego de 8 horas del procedimiento quirúrgico.

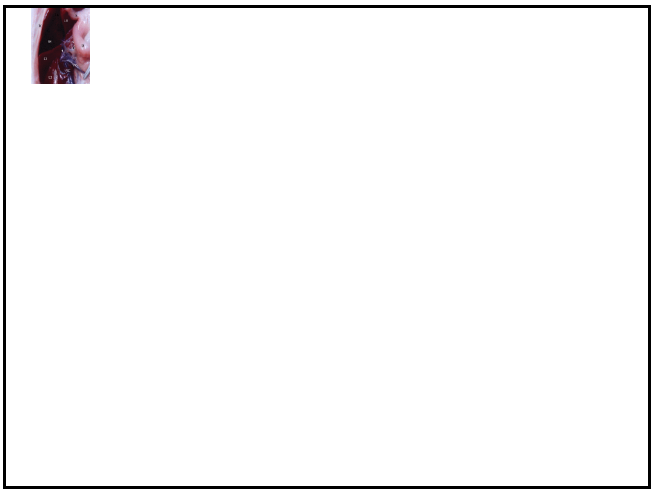


Figura 2. Vía biliar de la rata. *Punta de flecha blanca:* conductillo lobular hepático; *Punta de flecha negra*: conducto biliar común. D=duodeno; E=epiplón; LH=Lóbulo hepático; RC=reborde costal; VCI=vena cava inferior; VMS=vena mesentérica superior. Foto original.

En la tercera rata se cambió el procedimiento quirúrgico puncionando el conducto biliar único con aguja fina no. 27 (jeringa de insulina) produciendo fístula bilioperitoneal mínima. Esta rata sobrevivió y posteriormente se realizó laparotomía electiva a las 48 horas para revisar la fístula producida. Se identificó el conducto biliar puncionado el cual estaba cicatrizado y no se documentó bilioma**.** Con esto se procedió a estandarizar el procedimiento quirúrgico para todas las ratas, a las cuales se les puncionaría la vía biliar.

A.6.b Inducción de RI

Fase Preoperatoria

i) Preparación y Obtención de los Recursos Físicos, Humanos y Animales para el Procedimiento Quirúrgico

Procedimiento quirúrgico y seguimiento fueron realizados en Laboratorio de Cirugía Experimental y Bioterio de la Facultad de Medicina, UFM, respectivamente.

ii) Selección y obtención de ratas de acuerdo a las condiciones enumeradas en el inciso A.3

iii) Conformación del personal del equipo quirúrgico:

- Cirujano principal
- Cirujanos ayudantes
- Técnico de Bioterio
- Médico Veterinario
- Estudiantes de medicina

iv) Procedimiento de Distribución Aleatoria

Previo a la inducción anestésica de cada animal, el ayudante destinado únicamente a esta fase (ver sección A.3.b) siguió el siguiente procedimiento:

1) Escogió a ciegas una tarjeta del sobre de distribución aleatoria 1,
2) Anotó el código en la boleta de recolección de datos 1,
3) Etiquetó la jaula con el código,
4) En voz alta se mencionó el grupo que correspondía a esa rata,
5) La tarjeta se colocó en el Sobre 2,
6) Este procedimiento se realizó de igual forma para cada animal.

v) Inducción y Conducción de la Anestesia. Preparación del Animal

- **Inducción.**
- Se introdujo al animal seleccionado en recipiente cerrado (campana) en cuyo interior había algodón humedecido con éter.
- El animal permaneció en la campana por varios minutos hasta que se verificó adormecimiento del mismo.
- Luego, se sacó de la campana para colocarlo en la mesa quirúrgica.

- **Preparación del Animal.** En la mesa quirúrgica se fijó cada pata del animal con esparadrapo y se colocaron campos quirúrgicos cubriendo las áreas genital y anal.
- **Conducción.** Se colocó a cinco centímetros aproximadamente de la cabeza del animal un recipiente abierto con algodón humedecido con éter para mantener la bajo efectos de

anestesia. Luego, se procedió a operar.

Fase Operatoria

i) Incisión

Se realizó incisión mediana supraumbilical con tijera de disección en todos los animales involucrando piel, tejido celular subcutáneo, línea alba y peritoneo.

ii) Introducción del agente inflamatorio (<u>variable independiente</u>)

- **Bilis.** Se observó la vía biliar separando los lóbulos hepáticos, luego se identificó el conducto biliar único. Posteriormente, se colocó sonda acanalada por detrás de éste y se realizó punción con aguja fina no. 27 creando fístula bilio-peritoneal transitoria. Se verificó hemostasia.

