

Respuesta peritoneal inmediata a la contaminación durante la cirugía laparoscópica en un modelo experimental en el ratón

Manuel Rodríguez^a, Eduardo M. Targarona^a, Mercedes Camacho^b, Carmen Balagué^a, Luis Vila^b y Manuel Trias^a

^aServicio de Cirugía. Hospital de Sant Pau. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona. España.

^bLaboratorio de Mediadores de la Inflamación. Hospital de Sant Pau. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona. España.

Resumen

Introducción. En diversos estudios se ha demostrado que la cirugía laparoscópica (CL) minimiza el traumatismo quirúrgico y preserva la respuesta inmunológica. Otra ventaja es la observación de una menor incidencia de complicaciones infecciosas. Sin embargo, en diferentes estudios *in vitro* se ha demostrado que la atmósfera con CO₂ afecta a la fisiología del macrófago, lo que incidiría en la respuesta a la contaminación peritoneal. Sin embargo, éste es un aspecto controvertido ante la evidencia experimental de una respuesta mejor conservada a la contaminación peritoneal. Este estudio se planteó para investigar la respuesta inmediata del peritoneo a la contaminación en una atmósfera con CO₂.

Material y método. Se distribuyeron 192 ratones CD-1 en 3 grupos: grupo I, LP, n = 64 (laparotomía); grupo II, LC-CO₂, n = 64 (laparoscopia-CO₂), y grupo III, LC-T, n = 64, (laparoscopia-tracción). Los ratones fueron aleatorizados para recibir 1 ml de una suspensión de *Escherichia coli* (1×10^4 UFC/ml) (contaminación [C]) o suero salino (sin contaminación [SC]). Se obtuvo fluido peritoneal a las 1,5, 3, 6 y 12 h tras la cirugía. Se determinaron MCP-1, IL-6 y PGE-2.

Resultados. Los valores MCP-1 fueron significativamente superiores y de forma más precoz en el grupo II (LC-CO₂-SC) que en el grupo I (LP-SC) ($p < 0,007$). De manera simultánea, el incremento en el grupo tracción (LC-T-SC, grupo III) fue significativamente mayor ($p < 0,002$) que tras la laparotomía, sin diferencias respecto al grupo II (LC-CO₂-SC). Cuando se añadió la contaminación hubo un incremento significativo en los 3 grupos ($p < 0,5$). Las modificaciones de MCP-1 en el grupo LP-C fueron estadística-

mente superiores y aparecieron de forma más tardía que en los grupos con tracción LC-T-C ($p < 0,002$) y LC-CO₂-C ($p < 0,02$).

Interleucine (IL)-6: los 3 modelos presentaron un incremento significativo, que fue más tardío en el grupo LP-SC. Simultáneamente, el incremento de IL-6 fue más precoz y significativamente superior en el grupo LC-T-SC que en el grupo LP ($p < 0,003$), sin diferencias entre LC-CO₂-SC y LC-T-SC. Se observó una diferencia significativa entre los grupos contaminados y no contaminados en el modelo LC-CO₂. El modelo de tracción (grupo LC-T-C) presentó un incremento superior respecto a los grupos LP-C y LC-CO₂-C ($p < 0,001$).

Prostaglandine E₂ (PGE-2): en los 3 modelos sin contaminación se observó un incremento significativo. Sin embargo, no se encontraron diferencias cuando se añadió la contaminación.

Conclusión. El neumoperitoneo con CO₂ induce una respuesta peritoneal cualitativamente diferente de la cirugía abierta y modifica la respuesta a la contaminación, con una menor elevación de MCP-1 e IL-6.

Palabras clave: Peritoneo. Laparoscopia. Peritonitis. Macrófago. IL-6. MCP-1.

IMMEDIATE PERITONEAL RESPONSE TO CONTAMINATION DURING LAPAROSCOPIC SURGERY IN AN EXPERIMENTAL RAT MODEL

Introduction. Several studies have shown that laparoscopic surgery (LS) minimizes surgical trauma and preserves immune response. Another advantage is the lower incidence of infectious complications. However, several *in vitro* studies have shown that an atmosphere with CO₂ affects macrophage physiology, which would affect the response to peritoneal contamination. This observation is controversial, given the experimental evidence of a better conserved response to peritoneal contamination. The aim of the present study was to investigate the immediate response of the peritoneum to contamination in an atmosphere with CO₂.

Correspondencia: Dr. E.M. Targarona.
Servicio de Cirugía. Hospital de Sant Pau.
Mas Casanoves, 90. 08025 Barcelona. España.
Correo electrónico: etargarona@santpau.es

Manuscrito recibido el 18-5-2005 y aceptado el 18-5-2005.

Material and method. A total of 192 CD-1 rats were distributed into three groups: group I, LP, n=64, (laparotomy); group II, LC-CO₂, n=64, (laparoscopy-CO₂), group III, LC-T, n= 64, (laparoscopy-traction). The rats were randomized to receive 1 ml of a suspension of *Escherichia coli* (1×10⁴ CFU/ml) (contamination [C]) or saline serum (no contamination [NC]). Peritoneal fluid was obtained at 1.5, 3, 6, and 12 h after surgery. Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), interleukin (IL)-6 and prostaglandin-E₂ (PGE₂) were determined.

Results. MCP-1 levels were significantly higher and increased earlier in group II (LC-CO₂-NC) than in group I (LP-NC) ($p<.007$). Simultaneously, the increase in the traction group was significantly higher ($p<.002$) than after laparotomy, without differences with respect to group II (LC-CO₂-NC). When contamination was added, there was a significant increase in the three groups ($p<.5$). The modifications in MCP-1 in the LP-C group were statistically significantly greater and appeared earlier than those in the traction groups, LC-T-C ($p<.002$) and LC-CO₂-C ($p<.02$).

Interleukin 6: the three models showed a significant increase, which appeared later in the LP-NC group. Simultaneously, the increase in IL-6 appeared earlier and was significantly greater in the LC-T-NC group than in the LP group ($p<.003$), with no differences between the LC-CO₂-NC and LC-T-NC groups. There was a significant difference between contaminated and uncontaminated groups in the LC-CO₂ model. The traction model (LC-T-C group) showed a greater increase than the LP-C and LC-CO₂-C groups ($p<.001$).

PGE₂: a significant increase was observed in the three models without contamination. However, when contamination was added, no differences were observed.

Conclusion. Pneumoperitoneum with CO₂ provokes a peritoneal response that is qualitatively different from open surgery and modifies the response to contamination with a greater increase in MCP-1 and IL-6.

Key words: Peritoneum. Laparoscopy. Peritonitis. Macrophage. IL-6. MCP-1.

