UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Cirugía

ANASTOMOSIS COLORRECTAL FACILITADA MEDIANTE EMPLEO DE DISPOSITIVO DE SELLADO TISULAR: ESTUDIO COMPARATIVO EN ANIMAL DE EXPERIMENTACIÓN

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Francisco Sánchez de Pedro

Bajo la dirección de los doctores

Antonio José Torres García
Carlos Moreno Sanz

Madrid, 2012

© Francisco Sánchez de Pedro, 2012

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA

TESIS DOCTORAL
MADRID 2012.

ANASTOMOSIS COLORRECTAL FACILITADA MEDIANTE EMPLEO DE DISPOSITIVO DE SELLADO TISULAR. ESTUDIO COMPARATIVO EN ANIMAL DE EXPERIMENTACIÓN.

Doctorando: Francisco Sánchez De Pedro.
Directores: Antonio José Torres García.
Carlos Moreno Sanz.

A mi familia por su apoyo,
comprensión y cariño.

AGRADECIMIENTOS

- Al Profesor Antonio José Torres García, director de la tesis, por su apoyo, sus consejos y observaciones, fundamentales para la finalización de este trabajo.

- Al Doctor Carlos Moreno Sanz, por haberme alentado a realizar esta tesis en cuya dirección ha participado, por su inestimable ayuda y confianza mostrada durante todo el tiempo que se ha necesitado para llevarla a cabo.

- Le agradezco a todos mis compañeros del Servicio de Cirugía el interés que han mostrado, así como el apoyo que de ellos he recibido durante todo este tiempo.

- A los profesionales del Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón de Cáceres, y en especial a la Doctora Idoia Díaz-Güemes Martín-Portugués, por su ayuda con la organización y la realización de las intervenciones, así como el manejo de los animales durante todo el proyecto.

- Al Doctor José María Tenias Burillo y junto con él a todo el equipo de la Unidad de Apoyo a la Investigación del Complejo Hospitalario Mancha Centro, por su ayuda en la planificación del estudio y en el manejo de los datos y su análisis estadístico.

- Al Doctor Juan Manuel Bellón Caneiro y a todo su equipo de laboratorio en la Facultad de Medicina de la Universidad de Alcalá de Henares, por su colaboración en los estudios funcionales y morfológicos de las muestras.

ÍNDICE **Nº Pág.**

1. INTRODUCCIÓN ……..…….…….……...…….....8

1.1. ANTECEDENTES ...……..... 11

1.2. LA ANASTOMOSIS DIGESTIVA ……..…..12

1.2.1. TIPOS DE ANASTOMOSIS……...…..……...…….....13

1.2.2. OPCIONES TECNICAS PARA CONFECCIÓN DE ANASTOMOSIS DIGESTIVAS ..…….....….....15

1.2.2.1. SUTURA MANUAL ...……..……...…….....16

1.2.2.1.1. Elección del material de sutura .....……...….....18

1.2.2.1.2. Sutura con puntos sueltos versus sutura continua .....……..... 19

1.2.2.1.3. Una línea de sutura versus dos líneas .....…….....…..19

1.2.2.2. SUTURA MECÁNICA ...……..…...……...…….... 20

1.2.2.3. MECANISMOS DE COMPRESIÓN ....…..……...22

1.2.2.3.1. Anillo anastomótico biofragmentable ...…….....…..... 24

1.2.2.3.2. AKA-2 …….....…..….. 26

1.2.2.3.3. Clip de nitinol ……...….……..... 27

1.2.2.3.4. Anillo EndoCAR. ……..……..... 29

1.2.2.3.5. Anastomosis por compresión magnética …...……..... 30

1.2.2.4. ANASTOMOSIS CON ADHESIVOS ...……..…….. 32

1.2.2.4.1. Adhesivos sintéticos de cianoacrilato ……..... 32

1.2.2.4.2. Adhesivos biológicos ……..... 35

1.2.2.5. TERMOFUSIÓN ……..…..... 37

1.2.2.5.1. Unión de tejidos biológicos mediante Láser .....……..... 37

1.2.2.5.2. Unión tejidos biológicos con energía eléctrica bipolar 39

1.3. BIOLOGÍA DE LA ANASTOMOSIS INTESTINAL ..……..... 43

1.3.1. ANATOMÍA MICROSCÓPICA DEL TUBO DIGESTIVO 43
1.3.1.1. Mucosa 43
1.3.1.2. Submucosa 45
1.3.1.3. Muscular 45
1.3.1.4. Serosa 46
1.3.2. LA REPARACIÓN DE LOS TEJIDOS 46
1.3.2.1. FASE DE HEMOSTASIA E INFLAMACIÓN 48
1.3.2.1.1. Hemostasia 48
1.3.2.1.2. Inflamación 50
1.3.2.2. FASE PROLIFERATIVA 53
1.3.2.2.1. Fibroplastia 53
1.3.2.2.2. Producción de matriz extracelular 55
1.3.2.2.3. Angiogénesis 56
1.3.2.2.4. Reepitelización 57
1.3.2.3. FASE MADURATIVA O DE REMODELACIÓN 59
1.3.3. LA CICATRIZACIÓN EN EL TRACTO INTESTINAL 61
1.4. PARÁMETROS EMPLEADOS PARA MEDIR EL PROCESO DE CICATRIZACIÓN EN EL TRACTO GASTROINTESTINAL 65
1.4.1. ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO MECÁNICO DE LA ANASTOMOSIS 67
1.4.2. ESTUDIO DEL COLÁGENO EN LA CICATRIZ 70
1.4.2.1. ESTUDIOS BIOQUÍMICOS 70
1.4.2.1.1. Determinación hidroxiprolina 70
1.4.2.1.2. Determinación de metaloproteasas 71
1.4.2.1.3. Otras determinaciones 71
1.4.2.2. METODOS MORFOLÓGICOS 71
1.4.2.2.1. Tinción de Van Gieson 71
1.4.2.2.2. Tinción con rojo sirio 72

1.4.2.2.3. Tinciones inmunohistoquímicas 73
1.5. LA ANASTOMOSIS COLORECTAL 74
1.5.1. PRINCIPALES TECNICAS DE ANASTOMOSIS COLORECTAL 75
1.5.1.1. Anastomosis termino-terminal manual 76
1.5.1.2. Anastomosis termino-terminal mecánica 77
1.5.1.3. Anastomosis latero-terminal mecánica 79
1.5.2. COMPLICACIONES DE LA ANASTOMOSIS COLORECTAL 80
1.5.2.1. DEHISCENCIA ANASTOMÓTICA 80
1.5.2.1.1. Incidencia 80
1.5.2.1.2. Mortalidad 82
1.5.2.1.3. Factores de riesgo de fracaso de la anastomosis 84
1.5.2.1.3.1. Factores preoperatorios 84
1.5.2.1.3.1.1. Sexo 84
1.5.2.1.3.1.2. Estado nutricional 85
1.5.2.1.3.1.3. Clasificación ASA 85
1.5.2.1.3.1.4. Esteroides 86
1.5.2.1.3.1.5. Radiación 86
1.5.2.1.3.1.6. Preparación mecánica del colon 86
1.5.2.1.3.2. Factores intraoperatorios 88
1.5.2.1.3.2.1. Isquemia 88
1.5.2.1.3.2.2. Tiempo operatorio 88
1.5.2.1.3.2.3. Técnica anastomótica 89
1.5.2.2. ESTENOSIS ANASTOMÓTICA 89

2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS 92
2.1. HIPOTESIS DE TRABAJO 93
2.2. OBJETIVOS 94
2.2.1. Objetivo primario 94

2.2.2. Objetivos secundarios 94

3. MATERIAL Y METODOS 95

3.1. DISEÑO: ESTUDIO EXPERIMENTAL ALEATORIZADO

EN MODELO ANIMAL PORCINO 96

3.1.1. ELECCIÓN DEL MODELO ANIMAL 97

3.1.2. JUSTIFICACIÓN DEL NÚMERO DE CASOS POR GRUPO (N) 99

3.1.3. ESTRATEGIA DE ASIGNACIÓN A LOS GRUPOS EXPERIMENTAL Y CONTROL 100

3.1.4. DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN 100

3.1.5. PERIODO DE SEGUIMIENTO Y SACRIFICIO 103

3.1.6. FINANCIACIÓN 106

3.1.7. EMPLAZAMIENTO FÍSICO 106

3.1.8. VARIABLES A ESTUDIO 107

3.2. MEDICIÓN DEL ÁREA DE SECCION DE LA ANASATOMOSIS 108

3.3. ESTUDIO DE LA RESISTENCIA BIOMECÁNICA 109

3.4. ESTUDIOS MORFOLÓGICOS. MICROSCOPÍA ÓPTICA 113

3.5. METODO ESTADÍSTICO 114

3.6. CONSIDERACIONES ÉTICAS Y LEGALES 115

4. RESULTADOS 117

4.1. MORTALIDAD 118

4.2. INCIDENCIAS OPERATORIAS 118

4.2.1. Tasa de conversión a cirugía abierta 118

4.2.2. Fallos en el sellado del muñón rectal 119

4.2.3. Fallos primarios en la sutura 121

4.2.4. Sangrado intraoperatorio de la anastomosis 122

4.2.5. Tiempo quirúrgico 122

4.2.6. Mortalidad intraoperatoria 122
4.3. PERIODO DE OBSERVACIÓN (Días 1 a 30) 123
4.3.1. Sangrado postoperatorio de la anastomosis 123
4.3.2. Dehiscencia de la anastomosis 124
4.3.3. Distancia al margen anal 126
4.3.4. Ganancia ponderal 127
4.3.5. Resultados analíticos 129
4.4. EXPLORACIÓN QUIRÚRGICA Y EXTRACCIÓN MUESTRAS 132
4.4.1. Adherencias 132
4.4.2. Abscesos 134
4.4.3. Estenosis 135
4.4.4. Área de sección de la anastomosis 136
4.5. ESTUDIO FUNCIONAL 136
4.6. ESTUDIO HISTOLÓGICO E HISTOQUÍMICO 140
4.6.1. ESTUDIO CELULAR 140
4.6.1.1. Reepitelización 140
4.6.1.2. Grado de inflamación 140
4.6.1.3. Microabscesos 140
4.6.2. TINCIÓN CON ROJO SIRIO 141
4.7. COSTE DE LAS INTERVENCIONES 143

5. DISCUSIÓN..... 144
5.1. LOS DISPOSITIVOS DE SELLADO MEDIANTE ENERGÍA BIPOLAR EN LA UNIÓN DE TEJIDOS BIOLÓGICOS.. 145
5.1.1. División de estructuras vasculares con fines de hemostasia..... 145
5.1.2. Unión de tejidos biológicos mediante energía eléctrica bipolar..... 146
5.1.2.1. División y cierre de parénquimas y estructuras no vasculares 146
5.1.2.2. Unión de tejido intestinal. 150

5.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS. 155

5.2.1. Observaciones generales 155

5.2.2. Evolución clínica de las anastomosis..... 157

5.2.3. Calidad de la cicatrización de la anastomosis 161

5.2.4. Valoración de los costes de ambos procedimientos. 163

5.3. CONSIDERACIONES FINALES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN.... 163

6. CONCLUSIONES 168

7. BIBLIOGRAFÍA 171

1. INTRODUCCIÓN

Los avances científicos y tecnológicos que surgen continuamente se incorporan de forma paulatina en el proceder médico habitual, contribuyendo a la mejora de la salud, facilitando la labor médica y siendo a su vez estímulo y base para nuevos progresos. La introducción de fármacos, materiales, instrumentos, aparatos e incluso nuevos conceptos en el ámbito de la práctica médica implica que éstos hayan sido sometidos a un control previo de forma adecuada, con modelos experimentales que ofrezcan datos fiables con los que extrapolar los posibles beneficios y riesgos antes de usarlos en poblaciones humanas.

Por modelo experimental se entiende cualquier sistema lógico, físico o biológico capaz de simular total o parcialmente el proceso que pretendemos estudiar [1]. Dichos modelos, deberán ser lo más parecidos a la realidad, y permitir la reproducción de la experiencia de forma sistemática. Gracias al desarrollo científico y tecnológico actual disponemos de diversos tipos de modelos como modelos matemáticos de simulación por ordenador, modelos físicos o mecánicos y modelos biológicos (cultivos celulares y tisulares, órganos aislados, animales completos y finalmente el propio ser humano). Así es que en ocasiones podemos emplear otros medios además del animal de experimentación como fuentes de conocimiento en fisiopatología y de este modo evitamos sufrimientos innecesarios o al menos disminuimos el número de animales destinados a esta finalidad. Pese a todo, aun a día de hoy, en el ámbito de las ciencias biológicas, el empleo de animales sigue constituyendo un aspecto fundamental a la hora de desarrollar diseños experimentales con los que estudiar la respuesta biológica, puesto que ni siquiera la tecnología más sofisticada puede imitar las complicadas interacciones entre células, tejidos y órganos que se dan en humanos y animales [2]. Estos suelen representar el paso previo a la experimentación en humanos ya que suponen el nivel más

alto de complejidad de todos los modelos experimentales y por tanto el más próximo al humano.

En el ámbito de la cirugía son muchos los avances que se han venido produciendo en los últimos años en aspectos tales como materiales protésicos, dispositivos y materiales para hemostasia o procedimientos de abordaje menos invasivos. Con la irrupción en la práctica quirúrgica de vías de abordaje mínimamente invasivas, han surgido nuevas dificultades técnicas a la hora de realizar las diferentes maniobras quirúrgicas, entre ellas la creación de anastomosis, lo que demanda el desarrollo de instrumentos específicos que faciliten los gestos quirúrgicos.

En este trabajo se pretende comprobar la seguridad del empleo de un dispositivo de sellado tisular mediante energía bipolar en el cierre y sección del colon durante la realización de la anastomosis colorrectal.

La anastomosis intestinal constituye uno de los pilares esenciales de la cirugía digestiva y aun así, sigue siendo todavía una fuente de problemas relevante por sus complicaciones. La dehiscencia de una anastomosis cólica supone un problema clínico de primera magnitud. Pone en riesgo la vida del enfermo aumentando la mortalidad y morbilidad del proceso de forma significativa y representa un aumento de las estancias y los costes, con el consiguiente consumo de recursos. Por lo tanto, antes de utilizar en su confección algún material o dispositivo nuevo, éste deberá someterse a ensayos que comprueben su eficacia y seguridad. Deberán analizarse de manera esencial los aspectos relativos a la morbimortalidad de las anastomosis creadas con el dispositivo propuesto, pero también revisten interés otros aspectos como conocer los resultados funcionales de estas anastomosis y sus características morfológicas. Por último, deben considerarse los aspectos económicos, dado que habitualmente, la difusión en el empleo de un nuevo producto debe enfrentarse con el aumento de costes del procedimiento.

1.1 ANTECEDENTES

Desde que cirujanos como Travers, Lembert o Halsted establecieran los principios básicos de las anastomosis intestinales durante el siglo XIX y principios del XX, la sutura manual se ha mantenido hasta fechas recientes como el método estándar a la hora de unir dos segmentos intestinales. Aunque sigue siendo así en muchas ocasiones, en las últimas tres décadas las suturas mecánicas se han ido imponiendo progresivamente, sobre todo en situaciones como las anastomosis colorrectales o las esófagoyeyunales en las que la exigencia técnica es mayor. A ello han contribuido a su vez el desarrollo tecnológico de los mecanismos de grapado y la implantación de abordajes como la vía laparoscópica que precisan del desarrollo de instrumentos que faciliten los gestos quirúrgicos.

En los últimos años se han desarrollado dispositivos que empleando energía eléctrica bipolar presentan capacidad de sellar tejidos como el dispositivo de sellado LigaSure® (Valleylab, Boulder, CO, USA). Múltiples trabajos tanto en animales como en humanos avalan el empleo de estos dispositivos para el sellado de vasos arteriales y venosos. En la actualidad este tipo de dispositivos se emplean en la práctica diaria en numerosos procedimientos quirúrgicos para el control de mesos y pedículos vasculares de diversos órganos sin necesidad de emplear ligaduras ni clips [3-6].

Esta propiedad se ha estudiado y empleado también para realizar secciones de parénquimas como el hepático, tiroideo o pulmonar. En cirugía tiroidea se ha empleado, además de en el control vascular de los pedículos tiroideos, para la sección del parénquima a nivel del istmo tiroideo en las hemitiroidectomías [7]. El dispositivo LigaSure® se ha mostrado efectivo para la transección del parénquima hepático [8-10]. Estudios experimentales con cerdos muestran asimismo que el dispositivo LigaSure® es capaz de sellar el conducto cístico durante la colecistectomía [11,12], lo que ha llevado a

ensayar esta posibilidad en humanos [13,14]. En cirugía torácica se ha empleado en la sección de parénquima pulmonar en animales, comprobándose un cierre seguro [15]. En estudios en animales y humanos, el sellado bronquial muestra buenos resultados en bronquios pequeños, menores de 3mm [16]. Basándose en estos resultados algunos autores sugieren que el LigaSure® es un sistema adecuado para resecciones pulmonares [16-18].

En cirugía digestiva, ese han practicado apendicectomías en conejos y ratas [19-21]. En 2004 se publicó una serie 60 pacientes con apendicitis en los que se había sellado el muñón apendicular con energía bipolar [22]. Recientemente se ha especulado sobre la posibilidad de utilizar la capacidad de estos dispositivos de sellar tejidos en la realización de anastomosis intestinales[23-25]. Con respecto al empleo del LigaSure® en cirugía intestinal la experiencia publicada es muy escasa. Varios estudios con animales han comprobado que es factible realizar anastomosis de segmentos de intestino delgado en animales de experimentación [23-25], pero no se han comparado sus resultados con los obtenidos con las técnicas habituales. En humanos se ha empleado en la sección y cierre temporal del intestino delgado en la hemicolectomía derecha [26] y en la realización de bypass gástrico sin utilización de endograpadoras [27-29].

1.2. LA ANASTOMOSIS DIGESTIVA.

El término anastomosis se emplea en el campo de las ciencias biológicas para referirse a la unión de unos elementos anatómicos con otros de la misma planta o del mismo animal. La unión de segmentos del tubo digestivo constituye un elemento esencial de la cirugía digestiva. Tiene como objetivo restituir el tránsito, para lo cual dicha unión debe permanecer estanca y dejar un paso adecuado a su través. De no ser así

se presentan complicaciones como la salida de contenido intestinal a la cavidad abdominal o la obstrucción.

Para minimizar el riesgo de complicaciones es esencial observar unos principios fundamentales durante su realización. Los principales, descritos clásicamente son, que la sutura tenga los bordes bien irrigados, bien enfrentados y sin que exista tensión en la misma [30]. Sin embargo, aunque estos principios sean válidos para todas las anastomosis digestivas, además de los factores locales hay otros aspectos que se deben considerar.

Por un lado están los aspectos anatómicos y fisiológicos. No todos los segmentos del tubo digestivo se comportan igual cuando se confecciona una anastomosis, no todos tienen la misma carga y determinadas localizaciones presentan una mayor dificultad a la hora de hacer la anastomosis. Asimismo existen aspectos sistémicos como defectos nutricionales, enfermedades, o toma de fármacos, que pueden alterar su proceso de cicatrización.

Por otro lado están los aspectos relacionados con las opciones técnicas y los materiales empleados para conseguir esa unión. Estos constituyen aun hoy un aspecto controvertido de discusión, y sin duda parte de los problemas que presentan las anastomosis están directamente relacionados con ellos.

1.2.1. TIPOS DE ANASTOMOSIS

Podemos clasificar las anastomosis digestivas de acuerdo a diversos criterios. En primer lugar, las anastomosis pueden clasificarse de acuerdo a los segmentos del tracto digestivo interesados en la unión. De este modo podemos hablar de anastomosis esófago-gástrica, esófago-yeyunal, colo-esofágica, gastro-duodenal, gastro-yeyunal, intestinales, ileocólicas, colónicas, colorrectales, coloanales, ileoanales, etc. Esta forma

de clasificación es importante pero, como se verá más adelante, cuando se quieren comparar los resultados de diferentes series puede resultar insuficiente. En el caso de las anastomosis colorrectales por ejemplo, el nivel al que esta se realiza puede influir en los resultados, ya que se presentan más complicaciones cuanto más baja es su ubicación. Si embargo no hay un criterio unificado en este sentido.

Si consideramos la forma en la que se abocan los extremos en la reconstrucción del tránsito digestivo podemos hablar de anastomosis termino-terminales, anastomosis termino-laterales, anastomosis latero- terminales o anastomosis latero-laterales. Dependiendo de la situación, las circunstancias anatómicas y la experiencia el cirujano éste optará por el recurso que considere más conveniente ya que no hay evidencia que favorezca claramente una de ellas. Por lo general, las anastomosis término-terminales pueden realizarse cuando los dos cabos de intestino tienen un diámetro parecido, por lo que son frecuentes en las reconstrucciones colorrectales, y las anastomosis látero-terminales o término-laterales en casos de disparidad de calibre, como ocurre en las anastomosis ileocólicas o ileorrectales [31]. Algunos autores han descrito mejores resultados con anastomosis del tipo látero-lateral mecánica en pacientes con enfermedad de Crohn en términos de dehiscencia y recidiva anastomótica [32, 33].

Según la técnica que empleemos en su confección podemos hablar de anastomosis mediante sutura manual, sutura mecánica (grapadora), mecanismos de compresión, pegamentos biológicos y termofusión.

1.2.2. OPCIONES TECNICAS PARA CONFECCIÓN DE ANASTOMOSIS DIGESTIVAS.

Para la confección de las anastomosis habitualmente se realiza la sutura de los bordes intestinales, que puede hacerse de forma manual con hilos de diversos materiales o mecánica con grapas.

Hasta el momento no se ha demostrado una clara ventaja de un tipo sobre otro en los distintos estudios publicados. En 1998 Mc Rae publicó un primer metaanálisis [34] comparando las suturas manuales frente a las suturas mecánicas en cirugía colorrectal en el que no se encontraron diferencias entre ambos métodos salvo una mayor tasa de estenosis en las anastomosis con grapadora. En otra revisión sistemática de anastomosis colorrectales en la que se recogen nueve ensayos controlados aleatorizados (1233 pacientes, 622 sutura con grapas y 611 técnica manual), se comparó la seguridad y efectividad de la anastomosis con sutura con grapas versus la técnica manual. Las variables consideradas fueron: mortalidad, dehiscencia de la anastomosis, estenosis, hemorragia, reintervención, infección de la herida, duración de la anastomosis (tiempo requerido para realizar la anastomosis) y estancia hospitalaria. No se encontró ninguna diferencia significativa, salvo que la estenosis fue más frecuente cuando se usaron grapas y que el tiempo requerido para realizar la anastomosis fue mayor con la técnica manual. El estudio concluye que las pruebas encontradas no son suficientes para demostrar que la técnica de sutura con grapas sea superior a la sutura manual[35]. Sin embargo, en otra revisión sistemática de seis ensayos controlados aleatorizados con un total de 955 participantes (357 con grapas, 598 con sutura manual) que comparaban estos dos métodos en la anastomosis ileocólica, la tasa de fuga anastomótica para la anastomosis con grapadora fue del 1,4%, significativamente inferior que la sutura manual con un 6% ($p = 0,02$), por lo que concluyen que el empleo de grapas se

acompaña de una tasa de fuga anastomótica inferior comparada con la técnica de sutura manual, en particular en la cirugía realizada para el cáncer intestinal. No se hallaron diferencias significativas en las otras medidas de resultado como estenosis, hemorragia anastomótica, tiempo anastomótico, nueva operación, mortalidad, absceso intraabdominal, infección de la herida o estancia hospitalaria [36].

El hecho es que las suturas mecánicas se han ido imponiendo progresivamente en las últimas tres décadas, en especial en situaciones como las anastomosis colorrectales o las esófagoyeyunales donde la dificultad técnica es mayor[37- 47]. A ello ha contribuido sin duda la implantación de abordajes menos invasivos como la vía laparoscópica, donde las suturas mecánicas facilitan la realización de anastomosis que de otro modo de hacen muy complicadas.

Aparte de las suturas manuales y los dispositivos de grapado se han desarrollado varios mecanismos de sujeción mecánica por compresión, con una historia paralela al desarrollo de la sutura manual, pero que no han conseguido demasiada difusión y su uso regular en el tratamiento de pacientes se limita a determinados grupos [48-81]. En el plano experimental se han ensayado lo cierres con pegamentos sintéticos y biológicos y mediante fusión de los bordes de las heridas por medio de calor, empleando para ello fuentes como el láser o energía eléctrica bipolar [82-151].

1.2.2.1. SUTURA MANUAL

La primera anastomosis intestinal documentada la realizó Philipp Friedrich Ramdohr en 1727. Tras resecar a una paciente parte del paquete intestinal necrosado en una incarceración herniaria, unió los extremos telescopando un extremo dentro del otro con puntos en U. La técnica no se difundió y siguió practicándose la realización de enterostomías para resolver situaciones como heridas penetrantes con lesión visceral o

estrangulaciones herniarias. Para la mayoría de los autores, sin embargo, la edad moderna de las anastomosis digestivas comienza en 1812 con el trabajo de Travers [37] donde recomienda la anastomosis termino-terminal del intestino mediante sutura con los bordes evertidos. Posteriormente otros cirujanos fueron introduciendo modificaciones y conceptos hasta llegar al conocimiento actual de la anastomosis manual. Lembert en 1826 describió el principio de la sutura invirtiendo los bordes del intestino usando puntos sobre la serosa[38]. Pese a los avances en el conocimiento de la anastomosis intestinal, ésta siguió siendo poco empleada en el tratamiento de los pacientes durante el siglo XIX hasta sus años finales en los que comienza su difusión apoyada en dichos conocimientos junto con otros avances como el concepto de asepsia, introducido por Joseph Lister en 1827 y la introducción de la anestesia en 1846 por William Morton. Czerny en 1882 recomendó hacer todo el cierre intestinal en dos planos. Su aportación fue ampliamente aceptada y durante décadas se convirtió en el estándar[39]. En 1887 Halsted escribió un artículo del cual han derivado muchos principios usados actualmente en las anastomosis intestinales. Entre ellos el de reconocer que la submucosa supone el soporte principal de la pared intestinal y es el plano capaz de soportar los puntos de sutura sin sufrir desgarros.

En la actualidad, la sutura manual forma parte fundamental en la actividad del cirujano digestivo. Sin embargo hay aspectos que siguen siendo objeto de debate como cual es el material más adecuado, las ventajas e inconvenientes de las suturas con puntos sueltos frente a las continuas o si emplear una o dos capas de sutura. Estos aspectos hoy día se dejan a la elección del cirujano, en función generalmente de la experiencia que éste tenga.

1.2.2.1.1. Elección del material de sutura.

Los hilos utilizados en la sutura presentan dos inconvenientes. Por un lado que el organismo los reconoce como algo extraño, generando rechazo, y por otro, el riesgo de que en ellos aniden microorganismos. La sutura ideal sería aquella que no genera rechazo y por tanto no causa inflamación, manteniendo la adecuada tensión durante el proceso de cicatrización, sin riesgo de contaminación al pasar por los tejidos y que proporcione un manejo sencillo. Esta sutura aun no existe pero las nuevas suturas monofilamento o trenzadas recubiertas, absorbibles de larga evolución caminan en esa dirección y suponen un avance sobre las suturas clásicas.

Entre los materiales de sutura no absorbible que se emplean con más frecuencia están la seda, el nylon y el polipropileno. La cualidad que favorece su uso en las anastomosis gastrointestinales es el mantenimiento prolongado de la resistencia a la tracción, lo que excluye el fracaso del material de sutura como causa de dehiscencia.

Entre las suturas absorbibles más empleadas están el ácido poliglicólico, poliglactin 910, PDS, y poligliconato. Su uso en las anastomosis gastrointestinales se justifica por el ritmo rápido de curación de los tejidos intestinales, que requiere que mantengan una determinada fuerza ténsil en la sutura únicamente durante un corto periodo de tiempo. Las suturas sintéticas se degradan por hidrólisis, que no se ve afectada por las enzimas presentes en un ambiente inflamatorio o infectado. Posteriormente el material es absorbido con lo que se elimina el cuerpo extraño residual que se ve con suturas no absorbibles que induce una reacción tisular más fuerte.

Las suturas monofilamento tienen la ventaja sobre las suturas multifilamento de no proporcionar un soporte donde los organismos puedan proliferar inmunes a los antimicrobianos [40].

1.2.2.1.2. Sutura con puntos sueltos versus sutura continua

Habitualmente se emplean ambos tipos de sutura en la creación de anastomosis intestinales. Estudios tanto retrospectivos [41, 42] como prospectivos [43] no han demostrado ventajas de la sutura con puntos sueltos sobre la sutura continua. Los defensores de esta última argumentan disminución de los tiempos quirúrgicos y reducción de costes. Los defensores de las suturas con puntos sueltos se basan sobre todo en que estas ocasionan menos isquemia en los bordes de la herida. Estudios con animales indican una disminución significativa de la tensión de oxígeno en los tejidos alrededor de la anastomosis con la sutura continua [44]. También se ha descrito con la sutura continua una tasa mayor de complicaciones y una discapacidad en la síntesis de colágeno y la cicatrización de la anastomosis en un modelo con rata [45].

1.2.2.1.3. Una línea de sutura versus dos líneas.

Esta es otra fuente de desacuerdo entre los cirujanos, que enfrentan las ventajas con las deficiencias que ambas técnicas presentan y que podrían poner en peligro la anastomosis. La técnica en dos planos empleada habitualmente supone una capa interna con sutura en puntos sueltos o continuos para enfrentar e invertir los bordes y una capa externa sero-serosa de puntos sueltos de refuerzo con intención de aumentar la estanqueidad y disminuir la tensión sobre la línea de sutura anterior. La sutura en un solo plano tendría las ventajas potenciales de consumir menos tiempo en su realización, generar menos reacción de cuerpo extraño, menor isquemia y un coste menor. Defensores de la sutura monoplano argumentan también que se traduce en una mayor luz con menos daño a los bordes del tejido. Series publicadas comparando ambas opciones técnicas no demuestran que hubiera mayor riego de dehiscencias con una u otra opción [43, 46].

1.2.2.2. SUTURA MECÁNICA

Las suturas mecánicas con utilización de grapas surgen a principios del siglo XX [39, 47,48]. En 1908 el cirujano húngaro Humer Hültl y el ingeniero alemán Víctor Fischer diseñaron el primer dispositivo destinado a este fin, que se empleó en el cierre gástrico. El primer caso fue comunicado el 29 de mayo del mismo año ante la Sociedad de Cirugía de Hungría. En 1921, Von Petz presentó ante la misma Sociedad otro instrumento que podía ser utilizado en el estómago o el colon. En la década de 1950, ingenieros y cirujanos del Instituto de Investigación Científica de Aparatos e Instrumentos para Cirugía Experimental de Moscú construyeron instrumentos para la colocación de grapas metálicas con diversos modelos tanto para suturas lineales como circulares. En 1960 fue presentado el aparato PKS 25 que realizaba anastomosis circulares entre dos cabos intestinales y, poco tiempo después, el PKS 28 cuyo mayor diámetro permitió su utilización para anastomosis colónicas. Estos fueron los primeros dispositivos que incorporaron una cuchilla para seccionar los tejidos interpuestos. A finales de los años 60, la United States Surgical Corporation inició el desarrollo de instrumentos capaces de realizar cierres viscerales, basándose en los modelos rusos con el asesoramiento de Ravitch y Steichen. En 1977 se presentó el dispositivo EEA que permite confeccionar anastomosis intestinales.

