

Comparación entre el uso de membranas placentarias, plasmarico en plaquetas y placebo como complemento en anastomosis de extremo a extremo del intestino delgado

Cristina Nallely Reza Leal,¹ Luis Bernardo Enríquez Sánchez,^{1*}

Luis Carlos Hinojos Gallardo,¹ Javier Camarillo Cisneros,¹

Martin Cisneros Castolo,² Abisag Melina Villa González,¹ Luis Guillermo Gallegos Portillo,¹ Francisca Sierra Santiesteban,¹ Ana Paola Leyva Aizpuru,³

Andrea Guerrero Villarreal,¹ Guadalupe Baltazar Reyes Robledo¹

Resumen

Antecedentes: En la actualidad se han realizado diferentes avances con las anastomosis intestinales, sin embargo, siguen presentando un reto debido a las diferentes complicaciones que se presentan, entre ellas, las fugas, estenosis y hemorragias.

Métodos: En este diseño experimental con animales, se seleccionaron 15 cerdos al azar en tres grupos, asignando cinco cerdos al grupo de PRP, cinco cerdos al tratamiento con membranas placentarias y cinco cerdos al tratamiento con placebo en la anastomosis intestinal.

Resultados: En el grupo control se produjeron adherencias en el 80% (n: 4) de los participantes, en el grupo AM 60% (n: 3) y en el grupo PRP en el 50% (n: 2), sin significación al comparar los tres grupos ($p = 0,627$) o por grupos; AM/PRP ($p = 0,627$), AM/Control ($p = 0,900$), Control/PRP ($p = 0,600$).

Conclusiones: El PRP en las anastomosis intestinales de extremo a extremo del intestino delgado en cerdos promueve el proceso de cicatrización de la herida mostrando mejores resultados clínicos e histopatológicos.

PALABRAS CLAVE

Membranas placentarias, plasma rico en plaquetas, anastomosis de extremo a extremo.

Comparison between the use of placental membranes, platelet-rich plasma and placebo as an adjunct in end-to-end anastomoses of the small intestine

Recibido: 26 de octubre de 2021

Aceptado: 18 de noviembre de 2021

Abstract

Background: Different advances have currently been made with intestinal anastomoses, however, they continue to present a challenge due to the different complications that occur, including leakage, stenosis, and bleeding.

Methods: In this experimental design with animals, 15 randomized pigs were selected in three groups, assigning five pigs to the PRP group, five pigs to treatment with placental membranes, and five pigs to placebo treatment in the intestinal anastomosis.

Results: In the control group, adhesions occurred in 80% (n: 4) of the participants, in the MA group 60% (n: 3) and in the PRP group in 50% (n: 2), without significance when comparing the three groups ($p = 0.627$) or by groups; AM/PRP ($p = 0.627$), AM/Control ($p = 0.900$), Control/PRP ($p = 0.600$).

Conclusions: PRP in end-to-end intestinal anastomoses of the small intestine in pigs promotes the wound healing process by showing better clinical and histopathological results.

KEY WORDS

Placental membranes, platelet-rich plasma, end-to-end anastomoses.

¹Hospital Central del Estado de Chihuahua, México. ²Hospital Infantil de Especialidades de Chihuahua, México. ³Universidad Autónoma de Chihuahua, México.

*Autor para correspondencia: investigationhcu@gmail.com

Introducción

La anastomosis digestiva ha sido un paso importante en la cirugía y, desde el siglo XIX, se determinó que la cicatrización digestiva de primera intención requería el recubrimiento de las paredes de borde a borde de forma hermética y hemostática.¹

Aún con los avances actuales en la anastomosis intestinal, sigue siendo un reto debido a las diferentes complicaciones que se presentan; fugas, estenosis y hemorragias. Presentándose hasta un 13,4% con una sutura manual,² que es la técnica más utilizada en los hospitales de instituciones públicas de nuestro país. Las principales complicaciones de las anastomosis intestinales son las fugas anastomóticas,³ con una incidencia global del 4,8%, sin embargo, ésta puede ser variable según la localización (esófago 13,5%, recto 7%, colon 6%, intestino delgado 5,5%, estómago 1,6%) y una mortalidad a los 30 días por sitio de anastomosis (en esófago 16,7%, recto 0%, colon 2,5%, intestino delgado 15%, estómago 0%).⁴

La llegada del uso terapéutico del plasma rico en plaquetas (PRP), que puede convertirse en geles de plaquetas (PG) y también liberar factores de crecimiento plaquetario (PGF), favorece que su uso pueda mostrar un efecto beneficioso en la cicatrización de heridas, mejorando su estado clínico. Otro tipo de terapia reciente es la que se realiza mediante el uso de células estromales mesenquimales (MSC), disponibles a partir de diversas fuentes, como la médula ósea y la placenta, en las que pueden promover la angiogénesis y la regeneración tisular a través de múltiples actividades biológicas, modular las respuestas inmunitarias patológicas y los procesos inflamatorios, así como la secreción de factores tróficos específicos que estimulan a las células endoteliales residentes o progenitoras para iniciar procesos angiogénicos en el tejido lesionado.⁵ Por lo tanto, el uso de membranas amnióticas en anastomosis intestinales de extremo a extremo podría mejorar el curso clínico.⁶

