



ARTÍCULO ORIGINAL

Tolerancia peritoneal a la Solución de alta selectividad Iónica con pH Neutro en ratas macho Wistar

Dr. Francisco J. Nachón García¹, Dr. José Díaz Tellez¹, C.D. Ma. Gabriela Nachón García M.I.C.²

Centro de Especialidades Médicas "Dr. Rafael Lucio" del Estado de Veracruz¹

Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Veracruzana²

Nachón-García FJ, Díaz-Tellez J, Nachón-García MG. Tolerancia peritoneal a la solución de alta selectividad iónica con pH neutro en ratas macho Wistar. Rev Med UV 2005; 5(2):15-20.

RESUMEN

El peritoneo es un tejido altamente reactivo a la inflamación. El epiplón en los roedores tiene una gran capacidad quimioattractora de neutrófilos, por lo que al exponerlo a la inyección de cualquier sustancia, incluyendo soluciones electrolíticas, produce una reacción inflamatoria.

La Solución de alta selectividad Iónica con pH Neutro (SES) contiene iones activos con propiedades antibacterianas; podría ser utilizada en el tratamiento de las peritonitis secundarias, en caso de que no produzca reacción inflamatoria mesotelial.

El objetivo fue demostrar que la SES comparada con Agua electrolizada produce cambios similares en la respuesta peritoneal cuando se administra a través de una inyección intraperitoneal en sujetos de experimentación.

La inyección intraperitoneal de SES o de Agua estéril no condiciona datos sugestivos de peritonitis en las ratas Wistar.

PALABRAS CLAVE: Peritonitis, respuesta inflamatoria, Solución de alta selectividad Iónica.

ABSTRACT

The peritoneum is a highly reactive tissue to inflammation. Epiplon of the rodent has a great quimioattractor capacity of the neutrophile. To expose to the any substance injection, including electrolitic solution, it produces an inflammatory reaction.

The Electrolyzed Superoxidized Solution with Neutral pH (ESS) contains active ions with antibacterial property; it could be used in secondary peritonitis' treatment, if it doesn't produce mesotelial inflammatory reaction.

The objective was demonstrate the Electrolyzed Superoxidized Solution with Neutral pH compered with electrolized water produce similary changes in the peritonal response when a intraperitonia injection is administrated in experimenttation subjets.

Neither the intraperitoneal injection of ESS with Neutral ph nor sterile water don't impose sugestive conditions of peritonitis in Wistar rats.

KEY WORDS: Peritonitis, inflammatory response, Electrolyzed Superoxidized Solution with Neutral pH

INTRODUCCIÓN

El peritoneo es la membrana serosa más extensa del organismo.¹ Está compuesta de dos segmentos principales: 1.- El peritoneo parietal que recubre la superficie interna de la pared del abdomen, incluyendo el diafragma y la pelvis. 2.- El peritoneo visceral recubre la superficie de las vísceras digestivas intra-abdominales, al hígado y al bazo. Forma el epiplón y el mesenterio de las asas intestinales. La superficie peritoneal se compara a la superficie corporal total, alcanzando en los adultos de uno a dos metros cuadrados. La membrana peritoneal es continua y forma un espacio cerrado en los hombres. En las mujeres se continúa con la membrana mucosa de las trompas de Falopio. La cavidad peritoneal contiene habitualmente una pequeña

Recibido 03/10/2005 - Aceptado 08/12/2005

cantidad de líquido, aproximadamente 100 mililitros, pero puede tolerar dos litros o más sin causar molestias o compromiso de la función pulmonar.²