Introducción

Uno de los avances más importantes en cirugía general en los últimos años ha sido la aplicación de las técnicas laparoscópicas, tras el éxito de la colecistectomía por laparoscopia. La mayor ventaja de la cirugía laparoscópica (CL) es la rápida y cómoda recuperación caracterizada por la reducción del íleo postoperatorio, la menor necesidad de analgesia y una menor alteración de la función respiratoria. La evidencia de estos hallazgos ha hecho suponer que la agresión quirúrgica inducida por la CL es de menor intensidad que la causada por la forma abierta, lo cual ha sido confirmado en múltiples estudios en los que se ha observado una menor modificación de los valores de cortisol y de los marcadores de respuesta de fase aguda¹⁻⁵. También se ha demostrado que la CL se acompaña de una menor afección de la respuesta inmunitaria¹⁻⁵.

Hay una evidencia clínica adicional que supone una diferencia radical entre la CL y la cirugía abierta: la menor incidencia de complicaciones infecciosas. Se ha intentado justificar este hecho de diversas formas: por el mantenimiento de una atmósfera sin contacto con el aire ambiente (neumoperitoneo con CO₂), la mejor preservación de la fisiología intraperitoneal al mantener la pared abdominal intacta, o el hecho de que la CL provoca un menor grado de inmunodepresión postoperatoria que la cirugía abierta, lo que mantendría una respuesta mejor conservada ante la infección⁶. En un estudio experimental previo⁷ comprobamos que la inyección intraperitoneal de un inóculo conocido de *Escherichia coli* en el ratón se acompañaba de un mayor grado de infección local a las 24 y 72 h, objetivado por un mayor número de hemocultivos positivos y un mayor recuento bacteriano en el contenido peritoneal tras la cirugía abierta respecto a la laparoscópica. A la vez, se demostró una menor respuesta inflamatoria a las 24 y 72 h al observar valores menores de interleucina (IL) 1, factor de necrosis tumoral (TNF) e IL-6 peritoneal en el grupo de CL, con una dinámica diferente respecto al grupo sin contaminación durante las primeras 12 h, lo que permitió suponer un aclaramiento bacteriano más eficaz, con una menor respuesta inflamatoria. Sin embargo, el mecanismo defensivo alrededor del cual pivota la reacción peritoneal a la infección es el macrófago. Diversos estudios han demostrado *in vitro* que la atmósfera con CO₂ altera de forma importante la fisiología del macrófago⁸⁻¹³. La acidificación inducida por el ambiente con CO₂ conlleva una disminución del pH citosólico que inhibe la actividad macrofágica y la producción de citocinas de forma transitoria, lo que en teoría conllevaría una menor capacidad de respuesta a la contaminación peritoneal. Las modificaciones inducidas en el macrófago son dependientes del tiempo y reversibles durante las primeras horas tras la realización del neumoperitoneo. Sin embargo, no se conoce bien la respuesta inmediata intraperitoneal a la infección que pudiera explicar la contradicción que hay entre la afección funcional del macrófago inducida por el CO₂ en contraposición con la evidencia de una mejor preservación de la respuesta peritoneal a la sepsis, lo cual ha sido el objetivo de este estudio.

Hipótesis

La respuesta biológica a la agresión quirúrgica secundaria a la CL es de menor intensidad que tras la cirugía abierta. Uno de los aspectos en los que se ha podido objetivar esta mejor respuesta es en la menor incidencia de complicaciones infecciosas intraabdominales. Sin embargo, el neumoperitoneo con CO₂ inhibe la capacidad de respuesta de los macrófagos peritoneales, lo que favorecería, en teoría, la proliferación bacteriana. La hipótesis que se plantea en este estudio es que en el balance entre la afección funcional macrofágica por efecto del CO₂ frente a la inmunodepresión postoperatoria inducida por la cirugía abierta, la menor agresión inducida por la CL favorece una mejor respuesta peritoneal a pesar de la alteración funcional macrofágica.

Material y método

Animal de experimentación

Se utilizaron ratones swiss albino machos CD-1 (Charles River, Sant Aubin Les Elbeuf, Francia) de 6-8 semanas de edad y con un peso de 25-30 g. Los animales fueron mantenidos en el estabulario del laboratorio de cirugía experimental del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau como mínimo durante 3 días antes de practicar cualquier tipo de intervención. El mantenimiento de los animales, así como las situaciones experimentales y de sacrificio de los animales, se realizaron de acuerdo con las normas establecidas de protección a los animales de experimentación (DOGC 2073-10/7/95 llei 5/1995 de 21 de junio).

Grupos experimentales

- Grupo I. LP-SC: laparotomía sin contaminación (n = 32).
- Grupo II. LP-C: laparotomía más contaminación abdominal (n = 32).
- Grupo II. LC-CO₂-SC: laparoscopia con CO₂ sin contaminación (n = 32).
- Grupo III. LC-CO₂-C: laparoscopia con CO₂ más contaminación abdominal (n = 32).
- Grupo IV. LC-T-SC: laparoscopia mediante tracción de pared (n = 32).
- Grupo V. LC-T-C: laparoscopia mediante tracción de pared más contaminación abdominal (n = 32).

Técnica quirúrgica

Los animales recibieron anestesia general mediante inyección intramuscular de ketamina a dosis de 90 mg/kg de peso (3 mg) y xilacina a dosis de 10 mg/kg de peso (0,3 mg).

Modelo laparotomía. Animal en decúbito supino. Desinfección de la piel con antiséptico iodado. Incisión de laparotomía media de 30 mm de longitud. Exteriorización del paquete intestinal durante 30 min. Contaminación del abdomen con 1 ml de una solución de *E. coli* ($0,5 \times 10^4$ unidades formadoras de colonias [UFC]/ml) 10 min antes del cierre abdominal. Cierre de la pared con sutura continua de 3/0 de Vycril (Ethicon).

Modelo laparoscópico con neumoperitoneo con CO₂. Idéntico al anterior. Realización del neumoperitoneo mediante punción con aguja de Veress hasta alcanzar una presión de 5 mmHg a un flujo de 0,2 l/min con un insuflador electrónico de CO₂ (Karl Storz, Tuttlingen).

Modelo laparoscópico con tracción de pared. Idéntico al anterior. Tracción de la pared mediante la inserción de un tractor parietal percutáneo y elevación de la pared a una altura similar a la obtenida con el neumoperitoneo.

