



Evaluación de inhibidores de ciclooxigenasa 2 en la prevención de adherencias postoperatorias en un modelo animal. Estudio preliminar

Rafael Gutiérrez-Vega,*

Francisco Rafael Higuera-Hidalgo,** Octavio Amancio-Chasin***

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la utilidad de parecoxib y meloxicam, dos inhibidores selectivos de la enzima COX-2, para inhibir la formación de adherencias abdominales postoperatorias en rata. **Material y métodos:** En modelo animal se produjo sepsis peritoneal, por ligadura y punción del ciego; en el postoperatorio se dividieron aleatoriamente en tres grupos: I control, II meloxicam, III parecoxib. El tratamiento se administró durante diez días, y se identificó el número de adherencias por grupo. Para su análisis estadístico se empleó prueba paramétrica de ANOVA. **Resultados:** Se observó menor número de adherencias en los grupos tratados con meloxicam y parecoxib, lo que fue más evidente en el grupo de parecoxib. El total de adherencias por grupo fue: control, 53; meloxicam 38 y parecoxib 31. El análisis estadístico no identificó diferencias estadísticas entre los grupos. **Conclusiones:** La administración de inhibidores de ciclooxigenasa 2 debe evaluarse con una muestra significativa, como una posible alternativa para disminuir el número de adherencias abdominales postoperatorias en rata, así como estudiar su efecto sobre la cicatrización en anastomosis gastrointestinales.

Palabras clave: Adherencias intraperitoneales, parecoxib, meloxicam, cicatrización, ciclooxigenasa, angiogénesis.

ABSTRACT

Purpose: Evaluate the utility of parecoxib and meloxicam, two selective COX 2 inhibitors, to prevent the formation of postsurgical adhesions in rats. **Method:** In animal model of peritoneal sepsis, by tie and puncture of cecum; in the postoperative they were randomly assigned in 3 groups: I control, II meloxicam, III parecoxib. The treatment was administered during ten days. The number of adhesions by group was identified. Results were studied with parametric ANOVA test. **Results:** There were fewer adhesions in groups treated with meloxicam and parecoxib, which was more evident in group treated with parecoxib. The total of adhesions by group was: control, 53 adhesions; meloxicam 38 adhesions and parecoxib 31 adhesions. The statistical analysis did not identify statistical differences between the groups. **Conclusions:** The administration of inhibitors of cyclooxygenase 2 should be evaluated with a significant sample to validate its possible therapeutic utility; as well as to study its effect on the gastrointestinal healing.

Key words: Intraperitoneal adhesions, meloxicam, parecoxib, cyclooxygenase, angiogenesis.

INTRODUCCIÓN

Las adherencias en la cavidad peritoneal se desarrollan después de presentarse lesión peritoneal; puede

ser ocasionada por manipulación quirúrgica, materiales extraños como las suturas o talco, isquemia, deshidratación y lesiones térmicas. Las adherencias pueden provocar complicaciones, que incluyen: obstrucción intestinal, infertilidad y dolor crónico. En los países occidentales se consideran la principal causa de obstrucción intestinal, ya que provocan el 40% de todos los cuadros obstructivos a nivel intestinal y del 60 al 70% de las obstrucciones de intestino delgado.

* Comisión Nacional de Arbitraje Médico.