- **Clips de Titanio.** Medían 0.28 mm de diámetro obtenidos de una engrapadora TA® 90 LONG-4.8. Se colocó uno por animal en la región subhepática o biliar, los cuales estaban estériles.
- **Gasa.** Se colocó fragmento de gasa estéril de aproximadamente 0.5 x 1.0 cm^2 en la región subhepática o biliar.
- **Control.** Se observó únicamente la vía biliar separando minuciosamente las estructuras anatómicas.

iii) Cierre de Pared Abdominal.

Se realizó con material de sutura en dos planos:

1) peritoneo, músculo y fascia anterior con puntos continuos
2) piel con puntos simples.

iv) Documentación fotográfica y de video.

Se tomó fotografías y video para cada uno de los procedimientos: bilis, clips y gasa.

Fase Postoperatoria

i) Recuperación Anestésica.

Luego del cierre de la pared abdominal se procedió a lo siguiente:

a) Ubicación del animal en jaula individual
b) Identificación de la jaula con código
c) Se colocó agua en bebedero
d) Se esperó varios minutos hasta que el animal se recuperara.

e) Se agregó viruta a cada jaula para garantizar calefacción para el animal.

ii) Seguimiento.

Las ratas se observaron por un lapso de seis semanas anotando los cambios de actividad y de herida operatoria en la boleta de recolección de datos 1 diariamente seis veces por semana. Fueron alimentadas con agua y comida *ad libitum* por técnico de bioterio y mantenidas a temperatura ambiente. Cuando se presentó dehiscencia e infección de la misma se procedió a curarla con solución salina estéril y antiséptico (gluconato de clorhexidina al 10%) hasta que sanara completamente. Cuando se presentó muerte de algún animal se procedió según lo descrito en *Toma de muestras* en la sección A.6.c.

A.6.c Eutanasia de ratas para observación de hallazgos macroscópicos y toma de muestras de tejido

Eutanasia

Se introdujo el animal en un recipiente cerrado con algodón que contenía sobredosis de éter. Al cesar los signos vitales se procedió a la recolección de muestras.

Recolección de muestras y fijación de tejidos

- *Preparación del animal.*

Se colocó y fijó el animal en una mesa quirúrgica.

- *Procedimiento Quirúrgico*

Se realizó laparotomía exploradora y luego se procedió a resecar parcialmente la pared abdominal anterior para identificar completamente las estructuras de la cavidad abdominal, y llevar piezas a estudio.

- *Hallazgos macroscópicos operatorios*

Se buscó clip o fragmento de gasa en cada animal identificando el área subhepática. Se anotó si en este lugar se encontraron adherencias. Se documentaron los hallazgos a través de fotografías y video.

- *Recolección de muestras*

En todos los casos se tomó muestras de hígado, vía biliar e intestino delgado. Se resecó pared abdominal (peritoneo parietal) cuando se encontraron adherencias a estructuras hepáticas. En los casos en

que se identificaron estructuras adheridas a clips de titanio o gasas se resecaron en su totalidad.

- *Fijación de tejidos.*

  Todas las muestras obtenidas de cada animal se colocaron en recipiente con formol neutro y estabilizado al 10% en volumen 5-10 veces superior al de los tejidos resecados. Los tejidos permanecieron en formol por un mínimo de 48 horas.

Tratamiento de tejidos

- *Corte*

  Se hicieron fragmentos como máximo de 0.5 x 1.0 x 0.4 cm^3 a partir de los tejidos fijados y se introdujeron en casetas de plástico para tratamiento posterior.

- *Deshidratación, Aclaramiento, e Inclusión en parafina*

  Las casetas preparadas en la sección anterior se introdujeron en máquina automática especial para este procedimiento. Al finalizar, se obtuvieron bloques de parafina con los tejidos en su interior.

- *Microtomía*

  Utilizando un micrótomo rotatorio se obtuvieron cortes finos de 3 micrómetros (µm) de cada bloque de parafina y se colocaron en láminillas portaobjetos.

- *Tinción con Hematoxilina y Eosina Y*

  Todas las laminillas obtenidas para cada caso se colorearon con el método de Hematoxilina y Eosina de Harris

- *Montaje de laminillas histológicas*

  Se montaron con glicerina y laminillas cubreobjetos.