Inóculo bacteriano

Se administró una inyección de una suspensión en suero fisiológico de $0,5 \times 10^4$ UFC/ml de la cepa *E. coli* TCC 25922. En los análisis preliminares⁷ se ha demostrado que esta dosis induce una peritonitis reproducible en la que es posible cuantificar el número de bacterias, asociado a un 50% de hemocultivos positivos a las 72 h con una supervivencia del 100%.

Protocolo de estudio

En cada grupo de animales se procedió al sacrificio y la obtención de líquido peritoneal a las 1, 5, 3, 6 y 12 h postintervención quirúrgica.

Parámetros de medición de respuesta inflamatoria peritoneal

Quimiocinas: MCP-1 (*monocyte chemotactic protein-1*) (ng/ml); citocinas: IL-6 (ng/ml); prostanoïdes: prostaglandina E₂ (PGE-2) (pmoles/ml). Para IL-6 e MCP-1 se realizó la determinación mediante ELISA (BD Biosciences, Palo Alto California), mientras que para la PGE2 se utilizó el enzimoinmunoanálisis (Amersham Biosciences, Barcelona, España).

Obtención de las muestras

En todos los animales, la obtención de las muestras se llevó a cabo tras anestesiarlos con una inhalación de Fluorane® seguida de la preparación del campo estéril. Las muestras de líquido peritoneal se obtuvieron mediante el lavado de la cavidad abdominal con 1 ml de suero fisiológico y aspiración de éste transcurridos 2 min. A la vez se tomó una muestra para cultivo microbiológico. Las muestras se almacenaron en hidrógeno líquido durante el tiempo que duraba la extracción y se mantuvieron en el congelador a -70 °C hasta su posterior análisis.

Criterios de exclusión

Se excluyó del estudio a todos los animales de los grupos sin contaminación abdominal en los que se detectó la presencia de cualquier tipo de germen y todos los animales del grupo con contaminación intra-abdominal con *E. coli* en los que se detectó cualquier tipo de germen diferente del inoculado.

Estudio estadístico

La comparación entre los grupos se efectuó mediante el análisis de la varianza y la prueba de la χ^2 , para lo que se utilizó un programa estadístico SPSS. Los datos se expresaron como la media y la desviación estándar.

Resultados

MCP-1 (tabla 1)

Los valores de MCP-1 se elevaron de manera significativa en los grupos sin contaminación. Esta elevación fue significativamente mayor y más precoz en el grupo LC-CO₂ que tras la laparotomía ($p < 0,007$). A la vez, el incremento en el grupo tracción fue significativamente mayor ($p < 0,002$) que tras la laparotomía, sin diferencias respecto al grupo LC-CO₂ (fig. 1). Cuando se añadió la contaminación peritoneal en el grupo de laparotomía se produjo un incremento significativamente mayor respecto al grupo sin contaminación ($p < 0,5$), y la elevación en el grupo LC-CO₂ fue significativamente más tardía, sin que se observaran diferencias significativas entre el grupo LP y LC-CO₂. Las modificaciones de los valores de MCP-1 tras la contaminación entre los grupos LP y tracción fueron significativas y más tardías ($p < 0,002$), así como entre LC-CO₂ y LC-T ($p < 0,02$) (fig. 1).

Interleucina 6 (tabla 2)

Los tres modelos de agresión se acompañaron de una significativa elevación de la IL-6, que fue signifi-

TABLA 1. MCP-1 (ng/ml)

Horas	LP-SC+	LP -CC++
1,5	0,07 ± 0,03	0,3 ± 0,1
3	0,4 ± 0,15	0,4 ± 0,16
6	0,8 ± 0,15	3,4 ± 1,2
12	0,5 ± 0,37	0,2 ± 0,09
	LC-CO ₂ -SC	LC-CO ₂ -CC++
1,5	0,18 ± 0,06	0,1 ± 0,03
3	1,3 ± 0,45	0,9 ± 0,2
6	0,2 ± 0,07	1,5 ± 0,5
12	0,1 ± 0,09	0,4 ± 0,17
	LC-T-SC	LC-T-CC
1,5	0,25 ± 0,08	0,2 ± 0,07
3	1,5 ± 0,35	2,4 ± 4
6	0,3 ± 0,17	0,9 ± 0,2
12	0,3 ± 0,11	0,3 ± 0,06

LP: laparotomía; LC: laparoscopia; T: tracción; SC: sin contaminación; CC: con contaminación.

Los valores expresan la media ± error estándar.

ANOVA: LP-SC frente a LC-CO₂-SC, p < 0,007; LP-SC frente a LC-T-SC, p < 0,002; LP-CC frente a LC-T-CC, p < 0,02; LC-CO₂-CC frente a LC-T-CC, p < 0,02; LP-SC frente a LP-CC, p < 0,2; LC-CO₂-SC frente a LC-CO₂-CC, p < 0,2.

TABLA 2. Interleucina 6 (ng/ml)

Horas	LP-SC	LP-CC
1,5	0,12 ± 0,07	0,7 ± 0,2
3	1,4 ± 0,4	0,9 ± 0,4
6	2,9 ± 0,6	3,9 ± 1,2
12	0,3 ± 0,14	0,2 ± 0,04
	LC-CO ₂ -SC	LC-CO ₂ -CC
1,5	0,5 ± 0,13	0,3 ± 0,08
3	4,3 ± 1,4	2,8 ± 0,5
6	0,7 ± 0,3	1,6 ± 0,6
12	0,04 ± 0,01	0,06 ± 0,02
	LC-T-SC	LC-T-CC
1,5	0,4 ± 0,15	0,4 ± 0,2
3	4,7 ± 1,7	7 ± 1,4
6	0,7 ± 0,3	1,2 ± 0,3
12	0,3 ± 0,15	0,2 ± 0,04

LP: laparotomía; LC: laparoscopia; T: tracción; SC: sin contaminación; CC: con contaminación.

Los valores expresan la media ± error estándar.