** Servicio de Cirugía General. Hospital General de México (HGM).

*** Centro Institucional de Farmacovigilancia, HGM.

Su presencia resulta relevante porque condiciona la necesidad de reintervenciones quirúrgicas para resolver sus complicaciones. En Suiza son responsables del 3.5% de todas las laparotomías que se realizan, y causan al menos el 20% de los casos de infertilidad.¹ Se han realizado diversos abordajes para prevenir su formación, entre los cuales se incluyen: barreras antiadherenciales, entre las que se encuentran membranas de ácido hialurónico, carboximetilcelulosa, icodextrina; hormonas agonistas liberadoras de gonadotrofina; agentes fibrinolíticos; heparina; factor de crecimiento beta y antiinflamatorios no esteroideos.²⁻¹² Sin embargo, ninguna de estas propuestas ha demostrado un efecto que permita evitar en todos los casos la formación de adherencias; y muchas de estas opciones se encuentran en etapa experimental, o resultan inaccesibles para nuestro medio. Es por ello que proponemos evaluar opciones viables para nuestro medio, de bajo costo, y que ofrezcan resultados satisfactorios. Por lo anterior, se decidió evaluar la eficacia de meloxicam y parecoxib para disminuir la formación de adherencias abdominales postoperatorias en ratas. Diseñamos un estudio experimental, prospectivo, longitudinal y comparativo. Se estableció la hipótesis de que debido a que estos fármacos tienen un efecto antiangiogénico, consecuentemente prevendrán la formación de adherencias, ya que su formación es dependiente de angiogénesis; y se ha reportado la presencia de la enzima ciclooxigenasa en su isoforma 2 (COX 2) en fibroblastos de adherencias.^{12,13}

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas Wistar, con peso de 250 a 450 gramos. Todos los animales se mantuvieron en el bioterio, colocándolos en jaulas individuales de polycarbonato, con ciclos de luz-vigilia de 12 horas cada uno; proporcionándoles alimento para roedor y agua *ad libitum*. Fueron intervenidas quirúrgicamente bajo anestesia general a base de ketamina 100 mg/kg y xylacina 13 mg/kg, aplicados intramuscularmente. Mediante técnica aséptica, se realizó laparotomía, a través de incisión media longitudinal; se procedió a ligadura del ciego por arriba de la válvula ileocecal, con seda 4-0. La superficie antimesentérica del ciego se puncionó con aguja de insulina número 29, en seis sitios diferentes. Durante el procedimiento quirúrgico se irrigó la cavidad peritoneal con solución fisiológica isotónica, en volumen de 15 mL/kg de peso/hora. Se procedió a cerrar la cavidad peritoneal en dos planos de sutura de la pared abdominal; plano músculo apo-

neurótico y piel, con surgete simple y polipropileno 4-0. Al finalizar el procedimiento quirúrgico, se colocaron las ratas en jaulas individuales; se reinició alimentación a las 12 horas del postoperatorio. Los inhibidores selectivos de COX-2 se administraron a partir de las 24 horas de postoperatorio, por vía intramuscular, durante los 10 días siguientes de acuerdo al grupo asignado. Se formaron tres grupos, a los cuales se les asignó de manera aleatoria, cada grupo constituido por 10 animales de investigación: Grupo I, grupo control, no recibió ningún fármaco, sólo se aplicó hidratación transoperatoria en la cavidad peritoneal con solución salina fisiológica. Grupo II, se le administró meloxicam en dosis de 0.20 mg/kg. Grupo III, se le administró parecoxib en dosis de 0.60 mg/kg. Los animales de investigación se mantuvieron bajo observación durante 10 días o hasta su fallecimiento. El sacrificio de los animales se realizó mediante sobredosis de los anestésicos empleados. Al término del periodo de observación se realizó laparotomía para observar la presencia y número de adherencias. En los criterios de eliminación se excluyeron a los animales que fallecieron en las primeras 24 horas de postoperatorio. Se realizó prueba paramétrica de ANOVA para comparar estadísticamente si existía diferencia entre los tres grupos; un valor menor de 0.05 se consideró significativo.

RESULTADOS

Fallecieron un total de cinco ratas en las primeras 24 horas, las cuales fueron eliminadas del estudio; dos en el grupo I, dos en el grupo II y una en el grupo III. Se obtuvo una media del peso preoperatorio de 367.20, 373.30 y 349.90 g en los grupos I, II y III, respectivamente; mientras que en el postoperatorio el peso promedio fue 378.70, 379.40 y 371.70 g, respectivamente. Las diferencias en el peso no fueron estadísticamente significativas, ya que al comparar el grupo I con el II se obtuvo una $p = 0.680$; y al contrastar el grupo I frente al III se obtuvo un valor de $p = 0.950$.