Los objetivos son comparar la tasa de éxito en las anastomosis de extremo a extremo del intestino delgado con membranas placentarias en la anastomosis, plasma rico en plaquetas y placebo, así como comparar las complicaciones resultantes y comparar el curso clínico de los sujetos en estudio, y también, mediante un análisis macroscópico por reexploración quirúrgica, además de comparar por histopatología las áreas anastomóticas de los sujetos en estudio.

Materiales y métodos

Diseño del estudio

Modelo experimental en animal, donde se seleccionaron 15 cerdos y se determinaron tres grupos equitativos mediante sorteo, con cinco cerdos para el grupo PRP, el segundo grupo con cinco cerdos para el tratamiento con membranas placentarias y el tercero se asignó de la misma manera, con cinco cerdos para el tratamiento con placebo en la anastomosis intestinal.

Tamaño de la muestra

Los parámetros para calcular el tamaño mínimo de la muestra, con un nivel de confianza del 95%, a una significación del 0,05 con una potencia del 80% de la prueba, fueron los siguientes:

- Granulación media ++ / +++ en el grupo AM: 10%
- Granulación media ++ / +++ en el grupo PRP: 75%
- Granulación media ++ / +++ en el grupo Control: 60%
- Razón de cada grupo 1:1:1

Por lo tanto, el tamaño mínimo de la muestra es de ocho sujetos para cada grupo. Prueba estimada en el software StatCalc-Epinfo-CDC.

Criterios de selección

Los animales experimentales que se incluyeron fueron 15 cerdos (lechones) de dos a tres meses (cerdos de sexo indistinto), de la raza Landrace, sujetos sometidos a la técnica de anastomosis intestinal de extremo a extremo. Se excluyeron los cerdos con alguna patología presente en el momento de la selección, también que presentaran alguna reacción a la anestesia. El único criterio de eliminación fue la muerte.

Técnicas y procedimientos

La placenta humana a término se obtuvo en condiciones estériles por vía abdominal, tras la extracción de la placenta. La membrana se cortó en trozos de 1 x 1 cm y se colocó en un recipiente estéril en combinación con glicerina y penicilina/estreptomina. Para su conservación, se congeló hasta dos horas antes de iniciar el procedimiento quirúrgico.

Antes de la intervención quirúrgica, el médico veterinario suministró anestesia intravenosa a base de Xilacina a 1-2mg/kg y/o Tiletamina/Zolacepam a 0,4-0,7mg/kg, según la respuesta de cada sujeto experimental.

Para los tres grupos, después de la asepsia y la antisepsia, se colocaron los campos quirúrgicos, iniciando el procedimiento mediante una incisión baja en la línea media, se retrajeron las asas intestinales de la cavidad peritoneal y se exteriorizaron hacia una superficie húmeda y después se cubrieron con compresas impregnadas de suero salino caliente. La pared intestinal se cortó 50-60 cm después del ángulo de Treitz, preservando los vasos pulsátiles para nutrir el intestino adyacente al punto de resección. El intestino se dividió a ambos lados de la lesión y se cubrió con compresas calientes y húmedas.

A continuación, se observó la coloración del intestino para comprobar el adecuado suministro de sangre al intestino adyacente a la pinza, y se evaluó si había suficiente serosa expuesta en el borde mesentérico para la aplicación de la sutura. Cuando el intestino estaba cianótico o sin pulsaciones en los vasos mesentéricos, se resecaba hasta conseguir una circulación adecuada. Una vez preparados los extremos intestinales para la anastomosis, se movilizaban distal y proximalmente para evitar la tensión en la línea de sutura de la anastomosis, girando las pinzas para presentar la enterostomía a lo largo del intestino a 5-8 cm de las pinzas. Evitar la fuga del contenido intestinal después de retirar las pinzas. Se aplicaron puntos de colchón en la serosa con suturas atraumáticas de polipropileno de 3-0 de doble brazo en los bordes mesentérico y antimesentérico, diseccionando el borde mesentérico lo suficiente para que las suturas incluyeran sólo la serosa y no la grasa mesentérica. Se colocó un plano de puntos Halsted separados con sutura de polipropileno 3-0 en la serosa. A continuación se cerró la mucosa posterior con una sutura de ojal continua. Al cerrar el ángulo antimesentérico y la mucosa anterior se cambió a una sutura de inversión de Connell, cerrando la capa serosa anterior con puntos separados, que se aplicaron sin lesionar los vasos. Luego se comprobó la permeabilidad de la anastomosis con la invaginación del intestino con el dedo índice contra el pulgar.