LP-SC frente a LC-CO₂-SC, p < 0,004; LP-SC frente a LC-T-SC, p < 0,001; LC-CO₂-SC frente a LC-T-SC, p < 0,001; LP-CC frente a LC-CO₂-CC, p < 0,002; LP-CC frente a LC-T-CC, p < 0,003.

cativamente más tardía en el grupo LP, con diferencias significativas entre los grupos LP y LC-CO₂ (p < 0,002) (fig. 2). A la vez, la elevación de IL-6 fue significativamente superior y más precoz en el grupo con

tracción respecto al grupo laparotomía (p < 0,003), sin diferencias entre los grupos LC-CO₂ y LC-T (fig. 2). Cuando se añadió la contaminación se observó también una significativa modificación, similar a la ob-

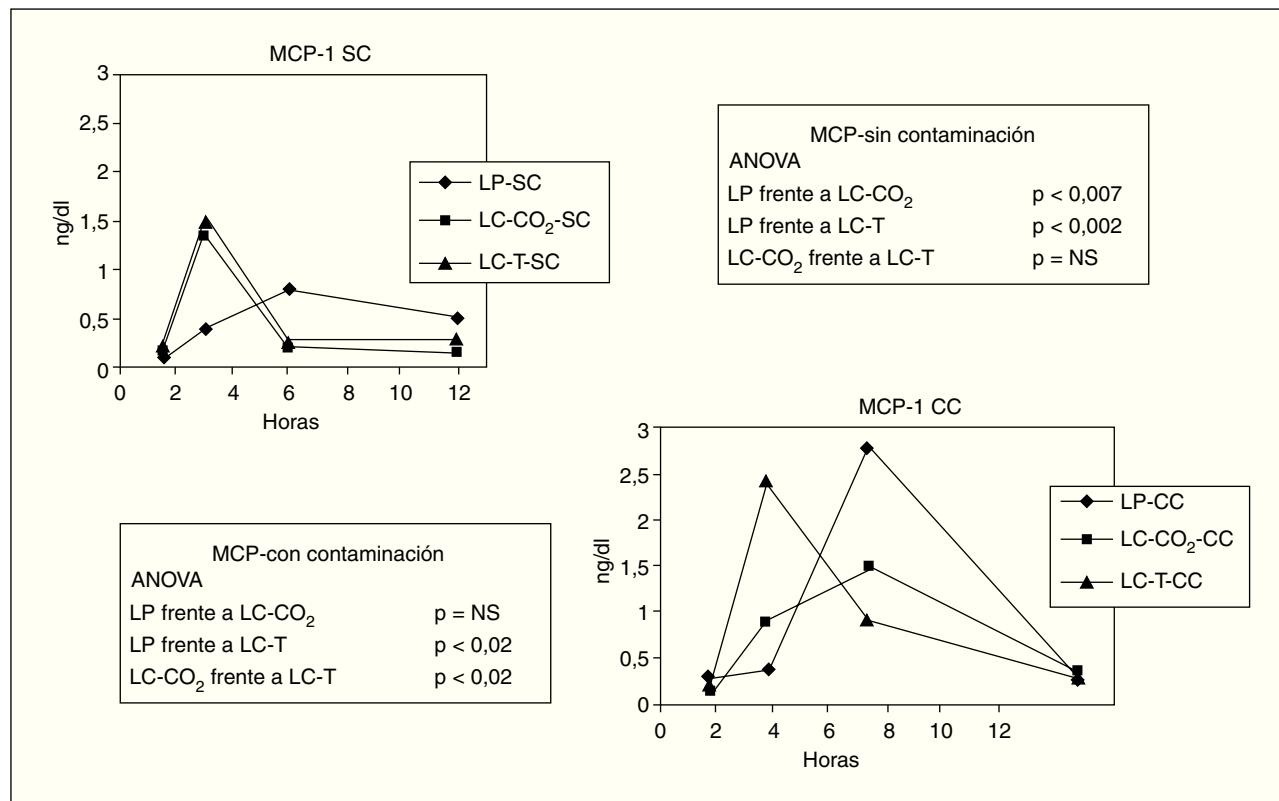


Fig. 1. Modificaciones de los valores de MCP-1 en los diferentes grupos experimentales en función de la presencia de contaminación peritoneal. LP: laparotomía; LC: laparoscopia; T: tracción; SC: sin contaminación; CC: con contaminación.

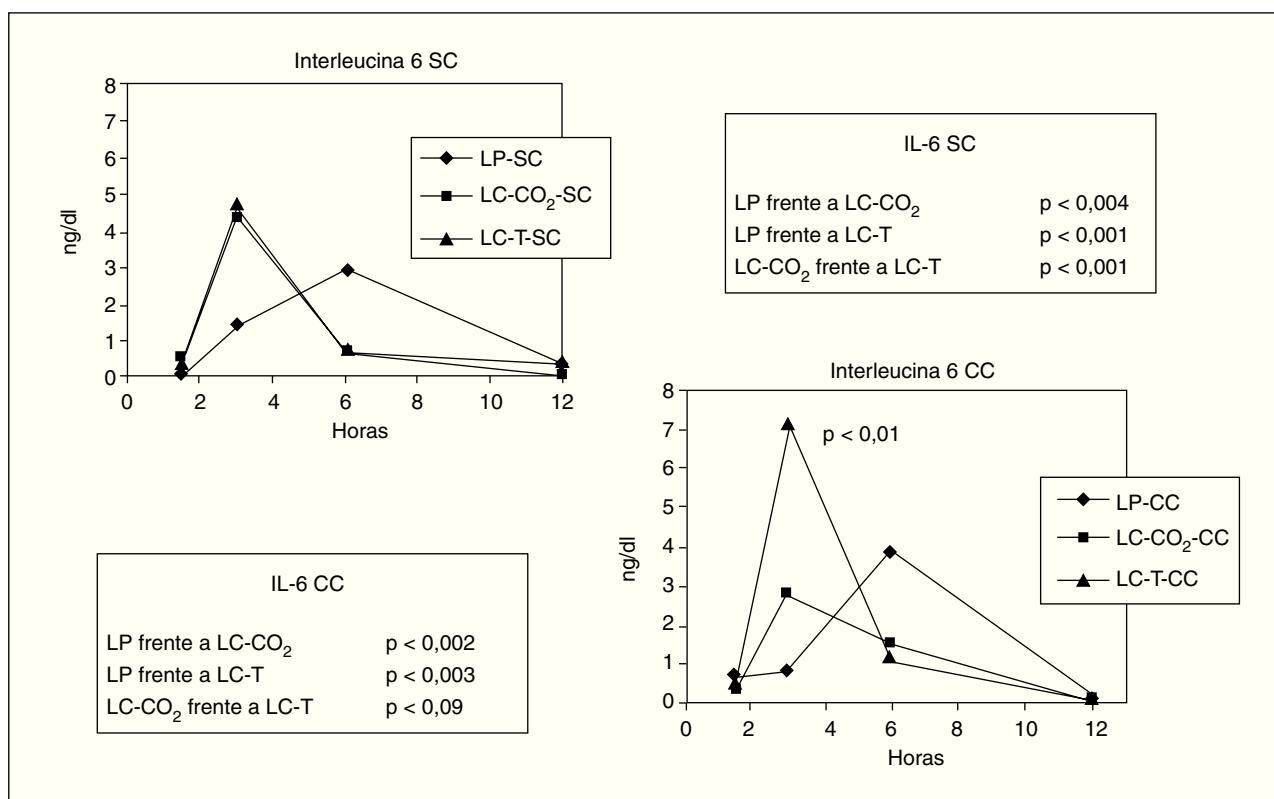


Fig. 2. Modificaciones de los valores de interleucina (IL)-6 en los diferentes grupos experimentales en función de la presencia de contaminación peritoneal. LP: laparotomía; LC: laparoscopia; T: tracción; SC: sin contaminación; CC: con contaminación.

servada en los grupos sin contaminación. Sin embargo, únicamente se observaron diferencias significativas entre la presencia o no de contaminación en el grupo el grupo LC-CO₂. A la vez, el modelo con tracción mantuvo una mayor y más precoz elevación de

los valores de IL-6 respecto al grupo LP y LC-CO₂ ($p < 0.001$) (fig. 2).