A.6.d Clasificación objetiva de severidad de reacción inflamatoria peritoneal aguda y crónica de severidad en grados

- **Justificación de esta fase de la investigación**

La finalidad de realizar la Clasificación Objetiva de Severidad de reacción inflamatoria en peritoneo fue en primer lugar porque no existe alguna en la literatura médica y, en segundo lugar, proporcionar a los investigadores una escala de valoración

objetiva de los parámetros que se utilizaron en esta investigación para determinar los grados de severidad, además porque es imprescindible utilizar un patrón específico, propio, y cuantificable objetivamente para dar mayor validez y confiabilidad a los resultados obtenidos[69].

El patólogo en su práctica diaria clasifica la severidad "subjetivamente"en grados leve (1), moderada (2) o severa (3) sin utilizar un patrón objetivo, por lo que fue necesario comparar dichos patrones objetivamente en forma preliminar, analizándose la reacción inflamatoria desarrollada mediante la evaluación parcial de las laminillas histológicas por parte de una patóloga (Jefa de Residentes de la Sección de Patología del Hospital Roosevelt) quien además documentó fotográficamente en microscopio a aumento de 40X, los hallazgos más importantes. El Procedimiento de la Creación de la Escala Objetiva se resume en lo siguiente:

a) Estandarización de criterios subjetivos de severidad en reacción inflamatoria peritoneal

- Documentación fotográfica preliminar de las laminillas por Jefe de Residentes
- Proyección de las fotografías a dos patólogos expertos quienes dieron su diagnóstico por separado en base a su experiencia;
- Cálculo del **índice de concordancia de kappa intra e interobservador**;

e) Recuento manual de las fotografías por otro patólogo experto para cuantificar las células inflamatorias;

f) Análisis de resultados del paso (a) y (b) en relación a las fotografías en concordancia;

g) Creación de la Escala objetiva de reacción inflamatoria peritoneal aguda y crónica en grados de severidad.

A continuación se describe detalladamente este proceso.

a) **Estandarización de criterios subjetivos de severidad en reacción inflamatoria peritoneal**

- **Análisis preliminar de laminillas por patólogo general y documentación fotográfica**

  Participó un patólogo de la Sección de Patología del Hospital Roosevelt como "general" en base al tiempo de experiencia laboral y se le solicitó que observara en microscopio de luz las laminillas identificando los grados de reacción inflamatoria aguda y crónica desarrollados en los animales del estudio, tomando fotografías a aumento de 40X de las imágenes más significativas según los grados subjetivos: ausente, leve, moderada y severa.

- **Preparación de fotografías con base a los Grados de Severidad Subjetivos encontrados**

  Las fotografías tomadas por el patólogo general fueron introducidas por el autor en un programa de computador para fotos (Ulead iPhoto Plus Versión 4.0) estandarizándolas en relación a tamaño, color y cortando segmentos que pudieran actuar como factores recordatorios evitando así sesgo de memoria. Las fotografías se ordenaron y enumeraron con un código desconocido para los patólogos expertos distribuyéndose aleatoriamente en dos órdenes distintos para la presentación de las mismas en dos sesiones distintas.

- **Proyección y diagnóstico de fotografías**

- En la Sección de Patología del Hospital Roosevelt, a primera hora de la mañana (8:00) se proyectaron en computador portátil 30 fotos con reacción inflamatoria aguda, crónica, ambas y ausente; de acuerdo a la severidad: leve, moderada y severa.

- Se realizaron dos sesiones separadas por 7 días cada una a dos patólogos considerados "expertos" por el tiempo de experiencia laboral.

- Se llenó la Boleta de Recolección de Datos 3 para cada una de las sesiones.

- **Cálculo del indice de concordancia de kappa intra e interobservador**

  Con los resultados del paso anterior, se introdujo las variables en el programa SPSS (Statistical Packages of Social Sciences) versión 8.0 para Estudiantes" y se calculó el "índice de concordancia de kappa intra e interobservador" y quiere decir:

  - ***Intraobservador:*** a la concordancia observada para el mismo patólogo en dos sesiones distintas
  - ***interobservador:*** a la concordancia observada entre ambos patólogos.

b) **Recuento manual de células inflamatorias en fotografías**

Un patólogo experto de la Facultad de Ciencias Médicas de la USAC realizó lo siguiente:

4) Observó las fotografías
5) Realizó recuento manual de las mismas

6) Anotó el número de células inflamatorias identificadas por fotografía en la Boleta de Recolección de Datos 4.