Se tomó plasma rico en plaquetas (concentrado de plaquetas) en el grupo con tratamiento PRP a razón de 1 cc por 4 cm² de superficie de anastomosis, mezclando con trombina bovina 28 U/ml y gluconato de calcio 2.8 mg/ml (calcio real). Después de la mezcla, se esperaron las plaquetas durante 5 minutos, disolviendo el coágulo formado con un instrumento romo, y la mezcla resultante se tomó con una jeringa de 5 cc y aguja n° 23, infiltrando los bordes de

la anastomosis, finalmente, se realizó el cierre abdominal.

En el grupo de tratamiento con membrana placentaria, la preparación de la membrana amniótica se realizó un día antes del procedimiento, se obtuvo por vía abdominal, manteniendo el tejido en condiciones estériles, el amnios se separó del corion por disección roma, se empapó y enjuagó con solución salina para eliminar la sangre y los restos contaminantes durante 2 horas, luego se puso en penicilina/estreptomicina y se cortó en segmentos, posteriormente se protegió en vasos estériles con glicerol y dos horas antes de su uso, se enjuagó con solución salina para eliminar el glicerol. En el procedimiento, se colocó la membrana amniótica en la línea de anastomosis, con una sutura de polipropileno 3-0 y 4-0, tras lo cual se procederá al cierre por planos en la zona abdominal. En el grupo de control, la intervención finalizó con el cierre por planos abdominales tras comprobar la permeabilidad de la anastomosis.

Después de la intervención, se evaluaron diariamente la frecuencia cardíaca, la frecuencia respiratoria y el diámetro abdominal, anotando los resultados en un registro. La alimentación enteral se reinició 72 horas después de la cirugía, con alimento balanceado para cerdos, SABAMEX®, libre de aditivos, drogas, hormonas, antibióticos, pesticidas y contaminantes, dentro de su período de caducidad. Se evaluó la presencia de vómitos, evacuaciones diarreicas y patrón de defecación, registrando los hallazgos en el registro diario. Al duodécimo día después de la cirugía, se tomó una biopsia del intestino, obteniendo muestras de la zona de anastomosis de los 15 participantes y se envió al departamento de patología para su análisis.

Plan de análisis estadístico

Los datos se capturaron en una base de datos de Excel, utilizando medias y desviaciones estándar para las variables medidas en la escala de razón, y frecuencia y proporción para las variables medidas en la escala nominal u ordinal.

Para las comparaciones de las variables cuantitativas intragrupo, se utilizó la prueba t de Student, y para las variables cualitativas, la prueba exacta de Fisher o la prueba Chi cuadrada. Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante un ANOVA. Todos los análisis se realizaron con el programa SPSS 11.0 para Windows y se tomaron como resultados estadísticamente significativos los valores p inferiores a 0,05.

Figura A.1



A) Anastomosis terminal-terminal del intestino delgado del grupo de control, B) Anastomosis terminal-terminal del intestino delgado con el uso de PRP, C) Anastomosis terminal-terminal del intestino delgado con el uso de AM.

Fuente: Imágenes tomadas por los autores.

Tabla A.1

Tabla comparativa de los resultados clínicos de los tres grupos experimentales

	Control (SD)	Membrana amniótica placentaria(SD)	Plasma rico en plaquetas (SD)	Total (SD)	p
N	5	5	4	14	
Sexo	3 F 2 M	1 F 4 M	1 F 3 M	5 F 9 M	
Peso	9.8 Kg (3.3)	4.95 Kg (0.57)	8.8 Kg (1.7)	8.8 Kg (3.33)	
Tiempo de cirugía	30 min (7.9)	32 min (12.4)	28 min (2.77)	30.2 min (7.7)	0.823
Diámetro abdominal 30 min antes de la cirugía	48.8 cm (6.35)	54.2 cm (2.21)	40.2 cm (3.63)		0.003
1 ^{er} día	48.2 cm (6.30)	50.6 cm (1.70)	39.7 cm (2.30)		
3 ^{er} día	47.6 cm (8.05)	48.4 cm (0.95)	37.7 cm (2.30)		
5 ^o día	48.8 cm (7.59)	52.2 cm (1.37)	41.37 cm (4.76)		
10 ^{mo} día	49.6 cm (7.05)	52.6 cm (1.15)	43 cm (4.45)		
Ritmo cardíaco 30 min antes de la cirugía	102 bpm (24.54)	98 bpm (14.78)	100 bpm (19.31)		0.81
1 ^{er} día	107 bpm (18.58)	111 bpm (8.24)	116 bpm (14.42)		
3 ^{er} día	108 bpm (15.95)	116 bpm (5.65)	112 bpm (23.9)		
5 ^o día	117 bpm (16.14)	119 bpm (11.94)	120 bpm (13.26)		
10 ^{mo} día	120 bpm (9.38)	118 bpm (8.32)	115.2 bpm (20.08)		
Frecuencia respiratoria 30 min antes de la cirugía	40 bpm (10.8)	41 bpm (10.32)	46 bpm (13.74)		0.7
1 ^{er} día	42 bpm (7.42)	41 bpm (5.03)	34 bpm (10.80)		
3 ^{er} día	35 bpm (5.93)	56 bpm (8)	34 bpm (5.93)		
5 ^o día	42 bpm (7.26)	58 bpm (10.58)	36 bpm (6.57)		
10 ^{mo} día	47 bpm (5.93)	57 bpm (6)	40 bpm (9.33)		
Tolerancia oral 72 hrs postcirugía	100%	80%	100%		
Complicaciones Adhesiones	40%	60%	50%		0.627

Fuente: Elaboración propia.