En relación al número de adherencias, el 100% de los animales de investigación presentaron al menos una adherencia. En los grupos que fueron manipulados farmacológicamente se observó una disminución en el número de adherencias; particularmente en el grupo III, se observaron tres animales con una sola adherencia. El total de adherencias por grupo fue: 53, 38 y 31 adherencias en los grupos I, II y III, respectivamente. La media de adherencias por grupo fue: cinco en el grupo I, cuatro en el II y tres en el III. Res-

pecto al número de adherencias no hubo diferencia estadísticamente significativa (grupo I *versus* grupo II, $p = 0.322$; y grupo I *versus* III, $p = 0.098$).

DISCUSIÓN

Ya desde la antigüedad los babilonios describieron una adherencia pleural. Algunos autores sugieren que los egipcios describieron la formación de adherencias pélvicas siglos antes. Las adherencias causadas por peritonitis han sido reconocidas desde el siglo XVIII, pero fue hasta el siglo XIX, con el desarrollo de la anestesia y de procedimientos invasivos abdominales, cuando se creó conciencia de la presencia de complicaciones causadas por adherencias. A finales del siglo XIX se publicaron los primeros reportes de adyuvantes para prevenir la formación de adherencias; a partir de entonces, cientos de trabajos científicos se han publicado, describiendo el empleo de múltiples abordajes. Desafortunadamente, los resultados de la mayoría de estos estudios tuvieron un porcentaje de éxito muy bajo.

Múltiples estudios han reportado que más del 94% de los pacientes que se someten a laparotomía desarrollan adherencias. Fevang publicó que cerca del 30% de los pacientes que son sometidos a lisis de adherencias que condicionan obstrucción de intestino delgado, requieren de otra intervención quirúrgica para lisar adherencias recurrentes. Esto representa un problema grave, ya que no sólo condiciona mayores riesgos para los pacientes, también condicionan mayores costos a los sistemas de salud. Es necesario resaltar que la cirugía realizada para lisis de adherencias es un estímulo adhesiogénico similar a la operación original. Las complicaciones de las adherencias se pueden presentar en periodos diferentes del postoperatorio; dos tercios de los cuadros de obstrucción intestinal por adherencias ocurren en los primeros cinco años, y un tercio se presenta después de 10 años de la cirugía inicial.¹³

Las adherencias tienen en su superficie una sola línea de células mesoteliales del mismo tipo que se encuentra en el peritoneo y se encuentran vascularizadas; las estructuras vasculares que irrigan a las adherencias no contienen íntima, por lo que difieren de los vasos sanguíneos típicos, y en ellas se encuentran proteínas de tejido conectivo y elementos celulares. La reparación peritoneal postquirúrgica inicia con el fenómeno de la coagulación, liberándose en el sitio de la lesión una variedad de mensajeros químicos que condicionan una cascada de eventos. Antes de la cirugía, la cavidad peritoneal contiene