7) Este procedimiento se realizó independientemente del paso (a).

c) Análisis de los resultados del paso (a) y (b)

Se estandarizó el criterio en base al valor de kappa obtenido en el paso (a) y se cruzaron éstos resultados con los del paso (b) a excepción de cinco fotografías que fueron excluídas debido a que en ellas hubo confusión respecto al patrón morfológico de la reacción inflamatoria y por lo tanto, no pudo determinarse la concordancia en éstas.

b) **Creación de escala objetiva de grados para reacción inflamatoria Aguda y Crónica en base a recuento manual**

Los resultados de la sección anterior fueron consolidados para la creación de la Escala Objetiva. En este estudio no pudo realizarse tratamiento estadístico para los resultados del recuento manual debido a que el número de observaciones (fotografías) analizadas fueron mínimas, caso contrario de la estandarización de criterios en que el tratamiento estadístico se realizó satisfactoriamente. Por lo tanto, se utilizaron únicamente los datos obtenidos del recuento manual ubicándolos en rangos para cada grado de severidad. Luego se creó la Escala Objetiva en Grados.

En el Cuadro 1se puntualizan las actividades que realizó cada uno de los patólogos.

Cuadro 1. Actividades realizadas por patólogos en la Creación de Escala Objetiva

Patólogo	**Procedimiento**
Jefa de Residentes -Hospital Roosevelt- Patólogos Expertos -Hospital Roosevelt- (2) Patólogo Experto -USAC-	Documentación fotográfica y selección subjetiva de la reacción inflamatoria Estandarización de criterios Recuento manual

A.6.e Análisis Histológico por patólogos expertos

Todas las laminillas se observaron en microscopio de luz a los aumentos 10X, 40X y 100X para determinar la presencia o ausencia de reacción inflamatoria. Para este procedimiento se utilizó la Boleta de Recolección de Datos 5.

A.7 Pruebas de Hipótesis

- Se utilizó rangos, media y riesgo relativo para la fase descriptiva del estudio (hallazgos macroscópicos).
- Los métodos Chi cuadrado y Regresión Logística para las variables independientes y dependientes se determinaron utilizando el programa de la compañía SPSS (Statistical Packages of Social Sciences) versión 8.0 para Windows.
- Se presentan en los resultados las abreviaturas: 1) ***p***: probabilidad dada por el método estadístico en la obtención de cada uno de los resultados; y, **2) *RR***: Riesgo Relativo.
  - p: quiere decir la significancia que el método estadístico, por ejemplo la Regresión Logística alcanzó para una variable específica. Si el valor es $\leq$ 0.05 quiere decir que se alcanzó un nivel de significancia del 95% con una probabilidad de error $\leq$ a 5 %[27].
  - RR: es el riesgo relativo de ocurrir un evento al exponerse la rata a un factor de riesgo como los agentes inflamatorios. Si RR es $\leq$ 1 es un factor protector y si es > 1 es un factor de riesgo[27].

A.8 Aspectos Eticos

Los estudios experimentales en animales de experimentación como la rata son un paso obligatorio en los Ensayos Controlados (FASE I) para determinar la eficacia de algún medicamento nuevo. También en Cirugía Experimental está indicada la intervención de animales de experimentación para desarrollar habilidades y destreza con el cirujano en entrenamiento[68]. El estudio de complicaciones quirúrgicas y posibilidades terapéuticas con sacrificio de animales también se ha realizado ampliamente en el Campo Experimental sin que tenga repercusiones éticas con los animales, ya que su indicación está centrada en el análisis de los fenómenos que ocurren en los animales, planteando posibilidades terapéuticas que pudieran traspolarse al ser humano[79] .

B. Recursos

B.1 Materiales

- *Espacio físico, instrumental quirúrgico y materiales de sutura.* Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Francisco Marroquín
- *Microscopio de luz, equipo y materiales para el procesamiento y tinción de tejidos.* Sección de Patología del Hospital Roosevelt
- *Cien jaulas.* Dirección General de Servicios de Salud. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala.
- *Anestesia y accesorios anestésicos.* Autor de la Tesis. Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Francisco Marroquín.
- *Clips de Titanio y materiales de sutura.* Departamento de Cirugía del Hospital Roosevelt.
- *Cámara fotográfica y de video.* Asesor y autor de la tesis. Estudiante de medicina.

B.2 Humanos

Médicos-Cirujanos-Profesores de Medicina

- Dr. Julio César Morales Linares. Jefe de Servicio del Departamento de Cirugía del Hospital Roosevelt y Profesor de Cirugía Titular IV, USAC. (Asesor de tesis).
- Dr. Jorge Braham. Coordinador del Pre y Post grado de Cirugía; Profesor de Cirugía Titular VI (Revisor de tesis).
- Dr. Marco Antonio Peñalonzo. Director del Area de Cirugía Experimental. Facultad de Medicina. UFM. (Autorizó que el proyecto se realizara en el Bioterio de la UFM).