Figura A.2

Imagen macroscópica en el día 12 del postoperatorio en la biopsia



A) Grupo de control, B) Grupo PRP, C) Grupo MA.

Fuente: Imágenes tomadas por los autores.

Resultados

Se formó una muestra de 15 cerdos, según los criterios de inclusión, con una edad aproximada entre 2-3 meses, y se dividió en tres grupos: control, membrana amniótica placentaria y plasma rico en plaquetas (figura A.1). Se excluyó un cerdo del grupo de plasma rico en plaquetas debido a los efectos secundarios de los anestésicos utilizados. Se recogió una muestra

total de 14 cerdos, quedando un número final de 5 hembras (35,7%) y 9 machos (64,3%), el peso medio fue de 8,8 kg con un máximo de 14,5 y un mínimo de 4,2 kg con una desviación estándar de 3,33 (tabla A.1). El tiempo medio de la cirugía general fue de 30,2 minutos (rango de 19 a 49 minutos), con una desviación estándar de 7,7.

Las variables de medición del diámetro abdominal (d_A), la frecuencia cardíaca (f_C) y la frecuencia respiratoria (f_R) se tomó 30 minutos antes de la cirugía, en el primer, tercer, quinto y décimo día después de la cirugía. Las variables se midieron antes de la ingesta de alimentos, entre las 18:00 y las 20:00 horas.

También se analizó la tolerancia oral a las 72 horas del postoperatorio, la presencia de vómitos, la defecación tras el inicio de la vía oral o la presencia de evacuaciones diarreas.

En el día 12, se tomó una biopsia y se evaluaron las complicaciones de la anastomosis intestinal, como la fuga anastomótica, la estenosis u oclusión, las adherencias y los abscesos (figura A.2). En el grupo control, las adherencias se presentaron en el 80% (n: 4) de los participantes, en el grupo AM el 60% (n: 3) y en el grupo PRP el 50% (n: 2), sin significación al comparar los tres grupos ($p = 0,627$) o por grupos; AM/PRP ($p = 0,627$), AM/Control ($p = 0,900$), Control/PRP ($p = 0,600$). La oclusión sólo apareció en el grupo AM en un 20% (n: 1), en los grupos control y PRP no hubo ningún participante que la presentara. Las demás complicaciones como la fuga anastomótica y los abscesos no se presentaron en ningún grupo.

Resultados histopatológicos

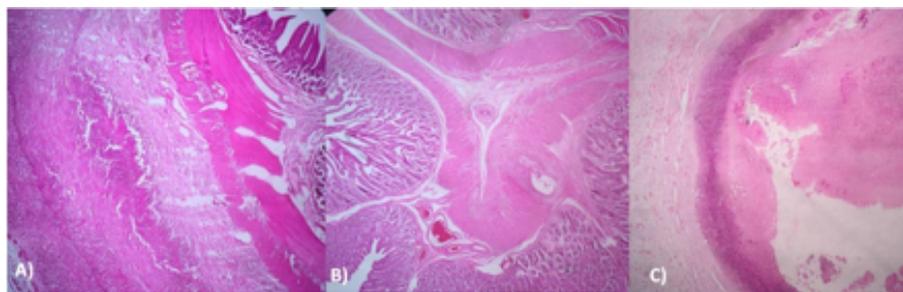
Se evaluaron cinco parámetros: 1) reacción inflamatoria aguda (neutrófilos), 2) formación de abscesos o necrosis, 3) presencia de linfocitos, 4) histiocitos o reacción granulomatosa/cuerpo extraño y 5) formación de tejido de granulación (figura B.1).