Prostaglandina E₂ (tabla 3)

Los tres modelos demostraron un incremento significativo de los valores de PGE-2, aunque no se observaron diferencias significativas entre los grupos LP y LC-CO₂ a pesar de que ambos grupos eran significativamente superiores a los observados en el grupo con tracción ($p < 0.009$ respecto a LP y $p < 0.001$ respecto a LC-CO₂) (fig. 3).

En los grupos en que se contaminó el peritoneo se observó una reducción de los valores de PGE-2 respecto a los grupos sin contaminación, sin que se observara una diferencia estadísticamente significativa entre los tres grupos.

Discusión

La observación de una diferente respuesta clínica entre la CL y la cirugía abierta ha estimulado el estudio de la respuesta biológica a la agresión durante la CL¹⁻⁵. A la vez, el problema clínico representado por la aparición de los implantes en los trocares, junto con la duda razonable sobre la seguridad en el establecimiento de un neumoperitoneo en una infección establecida, ha estimulado el estudio de las modificaciones de la fisiología peritoneal du-

TABLA 3. Prostaglandina E₂ (pmol/ml)

Horas	LP-SC	LP-CC
1,5	3,3 ± 0,7	5,3 ± 1,2
3	20,2 ± 7,7	7,2 ± 1,7
6	6 ± 1	3,7 ± 0,8
12	5,2 ± 1,9	2,5 ± 0,8
LC-CO ₂ -SC*	LC-CO ₂ -CC	
1,5	13 ± 2	4,4 ± 1,1
3	22 ± 3	12,3 ± 3,2
6	2,6 ± 0,7	2,9 ± 0,7
12	1,8 ± 0,6	3,3 ± 1
LC-T-SC	LC-T-CC	
1,5	11,4 ± 3,2	17 ± 2,3
3	8,6 ± 2,4	14,4 ± 2,6
6	3,8 ± 1,5	6,6 ± 2,9
12	9,5 ± 2,1	8,9 ± 2,6

LP: laparotomía; LC: laparoscopia; T: tracción; SC: sin contaminación; CC: con contaminación.

Los valores expresan la media ± error estándar.

LP-SC frente a LC-T-SC, $p < 0,009$; LC-CO₂-SC frente a LC-T-SC, $p < 0,001$; LP-SC frente a LP-CC, $p < 0,05$.

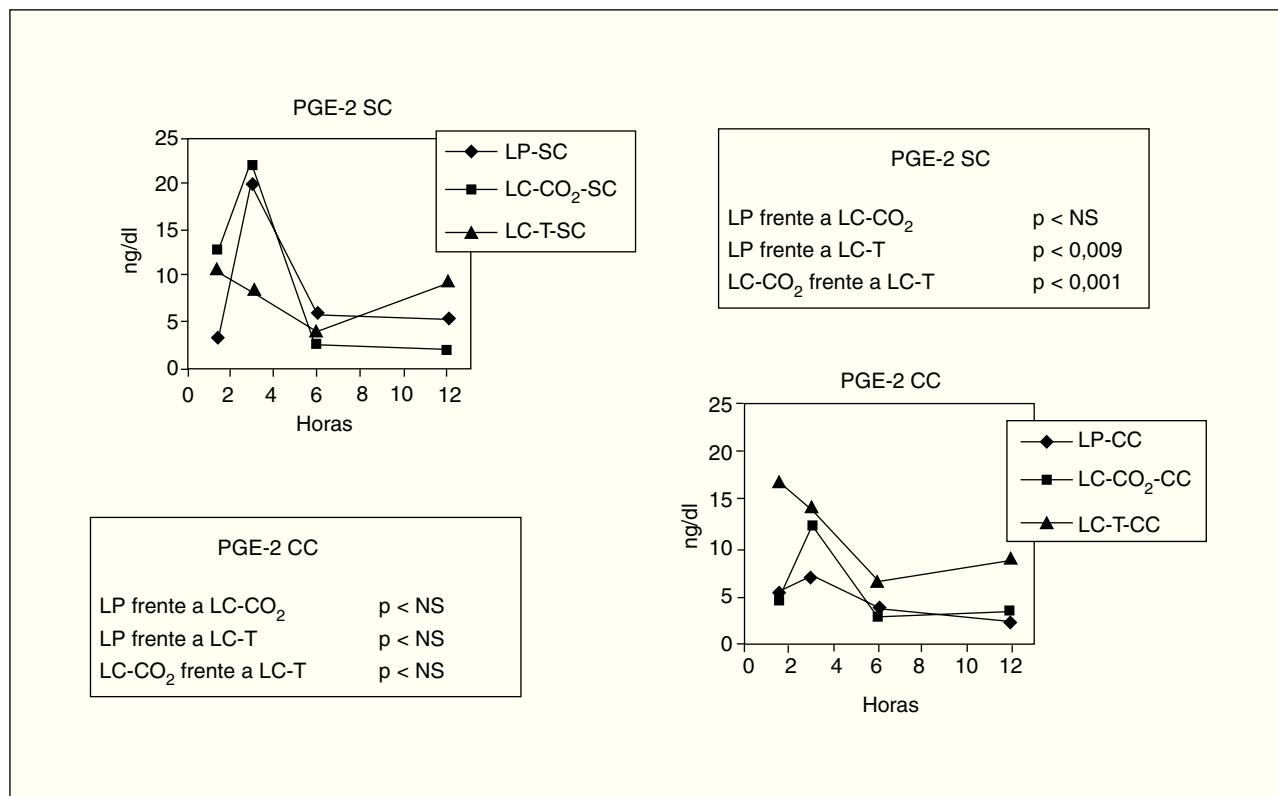


Fig. 3. Modificaciones de los valores de prostaglandina E₂ (PGE-2) en los diferentes grupos experimentales en función de la presencia de contaminación peritoneal. LP: laparotomía; LC: laparoscopia; T: tracción; SC: sin contaminación; CC: con contaminación.

rante la cirugía laparoscópica. En el momento actual se dispone de suficiente información clínica y experimental para asegurar que la CL se puede considerar menos agresiva, al asociarse con una menor respuesta inflamatoria y una menor inmunodepresión evidenciada por la observación de una menor elevación de IL-6, proteína C reactiva (PCR) y diversos marcadores de la respuesta inmunitaria. La mayoría de estas observaciones se ha extraído de experiencias que han analizado la respuesta sistémica, en fases tardías tras la intervención. Sin embargo, la lesión tisular inductora de una respuesta general ocurre en la zona intraperitoneal, de una forma inicialmente intracompartimental para, con posterioridad, difundirse de forma sistémica¹⁴.