Análisis histológico y Estandarización de Criterios Subjetivos

- Dr. Rodolfo Gil. Jefe de la Sección de Patología del Hospital Roosevelt.
- Dr. Orlando Rodas. Patólogo adscrito de la Sección de Patología del Hospital Roosevelt.

Recuento Manual

- Dr. René Blanco. Profesor Titular VII del Curso de Patología. Facultad de Ciencias Médicas. Fase II. Centro Universitario Metropolitano -CUM-, USAC.

Valoración subjetiva inicial de la Reacción Inflamatoria y Documentación Fotográfica-Histológica

- Dra. Silvia Makepeace. Jefa de Residentes de la Sección de Patología del Hospital Roosevelt.

Asesoría en Patología Quirúrgica Experimental

- Dra. Ingrid Arrillaga. Patóloga de la Sección de Patología del Hospital Roosevelt.

Medicina Veterinaria y Bioterio

- Javier Mendizábal. Médico Veterinario y Jefe de Bioterio. Facultad de Medicina. UFM.
- Eder Nicolás Tsoc. Técnico de Bioterio. Facultad de Medicina. UFM.

Bioestadística

- Dr. Fredy de Mata. Profesor Titular V. Unidad de Evaluación. Facultad de Ciencias Médicas, Centro Universitario Metropolitano -CUM-, USAC.

Estudiantes de Medicina. USAC.

- Carlos Bernardo García Pérez (3er año)
- Héctor Alejandro Campos Ordóñez (3er año)
- Juan Carlos Pérez Sánchez (4to año)

B.3 Obtención de Animales

- Bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC.
- Bioterio del Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP).

B.4 Económicos

Todos los gastos estuvieron a cargo del investigador:

- Obtención de estanterías, bebederos, concentrado, viruta para el cuidado de animales en el Bioterio.
- Obtención de ratas
- Materiales para el procedimiento quirúrgico y eutanasia, éter, gasas, materiales de sutura, guantes descartables.
- Documentación videofotográfica: rollos de revelado y videocintas.
- Honorarios del Técnico de Bioterio para el cuidado y alimentación de ratas.
- Honorarios de Técnicos de la Sección de Patología para el procesamiento de tejidos. Hospital Roosevelt.

VIII. Presentación de Resultados

A. Clasificación objetiva de severidad de la reacción inflamatoria aguda y crónica

A.1 Análisis preliminar de laminillas

Se analizaron 115 laminillas de un total de 296 de forma preliminar. Se seleccionaron 30 fotografías de un total de 45 excluyendo aquellas que tuvieran "factores recordatorios" como presencia de material de sutura que pudieran sesgar los resultados del análisis.

A.2 Estandarización de Criterios Subjetivos en grados de severidad de la Reacción Inflamatoria Aguda y Crónica

Con base a los diagnósticos de dos patólogos expertos obtenidos, luego de la evaluación de las fotografías se obtuvo el **índice de concordancia de kappa intra e interobservador**. Los resultados se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Valores de kappa para criterios subjetivos de severidad de la reacción inflamatoria aguda y crónica

Indice de Concordancia	Valor de kappa
Intraobservador (experto 1)	0.834
Intraobservador (experto 2)	0.759
Interobservadores (expertos 1 y 2)	0.572

Cuadro 2. Valores de kappa (κ) y grados de acuerdo[64]

κ	**grado de acuerdo**
< 0 0 - 0.2 0.2 - 0.4	Ninguno Insignificante Bajo
0.4 - 0.6 0.6 - 0.8 0.8 - 1	Moderado Bueno Muy bueno

Los grados de acuerdo con base a los valores de kappa se describen en el Cuadro 2[64]. La variabilidad entre individuos (pacientes u observadores) es bien reconocida[11] justificándose la determinación de concordancia intraobservador en nuestro estudio, principalmente debido a que se evaluó un criterio diagnóstico subjetivo. Los resultados fueron excelentes con una concordancia "buena" para cada uno de los patólogos concluyendo que la variabilidad entre sus diagnósticos fue mínima y además superó en buen grado a lo que hubieran concordado por azar[27,43]. En otras palabras, los criterios leve, moderada y severa para reacción inflamatoria aguda y crónica (aunque de forma subjetiva) para cada uno de los patólogos fueron bastante precisos.