Las principales ventajas que se atribuyen a las suturas mecánicas son que las grapas de titanio causan menos rechazo e inflamación que los hilos de sutura, una mayor rapidez en la confección de las anastomosis con la consiguiente disminución de los tiempos quirúrgicos y que posibilitan o hacen más fáciles su realización en determinadas localizaciones como el esófago o el recto. Entre las desventajas se han mencionado un mayor riesgo de sangrado de la línea de sutura y una tasa mayor de estenosis [34, 35]. Aparte de ello, un inconveniente importante de este tipo de aparatos es su coste, mucho

más elevado que el de la sutura manual, lo que hace considerar que, en localizaciones donde las anastomosis manuales sean igual de seguras, su empleo su empleo deba estar justificado.

Tipos de grapadoras.

Habitualmente se usan tres tipos de grapadoras para hacer anastomosis intestinales:

- **Grapadota tipo TA (transverse anastomosis):** Es la más sencilla. Coloca dos líneas paralelas de grapas con forma de B escalonadas a través de la víscera pero no la secciona.
- **Grapadora tipo GIA (gastrointestinal anastomosis):** Coloca dos líneas dobles de grapas con forma de B a la vez que secciona entre ambas.
- **Grapadora tipo EEA o CEEA (circular end-to-end anastomosis):** Coloca una doble línea de grapas en círculo y después corta el tejido por dentro del círculo de grapas.

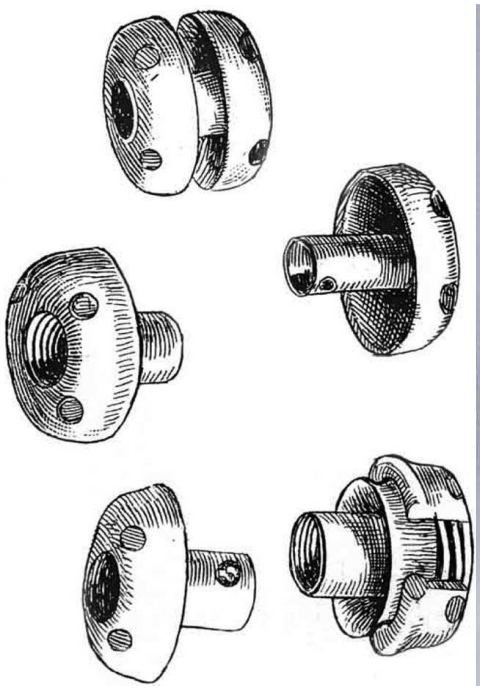
Este tipo de aparatos se encuentran disponibles en varias longitudes y diámetros, que permiten elegir conforme a las características de los segmentos a unir. Se pueden emplear para realizar anastomosis tanto término-terminales como latero-laterales.

Las grapadoras tipo TA y tipo GIA están disponibles con diferentes tipos de grapas que varían en su anchura, la profundidad de la grapa cerrada y la distancia entre las grapas, diseñadas para ser usadas en distintos tejidos. Es fundamental elegir adecuadamente el tipo de grapa para cada tejido ya que la profundidad de la grapa debe ajustarse lo más adecuadamente posible al espesor del tejido para evitar sangrados si queda demasiado holgada (sobre todo en casos de cierres vasculares) o isquemia si comprime en exceso.

En los últimos años se han publicado variantes técnicas de su utilización y se han desarrollado nuevos aparatos que facilitan la ejecución de anastomosis laparoscópicas.

1.2.2.3. MECANISMOS DE COMPRESIÓN

El desarrollo de los dispositivos para anastomosis intestinales por compresión ha seguido una historia paralela a la de las anastomosis mediante sutura si bien no ha alcanzado por ahora el mismo éxito ni difusión. En 1826, en su tesis doctoral, Henroz describe por vez primera la realización con éxito de anastomosis intestinales por compresión en perros. En febrero de ese mismo año, en la reunión de la Societe Royale de Medicine en Marsella, Denans introdujo el concepto de anastomosis por compresión mediante la realización de una anastomosis término-terminal utilizando un anillo metálico (plata o zinc) en un modelo canino, resultado que fue publicado en 1827 [48]. Aunque algunos investigadores registraron casos de éxito en animales y también en algún paciente con el método de Denans, su empleo no se popularizó, entre otras razones porque por esas fechas Lembert introdujo el concepto de la anastomosis mediante sutura invertida del intestino. Sin embargo la línea de investigación siguió y nuevos dispositivos fueron desarrollados como el desarrollado por Bonnier en 1885 con cilindros de madera con puntas metálicas para anastomosis termino-terminales con inversión de la pared intestinal, los discos de hueso decalcificado de Nicholas Senn o el denominado “botón de Murphy” en 1892 (figuras 1, 2).



Figuras 1 y 2. Botón de Murphy. De Aggarwal et all. Compression anastomoses revisited. J Am Coll Surg. 2005 Dec;201(6):965-71 [47]

El "botón de Murphy" consistía en 2 piezas metálicas semiesféricas con un orificio central en la punta y un tallo hueco. Ambas piezas se mantenían en los bordes del asa intestinal o en la enterostomía (en caso de suturas laterales) mediante una sutura en bolsa de tabaco, luego se telescopaban los tallos de una pieza en la otra induciendo la necrosis en el sitio de la anastomosis[47]. Este dispositivo si que fue ampliamente aceptado y empleado incluso por los más famosos cirujanos como Halsted, surgiendo después una variedad de dispositivos que representaban modificaciones del mismo y que han seguido empleándose hasta quizá la segunda década del siglo XX[48]. Su principal limitación fueron las obstrucciones anastomóticas, complicación relativamente común a causa ya sea de la estrecha luz del dispositivo o a una estenosis tardía.

Posteriormente el concepto se ha seguido investigando. En la década de 1980 se usó un dispositivo que consistía en 2 anillos magnéticos para las anastomosis intestinales. Más recientemente se han descrito otros dispositivos como el AKA-2 para

la cirugía colorrectal, el anillo anastomótico biofragmentable Valtrac o las anastomosis por compresión utilizando aleaciones con memoria de forma de níquel-titanio como un clip (Compression Anastomosis Clip o CAC) o como un anillo (Compression Anatomosis Ring o CAR) [47,49].

1.2.2.3.1. Anillo anastomótico biofragmentable (Valtrac™ BAR).

Este dispositivo se compone de dos segmentos que contienen ácido poliglicólico (87,5%) y sulfato de bario (12,5%). Cada anillo se coloca en un extremo intestinal con la ayuda de una sutura en bolsa de tabaco y entonces se cierra el dispositivo. Los dos segmentos se entrelazan dejando entre los bordes en posición abierta un espacio de 6 mm y en posición cerrada una brecha de 1,5 mm, 2 mm o 2,5 mm para dar cabida a diferentes grosores de pared intestinal y limitar así la cantidad de necrosis de los tejidos. Se presenta en una gama de tamaños de 25, 28, 31 y 34 mm. Entre dos y tres semanas tras la operación los anillos se fragmentan y pasan a las heces, dando como resultado una anastomosis intestinal invertida sero-serosa sin suturas[47, 49].

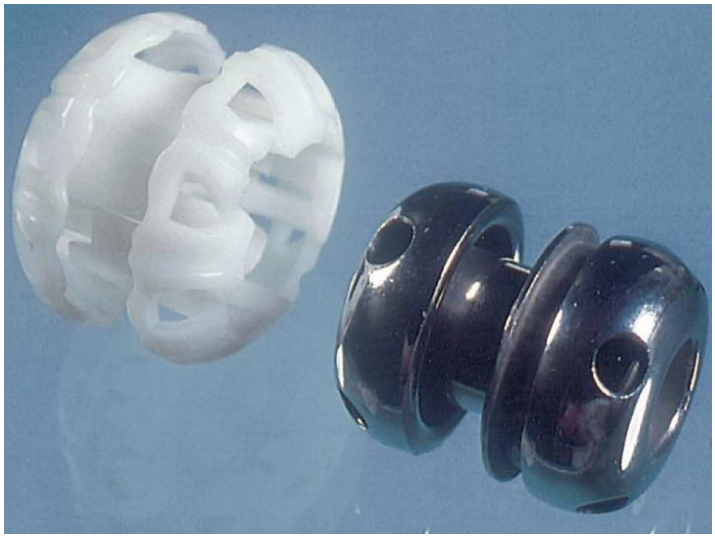


Figura 3. Anillo anastomótico biofragmentable junto con botón de Murphy

Ha sido utilizado para la construcción de diversos tipos de anastomosis, incluidos procedimientos tanto de la parte superior como inferior del tracto gastrointestinal.

En 1985, Hardy et al publicaron un primer estudio con animales de gran tamaño (perros y cerdos) comparando sutura, grapas y anastomosis con BAR. Describen que las anastomosis con BAR se realizaron con mayor facilidad y rapidez que los otros dos grupos. Las presiones de estallido no mostraron diferencias reseñables y el examen microscópico reveló menor cantidad de necrosis de los tejidos para el grupo con BAR[50]. Tras esta experiencia inicial, en 1987, publicaron los resultados de los primeros 27 pacientes sometidos a anastomosis colorrectal con este dispositivo. Según informaron no tuvieron dificultades asociadas con la técnica anastomótica. Se produjo un deceso no relacionado con la técnica y uno de los pacientes desarrolló una estenosis por isquemia que requirió intervención. Describen una mayor rapidez de ejecución y facilidad para hacer la anastomosis y una mejor curación[51].

Después se han ido publicando muchos estudios prospectivos con el dispositivo, incluyendo circunstancias como la urgencia quirúrgica y el abordaje laparoscópico[52-64]. Los informes habitualmente han sido satisfactorios, aunque se han comunicado dificultades intraoperatorias algunas de las cuales podrían deberse a la curva de aprendizaje del cirujano. También hay informes de quejas de los pacientes de tenesmo e incremento del ritmo de deposiciones antes de la expulsión del dispositivo que suele producirse a las 2-3 semanas. En líneas generales los resultados de morbimortalidad de estos estudios no muestran diferencias respecto a los resultados con sutura manual o mecánica y las tasas de fugas descritas están dentro de los niveles equiparables. Un ensayo multicéntrico prospectivo de seis centros en Alemania y Austria, en el que se analizan 1666 anastomosis realizadas con esta técnica a diferentes niveles del tracto digestivo presentó una tasa global de dehiscencias con estudio radiológico del 2,88% y

del 2.04% considerando solo la clínica. En el mismo estudio de 448 anastomosis colónicas y colorrectales se detectaron 33 casos de dehiscencia radiológica (7.37%) y 20 pacientes con parámetros clínicos (4.46%) [65].

Aunque el anillo biofragmentable fue diseñado inicialmente para anastomosis colónicas, las anastomosis rectales bajas con el mismo se consideran difíciles porque no existe un dispositivo de ayuda para efectuar la anastomosis con un muñón rectal corto en una pelvis estrecha, siendo técnicamente difícil usar en una resección anterior baja.

1.2.2.3.2. AKA-2

En 1984, Kanshin et al desarrollaron el dispositivo AKA-2 (Seidel Medipool, Munich, Alemania) para el abordaje transanal para las anastomosis por compresión [47,49]. Su funcionamiento es similar al de las grapadoras endoanales, los bordes del intestino son comprimidos juntos con unos anillos intraluminales que se sujetan con pinchos metálicos. Una cuchilla circular corta el centro del manguito de intestino. Tras 4-6 semanas los anillos y los márgenes comprimidos se separan de la anastomosis y se eliminan con las heces. Los tamaños de anillo de plástico tienen varios tamaños: 25, 28 y 31 mm.

La mayoría de la literatura está en ruso o alemán. Hay un informe en inglés de la utilización de este dispositivo[66]. Se trata de una revisión prospectiva de 442 pacientes sometidos a cirugía colorrectal por enfermedad tanto benigna como cancerosa en el que se encontró una tasa general de complicaciones del 5,4%. Desarrollaron características clínicas de una fuga de la anastomosis 11 pacientes (2,5%). Catorce de los 442 pacientes fallecieron (3,2%), de los cuales tres casos estaban relacionados con fuga anastomótica (0,7%). Entre los 442 pacientes que se sometieron a anastomosis AKA-2 sólo dos pacientes desarrollaron estenosis.

1.2.2.3.3. Clip de nitinol para anastomosis por compresión.

El nitinol es una aleación de níquel y titanio con memoria de forma dependiente de la temperatura, que se ha utilizado en la formación de anastomosis por compresión. Se ha utilizado sobre todo para prótesis vasculares, aparatos de ortodoncia, y para la fijación interna de fracturas óseas por su capacidad de proporcionar una compresión controlada con una fuerza constante. El dispositivo mediante clip para anastomosis por compresión de nitinol (CAC) de Niti Medical Technologies consiste en un doble anillo de esta aleación al cual se da forma a altas temperaturas. Cuando se enfría a menos de 0º C, pierde su rigidez y se convierte en flexible (estado abierto), tiene entonces un diámetro de 30 mm y un ángulo de apertura de 30 grados. En este estado, se aplica en el intestino. Después de la aplicación, la temperatura del dispositivo se eleva gradualmente, y a temperatura ambiente o superior, vuelve a su configuración rígida con la forma programada (estado cerrado) comprimiendo los bordes intestinales con una presión uniforme que produce isquemia controlada y necrosis. Después de aproximadamente una semana, el anillo es expulsado. El diámetro interno de los anillos es de 8 mm, y es atravesado por una cuchilla incorporada en el aplicador para restaurar la continuidad intestinal en el período inicial.

En el año 2000 Nudelman et al.[67] presentaron su informe sobre el empleo del anillo de níquel-titanio para realización de anastomosis en un modelo animal canino. Practicaron anastomosis latero-laterales, termino-laterales y termino-terminales a nivel gastrointestinal, intestinal y colo-colónicas. No refieren dehiscencias ni diferencias en la función intestinal respecto a los controles. El estudio microscópico mostró la formación de una línea anastomótica uniforme, completamente reepitelizada, con mínima inflamación, sin reacción a cuerpo extraño y con muy poco tejido cicatricial en la línea

anastomótica. En 2002 el mismo autor publicó la experiencia en la realización de anastomosis en pacientes. El estudio incluyó a 20 pacientes programados para resecciones de colon, de los cuales 10 se sometieron a anastomosis con la CAC y otros 10 a anastomosis con grapado. Refieren que no encontraron dehiscencias, ni complicaciones asociadas con el dispositivo [68]. En 2004 publicaron un trabajo con anastomosis de colon en cirugía laparoscópica, en el que tampoco describen complicaciones asociadas a la técnica [69]. Finalmente en 2005 presentaron un ensayo aleatorizado comparando las anastomosis colónicas de pacientes tratados por enfermedad neoplásica. De 60 casos 30 se realizaron con el anillo NiTi y 30 mediante grapadora. Ninguno de los pacientes presentó dehiscencias ni obstrucción [70].

Aparte del grupo de Nudelman se ha publicado un ensayo controlado aleatorizado que utiliza el dispositivo CAC en la anastomosis del intestino delgado. Esta anastomosis se llevó a cabo en 33 de 66 pacientes, con otros 33 pacientes como grupo control para quienes se construyó una anastomosis mecánica. La indicación principal fue el cáncer gástrico en ambos grupos. Los autores no encontraron complicaciones post-operatorias, en término de fuga, obstrucción, sangrado, o estenosis después de seis meses de seguimiento [71].

Un de los principales inconvenientes de este dispositivo es la necesidad de realizar una pequeña enterotomía para su introducción que luego debe cerrarse mediante sutura.

1.2.2.3.4. Anillo endoluminal para anastomosis por compresión EndoCAR

El anillo de compresión endoluminal anastomótica, EndoCAR, utiliza dos anillos sintéticos separados que se montan en un instrumento muy similar a una grapadora circular (figura 4). El yunque que contiene un anillo se fija al extremo intestinal proximal, y el instrumento aplicador con el otro anillo se inserta transanal para la anastomosis rectal. Los anillos se traban por resortes de Nitinol que ejercen la presión deseada con una fuerza controlada y constante. Una cuchilla circular reseca el tejido excedente. Se inicia entonces el proceso simultáneo de necrosis y curación, y al final de este proceso, en siete a diez días, dispositivo es expulsado con las heces.

Figura 4. ColonRing® (CAR® 27). Anillo, yunque, Aplicador y cargador del anillo.

Dos publicaciones valoran en un modelo animal porcino el empleo del dispositivo en anastomosis colorrectales [72, 73] con buenos resultados en cuanto a las características radiológicas, mecánicas e histológicas en las anastomosis creadas. En 2001 se han publicado dos ensayos con pacientes. Buchberg et al[74] presentan un estudio piloto prospectivo aleatorizado de 23 pacientes en los que se empleó el aparato tras realización de colectomía izquierda. Describen 2 estenosis postoperatorias que requirieron dilatación con balón y un caso de dehiscencia parcial de la anastomosis que precisó reintervención. Dauser et al presentan una serie prospectiva no randomizada de 62 pacientes a los que por vía laparoscópica o abierta se les realizó cirugía colorrectal por causas diversas[75]. No tuvieron dehiscencias por causa de la compresión. Un paciente falleció por sepsis secundaria a fuga de un pouch en "J" colónico. En las resecciones ultra bajas una cuarta parte de los pacientes presentaron dolor por el anillo. Según los autores estos prometedores resultados demuestran que este dispositivo podría ser un invento revolucionario en la práctica colorrectal, aunque todavía hay dudas sobre su eficacia en la anastomosis rectal ultrabaja donde la ubicación del anillo por encima del suelo pélvico puede inducir sensación de urgencia anal persistente. También han encontrado alguna dificultad en la eliminación del anillo en los pacientes derivados.

1.2.2.3.5. Anastomosis mediante compresión magnética.

Se han empleado dispositivos de compresión magnética en anastomosis biliares y vasculares [76-79], también se han ensayado en anastomosis de colon pero su uso se ha visto limitado por fugas y problemas con la expulsión del dispositivo [80].

Recientemente, investigadores de la universidad de San Francisco en California han desarrollado un sistema para la realización de anastomosis digestivas empleando un dispositivo de compresión por atracción magnética. Con la premisa de que la

anastomosis ideal entre dos vísceras huecas debe poderse hacer de modo sencillo, resistente e independiente del cirujano diseñaron y ensayaron un sistema formado por dos imanes de neodimio-hierro-boro colocada en moldes de politetrafluoroetileno con capacidad de auto-orientación. Emplearon un modelo animal con cerdos para realizar anastomosis latero-laterales con el dispositivo, grapadora y manual. Compararon el aspecto macroscópico, histológico, radiológico y el comportamiento mecánico de las mismas. Las anastomosis magnéticas se completaron sin evidencias de fugas ni estenosis y no vieron diferencias reseñables en los aspectos analizados. Postulan que la técnica es compatible con los abordajes endoscópico y NOTES [81].

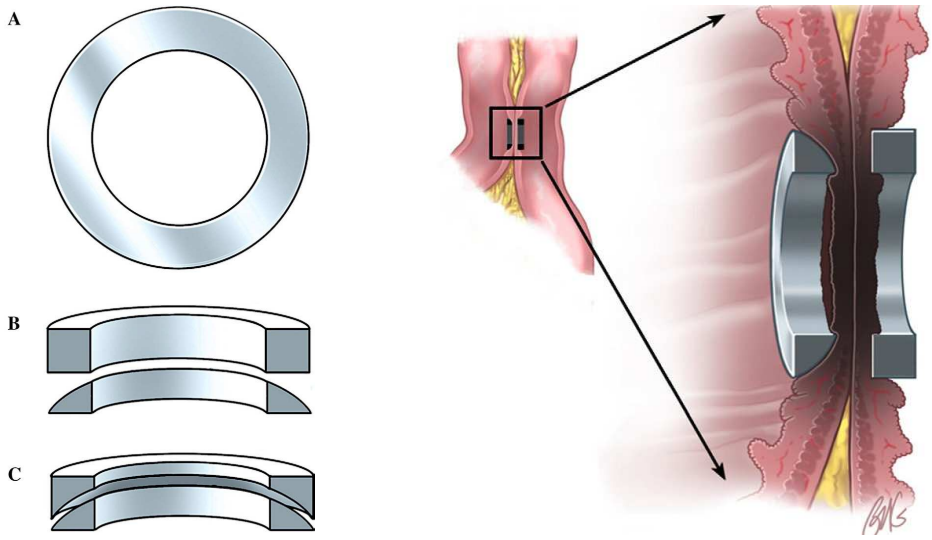


Figura 5. Dispositivo de compresión magnética para anastomosis intestinales. Tomado de Jamshidi et al. Magnamosis: magnetic compression anastomosis with comparison to suture and staple techniques. J Pediatr Surg. 2009 Jan;44(1):222 [81]

1.2.2.4. ANASTOMOSIS CON ADHESIVOS

Se ha estudiado en animales el empleo de diversas sustancias adhesivas y su papel en la realización de anastomosis, tanto como único elemento de sujeción, como en el refuerzo de suturas. Entre los adhesivos empleados los hay biológicos con base de fibrina (Tisseel®, Crosseal®, Tissucol®), o de colágeno (Floseal®) y adhesivos no biológicos o sintéticos (derivados de cianoacrilato).

1.2.2.4.1. Adhesivos sintéticos de cianoacrilato.

Los adhesivos sintéticos usados más comúnmente en la creación de anastomosis pertenecen al grupo de cianoacrilatos (metil, etil, butil y octil). El cianoacrilato, mediante una reacción exotérmica al ponerse en contacto con superficies, actúa formando una cubierta resistente.

Tras su descubrimiento en 1949 se ha evaluado su uso médico en muchos estudios experimentales. En la década de 1960 se comenzaron a usar de forma experimental pegamentos que contienen cianoacrilato y se ha les ha encontrado utilidad en cirugía plástica, cardiaca, neurocirugía y cirugía dental, sin embargo, hasta la fecha hay dudas sobre su utilidad y seguridad en la anastomosis intestinal.

Estudios histopatológicos de los tejidos a los que se aplicaron los primeros derivados del cianocrilato revelaron reacción e inflamación severas. El uso de metil-2-cianoacrilato en anastomosis colónicas se ha asoció a efectos adversos y retardo en la cicatrización, sin que se viera mejora en la resistencia de la anastomosis [82,83]. Por los efectos adversos se han ido desarrollando derivados de cadena larga como el butil-cianoacrilato y octil-cianoacrilato que se han comprobado más seguros al aplicarlos in vivo [84].

El 2-octil-cianoacrilato (Dermabon, Ehicon), más resistente y flexible, está indicado en heridas cutáneas y ha sido empleado en diversos estudios experimentales. Kanellos et al utilizaron 2-octil-cianoacrilato para anastomosis colónica en ratas [85]. Describen más adherencias que en el grupo control, sin ser significativas estadísticamente. No existieron diferencias en la presión de estallido, ni en el proceso de cicatrización desde el punto de vista histológico. Otros investigadores han presentado resultados similares con etil-cianoacrilato [86]. Nursal et al[87] utilizaron octil-cianoacrilato como refuerzo en anastomosis normales y de alto riesgo por isquemia en ratas. Midieron la presión de entallamiento y determinaron el contenido de hidroxiprolina. La presión de estallido al séptimo día fue menor en los grupos de cianoacrilato. La hidroxiprolina no presentó diferencia entre el grupo de estudio y el control. El cianoacrilato no ofreció ventajas en la fase temprana (tercer día) de cicatrización colónica en los grupos con y sin isquemia. En la fase tardía (séptimo día) se describe un retardo de la cicatrización, probablemente por reacción inflamatoria intensa local. En general el octal-cianoacrilato no ha demostrado ventajas en las anastomosis colónicas en estudios experimentales [88].

Se han publicado También estudios de anastomosis intestinales con n-butil-2-cianoacrilato (Histoacryl Blue®, Braun Melsungen, Germany). Aunque inicialmente se publicaron resultados favorables otros estudios más recientes han puesto en tela de juicio su empleo con este fin. Weis et al.[89] evalúan su uso en anastomosis gastro-yeyunales en ratas frente a sutura absorbible, observando las dehiscencias, estenosis, adherencias y hallazgos histológicos, sin encontrar diferencias significativas salvo por un menor tiempo empleado cuando se emplea histoacryl.

Ozmen et al.[90] practicaron anastomosis con este compuesto en colon izquierdo en ratas y lo compararon con sutura con seda. Evaluaron la formación de adherencias intraperitoneales, la tensión de ruptura y los hallazgos histológicos. En todos los

aspectos hallaron desfavorable el empleo del adhesivo y concluyen que ejerce una influencia negativa sobre la curación. De modo similar Kayaoglu et al.[91] investigaron la utilidad del n-butyl-2-cyanoacrylate en anastomosis colónicas proximales en ratas como refuerzo en situaciones de contaminación y peritonitis. No encontraron ningún beneficio con su empleo, e incluso describen, más adherencias, mayor reacción inflamatoria y necrosis.

Recientemente Bae et al.[92] emplean este pegamento en un estudio en ratas comparando anastomosis mediante sutura con polipropileno, anastomosis con n-butil-2-cianoacrylato y anastomosis con sutura de polipropileno reforzada con el adhesivo. Comparan infección de la herida, fugas anastomóticas, estenosis, adherencias, presión de estallido y datos histológicos. Encuentran en los grupos con el pegamento diferencia significativa desfavorable en cuanto a estenosis, presión de estallido, depósito de colágeno y cambios inflamatorios. Concluyen que aunque se pueden hacer anastomosis sin suturas con este compuesto con una baja tasa de dehiscencias, éste puede entorpecer su curación y por el mismo motivo desaconsejan su empleo como refuerzo de las suturas.

Elemen et al.[93] estudiaron el empleo de etil-2-cianoacrilato (Pattex, Henkel, Dusseldorf, Germany) frente a sutura con poliglactin 910 (Vicryl, Ethicon, Edinburgh, United Kingdom) con la conclusión de que el empleo del adhesivo disminuye el tiempo de confección de la anastomosis y favorece la curación manteniendo la misma fuerza en la anastomosis.

En general, los resultados del empleo de estos adhesivos como único elemento de unión han resultado poco satisfactorios, con una tasa elevada de complicaciones.

1.2.2.4.2. Adhesivos biológicos

La primera generación de adhesivos de fibrina humana utilizada en Estados Unidos fue Tisseel® (Baxter Healthcare), aprobado por la Food and Drug Administration en 1998, que contiene aprotinina bovina como antifibrinolítico. Una segunda generación Crosseal® (Omrix Biopharmaceuticals Ltd.) y Tissucol® (Baxter Healthcare) emplean productos de extracción humana. En Europa los sellantes de fibrina disponibles son Tissucol®, Tisseel®, QuixilTM® (Omrix) y Beriplast® (Behring).

Entre las ventajas del uso de fibrina humana frente a otro tipo de materiales como las suturas estarían su biodegradabilidad, y su biocompatibilidad, lo que habitualmente se asocia a menor inflamación, reacción a cuerpo extraño, tejido necrótico y fibrosis.

Este tipo de adhesivos biológicos han demostrado mejoría en el proceso de curación de heridas al facilitar la hemostasia y estimular el flujo de macrófagos que producen factores que incrementan la angiogénesis, la proliferación de fibroblastos y la producción de colágeno [94].

En lo referente a realización de anastomosis, aunque se han ensayado anastomosis intestinales sin suturas [95, 96], los adhesivos a base de fibrina no tienen en general fuerza suficiente para mantener sujetos en aposición los dos extremos intestinales por si solos. Se han utilizan sobre todo para cubrir la sutura anastomótica con intención de reducir el riesgo de fallo anastomótico. También se ha estudiado su empleo en el tratamiento de la fuga anastomótica una vez que esta ya se ha producido.

Utilizados como refuerzo de la sutura digestiva han sido probados en estudios de anastomosis intestinales bajo diferentes circunstancias como toma de corticoides, isquemia, peritonitis o irradiación [97-102]. En estos estudios iniciales no se hallaron claros beneficios con su uso e incluso en algunos se encontraron datos adversos como retardo

en la cicatrización. Posteriormente Byrne et al.[103] describieron que concentraciones altas de fibrinógeno y trombina inhiben la actividad de neutrófilos y macrófagos. Compararon con modelos mecánicos cierres de heridas en dorso de piel de rata tratados previamente con fibrina a diferentes concentraciones en la preparación, concluyendo que los resultados contradictorios sobre fibrina en otras investigaciones pudieran deberse a una formulación inapropiada en las concentraciones. Con estos principios los últimos estudios con fibrina humana en el cierre de anastomosis con diferentes suturas han encontrando que produce menor inflamación local, ausencia de reacción granulomatosa de cuerpo extraño, menos edema local, y una adecuada cicatrización [104, 105]. Los resultados son favorables con el empleo del adhesivo y la mejora en la cicatrización se ha descrito incluso en modelos con administración de antimetabolitos como 5-fluorouracilo [106]. Algunos investigadores han descrito incluso que el empleo de pegamentos biológicos como sellante en anastomosis experimentales previene la aparición de fístulas al reforzar la anastomosis [107, 108].

En humanos también se han realizado ensayos clínicos con este tipo de compuestos con la intención de evaluar la prevención de fístulas en anastomosis gastrointestinales. Fernández et al.[109] publicaron en 1996 los resultados de su ensayo clínico en el Hospital de Soria sobre el uso de Tissucol® en anastomosis esófago-yeyunales tras gastrectomía total por cáncer. De 86 pacientes reclutados 42 fueron asignados aleatoriamente al grupo con adhesivo de fibrina y 44 al grupo sin adhesivo. Refieren un 8% de fístulas en el grupo control frente a un 0% en el grupo con tissucol, aunque la diferencia no alcanza significación estadística. Silecchia et al.[110] en 2008 publicaron una ensayo aleatorizado y multicéntrico de 340 pacientes tratados por obesidad mediante by-pass gástrico en el que evalúan el uso de Tissucol en la prevención de fístulas. Valoraron el tiempo operatorio, las complicaciones,

reintervenciones, inicio de la ingesta y estancia hospitalaria. En lo referente a la incidencia de dehiscencias no hubo diferencia significativa con el grupo control aunque el número de casos fue menor.

Aparte de su empleo como refuerzo para disminuir el riesgo de fugas anastomóticas, también se han empleado este tipo de adhesivos como tratamiento de fístulas tras anastomosis digestivas en estudios con animales [111].