Si bien la mayoría de las investigaciones se ha dirigido hacia la evaluación de las modificaciones observadas en el peritoneo que podían favorecer la diseminación neoplásica durante la CL, otra situación clínica en la que las modificaciones peritoneales inducidas por el neumoperitoneo podían provocar consecuencias no deseadas corresponde a la contaminación intraperitoneal intraoperatoria, o bien cuando la CL terapéutica se utiliza en casos de infección intraperitoneal establecida (apendicitis, colitis)⁶. La lesión tisular inducida por la CL es cualitativamente diferente respecto a la cirugía abierta^{15,16}. Durante la cirugía abierta, los componentes más importantes de la lesión son la cantidad de tejido lesionado (tamaño de la herida), la tracción visceral, la desecación y el cambio de temperatura. Durante la CL y el mantenimiento de

un neumoperitoneo se reduce la lesión tisular secundaria a la herida de la laparotomía, pero se añaden otros componentes lesivos como consecuencia de la distensión de la cavidad abdominal, del gas utilizado y de su duración¹⁷. Se ha demostrado que el neumoperitoneo con CO₂ produce importantes cambios morfológicos en la cubierta peritoneal, con aumento del espacio intercelular y abultamiento celular¹⁸, y que estos cambios y esta destrucción se incrementan cuando se asocia una contaminación peritoneal¹⁹⁻²¹. Por otra parte, las características físicas del neumoperitoneo cuando se utiliza CO₂ frío y seco reducen la temperatura intraperitoneal y la corporal total, así como el grado de humedad intraperitoneal^{22,23}. Otro posible componente lesivo corresponde al efecto sobre la microcirculación por el aumento de presión intraabdominal, tanto parietal (subperitoneal) como visceral²⁴. La compresión venosa por el aumento de la presión intraperitoneal reduce el flujo venoso visceral, incrementa el metabolismo anaerobio con aumento de lactato y puede comportar un cierto grado de síndrome de isquemia-reperfusión visceral al desuflar el neumoperitoneo. La diferencia más importante en contraste con la cirugía abierta es la inducida por la utilización de CO₂, en comparación con otros gases como el He. El CO₂ induce una importante acidificación del medio, reduce el pH tisular y provoca la acidificación citosólica de las células residentes en el peritoneo, como el macrófago, así como las células mesoteliales^{8,12,25,26}. West et al¹³ demostraron que la incubación *in vitro* de macrófagos intraperitoneales in-

hibía significativamente la respuesta al estímulo con LPS, con una reducción transitoria de la síntesis de IL-1 y TNF. Este hallazgo permitía suponer el beneficio de una respuesta inflamatoria más atenuada, lo que podrá justificar una respuesta de fase aguda de menor intensidad²⁷, pero también permitiría sugerir una peor respuesta local a la agresión séptica. Sin embargo, el posible impacto negativo de la alteración funcional macrofágica sobre la respuesta peritoneal a la infección no ha sido confirmado. Balagué et al⁷ observaron que la respuesta peritoneal a la agresión séptica estaba mejor conservada durante la CL que tras la cirugía abierta, demostrada por la reducción en el número de colonias en el cultivo peritoneal tras la inoculación de *E. coli*, así como por una menor elevación de IL-6 peritoneal, aunque se observó una marcada diferencia en la curva de respuesta entre la situación experimental con o sin contaminación. Sin embargo, en este estudio no se ha valorado la respuesta inmediata durante las primeras horas a la infección, en las que pueden ser críticas las modificaciones inducidas por el neumoperitoneo en la respuesta peritoneal. Por otra parte, en estudios recientes se demuestra que, además del macrófago, hay otros elementos celulares (células mesoteliales) con capacidad de respuesta y producción de mediadores de la inflamación (IL-6, MCP-1, etc.)^{28,29}. Con la hipótesis de que, a pesar de la presencia de una afección funcional del macrófago, la respuesta peritoneal a la infección está mejor preservada durante la CL que tras la cirugía abierta, se planteó este estudio experimental que intentaba evaluar la respuesta peritoneal *in vivo* inmediata a la contaminación peritoneal. Se evaluaron 3 parámetros representativos de la cascada inflamatoria³⁰, como son el MCP-1, la IL-6 y la PGE-2. El MCP-1 es una chemocina ampliamente expresada en la respuesta inflamatoria tras cualquier agresión quirúrgica y que responde de forma específica a la endotoxina³¹. La IL-6 es una citocina proinflamatoria producida por macrófagos y células mesoteliales que se correlaciona y permite cuantificar la agresión quirúrgica y séptica^{5,32}, y finalmente, la PGE-2 es una prostaglandina con una importante acción vasodilatadora, un metabolito de la activación enzimática de la COX y la fosfolipasa A₂, vía activada por los macrófagos como respuesta inmunitaria innata³³⁻³⁴. A la vez, la PGE-2 es un metabolito inducido por la lesión mediada por radicales libres de oxígeno, como consecuencia de la reperfusión tras un período de isquemia.

Los resultados obtenidos demuestran una más rápida elevación de MCP-1 e IL-6 en los grupos sin contaminación, aunque con una normalización más lenta tras la laparotomía. Sin embargo, tras la contaminación peritoneal se observó una similar elevación de MCP-1, con un retraso en el pico de elevación en el grupo laparoscópico. La contaminación peritoneal permitió observar un patrón similar de respuesta en el tiempo, aunque la respuesta en el grupo laparoscópico fue significativamente menor, lo que permite suponer un impacto directo por la afección por CO₂ respecto al grupo sin CO₂. En el modelo de tracción, que tenía por finalidad obviar el efecto del CO₂ evitando a su vez la amplia laparotomía, observamos una rápida y marcada elevación de MCP-1 e IL-6, tanto en los grupos con contaminación como sin ella. Ello se puede interpretar de varias formas: a) la presencia de CO₂ reduce la

producción de MCP-1, mientras que en el caso del grupo de tracción parietal, en que se evita la presencia de gas, se produce una elevación de MCP-1, y b) se puede suponer que, en este modelo en el ratón, la tracción parietal es más agresiva que el neumoperitoneo con CO₂ o la laparotomía. Con las lógicas dificultades para extrapolar estos hallazgos, éstos también se han demostrado en intervenciones con tracción parietal en el humano, en las que se ha observado una mayor elevación de la epinefrina, la creatincinasa y la PCR, y permite especular que la presión no controlada, la isquemia parietal y la tracción parietal y peritoneal pueden ser las causantes de esta respuesta exagerada^{3,34-37}.