Cuando se compararon los criterios de ambos patólogos (concordancia interobservadores) hubo acuerdo "moderado" (ver Cuadro 1 y 2). Aunque el valor de kappa hizo disminuir un grado de acuerdo, la concordancia fue alta en comparación con lo que hubiera sucedido por el azar, por lo que se consideró convenientemente que ambos patólogos participaran en análisis de las laminillas para esta investigación.

Con los resultados de la estandarización de criterios y el recuento manual de células inflamatorias de las fotografías se obtuvo la Escala objetiva (ver Cuadro 3).

Cuadro 3. Escala Objetiva en grados de severidad para Reacción Inflamatoria Aguda y Crónica en peritoneo†

Grado (Severidad)	**Reacción Inflamatoria Aguda***	**Reacción Inflamatoria Crónica****
Leve	1 - 8	1 - 28
Moderada	9 - 50	29 - 99
Severa	> 51	> 100

† Las cifras corresponden al número de células inflamatorias a aumento de 40X;
*** Neutrófilos;**
**** Células plasmáticas y linfocitos.**

B. Hallazgos Macroscópicos

B.1 Del seguimiento

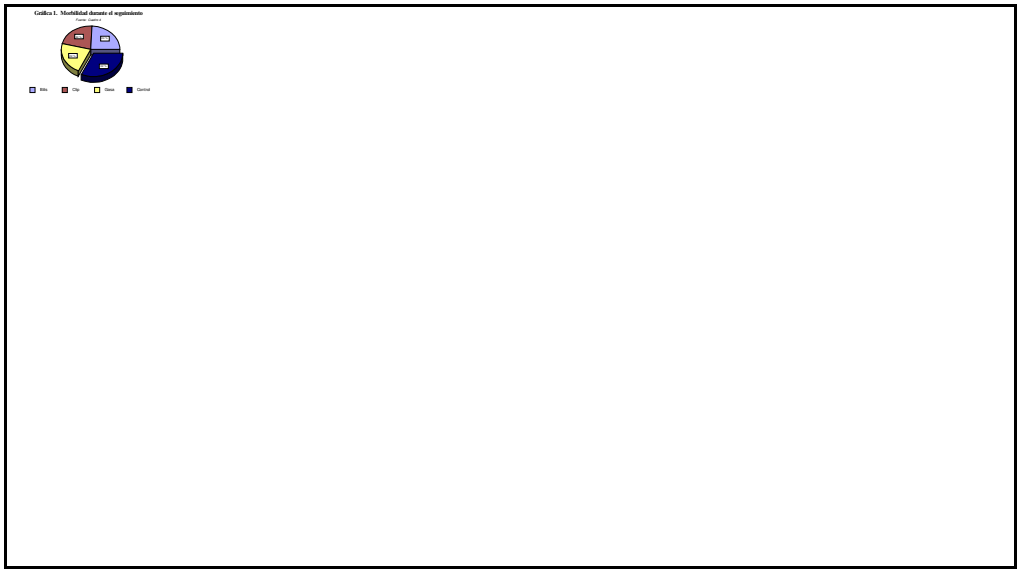
Morbilidad

En el Cuadro 4 y Gráfica 1 se describe y esquematiza la morbilidad observada.

Cuadro 4. Morbilidad documentada durante el seguimiento

Grupo	**Casos**	**RR**
Bilis	10 / 25	0.77
Clip	9 / 25	0.72
Gasa	9 / 25	0.72
Control	13 / 25	-
Total	**41 %**	

No hubo significancia estadística entre grupos.



Mortalidad

En el Cuadro 5 y Gráfica 2 se describe y esquematiza la mortalidad observada.