En cuanto a la reacción inflamatoria aguda (neutrófilos), en el grupo AM, los participantes presentaron una reacción inflamatoria aguda moderada (++, 40%) y grave (+++, 60%); en el grupo PRP, el 75% presentó una reacción inflamatoria aguda leve (+), el 25% moderada (++); en el grupo de control, el 40% presentó una reacción inflamatoria

aguda leve (+), el 20% moderada (++) y el 40% grave (+++) ($p = 0,185$). En cuanto a la formación de abscesos o la presencia de necrosis, el grupo AM presentó un 20% leve (+) y un 60% grave (+++) en la formación de abscesos o la presencia de necrosis; en el grupo PRP sólo un 25% presentó formación de abscesos moderada (++) o presencia de necrosis; en el grupo control un 20% mostró formación de abscesos moderada (++) o presencia de necrosis ($p = 0,115$). En el tercer parámetro, se buscó la presencia de linfocitos; del grupo AM, el 100% de los

Figura B.1

Corte histológico (10x); H-E



Grupo de control; pared intestinal con infiltración inflamatoria y reacción crónica en la subserosa. B) Grupo PRP; Pared intestinal con infiltración crónica de cuerpo extraño, sin presencia de necrosis. C) Grupo MA; Pared intestinal con necrosis de tipo isquémico que afecta a todo el espesor de la pared.

Fuente: Imágenes tomadas por los autores.

sujetos reportó presencia moderada (++) de linfocitos; el grupo PRP el 75% tuvo presencia moderada (++) y severa (+++) en el 25% la presencia de linfocitos; en el grupo control, el 60% se evidenció con presencia leve (+) y el 40% con presencia moderada (++) de linfocitos (p: 0,057). En el reporte de histiocitos o reacción granulomatosa/cuerpo extraño, el grupo AM sólo el 20% mostró reacción granulomatosa moderada (++); en el grupo PRP el 100% presentó una reacción moderada (++); y en el grupo control, el 20% reportó presencia leve (+), el 60% moderada (++) y el 20% restante fue negativo (p: 0.57). En la formación de tejido de granulación, en el grupo AM, sólo el 20% presentó tejido de granulación leve (+), el resto de los sujetos de este grupo no presentaron tejido de granulación, sin embargo, en el grupo PRP presentaron tejido de granulación leve (+) en el 25% y el 75% mostró un aumento marcado (+++) del tejido de granulación, en el grupo control reportaron tejido de granulación moderado (++) en el 40 y 60% restante lo presentó con aumento marcado (+++) (p: 0,002) (tabla B.1).

Asimismo, se realizó un estudio comparativo entre dos grupos con las variables histopatológicas. En la reacción inflamatoria aguda/neutrófilos se encontró estadísticamente significativa en los grupos AM vs PRP; en la formación de abscesos y necrosis, ningún grupo comparativo mostró significación; en la presencia de linfocitos, los grupos Control vs AM presentaron diferencias estadísticamente significativas; en los histiocitos, la reacción granulomatosa/tipo cuerpo extraño sólo se evidenció en los grupos PRP vs AM y en el tejido de granulación todos los grupos comparados mostraron resultados significativos (tabla B.2).

Discusión

Las anastomosis intestinales son una práctica habitual para los cirujanos generales, sin embargo, suelen producirse complicaciones que generan una importante morbilidad, una mayor estancia hospitalaria y un aumento de los costes. En nuestro estudio, se buscan nuevas alternativas para reducir las complicaciones en este tipo de cirugía, buscando una mejora en la cicatrización de la anastomosis intestinal. Las alternativas utilizadas como PRP y AM aplicadas en la anastomosis intestinal son técnicas innovadoras que tuvieron resultados prometedores en estudios con roedores,⁷⁻⁹ sin embargo, decidimos aplicar el estudio en cerdos, diseñado para facilitar el manejo y la interpretación clínica, ya que no existía tecnología para la monitorización continua.

Los biomateriales como el AM y el PRP son fáciles de obtener, y también se han utilizado en diferentes tejidos como material para la regeneración de tejidos.¹⁰ En nuestro estudio, la AM se obtuvo por vía abdominal (cesárea), seleccionando una paciente sin antecedentes ginecológicos ni patológicos significativos, para evitar variables que pudieran afectar los resultados. La evolución clínica de los sujetos fue evaluada hasta los 10 días del postoperatorio, basándonos en la literatura previa,^{7-9,11} que apoya las nuevas alternativas como el PRP y el AM, se pensó que estos grupos tendrían una mejor evolución clínica en comparación con el grupo control. Sin embargo, el grupo AM fue el que presentó la mayor evolución tórpida, representada por intolerancia a la vía oral, vómitos, mayor variabilidad en la distensión abdominal en comparación con los grupos PRP y control.

Otras variables que quisimos aplicar en el estudio fueron la toma de signos (frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria) y el diámetro abdominal, aunque no encontramos ningún estudio que comparara estos parámetros, esperábamos encontrar diferencias, sobre todo en el diámetro abdominal, que al comparar los tres grupos para la EA, se encontraron resultados significativos en los días postquirúrgicos (p = 0.003), el día 1 (p = 0,007), el día 3 (p = 0,018), el día 5 (p = 0,038) y el día 10 (p = 0,047), al comparar entre los grupos entre PRP vs AM, también se encontraron todos los días con diferencias significativas, en los

Tabla B.1

Análisis multivariante de los resultados histopatológicos con H&E en los sujetos sometidos al estudio del uso de membranas placentarias, plasma rico en plaquetas y placebo como adyuvantes en anastomosis de extremo a extremo del intestino delgado