una pequeña cantidad de líquido, que contiene escasa población de leucocitos, principalmente macrófagos; también se encuentran proteínas plasmáticas, incluyendo una gran cantidad de fibrinógeno. Posterior a la cirugía, la cantidad de líquido y de proteínas se incrementan importantemente, constituyéndose un exudado inflamatorio, y la población de leucocitos cambia. Una gran cantidad de neutrófilos polimorfonucleares y leucocitos quimiotácticos se identifican en esta etapa del fenómeno. Los macrófagos incrementan paulatinamente en número, y después del quinto día, son la población de leucocitos más abundante. Sin embargo, la función de los macrófagos en esta etapa cambia enteramente de los macrófagos residentes, ya que estos macrófagos tienen una elevada actividad fagocítica, mayor formación de energía y secretan una serie de sustancias que incluyen metabolitos de ciclooxigenasa y lipooxigenasa, activador del plasminógeno, inhibidor del activador de plasminógeno, colagenasa, elastasa, interleucina 1 y 6, factor de necrosis tumoral, entre otras sustancias. Así mismo, reclutan nuevas células mesoteliales a la superficie de la lesión peritoneal. Estas células migran del peritoneo adyacente en respuesta a la liberación de citoquinas y forman pequeñas islas de células mesoteliales en la zona lesionada, que posteriormente cubren toda la zona lesionada. Un elemento fundamental en la génesis de las adherencias es la fibrina, que se constituye en una matriz. Este fenómeno inicia con la reacción del fibrinógeno con la trombina, para crear monómeros de fibrina, los cuales son polimerizados; estos polímeros de fibrina inicialmente son solubles, pero al estar presente por periodos prolongados se ponen en contacto con ciertos factores de la coagulación, como el factor XIIIa, convirtiéndose en insolubles. Eventualmente, los polímeros insolubles de fibrina interactúan con otras proteínas, incluyendo fibronectina, para producir una matriz de gel de fibrina; posteriormente se incorporan leucocitos, eritrocitos, plaquetas, endotelio y mastocitos. Por lo tanto, cuando dos superficies peritoneales cubiertas con este gel de fibrina se ponen en contacto, se inicia la formación de las adherencias. La defensa natural más importante contra la formación de adherencias es el sistema activador del plasminógeno tisular, el cual convierte el plasminógeno inactivo, que se encuentra en grandes cantidades en las células mesoteliales, en la enzima activa plasmina, la cual degrada la matriz de gel de fibrina. Sin embargo, en pacientes sometidos a cirugía abdominal disminuye importantemente la actividad fibrinolítica. Esto ocurre por dos razones principalmente: Primero, en el sitio

de la lesión se incrementan los niveles del activador del inhibidor del plasminógeno 1 y 2; estas dos enzimas inhiben al activador de plasminógeno tisular. Segundo, la cirugía puede reducir importantemente la oxigenación tisular, lo que se correlaciona con una disminución en la actividad fibrinolítica. Este defecto condiciona que la formación de adherencias inicie con una matriz de fibrina que surge durante la coagulación, para el quinto día la red de fibrina por lo regular está organizada con haces bien constituidos, además se observan finos conductos vasculares. Entre el quinto y el décimo día, los fibroblastos se alinean dentro de la adherencia en tanto avanza el depósito y la organización de la colágena. Uno o dos meses después de la lesión, las fibrillas de colágena se han organizado en haces, en los cuales están interpuestos fibroblastos fusiformes y unos cuantos macrófagos. Al final, la adherencia madura y se vuelve una banda fibrosa, que suele contener pequeños nódulos de calcificación. Las adherencias extensas y bien definidas suelen estar cubiertas de mesotelio y contienen vasos sanguíneos, así como fibras de tejido conectivo, incluida la elastina.¹⁴

Algunos autores han postulado la utilidad de antiinflamatorios no esteroideos para prevenir la formación de adherencias. Bulbuloglu y colaboradores observaron, en modelo experimental de sepsis peritoneal en rata, que la administración intraperitoneal de lornoxicam redujo la formación de adherencias, sin condicionar efecto negativo en anastomosis colónicas, pero los niveles de antioxidantes tisulares disminuyeron, lo que hipotéticamente puede favorecer infecciones; el ibuprofeno y tenoxicam también demostraron reducir la formación de adherencias, pero afectaron la cicatrización de anastomosis colónicas, así como también condicionaron disminución de los antioxidantes tisulares.¹⁵ Celebioglu y asociados reportaron previamente la disminución de adherencias con la administración de tenoxicam, administrado intraperitonealmente.¹⁶ Guvenal estudió el efecto de un inhibidor selectivo COX-2, nimesulida, para prevenir la formación de adherencias en modelo experimental, provocando lesión a nivel de trompas uterinas, administrando nimesulida en el sitio de la lesión o por vía intramuscular en el preoperatorio, observaron reducción en la formación de adherencias.¹⁷ Greene y su grupo evaluaron la utilidad de otro inhibidor COX-2, celecoxib, en modelo experimental murino, observaron reducción en la formación de adherencias, proponiendo que se debe a su efecto antiangiogénico.¹² La inflamación causa la inducción de COX-2, favoreciendo la liberación de prostanoideos, mientras