Cuadro 5. Mortalidad observada durante el seguimiento

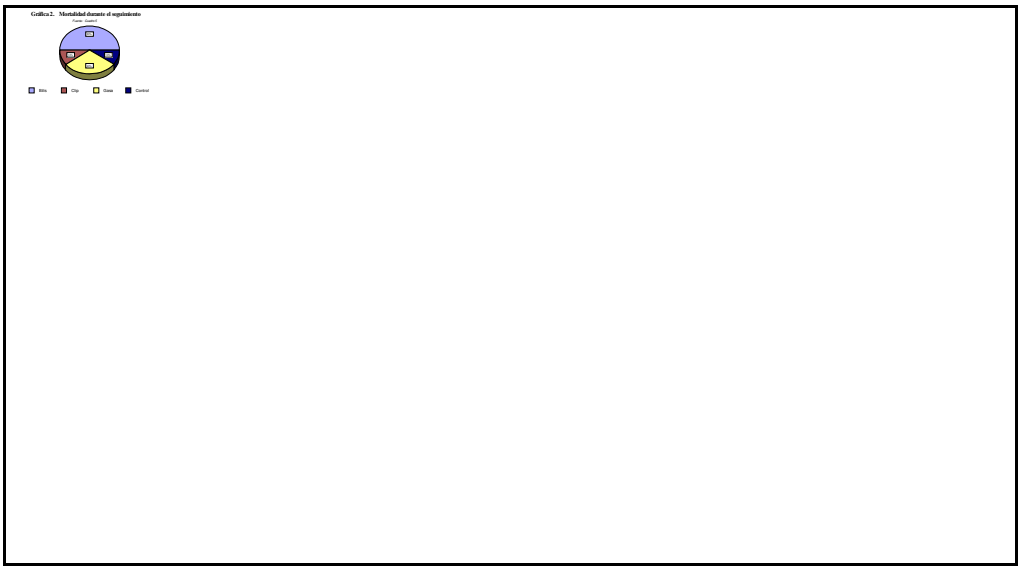
Grupo	Casos	RR	Vida en días (media)	Diagnósticos
Bilis	5 / 25	5	1 - 8 (3.4)	Peritonitis biliar (RI aguda) RI crónica moderada
Clip	1 / 25	1	9 (9)	-
Gasa	3 / 25	3	9 - 40 (24)	Infección de HOP, adherencias, RI aguda y crónica
Control	1 / 25	-	27 (27)	Infección de HOP
Total	**10 %**		**1 - 40 (12.5)**	**-**

No hubo significancia estadística entre grupos.

B.2 Hallazgos Postmortem

Adherencias

En el Cuadro 6 y Gráfica 3 se describen y esquematizan las adherencias intraabdominales encontradas.

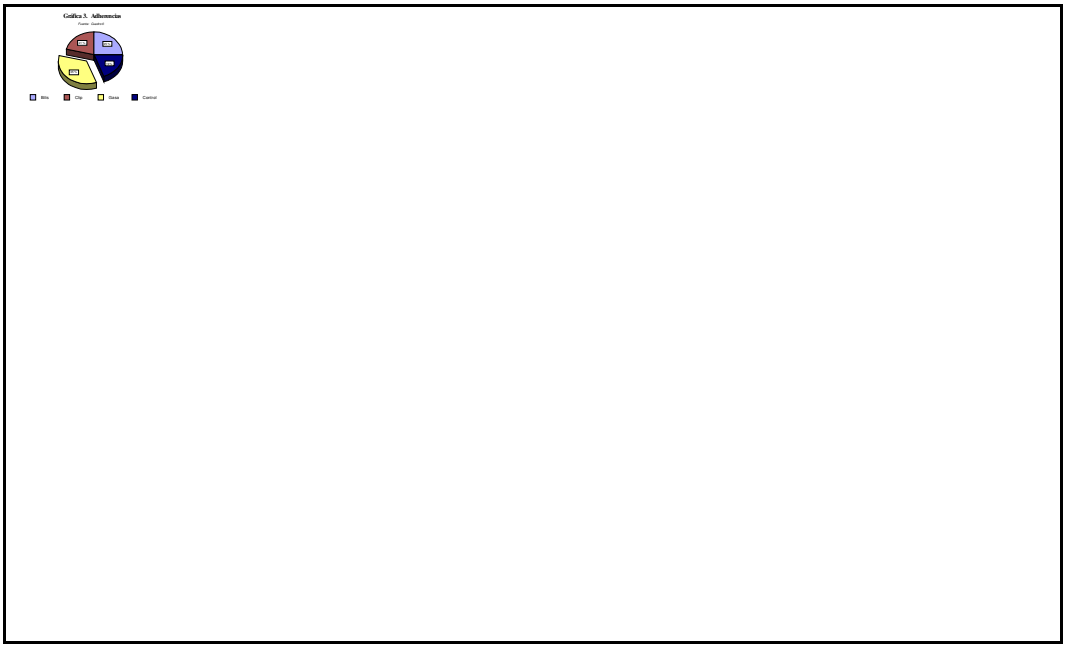


Cuadro 6. Adherencias intraabdominales

Grupo	Casos	RR
Bilis	13 / 25	1.3

Clip	11 / 25	1.1
Gasa	18 * / 25	1.8
Control	10 / 25	-
Total (% del Total)	**52 %**	**-**

* $p < 0.05$



C. Hallazgos Microscópicos

A continuación se presentan los diagnósticos de los patólogos expertos al examinar las laminillas obtenidas a partir de la recolección de muestras.