	Grupo	-	+	++	+++	*p
Reacción inflamatoria aguda	Control	0%	40%	20%	40%	0.185
	PRP	0%	75%	25%	0%	
	Membrana amniótica	0%	0%	40%	60%	
Formación de abscesos /necrosis	Control	80%	0%	20%	0%	0.115
	PRP	75%	0%	25%	0%	
	Membrana amniótica	20%	20%	0%	60%	
Presencia de linfocitos	Control	0%	60%	40%	0%	0.057
	PRP	0%	0%	75%	25%	
	Membrana amniótica	0%	100%	0%	0%	
Histiocitos, reacción granulomatosa/Tipo de cuerpo extraño	Control	20%	20%	60%	0%	0.066
	PRP	0%	0%	100%	0%	
	Membrana amniótica	80%	0%	20%	0%	
Tejido de granulación	Control	0%	40%	60%	0%	0.002
	PRP	0%	25%	0%	75%	
	Membrana amniótica	80%	0%	20%	0%	

*p: Prueba de Chi-Cuadrado de Pearson

Fuente: Elaboración propia.

Tabla B.2

Análisis bivariado de los resultados histopatológicos en los sujetos sometidos al estudio que muestran significación estadística

	Grupo	*P
Reacción inflamatoria aguda	Control	0.347
	PRP	
	Control	0.282
	Membrana amniótica	
Formación de abscesos/necrosis	Control	0.858
	PRP	
	Control	0.079
	Membrana amniótica	
Presencia de linfocitos	Control	0.126
	PRP	
	Control	0.038
	Membrana amniótica	
Histiocitos, reacción granulomatosa/Tipo de cuerpo extraño	Control	0.358
	PRP	
	Control	0.150
	Membrana amniótica	
Tejido de granulación	Control	0.043
	PRP	
	Control	0.026
	Membrana amniótica	
	PRP	0.031
	Membrana amniótica	

*p: Prueba Ch-Square de Pearson

Fuente: Elaboración propia.

grupos AM vs control, no hubo significación estadística y los grupos PRP vs Control sólo en los días prequirúrgicos, días 1 y 3 presentaron diferencia significativa (tabla A.1). Aunque los resultados en la EA presentaron mayor significación estadística para el grupo AM, podría haberse atribuido a la diferencia de pesos con el grupo PRP, sin embargo, se observaron cambios más pronunciados clínicamente en el grupo AM en comparación con los grupos control, y PRP que los cambios fueron menos marcados a lo largo de los días. Las medidas en la FC no mostraron diferencias estadísticas al comparar los tres grupos, ni tampoco en el análisis por grupos, mientras que en la RF sólo mostraron diferencias en los días 3, 5 y 10 postoperatorios en la comparación de los tres grupos y en el grupo PRP vs control. A pesar de estos resultados, no podemos concretar un beneficio para ningún grupo de estudio, en estas dos últimas mediciones, ya que no dejan de ser parámetros subjetivos, además de no poder comparar con otra literatura por la falta de información sobre estas variables.

La toma de la biopsia se realizó el duodécimo día postoperatorio, por ser la tercera fase (proliferativa) de la cicatrización,¹² lo que permitiría una mejor caracterización de las variables. Se esperaba que las técnicas de MA y PRP, comparadas con el grupo control, redujeran el tiempo de la segunda fase de cicatrización aguda (inflamatoria), consiguiendo una fase de remodelación en un periodo de tiempo más corto. En el grupo PRP se observó menor presencia de linfocitos y neutrófilos, presentes en las fases agudas, y mayor evidencia de tejido de granulación, representativo de la fase de remodelación (fase 4 de la cicatrización), resultados que concuerdan con lo reportado por Zhou et al¹¹ al realizar anastomosis intestinales con PRP, en roedores. En el grupo de AM se observaron evidencias significativas de linfocitos y neutrófilos, además de necrosis, lo que representa un retraso en el proceso de cicatrización, resultados que difieren de lo reportado por Süleyman et al⁷, al realizar anastomosis intestinales con AM, en roedores, reportando áreas mínimas de necrosis y menor infiltración de PMN, con mayor evidencia de tejido de granulación. En el grupo de control, era evidente la presencia de linfocitos y neutrófilos, así como de tejido de granulación, lo que refleja una evolución coherente con el proceso de cicatrización esperado.

Durante la biopsia también se evaluaron las complicaciones postoperatorias, las fugas anastomóticas son una de las principales complicaciones presentadas por el cirujano, aunque no aparecieron en nuestro estudio, con los resultados de la histopatología se podría pensar que muy probablemente se hubieran producido días o semanas después en el grupo AM debido al importante aumento de células inflamatorias agudas y a la necrosis que presentaban, los abscesos macroscópicos tampoco se observaron en ningún grupo, la oclusión sólo fue reportada por un sujeto del grupo AM que presentó una evolución clínica muy tórpida y finalmente las adherencias fueron clínicamente más severas y con un mayor número de sujetos en comparación con los grupos control y PRP. En nuestra experiencia de estudio, las adherencias fueron ligeramente menores en el grupo PRP que en el grupo control, a pesar de que los resultados clínicos no mostraron resultados significativos.