1.2.2.5. TERMOFUSIÓN

1.2.2.5.1. Unión de tejidos biológicos mediante Láser

Hasta ahora se han ensayado varios tipos de láseres para fusionar tejidos biológicos (argón, CO2, Nd:YAG, HC:YAG, láser pulsado IR y láser diodo CW). El término láser es el acrónimo de la sigla inglesa LASER (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation). Se emplea para referirse a un dispositivo que utiliza la emisión inducida o estimulada, para generar un haz de luz coherente de un medio adecuado y con el tamaño, la forma y la pureza controlados. Se trata de aparatos que amplifican la luz y producen haces de luz coherentes cuya frecuencia va desde el infrarrojo hasta los rayos X.

Existen dos enfoques en el uso del láser para llevar a cabo la unión de tejidos. Por un lado el láser puede actuar directamente, calentando los bordes de los tejidos a soldar. Otro sistema es el empleo de sustancias biológicas en los bordes a unir que contienen un cromóforo que absorbe la luz y hace que se calienten por efecto del láser facilitando así la adhesión.

Numerosos estudios han demostrado que la soldadura de tejidos biológicos con diversos tipos de láser es posible en variedad de situaciones[112-123], pero son incapaces de

determinar el mecanismo exacto de fusión. Los efectos del láser en el calentamiento de los tejidos a escala molecular no se comprenden aun del todo lo que dificulta que se pueda optimizar el proceso.

White et al.[112, 113] describieron con éxito el uso de láser de argón en varias formas de anastomosis incluyendo venotomías, arteriotomías, y fístulas arteriovenosas. Observaron que la fusión con láser de argón de vasos tanto pequeños como grandes era comparable en fuerza a las reparaciones con sutura, pero en ausencia de reacción a cuerpo extraño y propusieron que la soldadura con láser de argón implica varios mecanismos como la aposición del colágeno y elastina desnaturalizados, y la coagulación de las plaquetas y fibrina. Desde entonces la energía láser ha sido utilizada en modelos animales para la reaproxi-mación de tejidos como piel [114-118], estructuras vasculares [119,120] y urológicas (vejiga, uréter) [121-123].

En lo que se refiere a la anastomosis intestinal, en la década de 1980 se iniciaron estudios en diversos modelos animales sobre la utilidad para unir tejido intestinal en el cierre de enterotomías con láser de CO2 y Nd:YAG. En ellos se describen adecuadas presiones de estallido y menos reacción inflamatoria y adherencias que con suturas [124-127].

A finales de la década de 1980, varios experimentos en animales describen las primeras anastomosis intestinales con láser de CO2[128] y las primeras anastomosis intestinales termino-terminales sobre un stent intraluminal[129]. Posteriormente Costello et al. [130, 131] realizan anastomosis intestinales termino-terminales con láseres de argón y Nd:YAG. En general las observaciones son similares a las de los estudios previos con buenas características mecánicas, menor reacción inflamatoria y menos adherencias [128-131]. En 1991, Kuramoto et al.[132] practicaron cierres de colon en conejo con láser Nd:YAG, comparando los resultados con el cierre mediante sutura con poligluconato 5-

0. Describen tasa significativamente menor de adherencias con el uso del láser y una curación acelerada. Este mismo grupo, con Kawahara como investigador principal, realizaron posteriormente la primera anastomosis de colon en conejos con láser Nd:YAG [133]. Desde entonces se han seguido ensayando anastomosis intestinales con diversos tipos de láser [134-136].

1.2.2.5.2. Unión de tejidos biológicos mediante energía eléctrica bipolar.

Las modernas unidades de electrocirugía, junto con el desarrollo de accesorios como pinzas especialmente diseñadas para ello, permiten la termofusión de tejidos biológicos empleando energía bipolar. Este tipo de dispositivos se utilizan de forma habitual en los quirófanos para la hemostasia tras haber demostrado claramente su utilidad y seguridad tanto en estudios animales como en ensayos clínicos humanos [137-146].

El dispositivo LigaSure® fue introducido en el mercado en 1998. Consta de un generador de alta frecuencia que emplea lo que han denominado"Tecnogía de Respuesta Instantánea" y una serie de accesorios para diferentes aplicaciones en cirugía abierta o laparoscópica. Basa su funcionamiento en la utilización de compresión del tejido por el instrumento con una fuerza calibrada y la aplicación de una corriente eléctrica bipolar con un sistema integrado de control mediante feedback con el objetivo de conseguir el sellado de los vasos sin excesivo calor. La "Tecnología de Respuesta Instantánea" consiste en la monitorización de la resistencia eléctrica del tejido contenido entre las pinzas del instrumento en función de la cual se aplica en cada instante el voltaje más adecuado para conseguir el sellado con éxito del tejido contenido en la pinza, con el menor daño posible a los tejidos adyacentes. Este proceso se lleva a cabo de modo controlado por ordenador. El sellado LigaSure® se crea en cinco fases o pasos básicos:

- **Paso 1: Pulso de Interrogación:** El sistema LigaSure envía un pulso de interrogación a través del tejido a sellar para determinar su impedancia eléctrica inicial. A partir de esta información se determinan las características iniciales del tejido, las características finales para conseguir un buen sellado y el abordaje necesario para alcanzar el sellado completo.
- **Paso 2: Liberación de Energía Primaria:** El sistema conduce la energía al tejido hasta que la Tecnología de Respuesta Instantánea detecta que el tejido ha alcanzado una impedancia predeterminada. En este punto, el tejido empieza a desecarse y la impedancia empieza a aumentar.
- **Paso 3: Liberación de Energía:** Durante cada pulso, el algoritmo del software del aparato determina de nuevo las nuevas características tisulares, las características posteriores deseadas y cómo alcanzar esta nueva condición. Todos los parámetros: la anchura del pulso de energía, la duración y la amplitud cambian en función a los cambios tisulares.
- **Paso 4: Alcance de la liberación energética deseada:** Tras varios segundos de liberación controlada, la Tecnología de Respuesta Instantánea determina que se han alcanzado las características tisulares deseadas.
- **Paso 5: Ciclo Completo – Liberación de Energía Finalizada:** Una vez el generador determina que se ha alcanzado el nivel final deseado de sellado finaliza la liberación de potencia y se produce un ciclo de enfriamiento corto antes del tono final.

Actualmente la plataforma de energía Force Triad® consigue una lectura de la impedancia tisular a tiempo real (3.333 veces/s frente a 200 veces/s de la generación anterior), con lo que se optimiza el uso de energía y disminuyendo los riesgos de lesión de los tejidos vecinos.

A nivel fisiológico estos dispositivos actúan de forma que el colágeno y la elastina que forman las paredes vasculares quedan reformados por efecto del calor generado durante el proceso de liberación de energía[137] (figura 6).

El sellado de vasos ha evolucionado a la fusión tisular, proporcionando ventajas tales como una mayor rapidez, una mayor flexibilidad y una mayor consistencia en el sellado, aumentando con ello la seguridad hemostática. Esta capacidad de fusionar y sellar tejidos con alto contenido en colágeno ha llevado a plantear su utilidad en la realización de anastomosis intestinales [23,24, 25,147, 148-151].

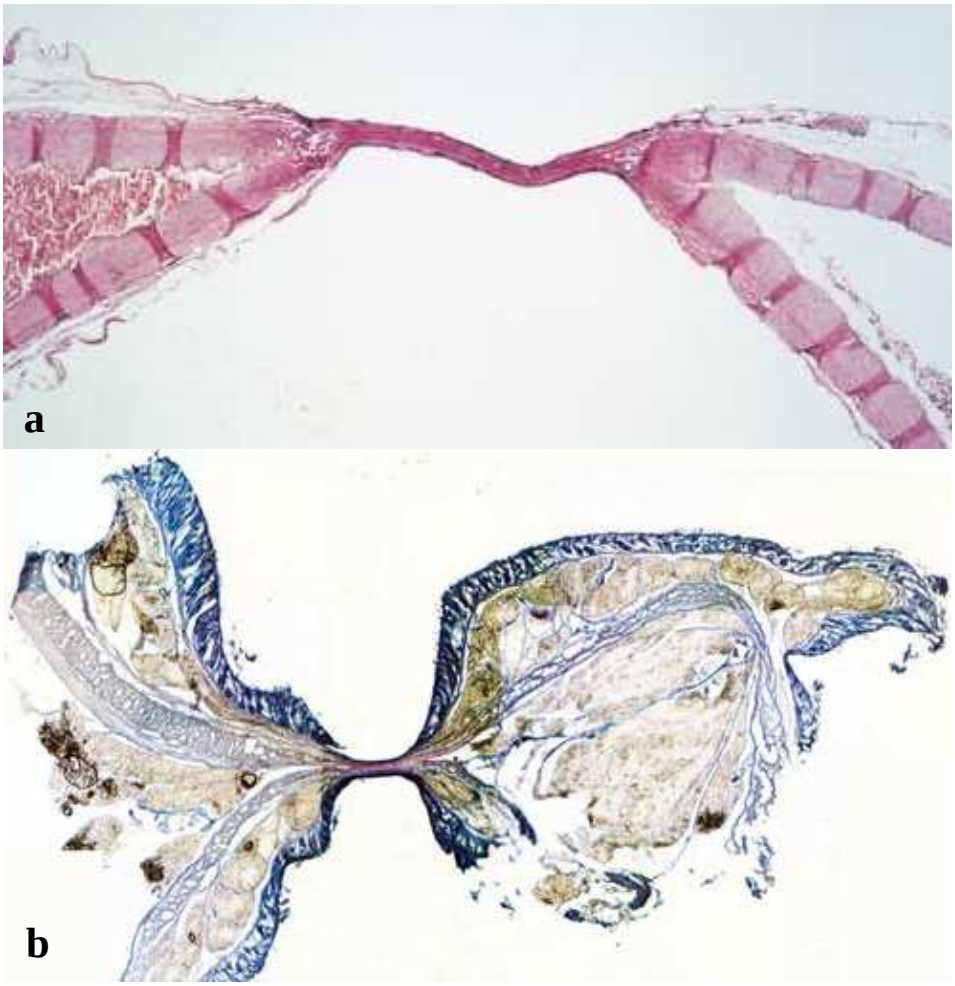


Figura 6. Fusión de tejidos con Ligasure®. (a)- Efecto del sellado sobre vaso arterial. (b)- Efecto del sellado en tejido intestinal [150].

Aunque hasta la fecha son escasos los estudios que evalúan la fusión de tejido intestinal, se han publicado recientemente algunos artículos en los que se emplea energía eléctrica bipolar en la realización de apendicectomías, tanto en animales [19, 20, 21] como en humanos [22].

El dispositivo LigaSure® se ha empleado en humanos también en la sección y cierre temporal del intestino delgado en la hemicolectomía derecha como una opción técnica sencilla, fiable y de bajo coste para optimizar este procedimiento [26]. Se ha publicado asimismo la realización de bypass gástrico con este dispositivo sin utilización de endograpadoras [27-29].

En cuanto a la posibilidad de emplear este tipo de aparatos para unir paredes intestinales y crear anastomosis existe muy poca evidencia científica. Se han realizado estudios experimentales con modelos con tejido intestinal porcino y con animales vivos en los que se ha visto que es factible fusionar el tejido e incluso realizar una anastomosis completa [23, 24, 25, 150]. Aslan et al.[149] publicaron en 2009 un trabajo en el que ensayan la soldadura de los extremos intestinales seccionados a la altura de la unión colorrectal en ratas Wistar por medio de unos fórceps de coagulación bipolar (Scoville-Greenwood, ConMed, USA) y comparan los resultados que obtienen con los de anastomosis realizadas mediante sutura manual. No aprecian diferencias en cuanto a grado de estenosis y describen una significativa mejora en la epitelización y menor inflamación en el grupo sin suturas.

1.3. BIOLOGÍA DE LA ANASTOMOSIS INTESTINAL

1.3.1. ANATOMÍA MICROSCÓPICA DEL TUBO DIGESTIVO.

El tubo digestivo, con excepción de los segmentos extraperitoneales (esófago y recto), está compuesto por cuatro capas mucosa, submucosa, muscular y serosa (figura 7).

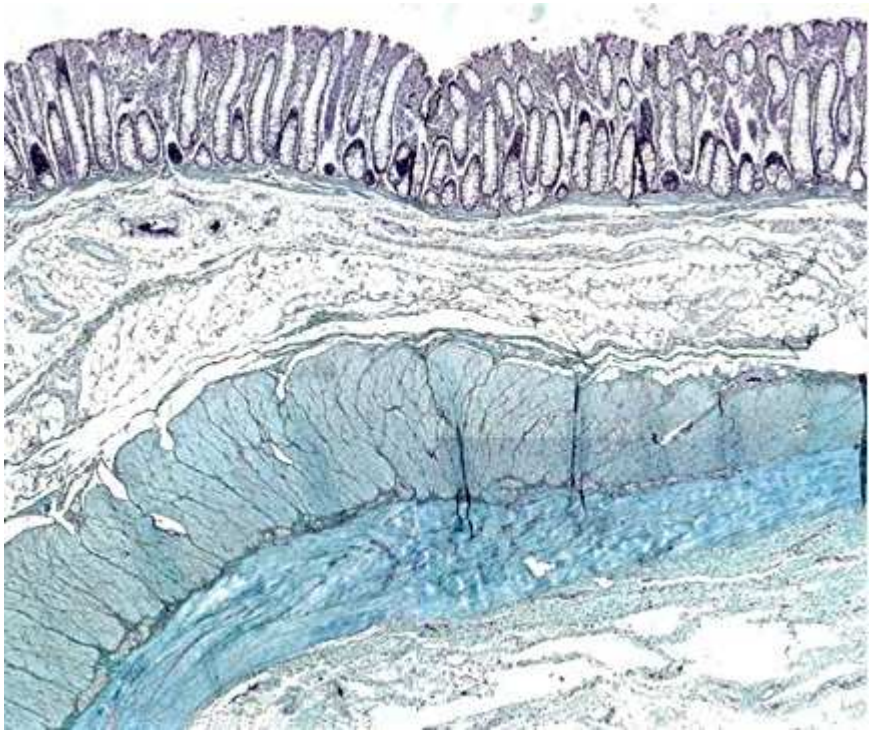


Figura 7. Capas del tubo digestivo: mucosa, submucosa, y muscular con sus capas. (Fragmento extraído de unión colorrectal en cerdo. Tricrómico Masson 5x).

1.3.1.1. Mucosa

El colon se encuentra revestido en su luz por esta capa que a su vez consta de tres subcapas: epitelio, lámina propia y muscularis mucosa.

El epitelio es un epitelio simple compuesto por células caliciformes y cilíndricas, que no forma pliegues como los del intestino delgado ni presenta vellosidades. Cuando se produce un daño en esta capa, como el que sucede en la anastomosis gastrointestinal, éste es reparado por la migración y proliferación de las células epiteliales que cubren el tejido de granulación de la herida y de este modo sellan el defecto y recuperan la barrera al contenido luminal [152]. La membrana basal del intestino ha sido poco estudiada, se asume que es similar a la del epitelio de otros tejidos. Su estructura básica es una lámina densa compuesta por colágeno tipo IV que forma un entramado reticular [153, 154]. De su producción y mantenimiento se encargan las células epiteliales de la mucosa. La lámina propia es una capa de tejido conectivo que sostiene al epitelio. Su función es facilitar la absorción y secreción. Está formada por colágeno tipo I, III y V y elastina y contiene vasos sanguíneos, vasos linfáticos, células mesenquimales y células inflamatorias como linfocitos, macrófagos, células plasmáticas y eosinófilos que juegan un importante papel en la función inmune del intestino [155]. En la lámina propia de las vellosidades del intestino delgado han sido descritas células mesenquimatosas de las que derivan miofibroblastos, fibroblastos y células de músculo liso [156, 157]. La muscularis mucosa, es una lámina muy delgada de músculo liso que separa la lámina propia de la submucosa. Aunque se desconoce cual es su función exacta se asume que contribuye de forma efectiva a la motilidad del intestino y a mantener la mucosa plegada para aumentar la superficie de absorción-secreción.

Tras la cirugía la mucosa puede recuperar su estanqueidad en tres o cuatro días si las capas de la mucosa se enfrentan directamente. Sin embargo la eversión y la inversión de la mucosa producen ambas retardo de este proceso [158, 159].

1.3.1.2. Submucosa

La submucosa se compone principalmente de gruesas fibras de colágeno y elastina entrelazadas, junto con un plexo submucoso de fibras nerviosas, ganglios y vasos sanguíneos y linfáticos. El análisis bioquímico de esta capa muestra un predominio de colágeno tipo I (68%), tipo III (20%) y tipo V (12%) que componen el resto [160]. En el colon producen colágeno tanto los fibroblastos como las células de músculo liso. Se ha descrito que éstas últimas producen los tres subtipos de colágeno encontrados en el la submucosa [161].

La submucosa proporciona al tracto gastrointestinal intacto la mayor parte de su resistencia a la tracción, desempeñando un papel fundamental en el anclaje de las suturas que sujetan unidos los bordes intestinales de las anastomosis [162]. El descubrimiento de este hecho supuso en su momento un gran avance hacia la mejora de los resultados de la cirugía gastrointestinal y constituye la base para las técnicas de sutura y grapado que se emplean hoy en día [159].

1.3.1.3. Muscular

Se encuentra compuesta por dos capas, una externa longitudinal y otra interna circular. Su contracción sincronizada es lo que permite la propulsión distal del alimento o peristalsis. Entre ambas capas se sitúa el plexo mientérico de Auerbach.

Un estudio de la curación de la mucosa del colon de conejos tras escisión experimental demostró entre los días 3º y 5º abundancia de células mesenquimales indiferenciadas en las capas musculares intestinales en curación acompañadas de invasión capilar. Estas células se transforman en células musculares lisas e histiocitos fagocíticos [163]. Esta metamorfosis, en lugar de la proliferación mitótica de las células

del músculo liso en los bordes de la herida, se cree que pueda ser responsable del reestablecimiento de tejido muscular liso.

1.3.1.4. Serosa

La serosa es la capa más externa de la pared del aparato digestivo. Se compone de una capa delgada de tejido conectivo que cubre la muscular externa. Está cubierta en su cara exterior por el revestimiento mesotelial de la cavidad peritoneal. Cuando se realiza una anastomosis la protege de dehiscencias y fugas anastomóticas. La aposición de esta capa mediante una sutura invertida minimiza el riesgo de fístula. De hecho, los segmentos extraperitoneales del tracto gastrointestinal sin recubrimiento seroso pierden este componente de protección de la anastomosis y corren un mayor riesgo de complicaciones, como se ve en el esófago y el recto [164].

1.3.2. LA REPARACIÓN DE LOS TEJIDOS.

Cuando se produce la lesión de un tejido el organismo responde. Se desencadena una secuencia compleja y organizada de procesos a nivel celular y bioquímico con la intención de eliminar el agente agresor y reparar el daño producido. Se ponen en marcha los fenómenos de inflamación y reparación tisular.

La inflamación representa la respuesta defensiva habitual e inespecífica del organismo frente a la agresión. Una vez que los mecanismos defensivos han cumplido su misión, el organismo ha de enfrentarse al proceso de reparación de los daños acontecidos. Esta reparación implica tanto aspectos de tipo anatómico o estructural como funcionales.

Determinados tejidos tienen la capacidad de restituir la masa tisular dañada con células iguales a las pérdidas y recuperar su función, en este caso hablamos de

regeneración. En otros tejidos o bien cuando el daño causado es tan grande que hace imposible su regeneración, el organismo intenta la reparación sustituyendo el tejido lesionado por tejido conjuntivo, un tejido funcionalmente inerte pero con capacidad estructural. Hablamos entonces de cicatrización.

Al realizar una incisión en la pared intestinal se iniciarán por lo tanto los referidos fenómenos de inflamación y cicatrización. Con fines didácticos, en el proceso de curación de las heridas pueden distinguirse tres fases que se suceden en tiempo, solapándose a menudo y que se encuentran fuertemente interrelacionadas: Hablamos pues de fase de hemostasia e inflamación, fase proliferativa y fase de remodelación tisular [165, 166].

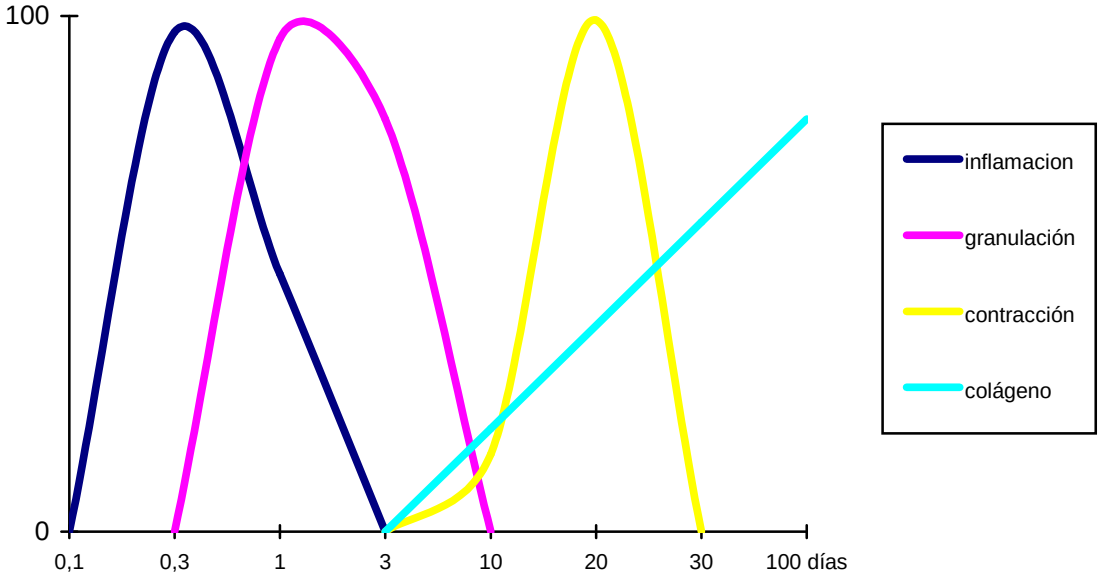


Figura 8. El proceso de cicatrización de las heridas se divide en fases que se suceden en tiempo: Fase inflamación, fase proliferativa (tejido de granulación) y fase de remodelado tisular (contracción de la herida). Modificado de Clark RA. 1991. p.577. En L.A. Goldsmith (ed.), Physiology, biochemistry and molecular biology of the skin. Oxford University Press. New York. N.Y.

1.3.2.1. FASE DE HEMOSTASIA E INFLAMACIÓN

1.3.2.1.1. Hemostasia

Al producirse un daño con la consiguiente disrupción de vasos sanguíneos, se ocasiona extravasación de plasma, células sanguíneas y otros factores hacia el intersticio. Durante las primeras dos horas tienen lugar principalmente los fenómenos de agregación plaquetaria y coagulación.

La exposición a las plaquetas del colágeno subendotelial inicia la agregación de las mismas y la activación de la vía intrínseca de la coagulación, con el objetivo de formar el coágulo.

Simultáneamente a la formación del coágulo, los vasos sanguíneos se contraen durante los primeros 10 a 15 minutos tras la agresión, por la acción de aminas vasoactivas como prostaglandinas y tromboxanos liberadas por las propias células lesionadas.

Lo primero que se produce es la adhesión de las plaquetas al tejido intersticial, donde son activadas por el colágeno fibrilar expuesto, la trombina y la fibronectina y sus fragmentos generados localmente. Su activación condiciona entonces un aumento del número de receptores de superficie, la liberación de los gránulos citoplasmáticos y la agregación.

Los gránulos alfa contienen tanto proteínas activas que participan en todas las fases de la cicatrización, en la formación del coágulo y la matriz extracelular inicial, como diversos factores de crecimiento que tienen influencia sobre células, como los queratinocitos, los fibroblastos o la célula endotelial [167, 168]. Entre los mediadores liberados que colaboran para que tenga lugar la agregación plaquetaria y a la formación del tapón hemostático se encuentran: Fibrinógeno, fibronectina y trombospondina que

intervienen en la agregación plaquetaria, factor VIII de Von Willebrand que contribuye a la adhesión plaquetaria y el ADP y la trombina que atraen más plaquetas a la zona lesionada.

Por otro lado las plaquetas sintetizan también factores de crecimiento necesarios para la curación de las heridas: el PDGF (factor de crecimiento derivado de las plaquetas) y el TGFβ (factor de crecimiento transformador-β) con acción mitógena y quimiotáctica en los fibroblastos, el TGF α (factor de crecimiento transformador-α) y el EGF (factor de crecimiento epidérmico) que estimulan la reepitelización o el factor activador de plaquetas (PAF) y la serotonina que induce permeabilidad vascular y quimiotaxis de neutrófilos [166, 169].

La formación de un coágulo tiene lugar por la puesta en marcha de la cascada de coagulación que inician los elementos de la sangre por dos vías principales: la intrínseca y la extrínseca. Ambas llevan a la formación de trombina, que por un lado contribuye a la activación de las plaquetas, pero cuyo principal papel es el de ser la enzima que transforma el fibrinógeno en fibrina y provoca la coagulación de la sangre. Los monómeros insolubles de fibrina se entrecruzan gracias al factor XIII, a la vez que se unen a las plaquetas para formar el coágulo.

La formación inadecuada del revestimiento de fibrina, como la que se observa en la deficiencia de factor XIII se asocia con retardo en la cicatrización de las heridas [166] como consecuencia de una disminución de la adherencia de las células en el área inflamatoria y disminución de la quimiotaxis [170].

El coágulo de fibrina además de contribuir a la hemostasia, sirve junto con la fibronectina como andamio para la invasión de células como neutrófilos, monocitos fibroblastos y células endoteliales[171]. También interviene en la respuesta inflamatoria a través de la bradiquinina y las fracciones C3a y C5a del complemento, que aumentan la

permeabilidad vascular y atraen neutrófilos y monocitos al sitio de la herida. La fibrina es capaz de inducir la siguiente fase de la cicatrización tras unirse a receptores como el CD11b que se encuentran en la superficie de los monocitos y los neutrófilos, y sirve de reservorio de ciertos factores de crecimiento, como el factor de crecimiento de fibroblastos-2 (FGF-2) y el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), y de citocinas que estimulan la proliferación de los fibroblastos y la angiogénesis[172].

De un modo simultáneo a como se desarrolla todo el proceso descrito se ponen en marcha mecanismos de regulación. Así, las células endoteliales producen prostaciclina, que inhibe la agregación, limitando este proceso. Otras sustancias que intervienen son: la antitrombina III, que inhibe la formación de fibrina, la proteína C, que inhibe al factor VIII y limita la adhesión y el activador del plasminógeno y la plasmina, importantes en la lisis del coágulo.

1.3.2.1.2. Inflamación

Tras la hemostasia continúa la inflamación. Se inician fenómenos de vasodilatación e incremento de la permeabilidad, los cuales facilitan la extravasación de las proteínas del suero al interior de la herida y la diapédesis de células inflamatorias.

Estos dos fenómenos se encuentran influenciados por la estimulación de nervios sensoriales, la liberación por los mastocitos de histamina y leucotrienos, la producción de prostaglandinas, la trombina y factores del complemento como el C3 y el C5a que estimulan la vasodilatación y atraen células inflamatorias perpetuando de este modo el proceso inflamatorio[168].

Los neutrófilos constituyen la primera oleada de células migrando hacia la herida. Aparecen en torno a las 5-6 horas de producida la lesión atraídos por estímulos quimiotácticos específicos como el GM-CSF (factor estimulador de colonias de

granulocitos / macrófagos), la kalicreína y los fibrinopéptidos. Éstos aumentan la expresión del complejo dimérico CD11/CD18, lo cual facilita la marginación vascular y la posterior diapédesis.

El aumento de permeabilidad vascular junto con un gradiente de concentración de sustancias quimiotácticas (factores del complemento, la interleucina 8 (IL-8), el factor de necrosis tumoral alfa, el factor de necrosis tumoral beta, el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y los productos bacterianos estimulan la migración de neutrófilos [166].

La liberación de los neutrófilos desde los vasos sanguíneos está condicionada como hemos comentado por la liberación de histamina por los mastocitos y de TNF-α por macrófagos. El TNF-α y la histamina actúan sobre las células del endotelio del vaso, haciendo que se active mediante la expresión de selectina-E. Los neutrófilos activados a su vez por la IL-8 pueden unirse a la selectina-E gracias a su ligando glucídico.

Cuando los neutrófilos llegan al intersticio, tienen lugar interacciones "célula-célula" y "célula-matriz" mediadas por las integrinas o receptores de superficie de los neutrófilos. Se inicia entonces la fagocitosis de bacterias y proteínas de la matriz favorecida por la liberación de hidrolasas, proteasas y lisozimas, así como la producción de radicales libres de oxígeno.

Si la herida no se infecta los neutrófilos permanecen poco tiempo en la misma, alcanzando un pico máximo de población a las 24-48 h. Durante el tiempo que están presentes eliminan detritus celulares, partículas extrañas y bacterias [173]. Al final los neutrófilos agotados quedan atrapados en el coágulo y se desecan con él. Los que permanecen en tejido viable sufren apoptosis y son eliminados después por macrófagos o fibroblastos.

Al segundo o tercer día de ocasionarse la lesión, se produce un acúmulo de monocitos que reemplazan a los neutrófilos. La llegada de los monocitos está estimulada por factores quimiotácticos, algunos compartidos con los neutrófilos y otros específicos como fragmentos de colágeno, elastina, fibronectina, trombina, TGF β1, Kalikreína y productos de degradación de la matriz. Los monocitos de los vasos, al llegar al tejido se activan y transforman en macrófagos [173]. Al igual que los neutrófilos, eliminan detritus, partículas extrañas y bacterias. Alcanzan un pico máximo de población a las 48-72 h, pero permanecen más tiempo, durante días o semanas. De este modo se produce la descontaminación del foco y el desbridamiento autolítico ayudado por la liberación de enzimas como las colagenasas.

Aparte de lo anterior los macrófagos participan también en fases más complejas de la curación de la herida. Cuando están unidos a la matriz extracelular sufren un cambio fenotípico y de células inflamatorias se transforman en células reparadoras que liberan citoquinas y factores de crecimiento (TGF α y β, PDGF, FGF y IGF-1). De este modo perpetúan el proceso inflamatorio a través de la liberación de citoquinas proinflamatorias (IL-1α , IL-1β, IL-6, factor de necrosis tumoral α [TNFα]), y juegan un papel importante en la neoformación tisular mediante el estímulo en la producción de colágeno por parte de los fibroblastos (FGF-2, transforming growth factor β [TGFβ], insulinlike growth factor [IGF]), el estímulo de la angiogénesis (FGF-2, VEGF-A, TGFβ) y la liberación de factores de crecimiento que influyen en el proceso de epitelización (TGFα, FGF-2, IGF-1) [168, 172].