Una de las más importantes propiedades fisiológicas del peritoneo es su capacidad de recambio de agua y solutos, actuando como interfase primaria entre la sangre y los compartimentos dializantes. Estos movimientos de agua y solutos son controlados mayormente por gradientes de osmolaridad. La capacidad del peritoneo de absorber sustancias ha sido ampliamente estudiada.³ La administración de solución isotónica de cloruro de sodio (NaCl) administrada por vía intraperitoneal se absorbe a un ritmo aproximado de 30 a 35 mililitros por hora después de una fase de equilibrio. Cuando se administran soluciones hipertónicas, se produce un intenso intercambio de agua entre el espacio intravascular y la cavidad peritoneal, aproximadamente 300 a 500 mililitros por hora. La administración de eritrocitos marcados dentro de la cavidad peritoneal ha permitido la recuperación de 70% en el torrente circulatorio, demostrando que la absorción se produce principalmente a través de los canales fenestrados de la superficie inferior del diafragma. El aire y el gas también son absorbidos en cuatro a cinco días aproximadamente.⁴

La membrana peritoneal posee varios componentes anatómicos y fisiológicos de importancia que incluyen a las células mesoteliales, la membrana basal, el intersticio, la microcirculación y los vasos linfáticos.

El mesotelio es una capa de células aplanadas de aproximadamente 0.5 milímetros de espesor. La superficie libre del mesotelio está cubierta por innumerables microvellosidades que incrementan, en gran medida, su superficie. Las células tienen bordes tortuosos que aumentan el área de contacto entre ellas. Las células mesoteliales del peritoneo tienen varias funciones que se producen gracias a la adhesión y comunicación entre ellas, incluyendo la regulación del espacio intracelular y la fijación a la membrana basal, así como la apertura de sus uniones para permitir el paso de señales químicas o eléctricas.

La superficie antiluminal tiene múltiples canales intercelulares de aproximadamente 50 nanomicras (nm) de ancho. En algunas áreas en donde las uniones no son tan

apretadas, específicamente en la superficie diafragmática, se encuentran los estomas que son comunicaciones directas entre la cavidad peritoneal y los linfáticos del diafragma. Los fluidos peritoneales son absorbidos directamente del peritoneo a la circulación linfática a través de los estomas subdiafragmáticos.²

Las células mesoteliales son ultraestructuralmente similares a los pneumocitos tipo II; ambos tipos celulares contienen cuerpos lamelares prácticamente idénticos. Las células mesoteliales secretan un lubricante peritoneal similar al surfactante.²

Participan activamente en mecanismos de defensa del huésped, secretando gran cantidad de mediadores proinflamatorios como: interleucinas (IL), IL-1 α , IL-1 β , IL-6; proteína quimioattractora 1; factor regulador de la expresión y regulación de los linfocitos T activados (RANTES); factor de crecimiento transformante- β (TGF- β); factor estimulante de las colonias de granulocitos (GM-CSF); factor de crecimiento básico de fibroblastos (FGFb); factor de crecimiento epidérmico (EGF) y factor de crecimiento vascular endotelial.

Independientemente de los componentes de la matriz extracelular tales como la fibronectina, colágena tipo I y II, hialurona y dermatan, poseen también mediadores locales de la hemostasia como el activador tisular de plasminógeno, factor inhibidor del activador tisular de plasminógeno, prostaglandina E2, prostaciclina y fosfatilil-colina.¹

Una de las propiedades experimentales del peritoneo, específicamente del epiplón en los roedores, es su capacidad productora de neutrófilos al inyectarles cualquier irritante.⁽⁵⁾

Esta capacidad generadora y liberadora puede considerarse un arma de doble filo, ya que los neutrófilos activados generan radicales libres capaces de destruir microorganismos, pero también tienen efectos tóxicos sobre el mesotelio peritoneal que pueden condicionar una respuesta inflamatoria sistémica, pudiendo llegar a una marcada toxoinfección e incluso la muerte.