La falta de respuesta al tratamiento en el grupo de AM en comparación con el grupo control y el PRP en nuestro estudio, puede deberse a un fallo en la preparación del AM, a pesar de tener un cuidado exhaustivo con el mismo, o debido a factores intrínsecos del cerdo. Sin embargo, no fue posible conocer la causa precisa de los resultados obtenidos.

Nuestra principal limitación para el estudio fue el tamaño de la muestra, ya que al diseñar el estudio, el tamaño mínimo de la muestra por grupo era de 5, pero al recalcular con los resultados finales, se obtuvo un tamaño mínimo de muestra de 8 por grupo, para obtener resultados estadísticamente significativos. Otra limitación se encontró en el grupo PRP, ya que, aunque se obtuvieron resultados favorables, no fue posible hacer una comparación significativa de las variables con el grupo AM y control, debido a un tamaño de muestra menor (n: 4) que el de los grupos comparativos (n: 5). Como proyección, se hizo un análisis hipotético con 28 pacientes, y se encontró que todos los parámetros eran estadísticamente significativos, lo que demuestra la importancia de con-

tar con una población mayor para lograr una significación clínica y estadística significativa. Otra limitación fue la financiación del proyecto y el plazo de entrega de los resultados. Aun con estas limitaciones, esperamos que otros investigadores se interesen por el tema y continúen con la línea de investigación trazada, ya que es necesario contrastar los resultados con una muestra de mayor tamaño. Nuestro estudio pretende servir de indicación para futuras investigaciones, ya que parte de los resultados podrían beneficiar el uso de estas técnicas en modelos humanos.

Conclusiones

El uso de PRP en anastomosis intestinales de extremo a extremo del intestino delgado en cerdos promueve el proceso de cicatrización de la herida mostrando mejores resultados clínicos e histopatológicos, reduciendo las células de inflamación aguda, logrando pasar a las últimas etapas de cicatrización a través de factores de crecimiento en comparación con el uso de AM o tratamiento convencional. Nuestros resultados apoyan la idea de aplicar PRP para reducir las complicaciones postoperatorias en este tipo de pacientes, y este tipo de alternativa debe ser apoyada en estudios con un mayor número de muestras. Por el contrario, los resultados con AM a pesar de no ser muy prometedores, es necesario buscar otra forma en su uso y preparación para que los resultados sean más favorables.

Teniendo en cuenta los efectos positivos sobre el PRP, es interesante que no existan publicaciones que lo comparen con otro alterador como en nuestro caso, el AM, siendo el primer artículo que evaluó su efecto sobre las anastomosis intestinales de extremo a extremo del intestino delgado.

Consideraciones éticas:

El protocolo de investigación fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación del xxxx. Los animales de experimentación (cerdos de sexo indistinto) fueron utilizados para el desarrollo tecnológico e innovación del perfil de seguridad de las anastomosis intestinales, fueron alojados en el bioterio de las instalaciones, en un espacio adecuado para su estancia, además de las condiciones sanitarias y de higiene obligatorias de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

El bioterio está ubicado independientemente de las instalaciones de ocupación humana, cuenta con un control de ruidos indeseables (ya que podrían alterar el comportamiento y los hábitos de los animales), así como las instalaciones necesarias para permitir los movimientos y adopciones de las posturas normales propias de la especie, y los recursos necesarios para satisfacer las necesidades fisiológicas (alimentación, defecación, micción por nombrar algunas) y conductuales de los animales. También dispone de ventilación e iluminación adecuadas, con suelos de superficie lisa, impermeable y de resistencia satisfactoria, lo que permite su durabilidad, facilidad de limpieza y desinfección.

Existe un área de cirugía destinada y equipada para el desarrollo del procedimiento experimental, un área de recuperación equipada de acuerdo a las necesidades de atención de los sujetos sometidos a procedimientos invasivos, y un área de almacenamiento de equipos.

El veterinario certificado está disponible las 24 horas del día y será quien proporcione la anestesia intravenosa antes de la cirugía.

Antes de la intervención quirúrgica, los cerdos fueron sometidos a un periodo de ayuno de 8 horas para permitir el vaciado gástrico, con el fin de evitar la regurgitación o aspiración del contenido gástrico. La anestesia intravenosa consistió en un sedante, un relajante muscular y un analgésico no narcótico, y fue suministrada por un veterinario certificado. Durante la intervención se eva-

luó el patrón respiratorio, la tinción de la mucosa, el tiempo de relleno capilar, la temperatura corporal, los ojos y los reflejos.