Existen otras células que participan en cierta medida de la reparación de la herida y juegan un papel más o menos relevante en ella. Por un lado, están las diferentes subpoblaciones de linfocitos T (CD4+, CD8+ y γδ) las cuales parecen tener un papel determinado en la cicatrización [174, 175]. Las células T ganma/delta epidérmicas producen

factores de crecimiento (FGF-7 y FGF-10) que contribuyen a la proliferación de los queratinocitos[176] y también factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF) que estimula a los fibroblastos e induce en ellos la expresión de colágeno tipo I, fibronectina e integrina α5 [177]. Están también los fibrocitos, una población de células circulantes, que durante la cicatrización incrementa su capacidad de sintetizar colágeno I y de liberar diversas quimiocinas (proteina inflamatoria de macrófagos MIP1-α, MIP-β, proteína quimiotáctica de macrófagos -1 [MCP-1], IL-8, GRO- α , IL-6, IL-10 y factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos [GM-CSF]) [178].

1.3.2.2. FASE PROLIFERATIVA

Durante la misma tienen lugar los procesos de fibroplasia, angiogénesis y reepitelización.

1.3.2.2.1. Fibroplasia

Los fibroblastos constituyen las células más importantes en la producción de matriz. Diversas citocinas y factores de crecimiento liberadas inicialmente por las plaquetas y más tarde por los macrófagos en la fase inflamatoria (PDGF, factor de crecimiento nervioso [NGF], TGF- β, CTGF, Cyr61 y fibronectina) estimulan su migración y proliferación[172]. La hipoxia en el centro de la herida, estimula también la liberación de TGF β, PDGF, FGF, EGF y VEGF (factores de crecimiento estimulantes de la proliferación de fibroblastos).

Los fibroblastos llegan al sitio de la herida entre las 48 y 72 horas posteriores al daño. Proceden, al menos, de 2 poblaciones celulares. Por un lado estarían las células ya diferenciadas residentes en los tejidos de alrededor de la herida y que se desplazan hacia la misma, otros procederían de células mesenquimales indiferenciadas que son

estimuladas para transformarse en fibroblastos, gracias a la acción de diversos productos liberados por los macrófagos. Una vez allí, migran con movimientos activos sobre la matriz extracelular de fibronectina dirigidos, por un lado por las integrinas que se expresan en su superficie celular y, por otro, de las metaloproteinasas (MMP), que son enzimas pertenecientes a una gran familia de enzimas dependientes del cinc capaces de degradar los componentes de la matriz extracelular y eliminar los obstáculos que se interpongan en la migración de las células. Para ello el PDGF hace que expresen receptores de integrina α1 y α5, posibilitando la migración e interacción con los demás factores de crecimiento. Para poder movilizarse a través de la matriz de fibrina se requiere como se ha dicho un sistema proteolítico que facilite el desplazamiento celular. Éste está compuesto por enzimas derivadas de los fibroblastos, proteasas séricas (plasmita, plasminógeno, activador del plasminógeno) y de especial interés las colagenasas (MMP-1 o metaloproteinasa de la matriz; MMP-2 o gelatinasa , MMP-3 o estromalisina y MMP-19). Las metaloproteasas juegan además un importante papel en la invasión tumoral, las metástasis, la angiogénesis y la migración de los fibroblastos en el proceso de curación de las heridas [179]. A medida que migran, los fibroblastos depositan una matriz provisional de fibronectina y ácido hialurónico. Esta matriz de fibronectina proporciona un molde para las fibrillas de colágeno e interviene en la contracción de la herida. El PDGF estimula la liberación de estas proteínas por el fibroblasto mientras que el TGF β induce la secreción de inhibidores de las proteinasas, controlando así la degradación de la matriz. Entre los productos que producen los fibroblastos están también los componentes de la matriz extracelular definitiva (colágeno, glucosaminoglucanos y proteoglucanos), así como diversas citocinas y factores de crecimiento que regulan otras fases de la cicatrización

1.3.2.2.2. Producción de la matriz extracelular

La síntesis de colágeno (tipos I, III y VI) se inicia entre el tercer y quinto día de producirse la herida, estimulada por la acción de citoquinas y factores de crecimiento (TGF β, PDGF, TNF, FGF, IL1 e IL4). Una vez que se ha depositado una cantidad suficiente cesa la producción. El INFγ y la misma matriz inhiben la proliferación de fibroblastos y la síntesis de colágeno.

Durante la síntesis del colágeno en el interior de los fibroblastos se produce la formación de cadenas de polipéptidos llamadas procolágeno, que finalmente se liberan a la matriz extracelular donde tiene lugar su agregación y formación de las fibrillas de colágeno [180]. Para que esta agregación extracelular tenga lugar con éxito son necesarias una correcta hidroxilación de los residuos lisina y prolina de las cadenas polipeptídicas en el interior del retículo endoplasmático de los fibroblastos, y la participación de los proteoglucanos en el ensamblaje del procolágeno.

En las cicatrices maduras, la proporción de colágeno tipo I (80-90%) es mayor que la de colágeno tipo III (10-20%). Por el contrario, en una herida reciente la proporción de colágeno tipo III se incrementa hasta en un 30% [181].

Los proteoglucanos, sintetizados también por los fibroblastos, son cadenas de polipéptidos que se unen a los glucosaminoglucanos como el ácido hialurónico, el dermatansulfato, el condroitinsulfato y el heparinsulfato. Las cadenas de proteoglucanos, unidas a sus correspondientes glucosaminoglucanos resultan clave como mensajeras de información en la interacción entre las células que tiene lugar dentro de la matriz extracelular mediada por citocinas y factores de crecimiento. Un ejemplo de ello es la interacción que existe entre el heparinsulfato y el FGF-2, potente estimulador de la angiogénesis. En ausencia de heparinsulfato, el FGF-2 no es capaz de estimular la célula endotelial [182].

La producción por los fibroblastos de los diferentes glucosaminoglucanos varía a lo largo de las distintas fases de la curación de una herida. Al principio predomina la síntesis de ácido hialurónico, que rompe las interacciones adhesivas entre las células y la matriz de colágeno para facilitar la migración de diferentes células. Más adelante aumenta la producción de condroitinsulfato y dermatansulfato, esenciales para la polimerización de las moléculas de colágeno en fibrillas maduras [183].

Durante la cicatrización de una herida no se produce elastina, componente habitual de la matriz extracelular de tejidos como la dermis o la submucosa, lo que podría explicar la falta de elasticidad de las cicatrices.

1.3.2.2.3. Angiogénesis

La angiogénesis es el proceso por el que los vasos sanguíneos dañados son sustituidos por brotes de capilares nuevos procedentes de los vasos intactos de la vecindad de la herida. Se inicia simultáneamente con la fibroplasia, hacia el segundo día tras la herida. Estos vasos próximos a la herida emiten yemas capilares, en cuyo extremo están las células endoteliales, que experimentan un cambio fenotípico que les permite proyectar pseudópodos a través de las membranas basales fragmentadas y migrar al espacio perivascular.

Son estímulos para la angiogénesis, en un primer momento los cambios locales que se producen en el tejido lesionado, como el incremento del lactato y el descenso del pH y de la presión de oxígeno[183]. La disminución de la tensión de O2, estimula a los macrófagos para que produzcan y secreten factores angiogénicos. Posteriormente estimulan la proliferación endotelial diversas citocinas y factores de crecimiento que se liberan durante la fase inflamatoria como el VEGF (factor de crecimiento vascular-endotelial) y las angiopoyetinas (Ang). La Ang 2 interactúa con un receptor de las células endoteliales (Tie 2), volviéndolas más laxas y disminuyendo el contacto de éstas

con la matriz para favorecer la acción del VEGF. El TGF β estimula la síntesis de fibronectina y proteoglicanos para constituir la matriz provisional, facilita la migración estimula la migración endotelial, amplificando además el proceso [166, 168]. También tienen un papel importante en la angiogénesis los proteoglucanos, los glucosaminoglucanos, las metaloproteinasas (MMP-1, MMP-2, MMP-9, MT-MMP y MMP-19) y otros componentes de la matriz extracelular como el SPARC (proteína acídica y rica en cisteína de la matriz celular), la fibronectina, el colágeno, la vitronectina y lamininas 8 y 10. Entre todos ellos dirigen la migración de la célula endotelial, la cual ha expresa a su vez determinadas integrinas en su superficie en especial αvB3, esencial para la formación y también el mantenimiento de los nuevos vasos [184].

Conforme las células endoteliales migran hacia el intersticio forman brotes capilares que se dividen en sus extremos y luego se unen formando asas que darán origen a los plexos capilares. A las 24 a 48 horas del cese de los estímulos angiogénicos los capilares sufren una regresión por tumefacción mitocondrial en las células endoteliales de los extremos distales de los capilares, adherencia plaquetaria a dichas células e ingestión de los capilares necrosados por los macrófagos. Finalmente tiene lugar el reclutamiento de pericitos y células de músculo liso alrededor del endotelio que van a estabilizar los vasos recién formados, proceso que se realiza por la unión de la Ang1 al receptor Tie 2, aumentando el contacto de éstas con la matriz.

1.3.2.2.4. Reepitelización

El proceso de reepitelización se inicia a las 24-48 horas desde que tiene lugar la herida y acaba con la regeneración de un epitelio intacto sobre el tejido de granulación hacia el 7º-9º días. Para ello las células del epitelio migran desde los bordes de la herida con el fin de restablecer la barrera epitelial. Estas células sufren una serie de

alteraciones fenotípicas que incluyen la retracción de los tonofilamentos intracelulares, la disolución de los desmosomas y hemidesmosomas (encargados de mantener la cohesión entre células y entre éstas y la membrana basal) y la formación de filamentos de actina que permiten el movimiento de las células [173].

El proceso de reepitelización más estudiado ha sido el de la piel. La IL-1 inicia el ciclo de activación del queratinocito que lo transforma en célula hiperproliferativa y migratoria. Cuando llega a la herida se produce la migración sobre un sustrato de matriz provisional de fibronectina, mediada por receptores de superficie integrínicos (α5- β1) y la liberación de TGF β. Posteriormente la migración será sobre la matriz definitiva rica en colágeno, mediada por receptores de superficie colagénicos (α 2- β1) y la liberación de TGF α y EGF.

La proliferación y la migración tienen lugar de modo superpuesto. Mientras que una masa de células epiteliales se desplaza a través de la herida cruzando el tejido de granulación, cuyo frente de avance está constituido por células que migran, va quedando en su camino una capa estratificada de células que proliferan activamente por acción de mediadores entre otros EGF, TGF α, PDGF, FGF... También contribuye a esta regulación la ausencia de células vecinas en aposición, fenómeno conocido como "efecto borde". Este proceso continúa hasta que las células epiteliales de los extremos opuestos de la herida restablecen el contacto[183]. La reparación de la membrana basal es otra señal para la célula epitelial que indica que la herida ya está reparada y no hay necesidad de migrar.

1.3.2.3. FASE MADURATIVA O DE REMODELACIÓN

Durante esta fase tiene lugar la contracción de la cicatriz, al tiempo que disminuye el grosor y se incrementa su resistencia. El proceso global se puede prolongar durante un período de semanas, meses e incluso años.

La contracción de la herida se inicia a los 5-9 días, solapándose su inicio con la formación del tejido de granulación en la fase proliferativa, por la transformación de fibroblastos en miofibroblastos, con capacidad contráctil gracias a la presencia de filamentos de actina [180]. Como se ha descrito antes, los fibroblastos sufren una serie de cambios fenotípicos de modo que al principio adoptan un fenotipo migratorio, luego un fenotipo profibrótico mientras producen colágeno y posteriormente adoptan el fenotipo de miofibroblasto, que es rico en microfilamentos de actina en el lado citoplasmático de la membrana y establece uniones célula-célula y uniones con la matriz extracelular a través de receptores integrínicos. La transformación de fibroblastos en miofibroblastos se inicia por acción de factores de crecimiento como PDGF y TGF-beta [172]. El TGFβ estimula además la contracción de los fibroblastos. También intervienen la angiotensina, las prostaglandinas, la bradiquinina y la endotelina.

Al final de la cicatrización los fibroblastos inician su proceso de apoptosis, produciéndose así la transición de una cicatriz rica en fibroblastos y tejido de granulación, a una cicatriz acelular. Con el tiempo van desapareciendo el ácido hialurónico y la fibronectina de la matriz por acción de hialuronidasas y proteasas También disminuye la cantidad de agua de la matriz extracelular.

A medida que madura la cicatriz, disminuye también la densidad de capilares. Parte de los vasos formados durante la fase proliferativa se degradan como resultado de un fenómeno de apoptosis regulado probablemente por una variedad de moléculas de la

matriz, como las trombospondinas 1 y 2, y diversos factores antiangiogénicos, como la angiostatina, la endostatina y la angiopoyetina 2 [173].

El aumento de la resistencia y la disminución en el grosor de la cicatriz que tiene lugar conforme avanza el proceso se deben a la disminución progresiva en la síntesis de colágeno y su posterior remodelación. La producción de colágeno se autorregula por el propio aumento del colágeno depositado durante las primeras semanas en la matriz extracelular, y por el efecto inhibidor de factores de crecimiento como el interferón-gamma (INF-γ) y el TNF α.

El proceso de remodelación consiste básicamente en la fragmentación del colágeno formado y el reordenamiento de sus fibrillas. En la cicatriz reciente, las fibras de colágeno se encuentran dispuestas al azar, lo que explica su menor resistencia aunque exista una concentración de colágeno elevada. Conforme se produce el reordenamiento las fibrillas aumentan su grosor, se incrementan las uniones interfibrilares y se colocan de manera ordenada, con lo que se consiguen una mayor resistencia. De este modo conforme avanza el proceso disminuye la proporción de colágeno III y se incrementa la de colágeno I. Al cabo de meses, el colágeno tipo III que se depositó durante la reparación es reemplazado por el de tipo I, más estable. La degradación del primer colágeno se debe a la acción de las metaloproteinasas de la matriz (colagenasas, gelatinasas y estromalisinasas) estimuladas por los factores de crecimiento y por los componentes de la matriz extracelular.

De este nodo al final del proceso la reparación se consigue a expensas de un tejido conjuntivo cicatrizal rico en colágeno y pobre en células y vasos.

1.3.3. LA CICATRIZACIÓN EN EL TRACTO INTESTINAL.

Hasta la fecha el modelo de cicatrización más utilizado ha sido la piel. Este es un aspecto a considerar porque muchos de los componentes del proceso de curación son comunes a todos los tejidos, tales como la respuesta inflamatoria inicial después de la lesión, el depósito de colágeno nuevo y la maduración final de la cicatriz, sin embargo existen algunas variaciones entre los diferentes tejidos que pueden alterar la velocidad o el resultado de la curación. Por un lado la ganancia en fuerza de las heridas intestinales en condiciones normales es mucho más rápida que en las heridas cutáneas de modo que una anastomosis digestiva alcanza su mayor resistencia a la dehiscencia antes que una herida en la piel (figura 9). Parece incluso que dentro del mismo tubo digestivo existen también diferencias y el estómago por ejemplo cicatriza antes que el colon. Se estima que el tiempo en que una anastomosis de intestino delgado alcanza la resistencia del tejido sano es de unas cuatro semanas, mientras que una anastomosis de colon llega al 75% de la resistencia en torno al cuarto mes [159].

Otro aspecto en el que se han descrito diferencias entre la cicatrización cutánea y la del tracto digestivo es que en este último el colágeno es fabricado también por las células musculares lisas además de por los fibroblastos. Estas células musculares lisas pudieran incluso contribuir más a la formación total del colágeno que los propios fibroblastos. En el tejido dérmico, sin embargo, el músculo liso carece de esta función [159, 161, 185].

Se han visto también diferencias en cuanto a la regulación en la síntesis de colágeno en la piel y en el tracto digestivo como lo demuestran los efectos divergentes de varias de las sustancias que participan en dicha regulación [186].

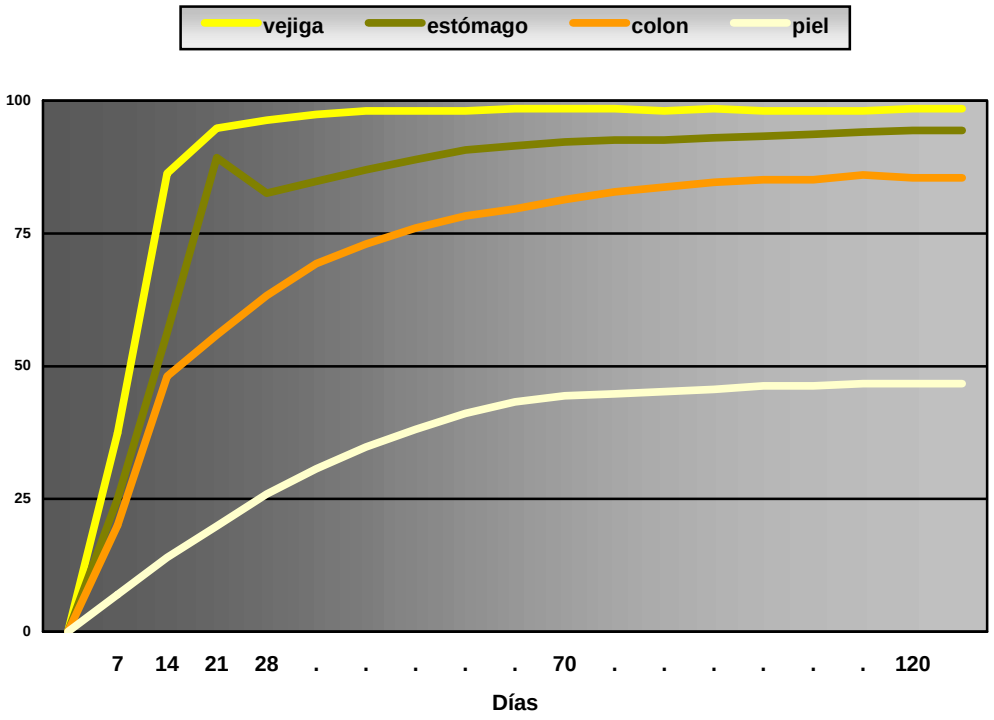


Figura 9. Resistencia estimada de las heridas en diferentes tejidos.
Modificado de Thornton FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. Surg Clin North Am. 1997; 77: 549-573[159].

Otros factores que debemos considerar y que hacen al tracto gastrointestinal distinto de otros tejidos en lo que respecta a la curación de las heridas como son su arquitectura en varias capas, la gran cantidad de microorganismos que contiene su luz, la influencia de la serosa a la hora de sellar la línea de sutura, y un aporte vascular único, que regula selectivamente a la baja su propia perfusión en los estados de choque hipovolémico [159].

Fisiología de la cicatrización en el aparato digestivo

Cuando se produce una lesión en el tracto digestivo, si la única capa lesionada es la mucosa, ésta sana por una rápida proliferación y diferenciación celular a partir del epitelio, proceso denominado regeneración epitelial [187].

La curación mesotelial de la serosa y del epitelio mucoso pueden darse sin cicatriz, sin embargo, los daños de todo el espesor de la pared gastrointestinal requieren mecanismos adicionales de reparación que involucran poblaciones celulares de extirpe no epitelial y procesos inflamatorios que producen respuesta fibroplástica, lo que conduce a la formación de cicatriz.

Dos aspectos merecen la pena destacar cuando se considera la cicatrización de la anastomosis digestiva. Por un lado, que la formación de un sello de fibrina en el extremo de la serosa durante las primeras horas y la recuperación de esta capa parecen esenciales para la rápida consecución de un cierre hermético. De hecho, se han observado porcentajes significativamente mayores de fracaso en la sutura en anastomosis realizadas en los segmentos del intestino en los que falta la serosa, como el esófago y el recto, lo que pone de relieve la importancia de este mecanismo. Otro es que la integridad de la anastomosis, en los momentos iniciales tras su confección, depende también de la capacidad de la pared intestinal para sujetar la sutura, particularmente de la capa submucosa.

Como se ha descrito anteriormente con respecto al proceso de cicatrización, la cicatrización de las anastomosis comienza con vasoconstricción y puesta en marcha de los mecanismos de hemostasia. A la vasoconstricción inicial le sigue vasodilatación e incremento de la permeabilidad vascular que favorece la diapedesis de células inflamatorias hacia la herida. Durante las primeras 24 horas predomina la extravasación de leucocitos polimorfonucleares hacia el tejido lesionado. Comienza así la fase inflamatoria que también se caracteriza por la formación de edema, principalmente en la región subepitelial de la mucosa y en la submucosa [188]. Ello determina un aumento de grosor en el tejido de los bordes de la herida que es un aspecto a considerar a la hora de realizar la sutura manual cuando se plantea la fuerza necesaria al anudar.

A las 24-48 horas los monocitos y los macrófagos tisulares van sustituyendo a los polimorfonucleares y desde ese momento se encargarán de sintetizar y liberar factores de crecimiento que inician y amplifican la respuesta inflamatoria [185, 189, 190]. El comienzo de la fase proliferativa viene marcado por la aparición de tejido de granulación en la anastomosis. Durante esta fase el colágeno en la submucosa sufre un proceso tanto de síntesis por fibroblastos y miocitos lisos como de lisis por acción de metaloproteasas (colagenasas) liberadas por las células inflamatorias [191, 192]. Esta colágenolisis contribuye a la disminución de la resistencia que se observa al poco de la realización de una sutura intestinal [193,194], por lo que durante los primeros 3-7 días la anastomosis tiene un mayor riesgo de dehiscencia. Conforme los fibroblastos y células de músculo liso comienzan a sintetizar colágeno aumenta gradualmente la resistencia de la sutura (figura 10).

Como es lógico, cualquier factor que potencie la lisis del colágeno o disminuya su síntesis prolongará el periodo de debilidad de la anastomosis y como consecuencia aumentará el riesgo de fracaso de la misma.

La capa epitelial se regenera completamente tras 7-14 días sobre una red submucosa de granulación formada por la proliferación de células musculares lisas y fibroblastos [195]. La fase final de la cicatrización supone la maduración y remodelado del tejido de granulación recién formado, que cambia, disminuyendo el número de macrófagos y fibroblastos y aumentando la cantidad de colágeno. También la proporción de fibras de colágeno varía, incrementándose el porcentaje de fibras de colágeno tipo I respecto a las de tipo III. Durante este proceso la cicatriz se hace más delgada pero más resistente.

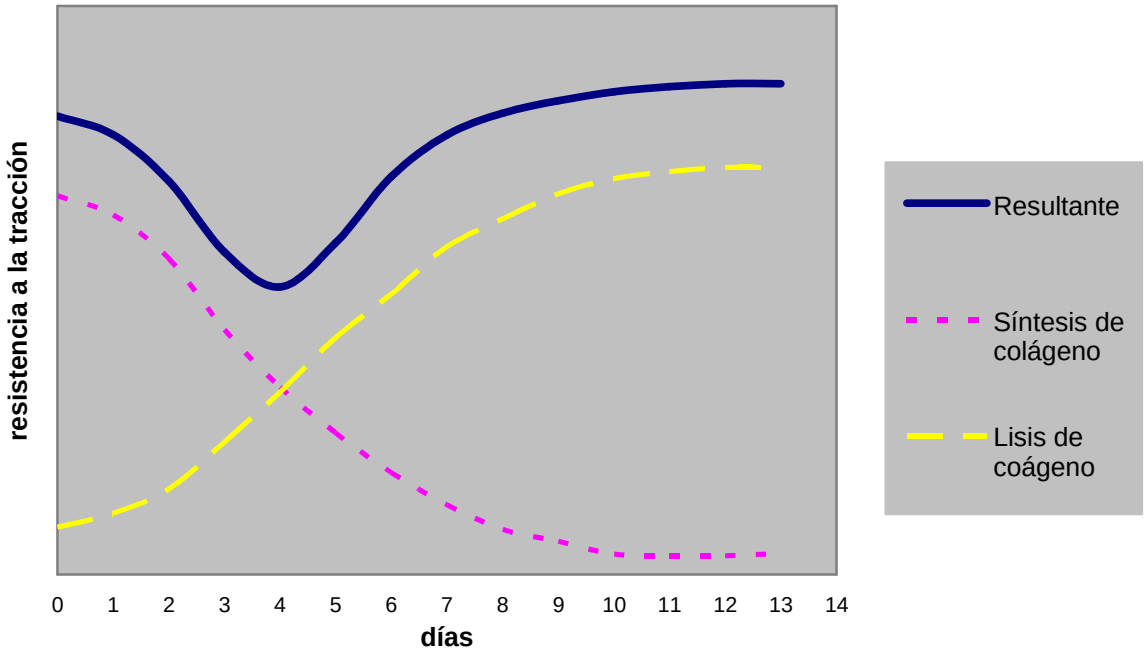


Figura 10. Contribución de la síntesis y lisis del colágeno a la resistencia de la cicatriz. Extraido de Thornton FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. Surg Clin North Am. 1997; 77: 549-573 [159]

1.4. PARÁMETROS EMPLEADOS PARA MEDIR EL PROCESO DE CICATRIZACIÓN EN EL TRACTO GASTROINTESTINAL

Para intentar medir el grado en que el proceso de cicatrización del tracto digestivo se va completando se han empleado diversos métodos entre los que se incluyen: estudios histológicos celulares, que describen la evolución del proceso inflamatorio, estudios morfo-colorimétricos histoquímicos o inmunohistoquímicos para determinar las cantidades y tipos de colágeno que se van depositando y como se modifican conforme avanza el proceso de cicatrización, cuantificaciones bioquímicas de la cantidad de colágeno o sus metabolitos y por último métodos mecánicos, que estudian las propiedades físicas de la sutura.

Los métodos mecánicos y bioquímicos son métodos cuantitativos. Por ello se considera que las determinaciones de elección para evaluar la reparación anastomótica y

los efectos de variaciones en técnicas quirúrgicas, administración de fármacos, o cualquier otra modificación de los procesos establecidos, deba ser principalmente mediante estos procedimientos mecánicos o bioquímicos o ambos. Los estudios clásicos que empleaban criterios histológicos para evaluar la cicatrización de las anastomosis mediante escalas semicuantitativas basadas en grado de celularidad, tinción de la muestra, etc. tienen los inconvenientes de no ser cuantificables de forma exacta y estar sometidos en cierta medida a la subjetividad del evaluador.

La mayoría de los estudios experimentales más recientes dirigidos a valorar la calidad de la cicatrización de las anastomosis presentan principalmente dos enfoques: por un lado están los métodos mecánicos que miden magnitudes físicas de la misma como la tensión de rotura de la sutura o su presión de estallido; por otro lado están los métodos encaminados a la detección y cuantificación del colágeno depositado en la cicatriz mediante el análisis de prolina, hidroxiprolina, metaloproteasas o la valoración de las muestras mediante estudios morfocolorimétricos de imágenes con tinciones histoquímicas o inmunohistoquímicas.

Sin embargo todos los estudios plantean inconvenientes. Los estudios experimentales que determinan propiedades mecánicas son, para algunos autores poco fiables y sensibles para detectar la calidad de la anastomosis[194], en primer lugar porque es posible que la resistencia de la sutura a la distensión no esté tan directamente relacionada con su dehiscencia y sean otros factores los más importantes para que esta se produzca. Y por otro lado, porque la tensión necesaria para deshacer la sutura realizada en el animal de experimentación parece una medida sometida a una variabilidad mecánica importante aunque se controle mediante manometría o tensiometría.

También los estudios bioquímicos plantean inconvenientes. Muchos de los estudios publicados utilizan el análisis hidroxiprolina, producto intermedios en la

síntesis del colágeno, como medida de su metabolismo. Según algunos autores esas sustancias no son específicas del colágeno y pueden aparecer en el tejido durante la metabolización de otras moléculas proteínicas, de modo que su cuantificación no está relacionada de forma tan directa con las alteraciones producidas en la síntesis del colágeno [196].

1.4.1. ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO MECÁNICO DE LA ANASTOMOSIS.

La mayoría de la información sobre las características mecánicas de las anastomosis deriva de estudios en animales por lo que la pertinencia de la información, en particular en lo que respecta a la línea de tiempo de la respuesta, puede variar ampliamente de la práctica clínica con humanos. Sin embargo no se debe subestimar por ello su importancia en lo relativo a la validación de los principios biológicos.

Los métodos mecánicos habitualmente empleados son de dos tipos básicamente: los encaminados a determinar la resistencia a la rotura de la línea anastomótica sometida a una fuerza de tracción longitudinal perpendicular a la anastomosis y los que determinan la presión de rotura o estallido de una anastomosis sometida a un incremento de la presión intraluminal. Ambos métodos presentan ventajas e inconvenientes.

Se ha descrito que en animales, la presión intraluminal es más baja durante los tres primeros días tras la creación de la anastomosis y que después se incrementa progresivamente, siendo del 50% de lo habitual en torno al 2º o 3º día y al 7º se aproxima al 100% [190]. También se ha visto que la resistencia a la ruptura se recupera a un ritmo más lento que la presión de estallido y es el 50% de la del colon normal a los 10 días tras el daño [197, 198] , por lo que se ha propuesto que la resistencia a la rotura no es lo suficientemente sensible como para medir los cambios tempranos en la curación de la

anastomosis [195, 199], mientras que la presión de estallido es por lo tanto un enfoque más útil para medir los cambios en la cicatrización durante la primera semana tras la creación de una anastomosis[199].

Por otra parte, aunque la aplicación de presión hidráulica es fácil de realizar en el laboratorio, crea un campo bidimensional de estrés como el que se muestra en las figuras 11 y 12. Por ello las conclusiones de cada experimento no son comparables directamente entre sí como con una carga uniaxial. En especial en el caso de materiales anisotrópicos, como los empleados en este tipo de estudios, lo que hace imposible definir cual de los dos esfuerzos es el responsable del fallo y por lo tanto no se puede determinar un valor crítico, ya que la dirección a la que aparecerá el fallo a priori no es conocida[200]. Sin embargo, con la aplicación de una fuerza axial, aunque sea más difícil desde un punto de vista práctico, los resultados obtenidos son utilizables directamente sin reducciones ni supuestos adicionales [200].