Finalmente, en ambos grupos de laparotomía y LC-CO₂ se observó una respuesta similar en cuanto a la producción de PGE-2, sin diferencias en ambos modelos, aunque los valores en el grupo de tracción fueron significativamente menores. Estos resultados permiten excluir la importancia del síndrome de isquemia-reperfusión en este modelo, aunque la utilización de una presión intra-peritoneal menor que la utilizada en la clínica y, por tanto, una menor reducción de la presión venosa portal permiten entender la ausencia de este fenómeno. Sin embargo, es difícil evaluar de forma definitiva las modificaciones de la PGE-2, ya que su liberación es inmediata al contacto con LPS, lo que supone que su elevación o modificación sustancial probablemente sucede minutos después de la contaminación o la agresión, lo que no permite extraer conclusiones definitivas.

La evidencia de una menor respuesta de la MCP-1 e IL-6 a la contaminación en el grupo LP-CO₂ en comparación con el grupo laparotomía y el hecho de observar una mayor modificación en el grupo con tracción respecto al grupo con gas permite suponer que durante el neumoperitoneo con CO₂ *in vivo* realmente hay una afección funcional de la respuesta macrofágica y peritoneal al sobrestímulo que significa una contaminación por gramnegativos aunque, tal como demostraron Balagué et al⁷, la respuesta peritoneal final es más eficiente que tras la laparotomía. Hay diversas posibles explicaciones a este fenómeno. Se ha propuesto que el CO₂ posee un efecto bacteriostático que puede afectar a la proliferación bacteriana⁶. Otra posible explicación es el superior efecto inmunodepresor de los diversos componentes de la agresión mediante laparotomía respecto al posible efecto de la afección macrofágica por el CO₂. Está bien establecido el efecto inmunodepresor de la laparotomía sobre la capacidad fagocítica macrofágica. Iwanaka et al³⁸ demostraron que el número y la viabilidad de los macrófagos recuperados tras una laparotomía eran significativamente menores que tras un neumoperitoneo con CO₂. Otra explicación podría ser que la afección macrofágica *in vivo* fuera de menor intensidad que *in vitro*. Los estudios de West et al¹³ se efectuaron en condiciones *in vitro*, situación mucho más extrema que *in vivo* o en la clínica humana, donde los efectos deletéreos del neumoperitoneo (retención de CO₂, acidosis) pueden ser manipulados y controlados por el anestesista³⁹. Por otra parte, se ha demostrado que las células mesoteliales también poseen capacidad de síntesis de TNF, IL-1 e IL-6^{28,29}, y estas células que poseen un lecho capilar subperitoneal podrían no estar sometidas a una ambiente tan extremo como los macrófagos, lo que

permitiría mantener un cierto grado de respuesta. Otra explicación puede corresponder al posible efecto transitorio del CO₂ sobre la función macrofágica. Tras desuflar el neumoperitoneo, el macrófago recuperaría su función normal y éste, cuya función estaría mejor preservada debido a su mayor viabilidad, podría conllevar un resultado final más eficiente. Por ello efectuamos este experimento *in vivo* que, de forma complementaria al estudio de Balagué et al, permite concluir que, a pesar de haber observado una afección de la respuesta peritoneal inmediata por la afección funcional macrofágica inducida por el CO₂, la menor agresión inducida por la CL permite un mejor control de la contaminación intraabdominal que tras la cirugía abierta.