que COX-1 está relacionado con la respuesta no inflamatoria de las prostaglandinas, como la agregación plaquetaria. Los inhibidores selectivos de COX-2 se cree que ofrecen ventajas que incluyen la capacidad para prevenir o reducir la inflamación, mientras se reducen los riesgos de efectos colaterales asociados con inhibidores de COX-1, tales como efectos colaterales gastrointestinales y renales, así como la posibilidad de sangrado por inhibirse la agregación plaquetaria. Aunado a esto, diversos autores ha publicado que, en modelos *in vivo* e *in vitro*, los inhibidores de COX-2 están implicados en la regulación de la angiogénesis.¹⁸⁻²⁰

En este estudio preliminar utilizamos dos inhibidores selectivos de COX-2, meloxicam y parecoxib, en una muestra no significativa, para realizar una primera evaluación de dos fármacos que no han sido estudiados para la prevención de adherencias intraperitoneales en modelo experimental, y con el antecedente de haberse publicado resultados alentadores con el empleo de otros inhibidores selectivos de COX-2; fármacos que ofrecen la ventaja de emplearse actualmente en la clínica, y que resultan accesibles a bajo costo en nuestro medio. Se evaluaron ambos fármacos en un modelo de sepsis peritoneal ya demostrado. El número de animales por grupo no permite concluir su posible beneficio para la prevención de adherencias en rata; sin embargo, llama la atención la disminución en el número total de adherencias que se observó en los grupos que recibieron meloxicam y parecoxib; ya que, a pesar de no existir diferencia estadísticamente significativa, el grupo III, al que se le administró parecoxib, fue el que menor número de adherencias desarrolló. De acuerdo con algunos autores como Greene, es posible que el efecto antiangiogénico de los inhibidores selectivos de COX-2 sea uno de los mecanismos por los cuales estos fármacos hipotéticamente favorezcan la reducción de adherencias en modelo animal.¹² Sin embargo, para validar dicha hipótesis es necesario realizar estudio histopatológico de las bandas de adherencias, que evalúe el grado de angiogénesis en animales que reciban inhibidores selectivos COX-2. Así mismo, de demostrarse un beneficio con dicho fármaco, se deberá evaluar su efecto sobre el proceso de cicatrización, principalmente en anastomosis de tubo digestivo. De acuerdo a los resultados observados en este estudio preliminar, continuaremos estudiando los efectos de parecoxib con una muestra significativa, y estudiaremos el grado de angiogénesis que se desarrolla en animales de investigación que reciban este fármaco. Es evidente que la solución al

problema de la formación de adherencias es relevante, no sólo por la morbilidad asociada, también por los costos que representa. Por ello desarrollaremos esta línea de investigación, con el objetivo de identificar la utilidad de este fármaco en el manejo de este grupo de pacientes. La solución a este problema, de alta prevalencia en la población mundial, requiere de un abordaje integral que permita incidir idealmente en la etapa de prevención, para evitar la presentación de las complicaciones inherentes al desarrollo de las adherencias.

CONCLUSIONES

La administración postoperatoria de inhibidores de COX-2, como meloxicam y parecoxib, pueden contribuir a disminuir la presencia de adherencias abdominales en rata. Aun cuando no se observaron diferencias estadísticas entre los grupos, probablemente por el tamaño de la muestra, sí se identificó que la administración de antiinflamatorios inhibidores de la COX-2 pueden modificar la presencia de adherencias abdominales. Es recomendable evaluar estos medicamentos con una muestra más representativa, para confirmar o desechar los resultados preliminares observados en este trabajo. Así mismo, es recomendable en estudios posteriores, evaluar su efecto sobre la cicatrización de anastomosis del tubo digestivo.