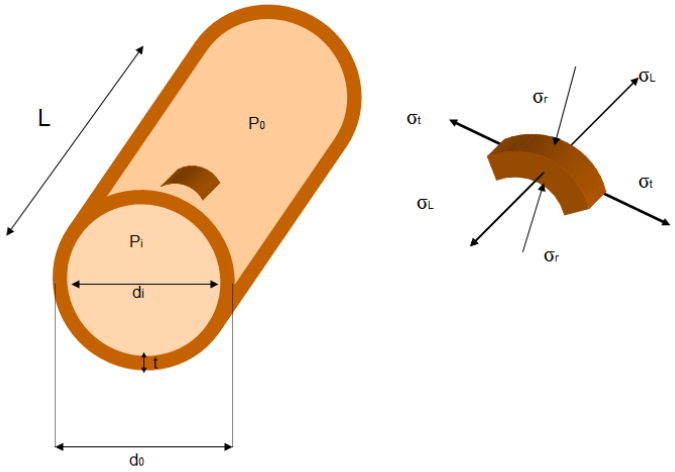


Figura 11. Tensiones generadas en las paredes de un recipiente por efectos de la presión. Recipiente cilíndrico de longitud L, diámetro interno di, diámetro externo d0 y espesor de su pared t. Si este recipiente está sometido a una presión interna pi y externa p0, sus paredes soportarán esfuerzos los cuales pueden ser reducidos a un sistema de tres tensiones normales entre sí, siendo éstas la tensión axial o longitudinal σL, la tensión tangencial o transversal σt y la tensión radial σr. En cilindros de paredes gruesas se considera que actúan las tres tensiones. En cilindros de pared delgada se considera que actúan solo dos de ellas, la tensión tangencial: σt y la tensión longitudinal: σL, mientras que la tensión radial σr se considera despreciable.

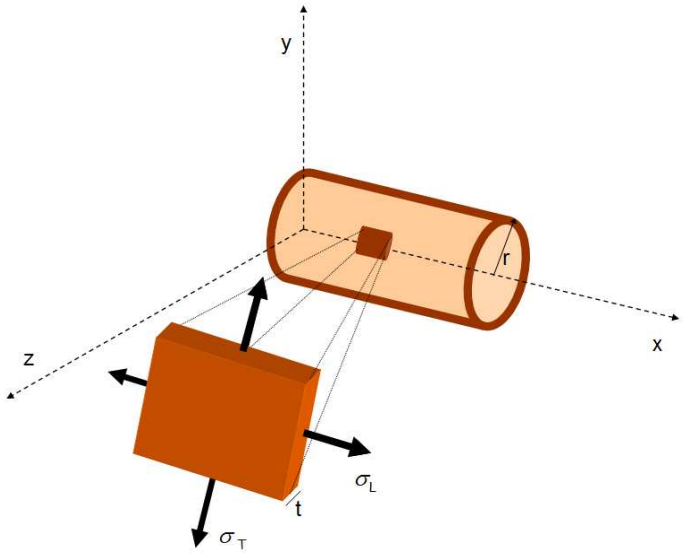


Figura 12. Determinación de la tensión normal de tracción sobre la pared de un cilindro de pared delgada con presión interior. La presión interna se distribuye, de acuerdo al principio de Pascal radialmente sobre toda su pared cilíndrica y el material de la pared soporta tensiones, que son constantes en todo su espesor. Se puede considerar que no se ejercen esfuerzos cortantes sobre el elemento (σr = 0) y sólo se tienen los esfuerzos normales transversales σt y longitudinales σL.

1.4.2. ESTUDIO DEL COLÁGENO EN LA CICATRIZ.

1.4.2.1 ESTUDIOS BIOQUÍMICOS

1.4.2.1.1. Determinación de hidroxiprolina

La cuantificación del contenido de hidroxiprolina en el tejido de los bordes de la anastomosis por métodos bioquímicos ha sido el método más empleado para cuantificar el depósito de colágeno en la anastomosis intestinal.

La hidroxiprolina es un aminoácido no esencial derivado de la prolina La hidoxilación de la prolina la lleva a cabo la enzima prolina-hidroxilasa en la luz del retículo endoplasmático. Se encuentra fundamentalmente en el tejido conectivo y óseo, constituyendo aproximadamente el 10% de la molécula de colágeno, donde juega un papel esencial en su estabilidad.

Aparte del colágeno, la hidroxiprolina se encuentra en muy pocas proteínas. Se han descrito glicoproteínas ricas en este aminoácido en la pared celular vegetal. En mamíferos, la otra proteína conocida que lo contiene es la elastina. Por este motivo la determinación por métodos bioquímicos de la cantidad de hidoxiprolina se emplea como un indicador para determinar la cantidad de colágeno de forma indirecta. Este hecho determina que las conclusiones con respecto al depósito de colágeno puedan conducir a error. La prolina e hidroxiprolina no son específicas del colágeno y pueden aparecer en el tejido durante la metabolización de otras moléculas proteínicas. La alimentación (carnes, gelatina) y alteraciones en la función hepática o renal que dificulten su eliminación pudieran alterar también los resultados. Por otro lado, aunque la cuantificación del colágeno pueda ser correcta, este método no nos permite identificar la localización ni la estructura fibrilar del colágeno.

1.4.2.1.2. Determinación de metaloproteasas

La detección de metaloproteasas (MMP), enzimas que participan en el catabolismo del colágeno, como marcadores de su metabolismo ha sido utilizada en diversos estudios experimentales [201-203]. No obstante, la cantidad de MMP y su inhibidor son parámetros que se relacionan igualmente sólo de forma indirecta con el catabolismo del colágeno.

1.4.2.1.3. Otras determinaciones

Por lo anteriormente expuesto, algunos autores proponen la determinación del procolágeno (PINP) y el telopéptido carboxiterminal (ICTP) como marcadores de la síntesis del colágeno I en el tejido colónico el primero y de su destrucción el segundo. Describen que estas determinaciones ofrecen una alta especificidad, sensibilidad y fiabilidad como indicadores del metabolismo del colágeno debido a que son moléculas directamente relacionadas con el mismo [196, 204, 205].

1.4.2.2. METODOS MORFOLÓGICOS

1.4.2.2.1. Tinción de Van Gieson

La Tinción de Van Gieson corresponde a la mezcla de ácido pícrico-fucsina ácida y hematoxilina férrica de Weigert. Esta técnica fue desarrollada por el neuropsiquiatra y patólogo Ira Van Gieson. Es el método más simple mediante tinción para diferenciar colágeno de otros tejidos conectivos. Como inconvenientes tiene que la intensidad de tinción del colágeno es variable y que tiende a desaparecer.

1.4.2.2.2. Tinción con rojo sirio

La tinción de rojo picrosirio, que se usa muy habitualmente para revelar las fibras de colágeno, incluye el rojo sirio y el ácido pícrico. El colorante Rojo Sirio (Sirius Red F3BA o Direct Red 80), combinado con el ácido pícrico fue descrito por Sweat en 1964 como una tinción histológica selectiva para tejido conectivo [206]. Pertenece al grupo de los colorantes azoicos, empleados en la industria y en el laboratorio histológico. Estos colorantes contienen el cromóforo -N=N- uniendo anillos adyacentes derivados del benzeno o el naftaleno. Pueden ser monoazoicos como el orange G, o el Ponceau de xilidina, diazoicos, como el Sudán negro y el Rojo Congo, o más raramente tetrazoicos como es el caso del Rojo Sirio [207]. En concreto el rojo sirio (Sirius Red, Colour Index 35780) es una molécula larga de tipo tetrakisazoico que se asocia linealmente a las largas fibrillas de colágeno y lo tiñe de rojo aumentando su birrefringencia natural cuando se analiza con el microscopio de luz polarizada [208]. Como el colágeno es la única proteína básica orientada descrita hasta ahora en los tejidos animales, esta mejora en birrefringencia sería específica de la misma [209, 210] .

El uso principal de esta tinción ha sido teñir el colágeno y distinguir entre diferentes formas de colágeno [211, 212]. Los patólogos usan regularmente la tinción con rojo picrosirio como una técnica simple para evaluar grados de fibrosis en órganos como el hígado, el riñón, o la fibrosis intersticial del miocardio y el tejido cicatricial que se desarrolla tras el infarto cardíaco que se colorean de forma diferente [213]. Tambien es útil en el diagnóstico diferencial de neoplasias en las que se desarrolla fibrosis, como cáncer folicular de tiroides cuando hay invasión capsular y en algunos tumores de las glándulas salivales[214].

Como los diferentes tipos de colágeno presentan patrones característicos de

agregación fibrilar (el colágeno tipo I forma fibras gruesas, el tipo III fibras finas y el tipo II no forma fibras), cuando se estudian con rojo picrosirio se mostrarán diferentes colores e intensidades de la birrefringencia en las secciones de tejido que se estudian, lo que permite su distinción y distribución [213, 215]. Montes et al. encuentran una relación entre el diámetro de las fibrillas de colágeno y los tipos de colágeno, lo que indica que la medición de los diámetros de las fibrillas de colágeno se puede utilizar para asumir la presencia de tipos de las fibras de colágeno en los tejidos [216]. Para algunos autores, cuando esta técnica se combina además con el análisis digital de imágenes, proporciona un enfoque histológico cuantitativo que puede utilizarse para cuantificar el contenido de colágeno en cortes de tejido [213, 217].

Sin embargo no todos los autores admiten este método para distinguir entre tipos de colágeno y consideran que los tipos de colágeno específicos sólo pueden determinarse mediante técnicas inmunohistológicas con anticuerpos específicos [218].

1.4.2.2.3. Tinciones inmunohistoquímicas

Las técnicas inmunohistoquímicas de tinción que emplean anticuerpos específicos para los distintos tipos de colágeno permiten teñirlos de forma selectiva. Por medio de técnicas de análisis digital de imagen se puede entonces determinar su localización y cuantificarlo [219]. Una limitación de esta técnica en los estudios con animales es la de no encontrar disponibles los anticuerpos para los diferentes tipos de colágeno en la especie deseada.

1.5. LA ANASTOMOSIS COLORRECTAL

La anastomosis colorrectal debe observar los mismos principios básicos que una anastomosis digestiva en cualquier otra localización, sin embargo, existen algunos aspectos particulares que debemos recordar.

Uno de esos aspectos es que en el recto, por debajo de la reflexión peritoneal, carece de serosa. Cuando se realiza una anastomosis se ha descrito que la serosa protege de dehiscencias y fugas anastomóticas. La formación de un sello de fibrina en el lado seroso y la regeneración de la capa serosa parecen esenciales para la rápida consecución de un sello hermético cuando la pared intestinal sufre un daño. Por eso se propone que la aposición de esta capa mediante una sutura invertida minimiza el riesgo de dehiscencia [159, 164]. Quizá por ello los segmentos extraperitoneales del tubo digestivo sin recubrimiento seroso pierden este componente de protección de la anastomosis y corren un mayor riesgo de complicaciones, como se ve en el esófago y en el recto, aunque otros autores consideran que las principales razones para explicar estas discrepancias serían su fácil compromiso isquémico y las dificultades técnicas de acceso a esta área [220]. La dificultad de acceso es evidente, y se traduce en dificultad técnica a la hora de ejecutar las maniobras para completar la anastomosis. De ahí que las anastomosis más bajas se encuentren con mayores tasas de complicaciones, al igual que ocurre en los pacientes varones donde la pelvis menor es más estrecha.

El compromiso isquémico puede producirse durante las maniobras de disección al lesionar estructuras vasculares. La vascularización arterial del recto depende principalmente de la arteria rectal superior (nombre dado a la arteria mesentérica inferior en el punto donde ésta cruza la cresta ilíaca para entrar en la cavidad pélvica). La arteria rectal superior baja por la unión a la pelvis del mesocolon sigmoide para entrar en la grasa perirrectal detrás del recto. Allí se divide en dos vasos, a veces tres, los vasos

longitudinales, que se desplazan a ambos lados del recto antes de hundirse en la pared rectal. Otras arterias complementarias contribuyen a la irrigación sanguínea del recto como son las arterias rectales medias, las arterias rectales inferiores y la arteria sacra media, pero su distribución e importancia en cuanto al aporte sanguíneo al recto son muy variables. La arterias rectales medias derecha e izquierda se originan en la arteria ilíaca interna correspondiente y discurren hacia abajo y medialmente justo por encima del suelo pélvico para alcanzar el recto. Son inconstantes en tamaño, tanto entre diferentes individuos, como en el mismo individuo de un lado a otro, e incluso pueden estar ausentes en uno o ambos lados. Normalmente no son vasos prominentes, pero también puede ocurrir que sean suficientemente grandes como para requerir la ligadura por separado. Las arterias rectales inferiores son ramas de la arteria pudenda interna de cada lado, de la que salen tan pronto como ésta entra en el periné. La arteria rectal inferior cruza la fosa isquio-rectal de lateral a medial para entrar en la pared del ano. Es la principal arteria del conducto anal y es capaz de suministrar irrigación al tercio distal del recto a través de la pared anal. Finalmente, está la arteria sacra media, que surge de la cara posterior de la aorta proximal a la bifurcación aórtica. Corre por la cara anterior del sacro y al llegar al suelo de la pelvis se dirige hacia delante para terminar en la pared rectal. Por lo general, su importancia es mínima en lo que respecta al suministro de sangre al recto [221].

1.5.1 PRINCIPALES TECNICAS DE ANASTOMOSIS COLORRECTAL

Para la anastomosis colorrectal tenemos diversas alternativas técnicas Entre las que se emplean más frecuentemente en la práctica habitual tenemos la anastomosis termino-terminal manual (monoplano o biplano), la anastomosis termino-terminal con grapadora circular y la anastomosis latero-terminal con grapadora circular.

Otras técnicas de anastomosis en recto, que se emplean en determinadas indicaciones especiales de forma poco habitual son la anastomosis colorrectal con pouch de colon en "J", las anastomosis colo-anales manuales o con grapadora circular y las anastomosis ileo-rectales e ileoanales con o sin reservorio [222, 223].

1.5.1.1. Anatomosis termino-terminal manual monoplano o biplano (figura 13).

Sigue siendo válida como un recurso en determinadas circunstancias. Pese a que hasta ahora no se haya demostrado que sus resultados sean peores que cuando se realizan anastomosis con dispositivos de grapado, en la mayoría de los quirófanos se ha ido abandonando a favor de las anastomosis termino-terminales con EEA.

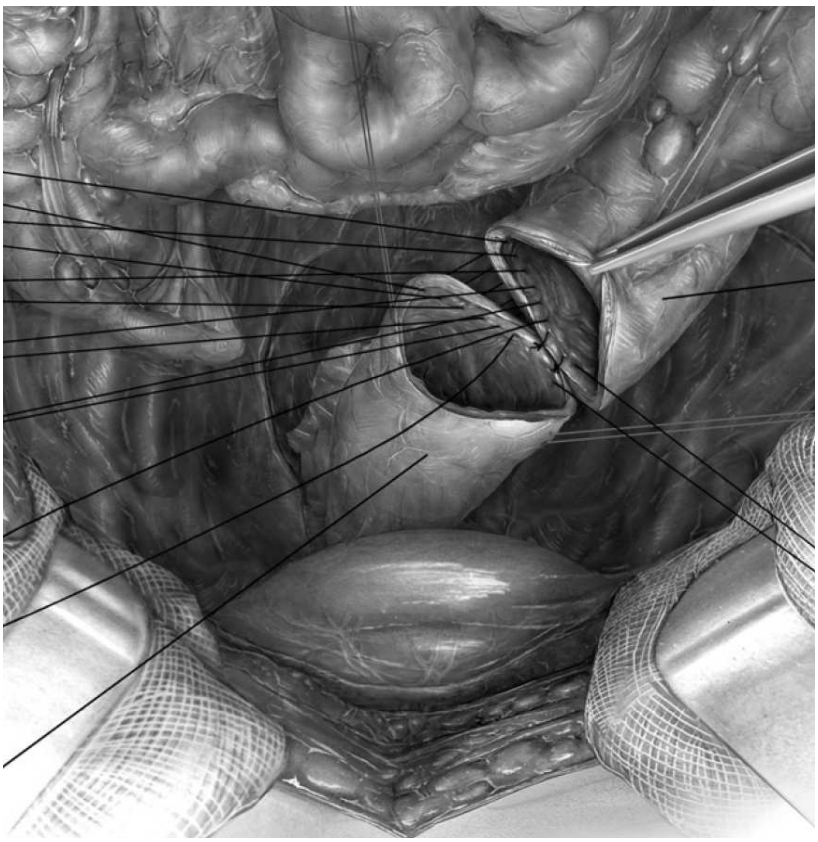


Figura 13. Anatomosis termino-terminal manual
Tomado de Stahl TJ. Technical Considerations in the Difficult Colorectal Anastomosis. Operative Techniques in General Surgery, Volume 9, Issue 4, December 2007, 142-151 [222].

1.5.1.2. Anastomosis termino-terminal con grapadora circular (figura 14).

La realización de anastomosis termino-terminal con grapadora circular se comenzó a practicar de forma habitual desde la década de 1970. Al principio la técnica se describió con el cierre de los extremos seccionados mediante sutura manual "en bolsa de tabaco" [224]. En la actualidad el cierre del muñón rectal suele realizarse mediante sutura mecánica, de acuerdo a lo que se conoce como técnica de doble grapado. Esta técnica fue descrita por Nance en 1979 para realizar anastomosis gastroduodenales. Posteriormente se propuso para la anastomosis colorrectal y enseguida fue aceptada y difundida. Si bien al principio se suscitaron dudas acerca del riesgo de fallos en la anastomosis al superponer las dos líneas de grapas, con el tiempo y diversos estudios publicados se fueron desestimado [225-230].

El doble grapado se ha impuesto en la anastomosis colorrectal por sus ventajas técnicas. Facilita mucho el descenso de la línea de corte y anastomosis en el recto. También se ha visto apoyada con la llegada de la cirugía laparoscópica y su introducción en la cirugía colorrectal, donde la realización del cierre del muñón distal con sutura manual se hace muy complicado. Existen factores inherentes a la técnica de doble engrapado que pueden afectar al resultado, entre los que se han descrito: desconocimiento del manejo del instrumento; lesión de la mucosa y muscular por el yunque al realizar la introducción o extracción del aparato o fallo en el mecanismo de sutura o corte de la grapadora (esto último es cada vez menos frecuente por la mejora de los dispositivos). También se ha llamado la atención sobre los extremos de la línea de grapas que cierra el muñón distal una vez que se ha realizado el doble grapado, apuntándose que dicho lugar puede ser un punto de debilidad de la anastomosis [231]. Hay autores que sugieren que en la técnica de doble grapado debe procurarse realizar una

anastomosis por fuera de la línea de grapas del cierre del muñón rectal o transuturaria centrada, evitando realizarla de forma tangencial a la citada línea. Algunos grupos recomiendan la anastomosis en la cara anterior rectal, sin contacto con la línea de ágrafes del muñón cuando sea posible [232].

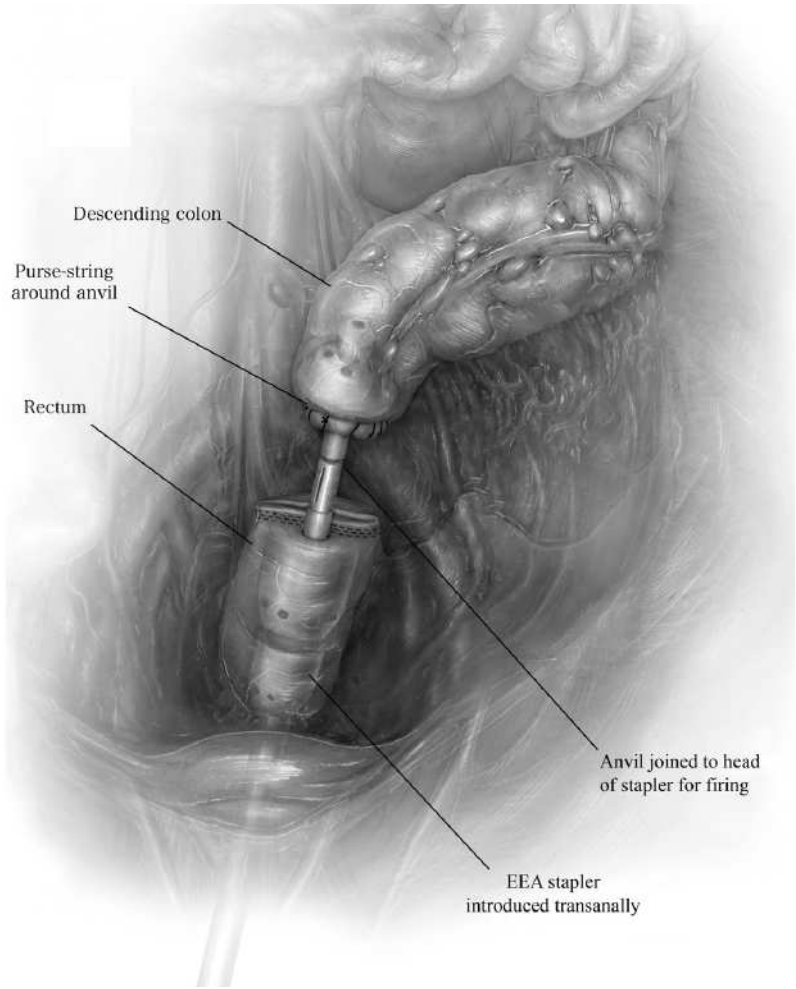


Figura 14. Anastomosis termino-terminal con grapadora circular.
Tomado de Stahl TJ. Technical Considerations in the Difficult Colorectal Anastomosis. Operative Techniques in General Surgery. Volume 9, Issue 4, December 2007, 142-151) [222].

1.5.1.3. Anastomosis latero-terminal con grapadora circular (figura 15).

En pacientes con un mesenterio con mucho tejido graso y/o una vascularización sigmoide corta, la técnica de reconstrucción latero-terminal proporciona un alcance más cómodo del colon sigmoideo hacia la pelvis profunda y puede reducir la cantidad de la movilización mesentérica necesaria para su realización. Algunos autores han descrito incluso una mejor perfusión de este tipo de anastomosis en comparación con la anastomosis termino-terminal [233], por lo que recomiendan considerar esta opción cuando se tengan dudas sobre si el aporte de sangre en el extremo proximal es adecuado.

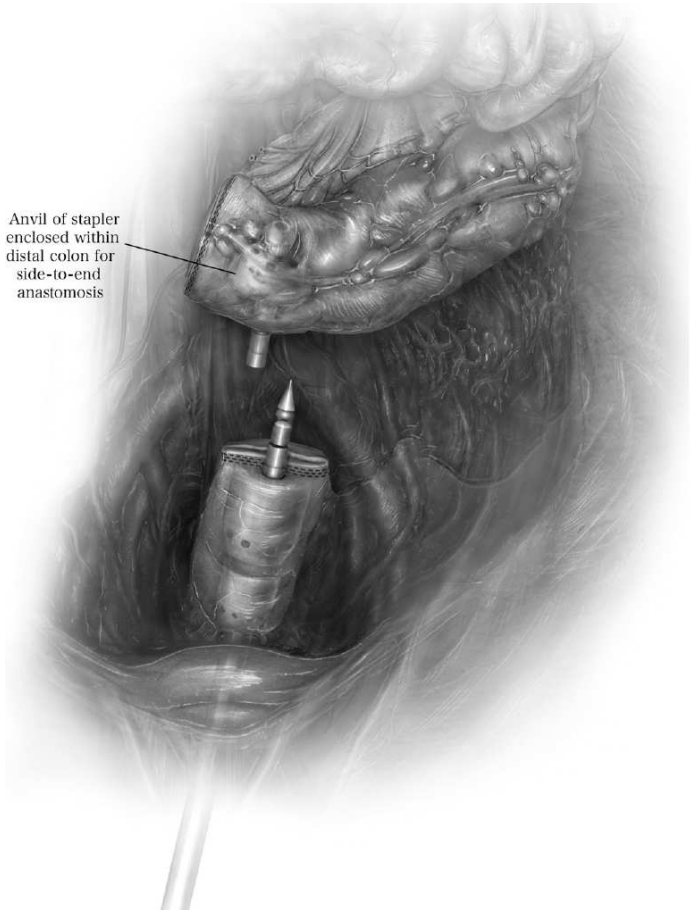


Figura 15. Anastomosis latero-terminal con grapadora circular.
Tomado de Stahl TJ. Technical Considerations in the Difficult Colorectal Anastomosis. Operative Techniques in General Surgery. Volume 9, Issue 4, December 2007, 142-151 [222].

1.5.2. PRINCIPALES COMPLICACIONES DE LA ANASTOMOSIS COLORRECTAL.

1.5.2.1. DEHISCENCIA ANASTOMÓTICA

El fallo en la anastomosis cólica representa uno de los problemas que más teme el cirujano digestivo. Su aparición conlleva un incremento importante en la morbilidad y mortalidad para el paciente. Supone asimismo un aumento de las estancias y los costes, y el consiguiente consumo de recursos.

El periodo crítico en la aparición de fallos anastomóticos se sitúa entre el tercer y quinto día posquirúrgico, que es el momento en el que la sutura tiene menor resistencia. Durante este periodo se produce una disminución en la cantidad de colágeno de la submucosa que coincide además con una situación de precariedad en la vascularización, hechos ambos que parecen ser la causa de esa menor fuerza en la anastomosis [234].

1.5.2.1.1. Incidencia

La incidencia de dehiscencias en cirugía de colon y recto varía mucho en las distintas series publicadas con cifras que oscilan desde un 2,7% hasta más de un 30% (Tabla 1) [235-249] . Esta variabilidad depende en gran medida de tres aspectos como son, en primer lugar la definición de fuga anastomótica o dehiscencia de sutura que aceptan los distintos autores a la hora de calcular su incidencia. En segundo lugar y en clara relación con lo anterior, el cómo se haya diagnosticado la existencia del fallo. Un tercer factor es el nivel al que se hayan realizado las anastomosis que se valoran.

Los criterios para su definición varían mucho de unas series a otras[250]. En una revisión sistemática en 2001 de estudios destinados a cuantificar la tasa de fallos anastomóticos tras cirugía gastrointestinal, Bruce et al.[251] encontraron en los 97 estudios

revisados un total de 56 definiciones distintas de fallo anastomótico. En relación con la definición, el método diagnóstico de las dehiscencias y fugas anastomóticas varía también mucho en las distintas series publicadas. En este sentido hay estudios en los que de forma rutinaria se ha empleado alguna prueba de imagen con contraste (enema opaco, TAC abdominal), mientras que en otros sólo se realiza para confirmar la sospecha clínica. Algunos se basan únicamente en datos clínicos como signos de peritonitis, salida de líquido fecaloideo por la herida quirúrgica o por el drenaje, aparición de abscesos perianastomóticos, exudado purulento por la herida quirúrgica o por el drenaje, o presencia de fiebre. En unos pocos se requiere incluso la reoperación del enfermo para hacer el diagnóstico. Finalmente, está el aspecto de la localización de la anastomosis. No existe un criterio uniforme de clasificación de las anastomosis colorrectales en cuanto al lugar en que estas se localizan. Algunos autores se refieren a medidas endoscópicas para clasificar las anastomosis mientras que otros las clasifican como altas o bajas, sin definir el criterio que siguen para ello [35].

En general, las tasas más altas de dehiscencia aparecen en las anastomosis más bajas del recto y en series en las que se realiza una prueba de imagen de forma rutinaria para su detección. Mann et al.[252] publicaron en 1996 un estudio prospectivo de anastomosis colorrectal con sutura manual en 370 pacientes en el que ponen de manifiesto una incidencia de fístulas en las anastomosis supraperitoneales significativamente menor que en las infraperitoneales. De modo que mientras que las dehiscencias de anastomosis colo-cólicas varían según las series entre el 2,7% y el 7%, en la cirugía colorrectal se han publicado tasas desde 2,5 hasta un 35% [235-249]. Pero además, la correcta cicatrización de la sutura de la anastomosis colorrectal se ve comprometida en mayor medida cuanto más cerca se realiza de la región anal, siendo

varios los estudios que han puesto de manifiesto que el riesgo de complicaciones en las anastomosis colorrectales infraperitoneales es mayor cuanto más distales son [247, 253-255].

1.5.2.1.2. Mortalidad

La mortalidad publicada por fallos anastomóticas en cirugía de colon y recto varía entre 3,4% y 27,6% en las diferentes series que analizan este aspecto frente a cifra de mortalidad globales de entre un 1,3%- 9% [235-242, 245, 248, 249]. Algunos autores han encontrado significativas estas diferencias en las tasas de mortalidad de los pacientes que presentan dehiscencia. [239, 240, 242, 245, 249] .

Tabla 1: Incidencia de dehiscencias anastomóticas y mortalidad en anastomosis de colon y recto

Año	AUTOR	motivo de reseccion	Nº anastomosis	Anastomosis de localización colorrectal	total fallos	fallos colorrectal	mortalidad global	mortalidad cuando dehiscencia
1980	Fielding	cáncer	1466	412	13% (191/1466)	18,7% (77/412)	9,07% (133/1466)	22% (42/191)
1990	Tuson	varios	360	101	24,4%	34,7% (35/101)	2,5% (9/360)	3,4% (3/88)
1995	Docherty	varios	652	224	4,4%	6,25% (14/224)	4,3% (28/652)	27,58% (8/29)
1997	Vignali	varios	1014	1014	2,9%	2,9%	1,6%	3,44% (1/29)
2002	Alves	varios	707	no especifica	6% (43/707)	no especifica	2,2% (16/707)	12% (5/43)
2004	Eriksen	cáncer	1958	1958	11.6% (228/1958)	11.6% (228/1958)	2,4% (30d) 2,9% (60d)	7% (30d) 9,2% (60d)
2005	Biondo	varios urgencias	208	no especifica	5,77% (6/208)	no especifica	6,2% (13/208)	16,66% (2/12)
2005	Branagan	varios	1834	633	3,90%	6,30%	3,5%	18,3%
2005	Gastinger	cáncer	2729	2729	14,5% con estoma 14,2% sin estoma	14,5% con estoma 14,2% sin estoma	0,9% con estoma 2% sin estoma	no especifica
2005	Wong	no especifica	1066	1066	3,8% - 4%	3,8% - 4%	no especifica	7,3% (3/41)
2006	Lipska	varios	541	148	6,50%	7,43%	3,7% (20/541)	14,3%
2006	Platell	varios	1639	316	2,4% (40/1639)	6,6% (21/316)	1,30% (21/1598)	no especifica
2007	Hyman	no especifica	1223	243	2,7%	2,46% (6/243)	no especifica	6,06% (2/33)
2007	Kruschewski	cáncer	276	276		14,9% (41/276)	2,50%	12,2% (5/41)
2008	Buchs	varios	811	57	3,5%	11%	2,7%	12,9%

1.5.2.1.3. Factores de riesgo para el fracaso de la anastomosis.

Se han descrito muchos factores que aumentan el riesgo de fuga de la anastomosis. Podríamos clasificarlos como factores sistémicos, dependientes del paciente y sus circunstancias; factores intraoperatorios, relacionados sobre todo con los aspectos técnicos y factores locales dependientes del segmento del tubo digestivo como los que son específicos para la anastomosis rectal.