Tras la intervención, los animales se mantuvieron resguardados durante 12 días en las instalaciones del bioterio, controlando su evolución clínica mediante un registro diario. Reiniciando la alimentación dos veces al día, después de 72 horas de la intervención quirúrgica, con suministro de líquidos a libre demanda.

Los riesgos de la intervención consistieron en broncoaspiración, infección, hemorragia y reacciones alérgicas, descartando que un sujeto de estudio presentara una reacción anafiláctica durante la anestesia. Se dispuso de todas las medidas de seguridad para prevenir o intervenir en caso de complicaciones, con personal formado en el manejo de productos de desecho, higiene personal y medicina preventiva en su área de trabajo. El animal fue manejado con cuidado pero con firmeza en base a los procedimientos médicos y de tratamiento de animales, garantizando la seguridad del personal que lo manipuló, evitando en todo momento la pelea y el estrés.

Tras la toma de la biopsia, los cerdos fueron trasladados a una granja para eliminar o reducir el estrés postquirúrgico.

Conflictos de interés:

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses que pueda afectar al diseño, la realización, el análisis y la comunicación de los resultados de este estudio y, asimismo, se declara que todos han contribuido equitativamente en su elaboración.

Financiación:

Esta investigación no ha recibido ninguna subvención específica de organismos de financiación de los sectores público, comercial o sin ánimo de lucro.

Referencias

1. Valverde A. Anastomosis digestivas: principios y técnica (cirugía abierta y laparoscópica). EMC-Técnicas Quirúrgicas-Aparato Digestivo. 2015;31(3):1-20. doi:10.1016/S1282-9129(15)72442-6.
2. Ho YH, Ashour MAT. Techniques for colorectal anastomosis. WJG. 2010; 16 (13): 1610. doi: 10.3748/wjg.v16.i13.1610.
3. Chadi SA, Fingerhut A, Berho M, DeMeester SR, Fleshman JW, Hyman NH, et al. Emerging Trends in the Etiology, Prevention, and Treatment of Gastrointestinal Anastomotic Leakage. J Gastrointest Surg. 2016;20(12):2035-2051. doi:10.1007/s11605-016-3255-3.
4. Turrentine FE, Denlinger CE, Simpson VB, Garwood RA, Guerlain S, Agrawal A, et al. Morbidity, Mortality, Cost, and Survival Estimates of Gastrointestinal Anastomotic Leaks. Journal of the American College of Surgeons. 2015;220(2):195-206. doi:10.1016/j.jamcollsurg.2014.11.002.
5. Francki A, Labazzo K, He S, Baum EZ, Abbot SE, Herzberg U, et al. Angiogenic properties of human placenta-derived adherent cells and efficacy in hindlimb ischemia. Journal of Vascular Surgery. 2016;64(3):746-756.e1. doi:10.1016/j.jvs.2015.04.387.
6. Senthil-Kumar P, Ni T, Randolph MA, Velmahos GC, Kochevar IE, Redmond RW. A light-activated amnion wrap strengthens colonic anastomosis and reduces peri-anastomotic adhesions: A Light-activated seal enhances colon anastomosis. Lasers Surg Med. 2016;48(5):530-537. doi:10.1002/lsm.22507.

7. Orman S, Yol S, Uzun H, Ceyran AB, Eyüboğlu F. Effect of Acellular Amniotic Membrane Matrix Patch on Healing of Cut Surface After Sleeve Gastrectomy in Rats. *Journal of Investigative Surgery*. 2020; 33(1): 97-105. doi:10.1080/08941939.2018.1473902.
8. Yol S, Tekin A, Yılmaz H, Küçükkartallar T, Esen H, Caglayan O, et al. Effects of Platelet Rich Plasma on Colonic Anastomosis. *Journal of Surgical Research*. 2008; 146(2): 190-194. doi: 10.1016/j.jss.2007.05.015.
9. Sozutek A, Colak T, Cetinkunar S, Reyhan E, Irkorucu O, Polat G et al. The Effect of Platelet-Rich-Plasma on the Healing of Left Colonic Anastomosis in a Rat Model of Intra-Abdominal Sepsis. *Journal of Investigative Surgery*. 2016; 29(5): 294-301. doi: 10.3109/08941939.2015.1111473.
10. Stähli A, Strauss FJ, Gruber R. The use of platelet-rich plasma to enhance the outcomes of implant therapy: A systematic review. *Clin Oral Impl Res*. 2018; 29:20-36. doi: 10.1111/clr.13296.
11. Zhou B, Ren J, Ding C, Wu Y, Chen J, Wang G, et al. Protection of colonic anastomosis with platelet-rich plasma gel in the open abdomen. *Injury*. 2014; 45(5): 864-868. doi: 10.1016/j.injury.2014.01.018.
12. Lundy J. A Primer on Wound Healing in Colorectal Surgery in the Age of Bioprosthetic Materials. *Clinics in Colon and Rectal Surgery*. 2014; 27(04): 125-133. doi: 10.1055/s-0034-1394086.