BIBLIOGRAFÍA

- Holmadhl L, Ivarsson ML. The role of cytokines, coagulation, and fibrinolysis in peritoneal tissue repair. *Eur J Surg* 1999; 165: 1012-1019.
- Müller SA, Treutner KH, Haase G, Kinzel S, Tietze L, Schumpelick V. Effect of intraperitoneal antiadhesive fluids in a rat peritonitis model. *Arch Surg* 2003; 138: 286-290.
- Reijnen PJ, Kooistra T, Falk P, Hendriks T, Goor HV. Time course of peritoneal tissue plasminogen activator after experimental colonic surgery: Effect of hyaluronan-based antiadhesive agents and bacterial peritonitis. *Br J Surg* 2002; 89: 103-109.
- Liu Y. Crosslinked hyaluronan hydrogels containing mitomycin C reduce postoperative abdominal adhesions. *Fertil Steril* 2005; 83 (suppl 1): 1275-1283.
- Tüzüner A. The effect of hyaluronan-based agents on adhesion formation in an intraabdominal sepsis model. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1054-1061.
- Reijnen MM, Goor HV, Falk P, Hedgren M, Holmdahl L. Sodium hyaluronate increases the fibrinolytic response of human peritoneal mesothelial cells exposed to tumor necrosis factor alpha. *Arch Surg* 2001; 136: 291-296.
- Tarhan OR. Effects of seprafilm on peritoneal fibrinolytic system. *ANZ J Surg* 2005; 75: 690-692.
- Schindler AE. Gonadotropin-releasing hormone agonists for prevention of postoperative adhesions: An overview. *Gynecol Endocrinol* 2004; 19: 51-55.
- Hellebrekers BW, Trimbos-Kemper T, Trimbos JB, Emeis JJ, Kooistra T. Use of fibrinolytic agents in the prevention of postoperative adhesion formation. *Fertil Steril* 2000; 74: 203-212.
- Arikan S, Adas G, Barut G, Toklu AS, Kocakusak A, Uzun H et al. An evaluation of low molecular weight heparin and hyperbaric oxygen treatment in the prevention of intra-abdominal adhesions and wound healing. *Am J Surg* 2005; 189: 155-160.
- Hobson KG, DeWing M, Ho HS, Wolfe BM, Cho K, Greenhalgh DG. Expression of transforming growth factor beta 1 in patients with and without previous abdominal surgery. *Arch Surg* 2003; 138: 1249-1252.
- Greene AK, Alwayn IP, Nose V, Flynn E, Sampson D, Zurakowski D et al. Prevention of intra-abdominal adhesions using the antiangiogenic COX-2 inhibitor celecoxib. *Ann Surg* 2005; 242: 140-146.
- Becker JM, Stucchi AF. Intra-abdominal adhesion prevention: Are we getting any closer? *Ann Surg* 2004; 240: 202-204.
- diZerega GS. Biochemical events in peritoneal tissue repair. *Eur J Surg* 1997; Suppl 577: 10-16.
- Bulbuloglu E, Ezberci F, Gul M, Kurutas EB, Bozkurt S, Kale I T et al. Effects of the intraperitoneal lornoxicam on the formation of intraperitoneal adhesions in rat peritonitis model. *ANZ J Surg* 2005; 75: 1115-1119.
- Celebioglu B, Eslambouli NR, Olcay E, Atakan S. The effect of tenoxicam on intraperitoneal adhesions and prostaglandin E2 levels in mice. *Anesth Analg* 1999; 88: 939-942.
- Guvenal T, Cetin A, Ozdemir H, Yanar O, Kaya T. Prevention of postoperative adhesion formation in rat uterine horn model by nimesulide: a selective COX-2 inhibitors. *Hum Repr* 2001; 16: 1732-1735.
- Wilkinson-Berka JL, Alousis NS, Kelly DJ et al. COX-2 inhibition and retinal angiogenesis in a mouse model of retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 974-979.
- Tsuji M, Kawano S, Tsuji S et al. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* 1998; 93: 705-716.
- Ghosh AK, Hirasawa N, Niki H et al. Cyclooxygenase-2 mediated angiogenesis in carrageenin-induced granulation tissue in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 295: 802-809.

Correspondencia:

Dr. Rafael Gutiérrez-Vega
Mitla 250 piso 4
Col. Narvarte
03020 México D.F.
Tel: 5420-7116
E-mail: gutierrezvega@conamed.gob.mx