La Solución De alta selectividad Iónica con pH Neutro (SES) se obtiene al transferir una corriente eléctrica ordenada a una solución acuosa de electrolitos contenida en dos depósitos separados por una membrana catiónica.^{6,7}

La SES con un alto potencial de oxidorreducción y altas concentraciones de oxígeno disuelto tiene efectos bactericidas. Ha sido usado sobre todo como desinfectante de equipos endoscópicos e instrumental de invasión mínima así como para lavar y desinfectar equipos de hemodiálisis⁸

El SES fue inicialmente utilizada para esterilización de minerales obtenidos en el espacio,⁹ ha sido objeto de múltiples estudios y revisiones como método de descontaminación de hortalizas y ha logrado eliminar *E. coli*, *Listeria*, *Salmonella*, *Ántrax*, entre otras muchas sepas infectantes.^{10,11} Recientemente, el gobierno japonés, a través de la ley de regulación para el mejoramiento del agua, permitió tratar las tuberías de agua corriente para controlar las infecciones, incluso con *Pseudomona aeruginosa*.¹²

Hasta el momento, su uso ha sido autorizado, en forma limitada, para la desinfección de equipo endoscópico y médico no crítico. Sus características fisicoquímicas y su amplio poder bactericida, basado en el efecto de los radicales libres de Na, Cl y O₂ que condicionan desnaturalización de las proteínas, hidratos de carbono y lípidos de la pared bacteriana, así como alteración de cápsides, DNAsas y RNAsas virales,¹³ sugieren su utilidad en clínica, en el lavado de heridas, abscesos, en la esterilización de instrumental y material considerado crítico, etcétera.

Hasta ahora, los reportes han sido meramente anecdóticos y muy escasos. Al revisar los medios electrónicos de búsqueda, sólo se cuenta con un trabajo experimental en donde se utilizó para irrigar heridas por quemadura en modelos animales, con buenos resultados.¹⁴ En 1997, Hayashi y sus colaboradores reportaron el uso de SES en irrigación mediastinal en 4 pacientes que desarrollaron mediastinitis después de cirugía cardiorácica. Se logró controlar la infección y no se manifestaron efectos adversos atribuibles a la utilización de esta solución.¹⁵ En ese mismo año, se reportó el manejo de 7 casos de peritonitis, 5 de ellos por perforación de úlceras pépticas, uno con enteritis y uno más con piosalpix (pyometrium) perforado, a los que se les realizaron lavados por irrigación dos veces al día con AES fuertemente ácida, logrando la negativización de las muestras en 3 a 7 días.¹⁶

Tomando en cuenta lo anteriormente descrito, el objetivo de este artículo es demostrar la diferencia en la respuesta inflamatoria peritoneal de la rata macho de la variedad Wistar a la administración de solución con niveles controlados de iones químicamente activos en condiciones de superoxidación, específicamente Qx^{MR} de ProdInnv S.A de C.V, contra agua estéril.

MATERIAL Y MÉTODO

Para la realización de este estudio, se utilizaron 20 Ratas macho de la variedad Wistar de entre 250 y 350 g, de 6 a 12 semanas de edad, manejadas y tratadas de acuerdo con lo establecido en el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación, vigente, en el Título Séptimo, Capítulo Único, Artículos 121 al 126, así como a la NOM- 062-ZOO-1999 artículos 4.2.2; 4.2.2.1; 4.2.2.2; 4.2.2.3 (Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 22 de agosto de 2001), Manual de Organización y Procedimientos del comité institucional para el cuidado y uso de animales experimentales.

Cada uno de los sujetos de experimentación fue pesado y numerado en forma secuencial; los 10 primeros fueron asignados al grupo 1, y del número 11 al 20 al grupo 2. Al grupo uno se le administró el equivalente en centímetros cúbicos a 5% de su peso de Solución De alta selectividad Iónica con pH Neutro (SES) a través de una inyección intraperitoneal con una aguja de calibre 18; y a los sujetos del grupo 2, se les administró, con técnica semejante, igual proporción de agua estéril.

Las variables estudiadas fueron cambios de conducta como son: aislamiento, inmovilidad, agresividad, actitud ante la alimentación y consumo de agua, así como signos clínicos de peritonitis o sepsis tales como distensión abdominal, ausencia de evacuaciones, piloerección y muerte.