Entre los factores de riesgo descritos dependientes del paciente destacan la desnutrición, los esteroides, el consumo de tabaco, leucocitosis, enfermedades cardiovasculares, consumo de alcohol, la clasificación ASA o la diverticulitis. Factores de riesgo intraoperatorios incluyen anastomosis bajas, suministro de sangre anastomótica subóptimo, tiempo operatorio por encima de 2 horas, obstrucción del intestino, transfusión de sangre perioperatoria o condiciones sépticas intraoperatorias. Como factores de riesgo específicos de anastomosis rectal se han descrito fundamentalmente el sexo masculino y la obesidad [239, 255-259]

1.5.2.1.3.1. Factores preoperatorios.

Sexo masculino

A menudo se ha identificado el género masculino como un factor de riesgo de fuga para la anastomosis colorrectal [245, 255]. Hay estudios que refieren mayores tasas de fuga en los pacientes varones en todo el colon [242] sin embargo, la mayoría encuentran tasas similares de filtración de la anastomosis con independencia del género en las anastomosis realizadas por encima de la peritoneal reflexión [241, 260].

En la actualidad, no hay consenso general sobre el género como un factor de riesgo para la anastomosis por encima del recto. Lo más probable es que éste factor sólo

influya en las anastomosis bajas, donde lo estrecho de la pelvis masculina hace que la disección y la anastomosis sean más dificultosas.

Estado nutricional

El estado nutricional es un factor que contribuye de forma importante a la aparición de dehiscencias de la anastomosis, por lo que parece esencial evaluar el estado nutricional antes de la operación y poner en marcha los métodos necesarios para revertir cualquier estado catabólico que hubiera presente.

Varios estudios han demostrado una correlación entre los niveles de albúmina y una mayor incidencia de fugas de la anastomosis [257, 259]. Un estudio de casos y controles encontró que la desnutrición descrita como pérdida de peso (>5kg) o niveles bajos de albúmina en sangre (<35g/L), es el factor de riesgo más influyente en la aparición de fuga anastomótica [257]. Pese a todo, en la actualidad no hay establecidas recomendaciones en cuanto a cuál es el nivel de desnutrición preoperatoria que requiere actuación y aunque se considera que una adecuada nutrición preoperatoria es un valor importante de reducción del riesgo de fístulas, se acepta que para la mayoría de los pacientes, salvo aquellos gravemente desnutridos, la nutrición parenteral preoperatoria no tiene beneficio. Tras la intervención, la alimentación oral es generalmente bien tolerada en el postoperatorio inmediato después de la mayoría de las resecciones colorrectales, sin que haya por ello aumento en las tasas de fugas.

Clasificación de la ASA

Se ha descrito un riesgo significativamente mayor de dehiscencias en pacientes con una clasificación de la ASA de III o más [257, 260]. En definitiva este índice lo que traduce es la comorbilidad asociada por trastornos como la diabetes mellitus, la

hipertensión, o las enfermedades cardiacas que puede causar deterioro en la microcirculación.

Toma de esteroides

Por analogía con los problemas de cicatrización con el uso de esteroides en la curación de las heridas cutáneas se supone que este hecho podría afectar las tasas de fuga anastomótica. Esto se ha visto apoyado por los datos de análisis retrospectivos [239, 245] y un estudio prospectivo con 391 resecciones electiva de colon que encontró que el uso preoperatorio prolongado de esteroides y la necesidad consiguiente de mantener una cobertura perioperatoria es un factor de riesgo importante de fugas de la anastomosis [261].

Radiación

La radioterapia neoadyuvante es el estándar de tratamiento para los tumores de recto que se clasifican como T3 o N1 por ecografía endorrectal. Hasta la fecha no ha quedado claro con los datos existentes si la radiación es un riesgo de fuga anastomótica. Hay estudios retrospectivos que no han encontrado diferencias en las tasas de fuga entre los pacientes con anastomosis rectal baja que recibieron radioterapia y los que no, independientemente de si tenían o no derivación proximal [238, 254]. Otros trabajos[239], por el contrario hallaron que la irradiación abdominal o pélvica anterior aumenta tras analizar 707 pacientes sometidos a resección colorrectal.

Preparación mecánica del colon

La preparación mecánica del intestino antes de la cirugía colorrectal es una práctica ampliamente aceptada, aunque su eficacia nunca se haya probado fuera de estudios observacionales y experimentos en animales. Durante años ha existido una

creencia común entre los cirujanos de que una eficiente preparación mecánica del intestino y la descarga fecal se encuentran entre los factores más importantes en la prevención de complicaciones de la cirugía colorrectal al reducir la carga bacteriana. Por ello es habitual el uso de dietas bajas en residuos y la preparación mecánica para limpiar el intestino por efecto osmótico antes de la cirugía programada. Sin embargo, en situaciones de urgencias a menudo se ve como las anastomosis sin preparación no implican necesariamente una dehiscencia, y de hecho un estudio prospectivo demostró que la descompresión del intestino y anastomosis primaria es segura sin necesidad de lavado intraoperatorio del colon [262], de modo que esta práctica se ha ido abandonando por muchos cirujanos. De otro lado, eliminar la preparación mecánica del intestino en la cirugía electiva evita al paciente la diarrea y los trastornos electrolíticos con desequilibrio de líquidos en las horas previas a la cirugía.

Ensayos clínicos prospectivos y randomizados no han demostrado que la preparación mecánica en cirugía colónica reduzca el riesgo de fallos de la sutura [263, 264], y algunos autores abogan por que sea abandonado [265].

Una revisión sistemática de ensayos clínicos aleatorios que comparan cualquier estrategia en la preparación mecánica del intestino con ninguna preparación mecánica del intestino, incluyendo en total nueve ensayos con 1592 pacientes, observó que no existen pruebas convincentes de que la preparación mecánica del intestino esté asociada a tasas reducidas de fuga anastomótica después de la cirugía colorrectal electiva. Por el contrario, encuentran pruebas de que esta intervención puede asociarse a una mayor tasa de fuga anastomótica y complicaciones de la herida, concluyendo que no puede recomendarse la preparación mecánica rutinaria del intestino antes de la cirugía colorrectal [266].

1.5.2.1.3.2. Factores de riesgo intraoperatorios

Isquemia de la anastomosis

La oxigenación de los tejidos es esencial para que tenga lugar una cicatrización adecuada. El suministro de oxígeno es un requisito para la hidroxilación de la lisina y la prolina en la síntesis del colágeno. En modelos experimentales se ha visto que existe relación entre la tensión de oxígeno en los tejidos y la resistencia a la rotura de la anastomosis y el contenido de hidroxiprolina y que la formación de colágeno se altera si la p02 cae por debajo de 40 mm Hg, y por debajo de 10 mm Hg la anastomosis fracasa debido a disfunción en la angiogénesis y la epitelización [199].

El aporte de oxígeno a la anastomosis puede verse comprometido si se altera la perfusión tisular o si desciende la presión arterial de oxígeno en la sangre. El suministro de sangre a una anastomosis depende fundamentalmente de la vascularización intrínseca. La movilización quirúrgica del intestino es un factor clave que determina la perfusión subsiguiente, porque la movilización excesiva o brusca puede dañar vasos críticos. Esto también puede ocurrir con una sutura o grapado demasiado apretados. Por otro lado, si la movilización es inadecuada, la tensión en la anastomosis también puede comprometer la perfusión.

El flujo sanguíneo de la anastomosis puede verse alterado también por hipovolemia porque en esta circunstancia, el tracto digestivo deriva su propio suministro de sangre para apoyar a la perfusión de otros órganos vitales.

Tiempo operatorio

Algún estudio ha encontrado una tasa mayor de fugas anastomóticas tras resección rectal relacionada con tiempos operatorios prolongados [238, 261]. Parece lógico

suponer que estas circunstancias se deban a situaciones de mayor dificultad en la resección y anastomosis.

Factores relacionados con la técnica anastomótica

La técnica quirúrgica es sin lugar a dudas un factor determinante para el resultado con éxito de cualquier operación y son muchos los aspectos que se deben considerar en este apartado que están sujetos a variabilidad.

En lo referente a la vía de abordaje, hasta ahora, la vía laparoscópica en cirugía colorrectal ha demostrado una tasa de complicaciones de la anastomosis similar a la vía abierta [267-270].

La confección de una anastomosis, por un lado presenta los aspectos relacionados con la ejecución de la técnica conforme a los principios básicos. A menudo se describe que los cirujanos con experiencia tienen una menor incidencia de complicaciones que los cirujanos en formación o un incremento de complicaciones durante la "curva de aprendizaje" ante la adopción de una nueva técnica o recurso quirúrgico. Por otro lado las distintas opciones técnicas de las que se dispone en la actualidad pueden originar diferencias en cuanto a las tasas de complicaciones. De ello se habla más extensamente en el apartado de opciones técnicas para la confección de anastomosis.

1.5.2.2. ESTENOSIS ANASTOMÓTICA.

Las estenosis anastomóticas en cirugía colorrectal son frecuentes. En algunas ocasiones precisan tratamientos que van desde medidas conservadoras hasta cirugía de resección y reanastomosis. Como ocurre con las dehiscencias anastomóticas, no hay una definición consensuada de estenosis entre los diferentes autores, lo que se traduce en un amplio rango de incidencias descritas que va desde un 0% hasta un 30% [34, 238, 271-276]. La

definición de estenosis anastomótica empleada por muchos de los autores es la incapacidad de pasar un endoscopio de 12mm de diámetro [276].

Además de la falta de uniformidad en su definición, la resolución espontánea de las estenosis en la mayora de los casos, la variabilidad en los métodos de seguimiento y la pobre correlación entre el grado de estenosis y la aparición de clínica podrían contribuir a explicar las diferentes incidencias descritas.

El hecho de que no exista una clara correlación entre la clínica y el grado de estenosis hace que a menudo estrechamientos severos de la luz intestinal cursen asintomáticos o con escasa sintomatología, por lo que la estenosis puede pasar inadvertida.

El diagnóstico en la mayoría de las ocasiones se realiza entre las 12 y 24 semanas tras la cirugía [272, 275, 277] conforme madura la cicatriz. Los estudios con endoscopias precoces tras la cirugía sin embargo encuentran cifras muy bajas de estenosis (0 – 3%) [276].

Se han descrito varios factores de riesgo asociados a las estenosis, algunos se han clasificado como preoperatorios (obesidad, sepsis y radioterapia), otros intraoperatorios (rodetes incompletos, sutura mecánica) y otros postoperatorios (dehiscencias, infecciones pélvicas y radioterapia). Con respecto a la técnica quirúrgica un meta-análisis comparando sutura manual con mecánica, describe una clara tendencia de la anastomosis mecánica a la estenosis [34]. Aunque esta revisión analiza cuatro series prospectivas y aleatorizadas, el número de pacientes es bajo y en ellas no hay una definición clara y homogénea de la complicación. Datos similares se encuentran en otro metanálisis que compara grapas con sutura manual en anastomosis colorrectal [35]. Una tercera revisión sistemática que establece esta comparación en anastomosis ileocólicas no haya sin embargo mayor tasa de estenosis con el grapado [36].

En cuanto a la evolución de la estenosis anastomótica, la mayoría de los casos de estenosis tras cirugía colorrectal se resuelven espontáneamente por la progresiva dilatación por el bolo fecal, pero algunas situaciones pueden requerir tratamientos que varían desde la dilatación hasta la reintervención. El porcentaje de casos que requerirá algún procedimiento terapéutico varía entre el 6% y el 10% en la mayoría de las series publicadas [276].

Entre las circunstancias que obligan a algún tipo de tratamiento están la clínica grave o persistente, los pacientes portadores de estoma de protección antes de plantear su cierre definitivo y la incapacidad para pasar el colonoscopio en pacientes que fueron tratados de cáncer colorrectal y precisan seguimiento [278].

En general, las estenosis anastomóticas benignas pueden tratarse con éxito mediante dilatación en más del 88% de los pacientes, reservándose la cirugía para aquellos que no responden adecuadamente [276].

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

En la actualidad, la realización de anastomosis digestivas se fundamenta en la aproximación de los extremos intestinales a unir de forma manual, mediante sutura con hilos de diferentes materiales, o de forma mecánica, mediante aparatos de grapado que emplean ágrafes metálicos. Otros métodos de aproximación y unión de los bordes intestinales propuestos han sido diversos dispositivos de compresión mecánica, el empleo de sustancias adhesivas o la fusión de los tejidos mediante calor.

Recientemente se ha especulado sobre la posibilidad de fusionar tejidos biológicos, entre ellos la pared intestinal, con dispositivos que, mediante el empleo de energía bipolar y compresión, permiten la unión de los mismos. Un ejemplo sería el dispositivo LigaSure® (Valleylab, Boulder, CO, USA), cuya utilidad actual se centra en la hemostasia mediante el sellado de vasos arteriales y venosos de pequeño y mediano calibre.

Para evaluar su utilidad en la unión de tejido intestinal, el presente trabajo compara los resultados obtenidos en un modelo animal. En un grupo se realizan, por vía laparoscópica, anastomosis colorrectales en las que se emplea este dispositivo en la sección intestinal y el cierre del muñón rectal. En un segundo grupo la sección y cierre del extremo distal del recto se efectúa con endograpadora conforme la técnica estándar del doble grapado.

2.1. HIPOTESIS DE TRABAJO

El empleo del dispositivo de sellado LigaSure® (Valleylab, Boulder, CO, USA) para la sección y cierre del extremo rectal distal durante la confección de la anastomosis colorrectal presenta resultados equivalentes a los de la técnica convencional del doble grapado.

2.1. OBJETIVOS

2.1.1. Objetivo primario

Determinar si la realización de una anastomosis colorrectal en la que se ha empleado un dispositivo de sellado tisular bipolar para la sección y sellado del colon es factible y segura., en base a los siguientes parámetros:

- Incidencia de complicaciones mayores: hemorragia, dehiscencia y estenosis
- Mortalidad del animal durante la intervención y el periodo de seguimiento.

2.1.2. Objetivos secundarios

- Evaluar si existen diferencias en el tiempo operatorio entre ambas técnicas.
- Evaluar si existen diferencias en cuanto a la necesidad de conversión a cirugía abierta.
- Evaluar las propiedades físicas de las anastomosis creadas.
- Evaluar si existen diferencias histopatológicas entre las anastomosis.
- Evaluar si existen diferencias en la composición colágena de la cicatriz entre las anastomosis
- Evaluar si el procedimiento es coste efectivo.

3. MATERIAL Y METODOS

3.1. DISEÑO: ESTUDIO EXPERIMENTAL ALEATORIZADO EN MODELO ANIMAL PORCINO.

Para valorar si la realización de una anastomosis colorrectal en la que se emplea el dispositivo de sellado tisular bipolar presenta resultados similares en cuanto a los objetivos propuestos con respecto la anastomosis realizada con una técnica convencional se diseñó un estudio con animal de experimentación.

Un total de 30 cerdos Large White se dividieron en dos grupos (A y B) con 15 animales en cada uno. Se les realizó una anastomosis colorrectal. En los animales del grupo A (grupo a estudio), se introdujo una modificación en el procedimiento de división del intestino y cierre del muñón distal, que se hizo con el dispositivo con el dispositivo LigaSure® utilizando un terminal Atlas®. En los animales del grupo B se empleó para ello una endograpadora. Posteriormente, la unión de ambos extremos se llevó a cabo mediante un aparato de grapado circular EEA en los dos grupos (figura16).

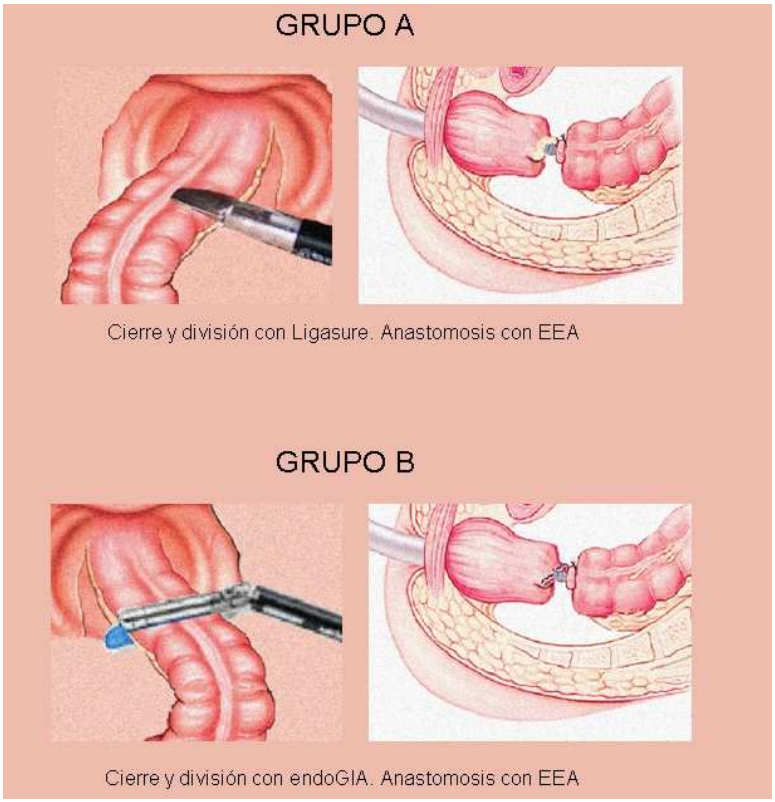


Figura16. Esquema de las intervenciones.

El propósito es comparar la evolución de las anastomosis de los dos grupos en su proceso de curación, valorando tanto los aspectos clínicos como la calidad de la cicatrización.

3.1.1. ELECCIÓN DEL MODELO ANIMAL.

Una de las dificultades esenciales a la hora de encontrar un modelo experimental ideal radica en elegir uno con el que los resultados obtenidos puedan extrapolarse de la forma más adecuada posible a la especie humana. En este sentido es difícil que el comportamiento biológico del animal elegido se asemeje por completo al del ser humano. De modo similar ocurre con los aspectos anatómicos, de especial interés en esta rama de la medicina que es la cirugía.

Para el presente estudio se seleccionó un modelo con especie porcina de la variedad Large White. Todos ellos hembras con un peso comprendido entre 18 y 30Kg. Esta especie ha sido empleada con frecuencia, junto con el modelo canino, como modelo animal para el estudio de anastomosis intestinales en grandes animales [72, 73, 279-281].

En el estudio de la anastomosis colorrectal en concreto, el modelo porcino, por sus características físicas y anatómicas, nos permite emplear el instrumental quirúrgico convencional que se utiliza en la práctica diaria en los quirófanos, lo que nos aproxima más a un entorno clínico real. Es de hecho un modelo que se utiliza habitualmente para el entrenamiento inicial de los cirujanos en la vía laparoscópica [282, 283].

No obstante, existen algunas diferencias con respecto a la anatomía humana del colon y recto que debemos tener presentes. Un primer aspecto a destacar en cuanto a las diferencias existentes entre la anatomía del cerdo y la del hombre es que en el primero no existe el marco cólico, de modo que el intestino grueso porcino se asemeja al del hombre sólo en el tramo rectosigmoideo (figura 17). Desde el punto de vista

embriológico, la explicación más sencilla para entender la anatomía del cerdo sería que éste no sufre un proceso de rotación antihoraria como ocurre en el humano.

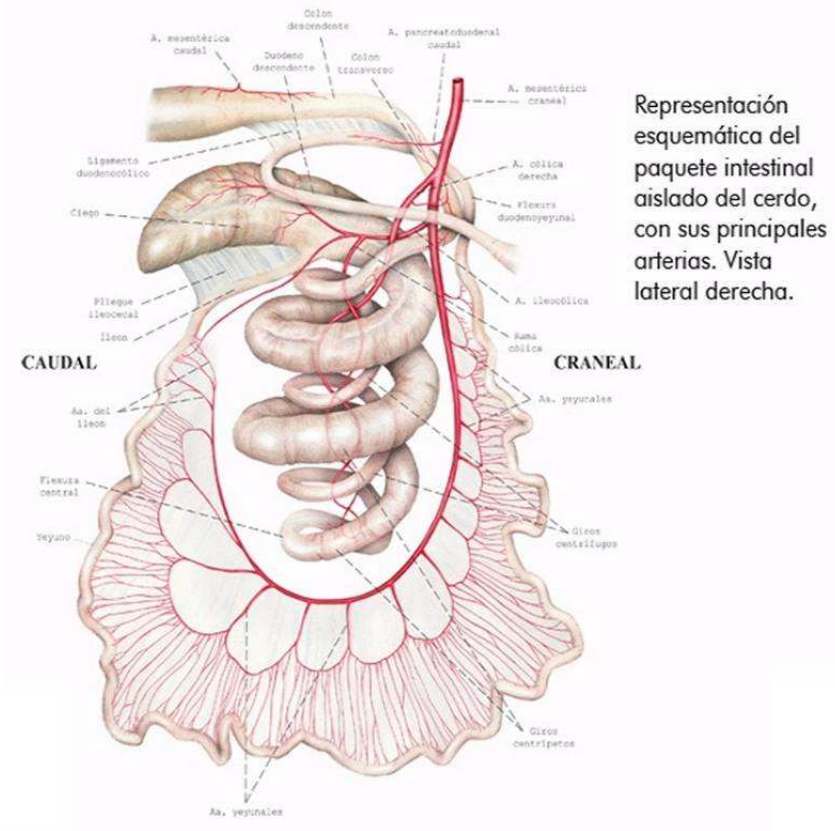


Figura 17. Representación esquemática del paquete intestinal aislado del cerdo (Ghetie 1958) .
Tomado de Usón J y colaboradores. Formación en cirugía laparoscópica paso a paso. 2001. CCMIJU. 4ª edición.

En el cerdo, el colon proximal es un asa de grueso calibre (7,5-10 cm de diámetro), con haustras evidentes que adopta una forma helicoidal, dando varias vueltas sobre sí mismo. No está fijo al retroperitoneo y se puede movilizar completamente a la derecha o a la izquierda. Sin embargo, el colon descendente y el sigma ocupan una posición similar a la del hombre, aunque en una localización más central. Otra particularidad es que en el cerdo, el colon descendente no se fija al retroperitoneo como

en el hombre. En su aspecto externo es de menor calibre que el resto del colon y no presenta haustras.

La vascularización arterial y venosa del colon porcino depende en su mayor parte del territorio mesentérico superior, excepto el sigma que tiene un meso transparente y una fina arteria mesentérica inferior que nace de la aorta muy cerca de su bifurcación iliaca. La aorta porcina en su porción infrarrenal va dando ramas lumbares finas cada 2 o 3cm. La arteria mesentérica inferior es la única rama que sale de su cara anterior [284]. Este vaso se divide en dos ramas muy cerca de su origen, una superior y otra inferior que se dirige a las porciones superiores del recto del animal.

Teniendo en cuenta estos aspectos, el lugar elegido para la realización de la anastomosis ha sido inmediatamente por debajo de la reflexión del peritoneo. Previamente se secciona la rama inferior o rectal de la arteria mesentérica inferior próxima a su bifurcación, respetando la rama superior para garantizar una adecuada perfusión del borde proximal.

3.1.2. JUSTIFICACIÓN DEL NÚMERO DE CASOS POR GRUPO (N)

Disponemos de escasos datos en cuanto a la incidencia de fallos en anastomosis colorrectal en cerdo en la literatura científica. Para calcular el tamaño de la muestra en este estudio se parte de los datos publicados en humanos. La incidencia de fístula descrita en las principales series, conforme a criterios clínicos de diagnostico, se sitúa en torno al 9-10 % [235-249, 278]. Cuando de forma sistemática se realiza enema de control, con independencia de que aparezcan o no síntomas, se han descrito hasta un 51% de fugas en la resección anterior [164, 278]. Para detectar diferencias entre ambos grupos de un 9 a un 56 % con una potencia del 80% en alguno de los indicadores analizados se requeriría 15 animales por grupo. Los cálculos fueron realizados con el programa EPIDAT 3.1.

(OPS). Estudios que evalúan anastomosis en modelo porcino presentan tamaños similares [72,73, 279, 281]..

3.1.3. ESTRATEGIA DE ASIGNACIÓN A LOS GRUPOS EXPERIMENTAL Y GRUPO CONTROL.

En cada animal de experimentación se realizó una anastomosis colorrectal con una de las dos técnicas propuestas a estudio. La distribución de los mismos en uno u otro grupo se hizo de forma aleatoria. La secuencia se mantuvo oculta al investigador hasta el momento de la intervención.

3.1.4. DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN.

Las intervenciones se realizaron bajo estrictas condiciones según los protocolos vigentes en el CCMI. Dentro de la preparación del sujeto a estudio, se consideró en el preoperatorio el tiempo de ayuno, antibioterapia, estado general del animal, analítica previa. Los animales fueron sometidos a un periodo de ayuno antes de la intervención de 24 horas, y dieta líquida las horas previas a la intervención.

Se realizó preparación mecánica únicamente mediante aplicación de enema antes de la intervención. No se empleó preparación mecánica del colon con soluciones evacuantes dado que por una parte su eficacia es controvertida [263-266, 285-288] y por la otra supone una dificultad añadida en el manejo de los animales y un trastorno para los mismos.

La preparación del animal y de toda el área abdominal, desde la apófisis xifoides del esternón hasta el pubis, se llevó a cabo de la forma habitual en cirugía laparoscópica, procediendo al rasurado, desinfección y colocación de paños estériles en el área abdominal.

Las intervenciones se realizaron bajo anestesia general, con monitorización de constantes y controladas por personal veterinario especializado y con experiencia en intervenciones animales.

Los animales fueron colocados en decúbito supino, con la mesa en posición de Trendelemburg y ligero decúbito lateral derecho.

La vía de abordaje fue laparoscópica cerrada. Se empleó un equipo de laparoscopia convencional Olympus, con una óptica 10mm- 0º. El neumoperitoneo se hizo con aguja de Veress a nivel del hipocondrio izquierdo. La insuflación de CO2 a 2 l/min. de flujo y una presión de 12 mmHg. Las intervenciones fueron grabadas en video para posterior reevaluación.

Se instaló, un trócar de 11mm a nivel umbilical para la entrada de la óptica y dos trócares de trabajo de 5mm en flanco derecho y FII. En los animales asignados al grupo A se instaló un tercer trócar de 11mm en FID necesario para paso del LigaSure®. En los del grupo dos se instaló un trócar de 12mm en dicha localización, necesario para el paso del endoGIA (figura 18).

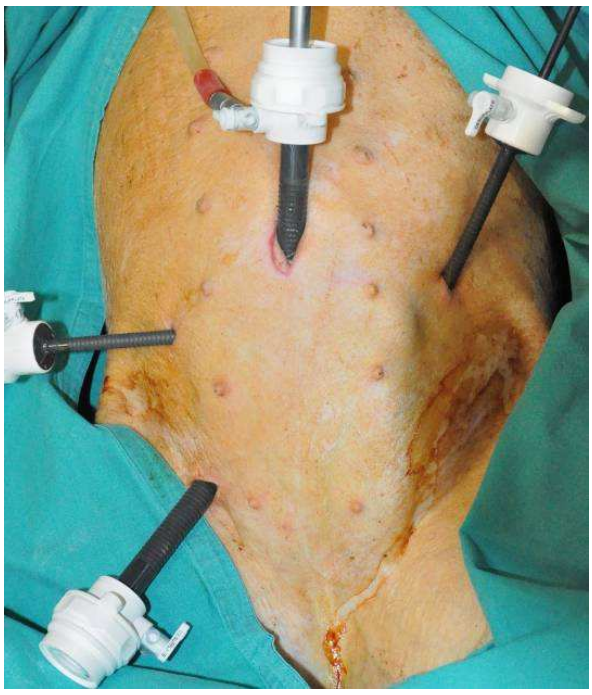


Figura 18. Colocación de los puertos de trabajo.

A todos los animales se les sometió a una intervención en la que, tras la ligadura de la rama descendente de la arteria mesentérica inferior, se identificó y disecó adecuadamente la zona de unión colorrectal, a cuyo nivel fue seccionado el intestino.

En los animales del grupo A esa sección y el sellado del muñón distal se realizó con el dispositivo LigaSure® utilizando un terminal Atlas® 10mm y un generador ForceTriad® con el nivel 3 de transmisión de energía seleccionado (figura 19). En los del grupo B este paso se realizó con endoGIA de 45mm y 60mm de 3,5mm de altura de grapa (Covidien, Autosuture, Hamilton, Bermuda). Posteriormente la unión de ambos extremos se llevó a cabo mediante empleo de un dispositivo EEA® 2135 (Covidien, Autosuture, Hamilton, Bermuda) en los dos grupos. En el grupo B según la técnica de doble grapado, en los del grupo A un grapado simple sobre el muñón rectal termosellado.

Al final de la intervención se verificó en todos los casos la estanqueidad de las anastomosis mediante insuflación de aire a baja presión por el recto, previo relleno con suero del hueco pélvico. No se puso drenajes en ninguno de los sujetos dado que, esta actuación, complica mucho el manejo postoperatorio de los animales. Por otra parte hay autores que señalan que no está claro que esta práctica aporte ventajas en su realización de forma rutinaria [289, 290, 291, 292].

Durante las intervenciones se fueron registrando los tiempos operatorios y las incidencias intraoperatorias tales como sangrado, defectos en la creación de las anastomosis, fugas durante la prueba de estanqueidad y eventual reconversión de la cirugía a vía abierta.

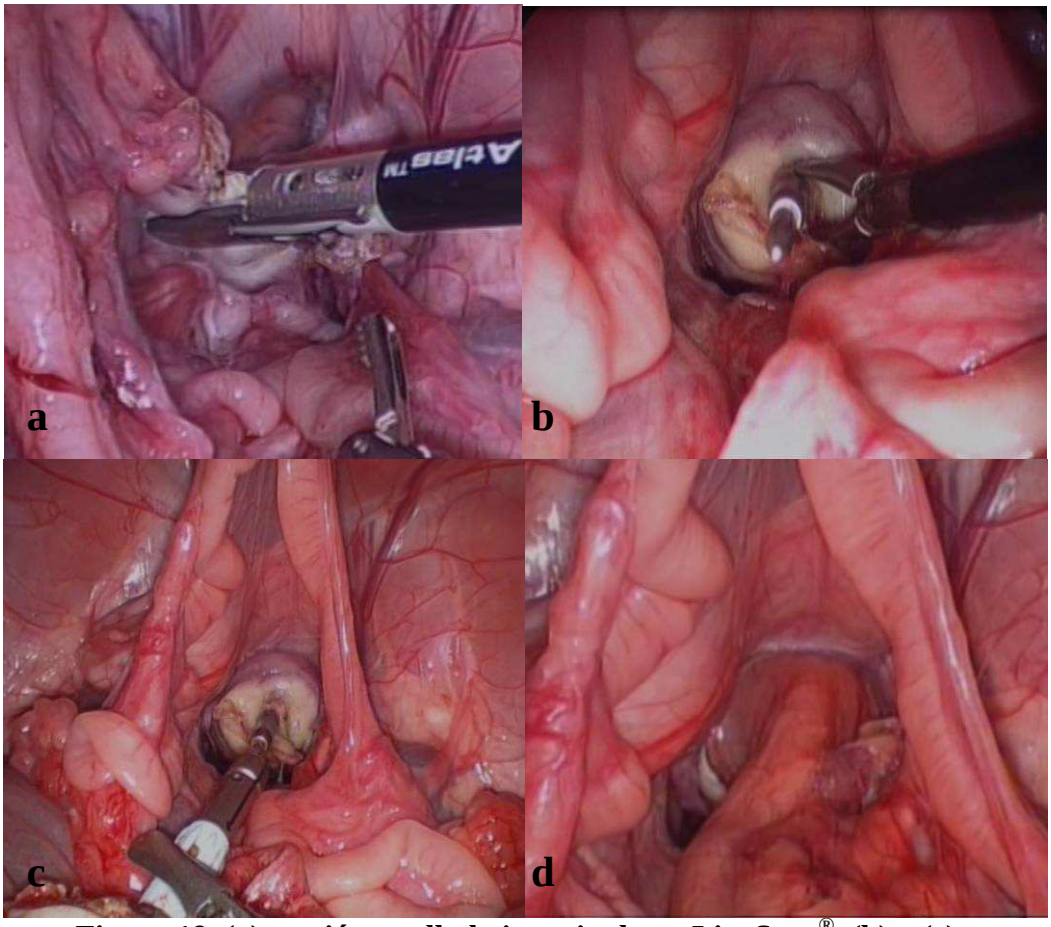


Figura 19. (a) sección y sellado intestinal con LigaSure®. (b) y (c) preparación para anastomosis de los extremos. (d) anastomosis finalizada.