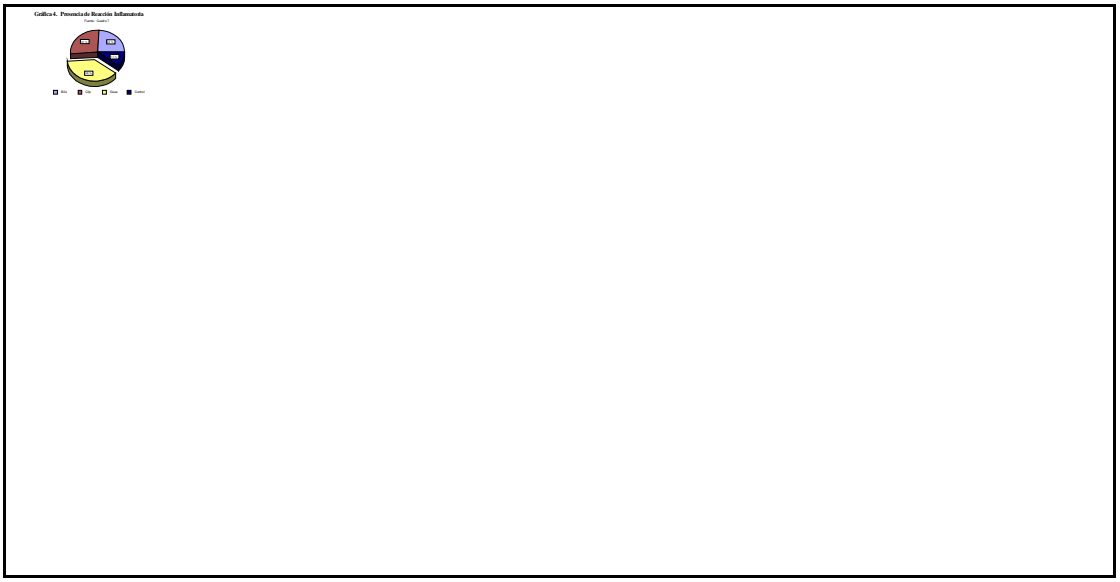
Presencia de Reacción Inflamatoria

En el Cuadro 7 y Gráfica 4 se describe y esquematiza la presencia de reacción inflamatoria.

Cuadro 7. Presencia de Reacción Inflamatoria

Grupo	**Casos***	**RR**
Bilis	9 / 25	2.2
Clip	10 / 25	2.5
Gasa	14 / 25	3.5
Control	4 / 25	-
Total (% del Total)	**37 %**	**-**

*** p=0.04**



Reacción Inflamatoria Aguda y Crónica

En el Cuadro 8 se describe la presencia de reacción inflamatoria aguda, crónica o ambas.

Cuadro 8. Reacción inflamatoria aguda, crónica o ambas

Reacción inflamatoria	**Aguda**	**Crónica***		**Aguda y crónica**	
Grupo	**Casos**	**Casos**	**RR**	**Casos**	**RR**
Bilis	-	7 / 25	1.75	2 / 25	0.5
Clip	-	10 / 25	2.5	-	-
Gasa	-	13 / 25	3.25	1 / 25	0.25
Control	-	4 / 25	-	-	-
Total (% del Total)	**0 (0)**	**34 %**	**-**	**3 %**	**-**

* p = 0.05

Grados de severidad en reacción inflamatoria aguda y crónica

La reacción inflamatoria aguda observada fue únicamente en tres casos y se manifestó conjuntamente con reacción inflamatoria crónica. Los grupos “bilis, clip y gasa “indujeron reacción inflamatoria crónica leve y moderada en similares proporciones. Unicamente los grupos “bilis y gasa” desarrollaron reacción inflamatoria severa pero en casos aislados (1 y 2, respectivamente).

Absceso, inflamación granulomatosa y granulomas

En el Cuadro 9 se describen los hallazgos de abscesos, inflamación granulomatosa y presencia de granulomas.

Cuadro 9. Observación de absceso, inflamación granulomatosa (o reacción a cuerpo extraño) y granuloma

Tipo de RI	**Absceso**	**I. Granulomatosa**	**Granuloma**
Grupo/Grado	**Casos**	**Casos**	**Casos**

Bilis	-	-	-
Clip	-	-	-
Gasa	1 / 25	11 / 25	8 / 25
Control	1 / 25	-	-
Total (% del Total)	**2 %**	**11 %**	**8 %**

No hubo significancia estadística**.**