Se planteó estudio postmortem si es que alguno de los sujetos moría dentro del periodo de observación. Después de la administración intraperitoneal de las sustancias, los animales fueron manejados en jaulas separadas y monitoreados cada 6 horas durante las primeras 48 horas y posteriormente cada 12 horas hasta completar el periodo de seguimiento de 7 días; se consignaron los datos obtenidos y se realizó un análisis de las variables

categorías de acuerdo con su porcentaje de aparición utilizando la prueba estadística chi cuadrada (χ^2). Se consideró como significativo $p > 0.05$ con un intervalo de confianza de 0.95.

de características normales (sólida y con un peso promedio de 4 gr.) en este periodo.

A partir del segundo punto de corte, a las 8 horas, la movilización era mas activa. Del grupo uno,

Cuadro1

Relación peso-dosis administrada					
Número de sujeto	Grupo 1 (SES)		Grupo 2 (AE)		
	Peso	Dosis	Número de sujeto	Peso	Dosis
1	240	12	11	290	14.5
2	254	12.7	12	235	11.8
3	260	13	13	287	14.4
4	271	13.6	14	276	13.8
5	267	13.4	15	274	13.7
6	270	13.5	16	260	13
7	275	13.8	17	277	13.9
8	264	13.2	18	267	13.4
9	283	14.2	19	270	13.5
10	280	14	20	268	13.4
Promedio	266.4	13.3	270.4		13.5
DS	12.8	0.6	15.4		0.8
p= 0.27					

En el cuadro 1 se muestra el peso de los sujetos en cada uno de los dos grupos y los volúmenes de soluciones administrados por vía peritoneal:

RESULTADOS

Tomando en cuenta que ambos grupos son homogéneos y no existieron diferencias significativas en cuanto a la relación peso-dosis de solución administrada, observamos que, durante las primeras 4 horas posteriores a la administración de ambas soluciones, todos los animales se mantuvieron con una actividad limitada, atentos al medio, pero sin intentar establecer contacto con su alimento o vertedor de agua.

No hubo señales de agresividad incluso al manipularlos.

Se dificultó establecer un punto ideal para la medición abdominal a fin de evaluar la distensión, por lo que se decidió tomar en cuenta la existencia de timpanismo a la percusión como medida de distensión, lo que en este lapso resultó interesante ya que en todos los animales se encontró matidez en las porciones declives del abdomen. Solamente 4 sujetos (dos de cada grupo) presentaron una

evacuación los sujetos 4, 7 y 10 iniciaron con la ingesta de líquidos, y los sujetos 2 y 7 la ingesta de alimento. En el grupo 2, el 12, 15 y 16 se acercaron al bebedero; el 12, 16, 17 y 20 al alimento. Por lo que, 20% de los sujetos del grupo 2 iniciaron la alimentación en forma más temprana que los sujetos del grupo 1. Para esta revisión, prácticamente todos los animales presentaron evacuación durante la manipulación y ya no fue posible detectar por maniobras de palpación o percusión la presencia de líquido en la cavidad abdominal.

En la revisión de las 12 horas, todos los animales habían iniciado la alimentación y la ingesta de líquidos, en ninguno se detectó timpanismo, todos los sujetos presentaron evacuación durante la manipulación, fue posible evidenciar diuresis en las jaulas y las características de las evacuaciones fueron siempre sólidas con un peso de entre 3.6 y 4.8 gr.

Las condiciones de los animales permanecieron iguales a partir de las 12 horas hasta los 7 días de observación, se mostraron activos, atentos al medio, sin evidencia de agresividad, consumiendo su ración alimenticia diaria de aproximadamente 60 gramos al

día, bebiendo a libre demanda, sin datos sugestivos de inflamación peritoneal, evacuando en promedio 6 veces por día. Ninguno de los sujetos de la muestra murió durante el periodo de observación.

DISCUSIÓN

La capacidad de absorción y recambio del peritoneo humano ha mostrado que es posible absorber, después de una fase de equilibrio, de 30 a 35 mililitros por hora de una solución isotónica y un recambio de 350 a 500 mililitros por hora cuando se trata de una solución hipertónica.⁽⁴⁾ En este ensayo, en el que ambas soluciones son hipotónicas, pudimos observar que, entre las 8 y las 12 horas, la absorción de la solución fue completa.