3.1.5. PERIODO DE SEGUIMIENTO Y SACRIFICIO:

Tras la intervención los animales permanecieron aislados las primeras 24 horas y se les administró dieta líquida. Posteriormente fueron reintroducidos en su entorno habitual junto con los demás, donde se mantuvieron con vida en condiciones óptimas de estabulación durante un periodo de 30 días para evaluar su evolución.

Durante este tiempo se analizó su estado clínico. Se valoraron aspectos como comportamiento anómalo, postración, relación con los demás animales, apetito, ganancia de peso y temperatura. Se tomaron analíticas sanguíneas basales, a los 7 y a los 30 días. A la semana de la intervención se le practicó a todos los animales un enema opaco con

contraste para evaluar posibles fugas anastomóticas. A los quince días se les realizó una rectoscopia para comprobar el estado de la anastomosis.

Finalizado ese periodo los animales fueron anestesiados en el quirófano y se les practicó una laparotomía media y una cuidadosa disección de la zona de la anastomosis para determinar los hallazgos que pudieran presentarse y proceder a la toma de muestras. Para la preparación de las muestras se resecó un segmento de intestino englobando la anastomosis y al menos 6cm proximales y distales (figuras 20, 21 y 22). Las piezas se extrajeron completas, en un bloque mediante amputación perineal hasta segmento de sigma intraperitoneal. Posteriormente se identificó el nivel de la anastomosis y se seccionaros desde 5cm por encima hasta 5cm por debajo de la misma. Finalmente se prepararon para como se indica más adelante para medir el área de sección intestinal a nivel de la anastomosis y se procedió a la toma de las muestras necesarias para los estudios mecánicos y microscópicos. Las muestras se remitieron al laboratorio para el estudio. Al término de esta exploración y toma de muestras los animales fueron sacrificados de acuerdo a la normativa.

Figuras 20,21 y 22: Piezas extraídas para estudios en laboratorio.

3.1.6. FINANCIACIÓN.

El proyecto se presentó a la VI convocatoria de ayudas a la investigación médica de la Fundación de Investigación Médica Mutua Madrileña, siendo aprobado para su financiación por su Consejo Rector de Investigación.

3.1.7. EMPLAZAMIENTO FÍSICO.

Las intervenciones de los animales, así como su posterior estabulación y seguimiento hasta el sacrificio se llevaron a término en el centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón en Cáceres (CCMIJU). El centro se encuentra acreditado como "Establecimiento de Cría y Usuario de Animales de Experimentación" nº ES100370001499 por la Consejería de Agricultura y Medio Ambiente de la Junta de Extremadura, de conformidad con lo establecido en el RD 1201/2005, de 10 de octubre. Dispone de personal experimentado, quirófanos y todo tipo de instalaciones necesarias para realizar un trabajo de estas características de acuerdo a la normativa exigida.

El Servicio de Animalario se encarga de establecer y mantener el animalario como establecimiento usuario, de forma que se garantice el cumplimiento de la legislación vigente (Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de septiembre de 2010, relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos (D. O. U. E. del 20.10.2010) y Real Decreto 1201/2005, de 10 de octubre, como legislación básica de referencia) y de los estándares para el cuidado de animales de laboratorio y experimentación (Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio) para todas las actividades de formación e investigación desarrolladas en el CCMIJU.

El centro cuenta además con el asesoramiento de un Comité Ético de Bienestar Animal para garantizar que el uso de animales se realice de acuerdo a los criterios deontológicos y éticos adecuados[293].

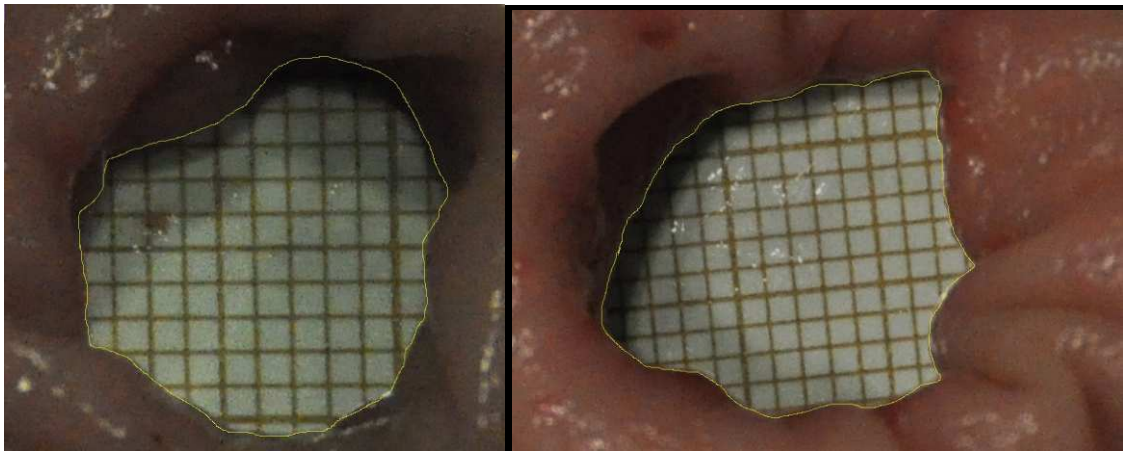
3.1.8. VARIABLES A ESTUDIO.

- **Tiempo empleado en la realización de la técnica.:** Definido como el tiempo en minutos que transcurre desde que se inicia la insuflación de gas para creación del neumoperitoneo hasta el momento del cierre final de la herida quirúrgica.
- **Tasa de conversión a cirugía abierta:** Definida como el porcentaje de animales que por la causa que fuere hacen necesario el abandono del abordaje laparoscópico y su transformación a laparotomía abierta.
- **Fallo primario en la sutura:** Aquellos casos en los que el test de estanqueidad tras la confección de la anastomosis resulta positivo.
- **Ganancia ponderal:** Diferencia de peso en los animales entre el peso inicial el día de la intervención y el peso final antes del sacrificio.
- **Mortalidad:** Número de animales fallecido durante el experimento, previo al día del sacrificio.
- **Hemorragia anastomótica:** Sangrado que se origina en la anastomosis durante la intervención o el periodo de observación posterior**.**
- **Dehiscencia de la sutura:** Cualquier evidencia clínica o radiológica de que ponga de manifiesto la comunicación entre los compartimentos intra y extraluminal debido a un defecto en la integridad de la anastomosis.
- **Distancia al margen anal.** Distancia en cm desde el margen anal hasta la sutura durante la exploración endoscópica.

- **Área de sección de la anastomosis:** Superficie en mm^2 del espacio limitado por los bordes de la anastomosis.
- **Resistencia a la tracción:** La resistencia a la tracción viene dada por el Máximo de Carga, que es la carga máxima resistida por la probeta dividida por la sección inicial de la probeta. Se mide en Newtons (N).
- **Grado histológico de inflamación:** Valoración subjetiva por un patólogo independiente en función de la celularidad inflamatoria como leve, moderada o severa.
- **Composición colágena del tejido cicatricial:** Porcentaje relativo de colágeno tipo I y tipo III presentes en las muestras del tejido cicatricial de las anastomosis.

3.2. MEDICIÓN DEL ÁREA DE SECCIÓN DE LAS ANASTOMOSIS

Para medir el área correspondiente a la sección del anillo anastomótico se prepararon las piezas inmediatamente tras su extracción. Para ello el segmento intestinal con la anastomosis en la zona media fue abierto longitudinalmente por dos extremos hasta alcanzar el anillo fibrótico de la anastomosis. Después se colocó sobre una hoja de papel milimetrado de forma que la sección transversal del asa intestinal quedara expuesta sin forzar una dilatación. Las muestras así preparadas fueron fotografiadas y analizadas digitalmente mediante empleo del software de análisis de imagen Image J v1.44, que se utilizó para medir la superficie delimitada por el anillo anastomótico (figuras 23, 24).



Figuras 23 y 24. Medición del área con programa Image J v1.44

3.3. ESTUDIO DE LA RESISTENCIA BIOMECÁNICA

El ensayo de tracción de un material consiste en someter a una probeta normalizada a un esfuerzo axial de tracción creciente hasta que se produce la rotura de la probeta. Este ensayo mide la resistencia de un material hasta que se rompe a una fuerza estática o aplicada lentamente. La resistencia a la tracción viene dada por el Máximo de Carga, que es la carga máxima resistida por la probeta dividida por la sección inicial de la probeta. Se mide en Newtons (N). La muestra se sostiene por sus extremos en la máquina por medio de soportes o mordazas a través de los que se la muestra a tensión a una velocidad constante (figura 25). La máquina mide la carga aplicada y la elongación resultante. Los datos de la fuerza o carga aplicada a la muestra así como la deformación se recogen y guardan en la computadora y con ellos se obtiene una gráfica tensión/deformación. (figura 26).

Figura 25. (a) Tensiómetro tipo INSTRON. (b) Muestra de tejido sujeta por las mordazas.

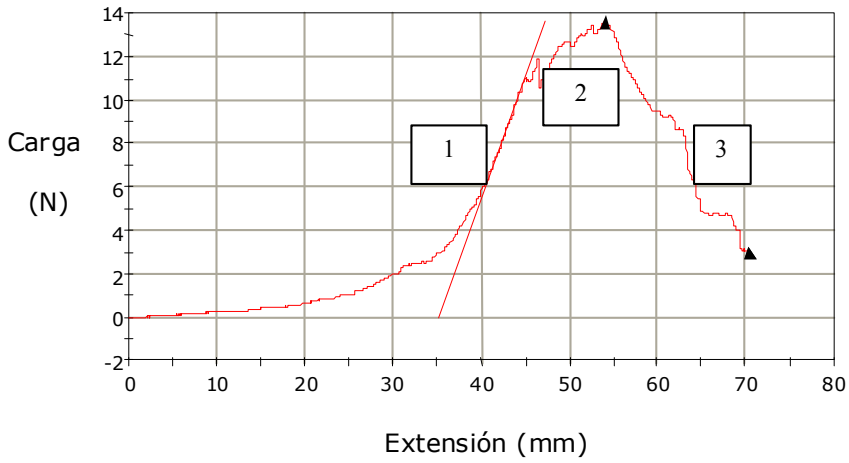


Figura 26. Diagrama esfuerzo/deformación. 1. Tramo de deformación elástica. Si se deja de aplicar la fuerza el material recupera sus dimensiones originales. 2. Tramo de deformación plástica: Si se deja de aplicar la fuerza el material ya no recobra sus dimensiones originales. 3. Estricción. Aunque la carga aplicada disminuye el material se sigue alargando ya que la sección de la pieza que estamos estirando es cada vez es más pequeña. Al final de esta curva, la pieza no aguanta más y se parte.

Las piezas destinadas a estudio biomecánico se obtuvieron en forma de tiras de 2cm de ancho y 5cm de longitud. De esta forma se evaluó la resistencia a la tracción de las zonas de anastomosis (figura 27). Una vez extraídas, las piezas se colocaron en un medio de cultivo MEM (Minimal Essential Medium) para mantenerlas en condiciones óptimas antes de cada bioensayo. Los bioensayos siempre se realizaron antes de las 12 horas post-extracción en un tensiómetro tipo INSTRON®, modelo 3342 (Instron Corp., Canton, MA). En todos los casos se utilizó una célula de carga de 0,5 kN. La velocidad de traviesa fue de 5 cm/min. Los datos obtenidos del estudio tensiométrico fueron recogidos por el programa informático Bluehill 2. Los resultados de resistencia biomecánica a la tracción fueron expresados en Newtons.

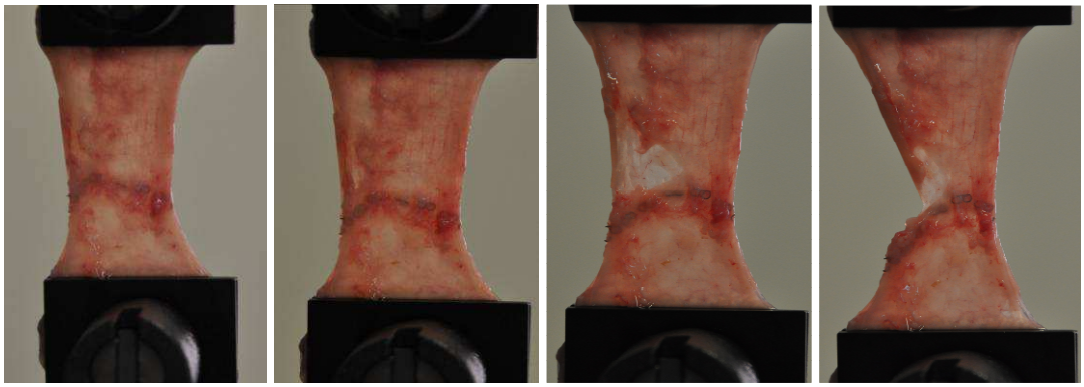


Figura 27. En las imágenes se aprecia como se estira la pieza hasta la ruptura. La imagen de la izquierda se correspondería con el tramo de deformación elástica de la gráfica. Las centrales con el inicio de la deformación plástica hasta el punto de ruptura. La imagen de la derecha correspondería al tramo final en el que la muestra sigue estirándose aunque disminuya la carga.

Entre las propiedades mecánicas de los materiales que pueden deducirse del ensayo esfuerzo/deformación (figura 28) destacan :

Módulo de elasticidad: Constante elástica que relaciona una medida de la tensión y una medida de la deformación. El módulo de Young también llamado módulo elástico longitudinal está asociado directamente con los cambios de

longitud que experimenta un objeto cuando se ve sometido a la acción de esfuerzos de tracción o de compresión. Las dimensiones del módulo de Young son Masa/Longitud x tiempo al cuadrado. En el Sistema Internacional de Unidades sus unidades son pascales (Pa). Viene representado por la tangente a la curva en cada punto, y en las graficas es la recta que aparece asociada a cada una de las curvas. El valor del módulo de Young es inversamente proporcional a la elasticidad del material, de modo que cuanto más bajo sea el valor, más elástico es. En general, la curva tensión-deformación de los tejidos biológicos no presenta una única pendiente. Este comportamiento se denomina no lineal.

Límite elástico: Es la tensión límite a la cual un material posee deformación elástica. Si seguimos cargando el material por encima de dicho límite, al liberar la carga no vuelve a su longitud inicial, quedando una deformación permanente. Se dice entonces que presenta deformación plástica**.**

Resistencia máxima a la tensión: Es la carga máxima alcanzada en la curva de esfuerzo/deformación. Se determina dibujando una línea horizontal desde el punto máximo de la curva hasta el eje de las tensiones.

Porcentaje de elongación o estiramiento: La cantidad de elongación que presenta una muestra bajo tensión durante un ensayo.

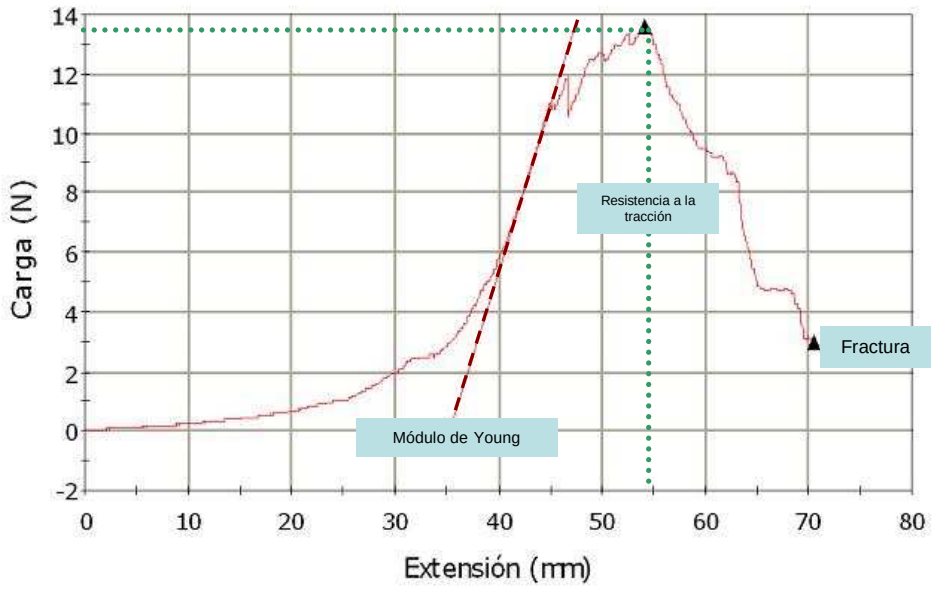


Figura 28. Principales propiedades mecánicas de los materiales que pueden deducirse del ensayo esfuerzo/deformación.

3.4. ESTUDIOS MORFOLÓGICOS. MICROSCOPÍA ÓPTICA.

Para los estudios de microscopia óptica, las muestras fueron fijadas en el momento del sacrificio con Formol al 10%. Una vez transcurridos los periodos de tiempo establecidos para la correcta fijación de las muestras, fueron deshidratadas e incluidas en parafina.

Para los estudios histológicos fueron teñidos con diferentes técnicas para la observación de los componentes de la pared arterial: hematoxilina-eosina, tricrómico de Masson (variante de Goldner-Gabe), y rojo sirio. Mediante este último tipo de tinción, es posible diferenciar dos tipos de fibras de colágeno cuando se observan bajo un haz de luz polarizada: el colágeno tipo I (colágeno maduro) aparece teñido de color rojo, mientras que las fibras de colágeno tipo III (colágeno inmaduro) aparecen en color

amarillo. Después, fueron observadas en un microscopio óptico (Zeiss Axiophot, Jena, Alemania).

Para cada tipo de colágeno, la evaluación del porcentaje de tinción se realizó en 10 imágenes de la histología de cada animal digitalizadas, que fueron capturados con una cámara digital instalada en el microscopio (AxioCam, Zeiss) y se analizaron mediante software de análisis de imágenes CA Axiovision 4.1. Cada sección se dividió en 4 sectores y un campo de microscopio (x200) de cada sector fue seleccionado al azar para estimar la intensidad de la tinción, en términos de abundancia y extensión. Los resultados se expresaron de la siguiente manera: -, tinción indetectable (<10%); + -, mínimo de tinción (10-25%); +, tinción moderada (25-50%); + +, fuerte tinción (50-75%); + + +, con un máximo de tinción (75-90%) y casi completa ++++, tinción (> 90%).

3.5. METODO ESTADÍSTICO

Técnicas de enmascaramiento.

En las variables respuesta tisular y composición del tejido cicatricial se mantuvo cegado al evaluador (patólogo) en relación al tipo de anastomosis realizada para evitar sesgos de información.

En la variable de fuerza tensil se mantuvo cegado al evaluador

Tratamiento de los datos.

Se creó una base de datos en el programa Microsoft® Excel 2000 y posteriormente se importaron al programa SPSS v.12.0.1 para Windows, para analizar los resultados obtenidos.

- En primer lugar se llevó a cabo un estudio descriptivo de todas la variables utilizando para las variables cualitativas frecuencias absolutas y relativas. Para las variables continuas con distribuciones simétricas utilizamos la media y la desviación estándar, mientras que para las distribuciones asimétricas utilizamos medidas basadas en ordenaciones como la mediana y percentiles.

- Para determinar la presencia de diferencias estadísticamente significativas entre variables cualitativas se utilizará el test de Ji cuadrado de Pearson mientras que las cuantitativas se analizarán mediante la t de Student. Se considerará que las diferencias son significativas cuando $p < 0,05$.

La significación estadística se confirmó mediante pruebas exactas: Método de Monte Carlo con el nivel de confianza o significación exacta.

3.6. CONSIDERACIONES ÉTICAS Y LEGALES.

Los animales han sido manejados en todo momento según las normas internacionales y los acuerdos del Consejo de Europa sobre protección de los animales empleados en experimentación animal (véase tabla 2). Se contempló la posibilidad de suspender el estudio en caso de mortalidad o sufrimiento animal no aceptables.

Tabla 2: Legislación aplicable a la experimentación con seres vivos

• DIRECTIVA DEL CONSEJO DE EUROPA 86/609/CEE, sobre aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros respecto a protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. 24 de Noviembre de 1986.

• REAL DECRETO 223/1988, de 14 de Marzo sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. B.O.E. de 18 de Marzo de 1988.

• ORDEN de 4 de Agosto de 1989 el Consejero de Agricultura y Cooperación de la C.A.M., por la que se dan normas sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. B.O.C.M. de 24 de Agosto de 1989.

• ORDEN de 13 de Octubre de 1989 por la que se establecen las normas de registro de los establecimientos de cría, suministradores y usuarios de animales de experimentación de titularidad estatal, así como las de autorización para el empleo de animales en experimentos, en desarrollo del Real Decreto 223/1988, de 14 de Marzo. B.O.E. 18 de Octubre de 1989.

• INSTRUMENTO de Ratificación del Convenio Europeo sobre protección de los animales vertebrados utilizados con fines experimentales y otros fines científicos, hecho en Estrasburgo el 18 de Marzo de 1986. B.O.E. 25 de Octubre de 1990.

• REAL DECRETO 1201/2005, de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. B.O.E. 21 de Octubre de 2005.

4. RESULTADOS

Entre los meses de marzo, abril y mayo de 2010 fueron intervenidos treinta cerdos de la variedad Large White. A cada uno se les realizó la intervención correspondiente al grupo que les había sido asignado conforme se describe en el apartado de material y métodos. En todos los casos se trató de animales de sexo hembra, con un peso similar en ambos grupos (23,5 Kg. ± 5,3 en el grupo A y 24,2Kg ± 5,4 en el grupo B, p 0,62).

Todas las intervenciones se iniciaron por vía laparoscópica.

4.1. MORTALIDAD

La mortalidad global del estudio fue de un 3,3% (1/30). Entre los animales del grupo A no se produjo ningún deceso (0/15), mientras que un caso en el grupo B un animal hubo de ser sacrificado ante la evidencia de un cuadro séptico severo como consecuencia de una fístula de la anastomosis que no pudo controlarse con tratamiento antibiótico como se describe más adelante, por lo que la tasa de mortalidad en este grupo fue del 6,6% (1/15).

4.2. INCIDENCIAS OPERATORIAS (Tabla 3).

4.2.1. Tasa de conversión a cirugía abierta

Cuatro de los casos pertenecientes grupo A (26,67%) y 2 del grupo B (13,3%) hubieron de convertirse a vía abierta (figura 29). Las razones por lo que esto aconteció en el grupo A fueron: en tres ocasiones por defecto en el sello del muñón rectal con el dispositivo bipolar, de los que se habla con más detalle en el siguiente apartado, el cuarto caso presentaba fuga aérea en el test de estanqueidad de la anastomosis una vez finalizada la misma y se reintervino su revisión y el cierre de un pequeño orificio con un

punto suelto de Vicryl 3/0. En el grupo B solamente hubieron de realizarse dos conversiones (13,3%), ambos casos para poder extraer el yunque de la CEEA que se había enganchado con las grapas metálicas del endoGIA.

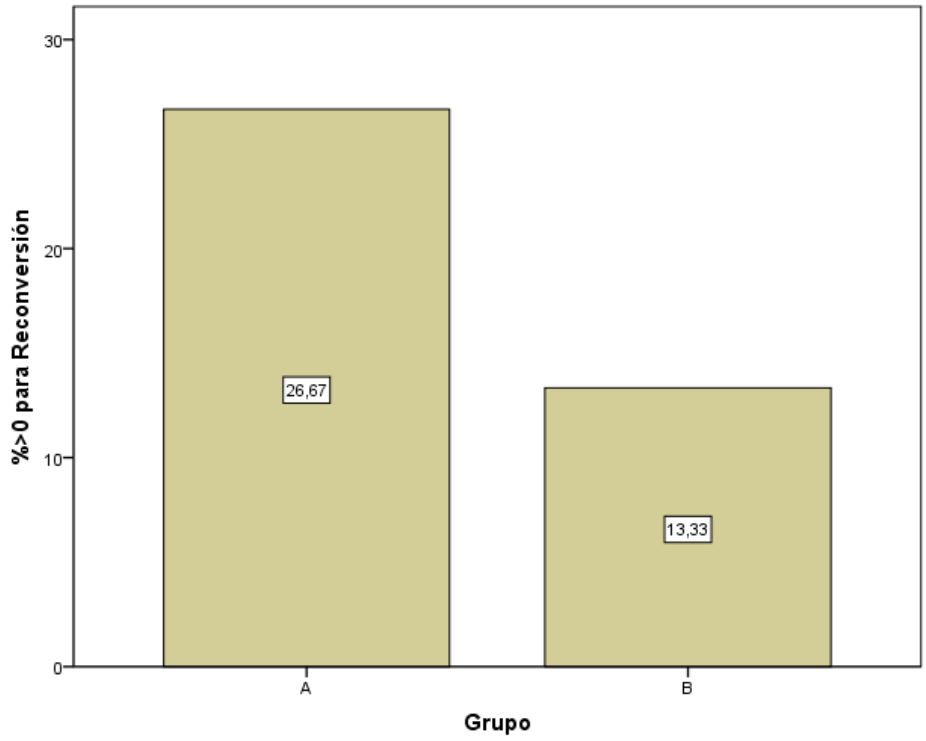


Figura 29 . Tasa de conversión.

4.2.2. Fallos de sellado del muñón rectal

Varios animales del grupo A presentaron algún tipo de problema en el sellado inicial del muñón rectal. En un caso el defecto se identificó con la inspección visual y se pudo volver a sellar por vía laparoscópica sin necesidad de convertir a laparotomía abierta. Otro animal presentó señal de fallo en varias ocasiones durante el proceso de

sellado por problemas del terminal, sin que se apreciaran alteraciones en el resultado final. En otros tres animales, como se comenta anteriormente en el apartado anterior, el fallo en el cierre fue completo y fue necesario realizar una laparotomía. Uno de ellos pudo recuperarse, volviendo a cerrarse el extremo distal del recto con el dispositivo LigaSure® . En los otros dos casos esta maniobra no fue posible y su cierre se realizó mediante sutura "en bolsa de tabaco" con monofilamento de polipropileno. En total fueron cinco (33,3%) los animales del grupo de estudio que presentaron algún tipo de problemas durante el cierre del muñón rectal (figura 30).

Ninguno de los cerdos del grupo B presentó problemas de cierre en el muñón rectal por defectos en la línea de grapado (p=0,042).

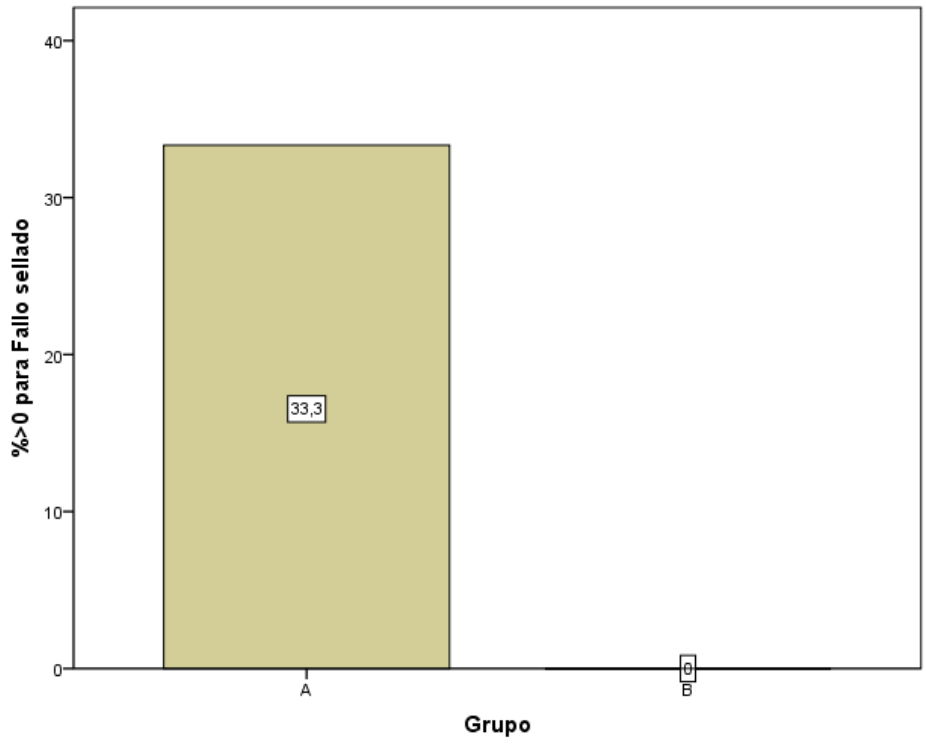


Figura 30. Tasa de fallos de sellado.

4.2.3. Fallos primarios en la sutura

En todas las anastomosis se realizó prueba de estanqueidad mediante insuflación de aire. Dos de los animales del grupo A presentaron salida de aire, poniendo de manifiesto un fallo primario en la sutura. Como se ha comentado anteriormente en uno de los casos la fuga de aire se debía a un pequeño orificio en la línea de grapado circular que se cerró mediante punto suelto, repitiéndose después la prueba se verificó su estanqueidad. El segundo caso se corresponde con una de las anastomosis en las que el sellado del muñón rectal se abrió por completo y no fue posible su cierre con el dispositivo bipolar. El defecto se cerró con puntos sueltos, comprobándose después la estanqueidad. En el grupo B no hubo ningún caso de fuga aérea (figura 31).