Bibliografía

1. Buunen M, Gholghesaei M, Veldkamp R, Meijer DW, Bonjer HJ, Bouvy ND. Stress response to laparoscopic surgery: a review. *Surg Endosc*. 2004;18:1022-8.
2. Novitsky YW, Litwin DEM, Callery MP. The net immunologic advantage of laparoscopic surgery. *Surg Endosc*. 2004;18:1411-9.
3. Sietses C, Blomberg ME, Eijsbouts QAJ, Beelen RHJ, Berends FJ, Cuesta MA. The influence of CO₂ vs helium insufflation or the abdominal wall lifting technique on the systemic immune response. *Surg Endosc*. 2002;16:525-8.
4. Sylla P, Kirman I, Whelan RL. Immunological advantages of advanced laparoscopy. *Surg Clin N Am*. 2005;85:1-8.
5. Targarona EM, Pons MJ, Balagué C, et al. Acute phase is the only significantly reduced component of the injury response after laparoscopic cholecystectomy. *World J Surg*. 1996;20:528-33.
6. Targarona EM, Balague C, Knook MM, Trias M. Laparoscopic surgery and surgical infection. *Br J Surg*. 2000;87:536-44.
7. Balagué C, Targarona EM, Pujol M, Filella X, Espert JJ, Trias M. Peritoneal response to a septic challenge. Comparison between open laparotomy, pneumoperitoneum laparoscopy, and wall lift laparoscopy. *Surg Endosc*. 1999;13:792-6.
8. Kopernik G, Avinoach E, Grossman Y, Levy R, Yulzari R, Rogachev B, et al. The effect of high partial pressure of CO₂ environment on human peritoneal cells. Relevance to carbon dioxide pneumoperitoneum. *Am J Obstet Gynecol*. 1998;179:1503-10.
9. Matsumoto T, Dolgor B, Ninomiya K, Bandoh T, Yoshida T, Kitano S. Effect of CO₂ pneumoperitoneum on the systemic and peritoneal cytokine response in a LPS-induced sepsis model. *Eur Surg Res*. 2001;33:71-6.
10. Rotstein OD. Peritoneal host defences: modulation by CO₂ insufflation. *Surg Infect*. 2001;2:163-8.
11. Sendt W, Amborg R, Schoffel U, Hassan A, Von Specht BU, Barthmann EH. Local inflammatory peritoneal response to operative trauma: studies on cell activity, cytokine expression, and adhesion molecules. *Eur J Surg*. 1999;165:1024-30.
12. Ure BM, Niewold TA, Bax NM, Ham M, Van der Zee DC, Essen GJ. Peritoneal, systemic, and distant organ inflammatory responses are reduced by a laparoscopic approach and carbon dioxide versus air. *Surg Endosc*. 2002;16:836-42.
13. West MA, Hackman DJ, Baker J, Rodríguez JL, Bellingham J, Rotstein OD. Mechanism of decreased *in vitro* murine macrophage cytokine release after exposure to carbon dioxide. Relevance to laparoscopic surgery. *Ann Surg*. 1997;226:179-90.
14. Matsumoto T, Tsuibo S, Dolgor B, Bandoh T, Yoshida T, Kitano S. The effect of gases in the intraperitoneal space on cytokine response and bacterial translocation in a rat model. *Surg Endosc*. 2001;15:80-4.
15. Brodsky JA, Brody FJ, Endlich B, Armstrong DA, Ponsky JL, Hamilton IA. MCP-1 is highly expressed in peritoneum following midline laparotomy with peritoneal abrasion in a murine model. *Surg Endosc*. 2002;16:1079-82.
16. Kalff JC, Turler A, Schwarz NT, Schraut WH, Lee KK, Twardy DJ, et al. Intra-abdominal activation of a local inflammatory response within the human muscularis externa during laparotomy. *Ann Surg*. 2003;237:301-15.
17. Bachman SL, Hanly EJ, Nwanko JL, Lamb J, Herring AE, Marohn MR, et al. The effect of timing of pneumoperitoneum on the inflammatory response. *Surg Endosc*. 2005;19:154.
18. Neuhaus SJ, Watson DL. Pneumoperitoneum and peritoneal surface changes: a review. *Surg Endosc*. 2004;18:1316-22.
19. Bloechle C, Kluth D, Holstein AF, Emmermann A, Strate T, Zornig C, et al. A pneumoperitoneum perpetuates severe damage to the ultrastructural integrity of parietal peritoneum in gastric perforation-induced peritonitis in rats. *Surg Endosc*. 1999;13:683-8.
20. Suematsu T, Hirabayashi Y, Shiraishi N, Adachi Y, Kitamura H, Kitano S. Morphology of the murine peritoneum after pneumoperitoneum vs laparotomy. *Surg Endosc*. 2001;15:954-8.
21. Volz J, Koster S, Spacek Z, Pawelez N. Characteristics alteration of the peritoneum after carbon dioxide pneumoperitoneum. *Surg Endosc*. 1999;13:611-4.
22. Hazebroek EJ, Schreve MA, Visser P, De Bruin RW, Marquet RL, Bonjer HJ. Impact of temperature and humidity of carbon dioxide pneumoperitoneum on body temperature and peritoneal morphology. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*. 2002;12:355-64.
23. Puttik MI, Scott DM, Dye J, Nduka CC, Menzies NM, Mansfield AO, et al. Comparison of immunologic and physiologic effects of CO₂ pneumoperitoneum at room and body temperatures. *Surg Endosc*. 1999;13:572-5.
24. Bentes de Souza AM, Wang CC, Chu CY, Lam PM, Rogers MS. The effect of intra-abdominal pressure on the generation of 8-iso prostaglandin F2 alpha during laparoscopy in rabbits. *Hum Reprod*. 2003;18:2181-8.
25. Kuntz C, Wunsch A, Bodeker C, Bay F, Rosch R, Windeler J, et al. Effect of pressure and gas type on intrabdominal, subcutaneous and blood pH in laparoscopy. *Surg Endosc*. 2000;14:367-71.
26. Wildbrett P, Oh A, Naundorf D, Volk T, Jacobi CA. Impact of laparoscopic gases on peritoneal microenvironment and essential parameters of cell function. *Surg Endosc*. 2003;17:78-82.
27. Are C, Talamini MA, Murata K, De Maii A. Carbon dioxide pneumoperitoneum alters acute-phase response induced by lipopolysaccharide. *Surg Endosc*. 2002;16:1464-7.
28. Riese J, Niedobitek G, Lisner R, Jung A, Hohenberger W, Haupt W. Expression of interleukin-6 and monocyte chemoattractant protein-1 by peritoneal sub-mesothelial cells during abdominal operations. *J Pathol*. 2004;202:34-40.
29. Riese J, Schoolmann S, Denzel C, Herrmann O, Hohenberger W, Haupt W. Effect of abdominal infections on peritoneal and systemic production of interleukin 6 and monocyte chemoattractant protein-1. *Shock*. 2002;17:361-4.
30. Sido B, Teklote JR, Hartel M, Friess H, Buchler MW. Inflammatory response after abdominal surgery. *Best Pract Res Clin Anaesth*. 2004;18:439-54.
31. Luster AD. Chemokines-chemotactic cytokines that mediate inflammation. *Lancet*. 1998;338:436-45.
32. Cavaillon JM. Cytokines and macrophages. *Biomed Pharmacother*. 1994;48:445-53.
33. Hahn EL, He L, Gamelli RL. PGE2 synthesis and metabolism in burn injury and trauma. *J Trauma*. 2000;49:1147-54.
34. Topley N, Petersen MM, Mackenzie R, Neubauer A, Stylianou E, Kaeber V, et al. Human peritoneal mesothelial cell prostaglandins synthesis: induction of cyclooxygenase mRNA by peritoneal macrophage-derived cytokines. *Kidney Int*. 1994;46:900-9.
35. Hong SJ, Cho EJ, Lee JY, Kim WW, Kim EK. The physiologic response to laparoscopic cholecystectomy: CO₂ pneumoperitoneum vs wall lift. *Can J Anaesth*. 2003;50:200-1.
36. Ishizuka B, Kurabayashi Y, Kobayashi Y, Hamada N, Abe Y, Amemiya A, et al. Stress responses during laparoscopy with CO₂ insufflation and with mechanical elevation of the abdominal wall. *J Am Assoc Gynecol Laparosc*. 2000;7:363-71.
37. The Japanese Association of Abdominal Wall Lifting for vs Laparoscopic Surgery. Comparison between CO₂ insufflation and abdominal wall lift in laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc*. 1999;13:705-9.
38. Iwanaka T, Arkovitz MS, Arya G, Ziegler M. Evaluation of operative stress and peritoneal macrophage function in minimally invasive operations. *J Am Coll Surg*. 1997;184:357-63.
39. Neuhaus SJ, Watson DL, Ellis T, Lafullarde T, Jamieson GG, Russell WJ. Metabolic and immunologic consequences of laparoscopy with helium or CO₂ insufflation: a randomized clinical trial. *ANZ J Surg*. 2001;71:447-52.