No se presentaron signos sugestivos de un estado tóxico o infeccioso manifestado por piloerección, cambios en la temperatura de los animales, y ninguno de ellos murió.

Se deberán realizar estudios de los que se obtengan mediciones específicas de citokinas pro inflamatorias para determinar el comportamiento biocelular de los animales, así como el estudio patológico postmortem de ellos para evaluar la existencia de cambios en órganos blancos como lo son el riñón, hígado, cerebro, entre otros.

CONCLUSIÓN

La inyección intraperitoneal de SES o de Agua estéril equivalente a 5% del peso corporal no condiciona datos sugestivos de peritonitis en las ratas Wistar de entre 6 y 12 semanas de edad.

BIBLIOGRAFIA

1. Broche F., Tellado J.M., Defense mechanism of the peritoneal cavity. *Curr Opin Crit Care* 2001; 7: 105-116.
2. Peritoneal Membrane in Brenner and Rector's, *The Kidney*, 7th ed, 2004; Elsevier, 2636-2638.
3. Leypoldt J.K. Peritoneal Dialysis: Solute Transport Across the peritoneal Membrane. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13 Sup 1.
4. *Peritoneum in Sabiston Textbook of Surgery*, 16th ed. 2001; W.B Saunders Company 776- 778.
5. Fakatsu K, Saito H, Han I, Yasuhara H, Lin MT, Inoue T et al. The great omentum is the primary site of neutrophil exudation in peritonitis. *J Am Coll Surg* 1996; 183:450-456.
6. Kumon K. What is functional water? *Artif Organs* 1972; 21:2-4.
7. Morita C, Sano K, Morimatsu S, Kiura H, Goto T et al. Disinfection potential of electrolyzed solution containing sodium chloride at low concentrations. *Journal of Virological Methods* 2000; 85: 163-174.
8. Tanaka N, Fujisawa T, Daimon T, Fujiwara M, Yamamoto M, Abe T. The cleaning and disinfecting of hemodialysis equipment using electrolysed strong acid aqueous solution. *Artif Organs* 1999; 23:303-309.
9. Opfell JB. A general review of chemical sterilization in space research. *Life Sci Space Res* 1964; 2 : 385- 405.
10. Sharma RR, Demirci A. Treatment of Escherichia coli O157:H7 inoculated alfalfa seeds and sprouts with electrolyzed oxidizing water. *Int J Food Microbio* 2003; 86: 231-237.
11. Venkitanarayanan KS, Ezeike GO, Hung YC, Doyle MP. Inactivation of Escherichia coli O157: H7 and Listeria monocytogenes on plastic kitchen cutting boards by electrolyzed oxidizing water. *J Food Prot* 1999; 62(8):857-860.
12. Nakajima N, Nakano T, Harada F, Taniguchi H, Yokohama I. et al. Evaluation of disinfective potential of reactivated free chlorine in pooled tap water by electrolysis. *J Microbiological Methods* 2004; 57: 163-173.
13. Selkon JB, Babb JR, Morris R. Evaluation of the antimicrobial activity of a new superoxidized water, Sterilox, for the disinfection of endoscopies. *J Hops Infect* 1999; 41: 59-70.
14. Nakae H, Inaba H. Effectiveness of Electrolyzed Oxidized Water Irrigation in a Burn-Wound Infection Model. *J Trauma* 2000; 49:511-514.
15. Hayashi H, Kumon K, Yahagi N, Harina M et al. Successful Treatment of Mediastinitis after Cardiovascular Surgery Using Electrolysed Strong

Acid Aqueous Solution. *Artif Organs* 1997; 21: 39-42.

16. Yoshihiro I, Shigeatsu E, Koryo K, Hironobu I, Hiroaki O, Kazuyoshi S. Trial of Electrolyzed

Strong Acid Aqueous Solution Lavage in the Treatment of Peritonitis and intraperitoneal Abscess. *Artificial Organs* 1997; 21: 28-31.