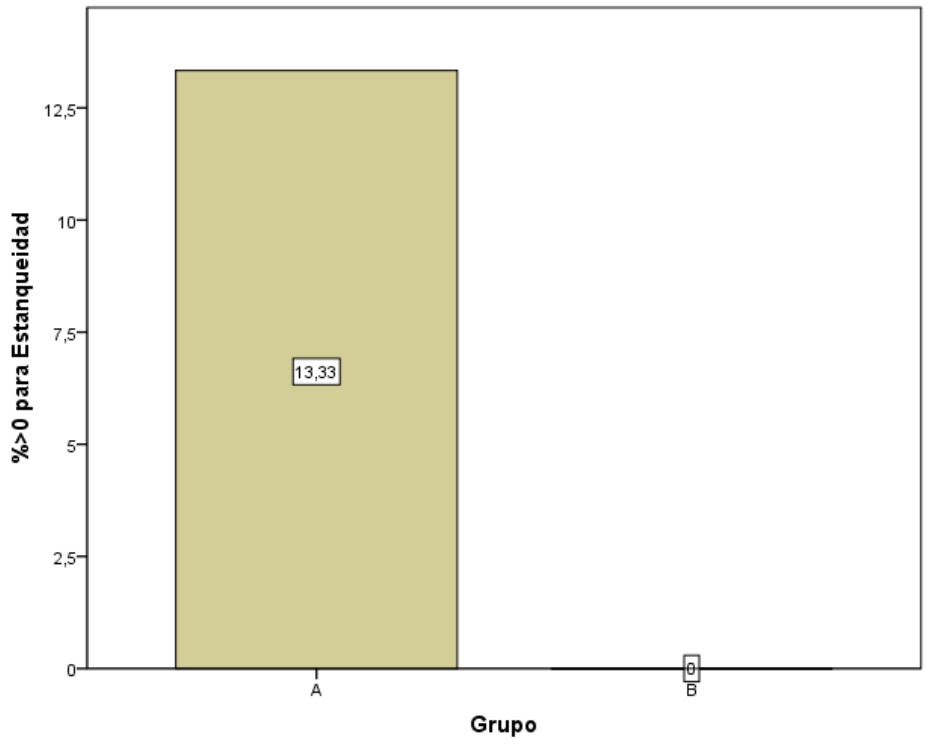


Figura 31. Tasa de fallos primarios en la sutura

4.2.4. Sangrado intraoperatorio de la anastomosis

Se produjo sangrado intraoperatorio leve en 2 animales en el grupo B a nivel de la línea de grapas, que pudo controlarse con electrocoagulación. Ninguno de ellos tuvo repercusión hemodinámica ni en los valores del hemograma.

4.2.5. Tiempo quirúrgico

El tiempo operatorio medio para los animales del grupo A fue de 116,4 minutos, frente a los 98,7 minutos de media que duraron las intervenciones del grupo B, diferencias que no han sido estadísticamente significativas.

4.2.6. Mortalidad intraoperatoria

No se registró ningún caso de mortalidad ni complicaciones perioperatorias relevantes.

Tabla 3: Incidencias intraoperatorias.

	Grupos		
	A (n = 15)	**B** (n = 15)	**p**
Peso Inicial (Kg)	23,4 ± 5,1	24,2 ± 5,4	0,62
Fallo en sellado	5 (33,5%)	0	0,042
Fallo estanqueidad	2 (13,3%)	0	0,48
Tasa de conversión	4 (26,7%)	2 (13,3%)	0,65
Tiempo quirúrgico (min)*	116,4 ± 38,3	98,7 ± 32,7	0,16

*Contrastes grupos A y B: Ji cuadrado. *Contrastes grupos A y B: U de Mann-Whitney*

4.3. INCIDENCIAS DURANTE PERIODO DE OBSERVACIÓN: DÍAS 1 a 30 (Tabla 4).

A los todos los animales tras el despertar se les trasladó a una celda individual donde se mantuvieron aislados las primeras 24 horas, durante las cuales se les administró dieta líquida que tomaron sin incidencias. Posteriormente fueron reintroducidos en su entorno habitual junto al resto de animales y se les proporcionó su dieta habitual con pienso.

4.3.1. Sangrado postoperatorio de la anastomosis.

Durante estas primeras 24 horas uno de los animales perteneciente al grupo A expulsó coágulos junto con la deposición. El proceso se limitó por si solo sin que se apreciara repercusión hemodinámica ni en el hemograma.

En total 2 animales del grupo B y 1 del grupo A mostraron sangrado por la anastomosis a lo largo del ensayo (figura 32).

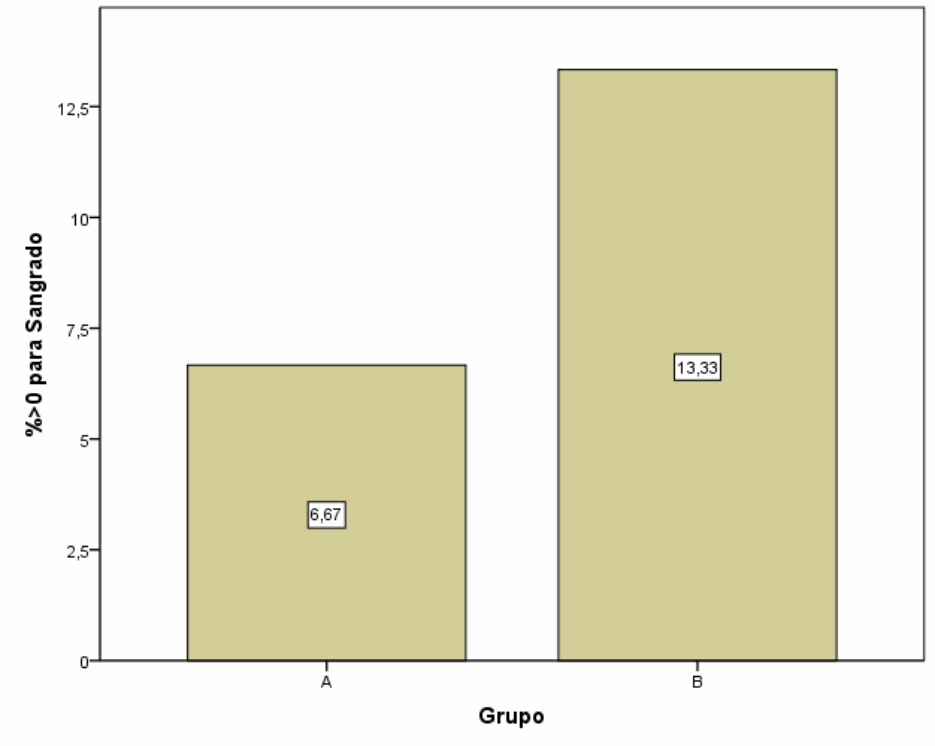


Figura 32. Porcentaje de sangrado total de las anastomosis.

4.3.2. Dehiscencia de la sutura.

Durante los días siguientes se observó el comportamiento de los animales. Desde el tercer día postoperatorio uno de los animales perteneciente al grupo B mostraba un estado de postración llamativo, con apatía, somnolencia, falta de apetito y escasa interacción con los demás animales. En la exploración se le objetivó aumento de la temperatura, por lo que se instauró tratamiento antibiótico.

En el 7º día postoperatorio se realizó enema opaco a todos los animales (figura 33), que se había propuesto con el objeto de descartar fístulas anastomóticas en animales asintomáticos o con escasa clínica, así como para confirmar aquellos que mostrasen síntomas sugestivos de dehiscencia anastomótica. Únicamente se observó fuga de contraste en el animal antes mencionado que había mostrado clínica compatible con un cuadro séptico desde los días previos y que había seguido empeorando pese al tratamiento antibiótico. Tras esta confirmación se procedió a su sacrificio. En la necropsia se verificó la dehiscencia de una parte de la sutura y contaminación fecal de la cavidad abdominal y pelvis menor.

A las dos semanas se comprobó la integridad de las anastomosis mediante rectoscopia a todos los animales (figura 34) sin que se encontrasen alteraciones reseñables en ninguno de ellos

.

Tabla 4: Hallazgos postoperatorios

	Grupos		p
	A (n = 15)	B (n = 15)	
Mortalidad	0	1 (6,7%)	1
Sangrado	1 (6,7%)	2 (13,3%)	1
Fístula clínica	0	1 (6,7%)	1
Fístula radiológica	0	1 (6,7%)	1
Distancia margen anal (cm)	8,5 ± 0,8	9 ± 0,7	0,12*
Área de sección (mm^2) **	89,7 ± 48,1	100,0 ± 28,3	0,52*

*Contrastes grupos A y B: Ji cuadrado. *Contrastes grupos A y B U de Mann-Whitney. ** GrupoA n=13, grupoB n=14*

Figura 33. Imagen de enema opaco donde se aprecia el paso del contraste sin que se observe salida del mismo.

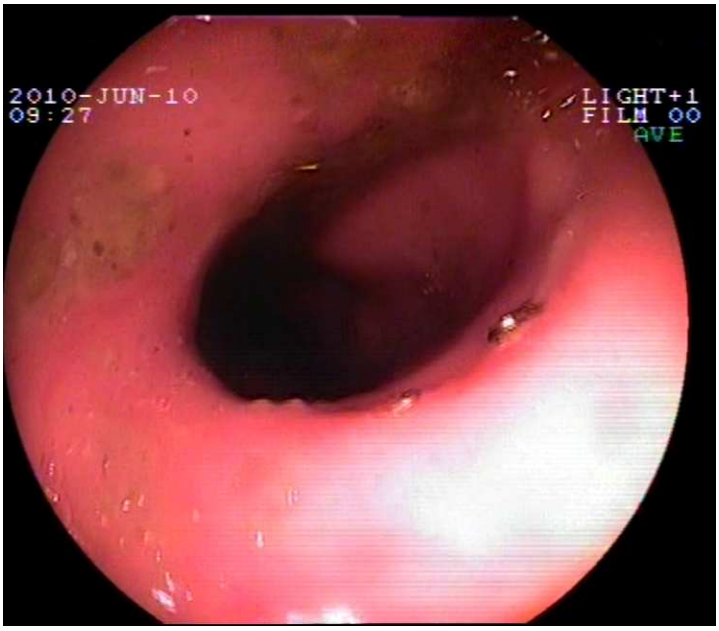


Figura 34. Imagen de endoscopia donde se aprecia línea de grapas.

4.3.3. Distancia al margen anal

La distancia de las anastomosis al margen anal fue similar en los dos grupos (figura 35), con una media global de 8,5cm, en el grupo A 8,5± 0,8cm y en el B de 99 ± 0,7cm (p 0,12).

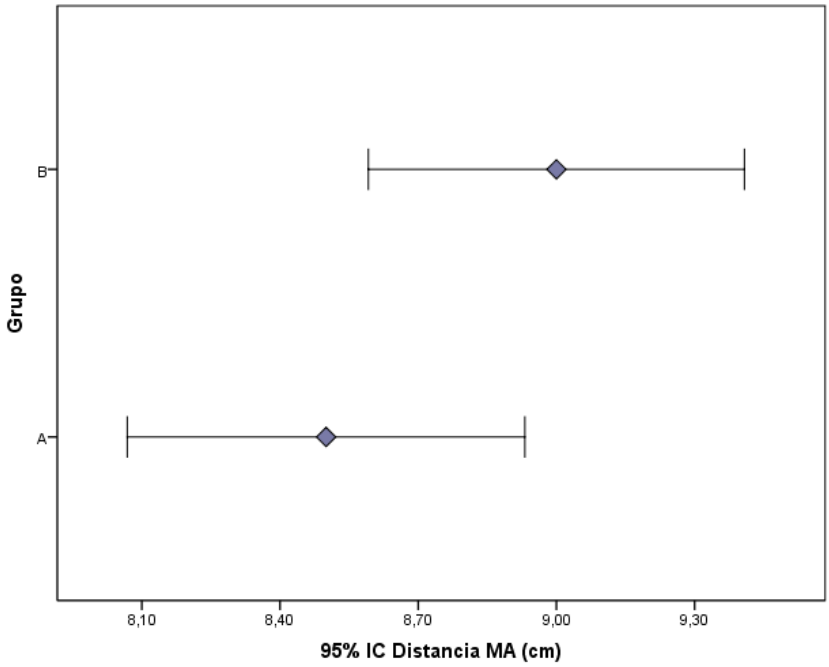


Figura 35. Distancia al margen anal

4.3.4. Ganancia ponderal

Como se aprecia en la tabla 5, los animales restantes siguieron un curso clínico sin incidencias, con una ganancia de peso adecuada y proporcional en ambos grupos hasta el momento del sacrificio, sin que se encontraran diferencias estadísticamente significativas entre ambos en este aspecto (figuras 36 y 37).

Tabla 5. Análisis del peso de los animales.

	Grupos		p
	A (n = 15)	B (n = 15)	
Peso Inicial (Kg)	23,4 ± 5,1	24,2 ± 5,4	0,62
Peso final (Kg)	29,6 ± 7,4	30,3 ± 7,1	0,81
Ganancia ponderal (Kg)	6,2 ± 5,0	6,3 ± 3,3	0,94

Contrastes grupos A y B: U de Mann-Whitney

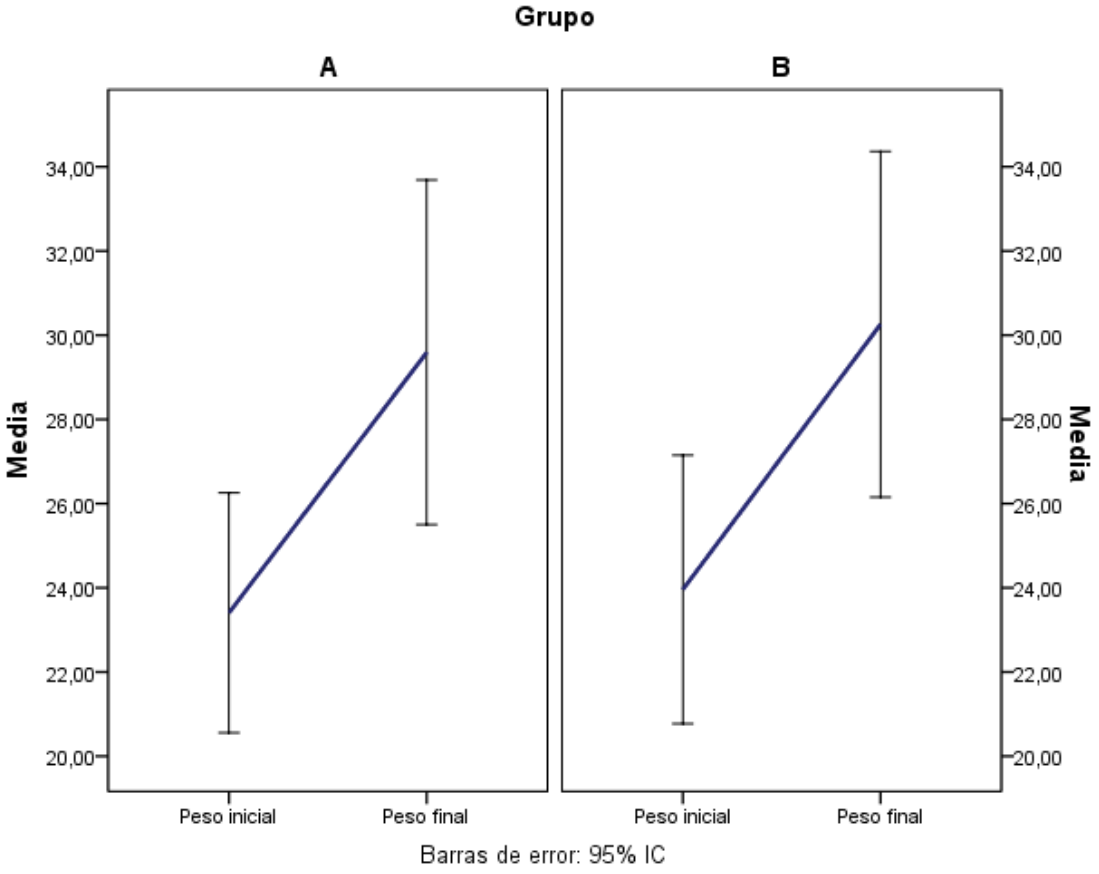


Figura 36. Pesos iniciales y finales.

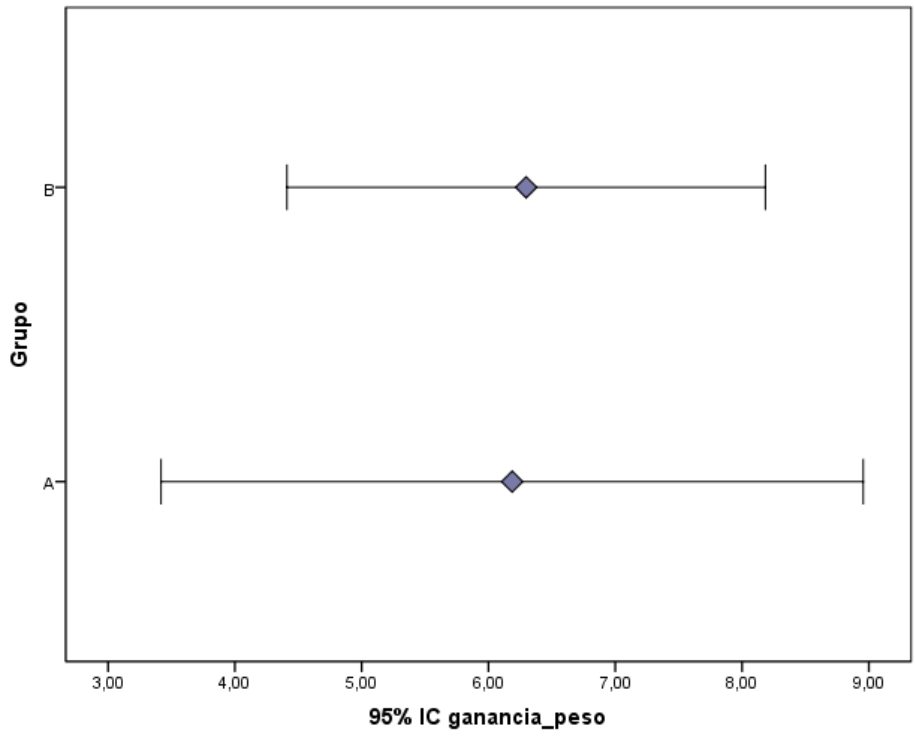


Figura 37. Ganancia ponderal

4.3.5. Resultados analíticos: Hemograma

Se practicaron controles analíticos basales, a los 14 y a los 30 días con resultados similares en ambos grupos como se aprecia en la tabla, sin que se hayan visto diferencias de interés en cuanto a la evolución en ambos grupos (figuras 38 a 41).

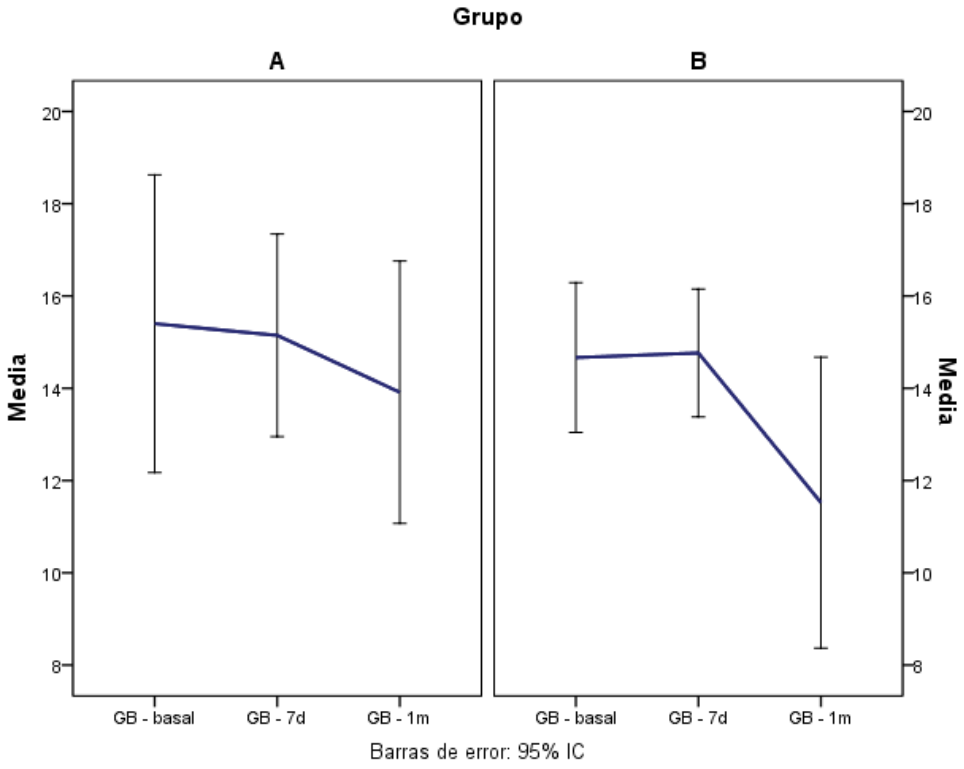


Figura 38 . Resultados hemograma: recuento leucocitos

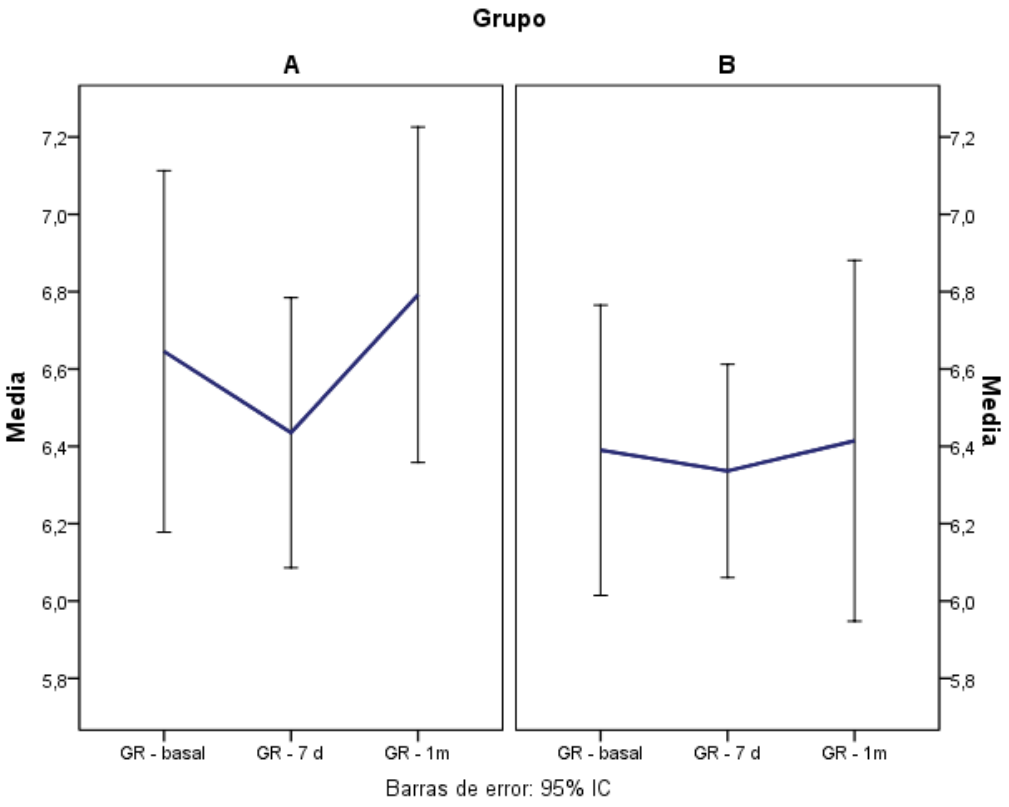


Figura 39. Resultados hemograma: recuento eritrocitos

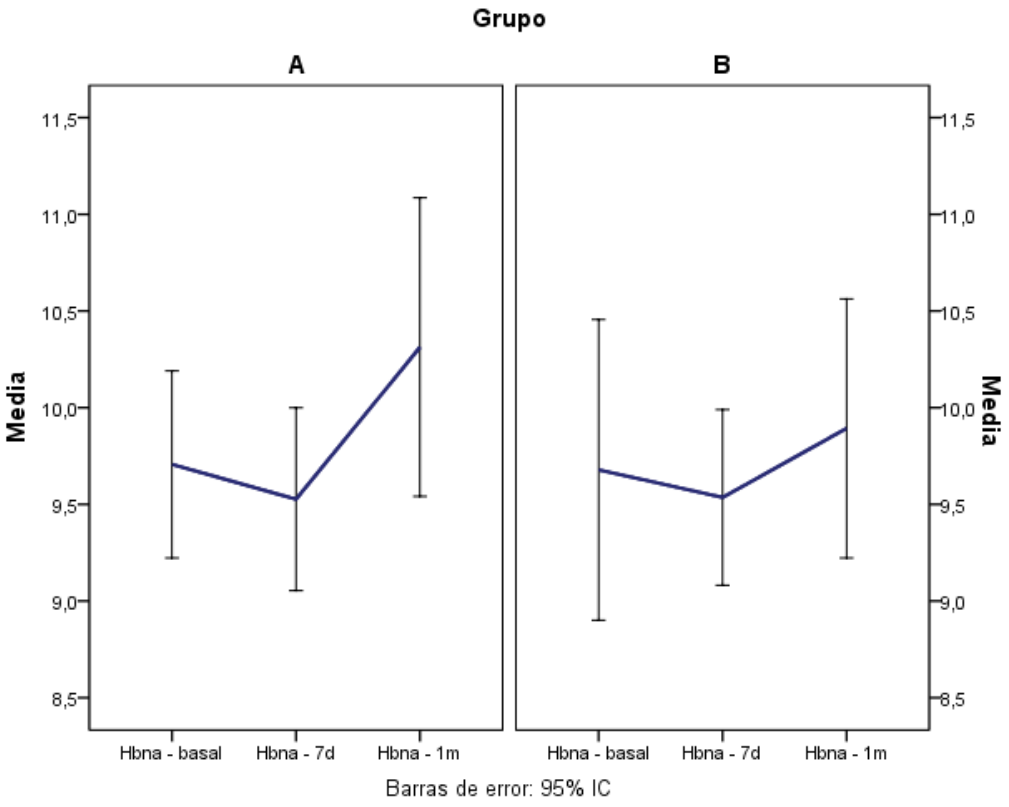


Figura 40. Resultados hemograma: hemoglobina

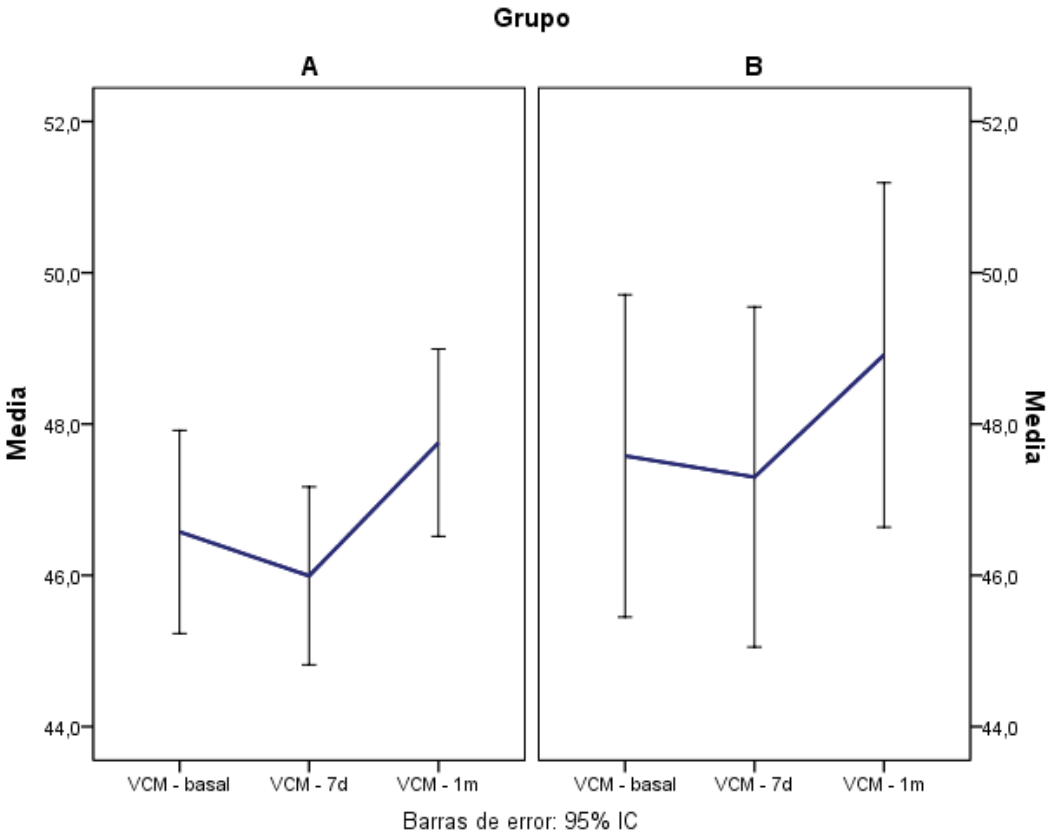


Figura 41. Resultados hemograma: VCM

Tabla 6: Analítica en sangre basal, a la semana y al mes de la intervención.

	Basal			7 días			30 días		
	A	**B**	**p***	**A**	**B**	**p***	**A**	**B**	**p***
Glóbulos rojos	6,6 ± 0,8	6,5 ± 0,7	0,62	6,4 ± 0,6	6,3 ±0,5	0,79	6,8 ± 0,8	6,4 ± 0,8	0,28
Hematocrito	29,9 ± 2,4	30,6 ± 3,7	0,62	29,3 ± 2,5	29,7 ± 2,7	0,79	32,2 ± 4,2	30,0 ± 8,1	0,30
Hemoglobina	9,6 ± 0,8	9,7 ± 1,3	0,93	9,4 ± 0,9	9,4 0,8	0,93	10,3 ± 1,5	9,9 ± 1,2	0,30
VCM	46,5 ± 2,3	47,3 ± 3,7	0,39	46,0 ± 1,9	47,0 ± 3,9	0,72	47,5 ± 2,0	48,9 ± 3,9	0,26
HCM	15,0 ± 0,7	15,0 ± 1,4	0,86	14,8 ± 0,8	14,9 ± 1,5	0,86	15,1 ± 0,7	15,5 ± 1,4	0,28
CHCM	32,2 ± 0,6	31,6 ± 0,9	0,11	32,2 ± 1,0	32,1 ± 2,0	0,29	31,8 ± 0,8	31,7 ± 1,0	0,83
Glóbulos blancos	14,5 ± 5,5	14,8 ± 2,8	0,32	14,6 ± 4,0	15,1 ± 2,6	0,32	13,5 ± 5,4	11,5 ± 5,5	0,30
Plaquetas	359 ± 86	459 ± 99	0,01	533 ± 95	537 ± 105	0,86	394 ± 169	487 ± 75	0,06

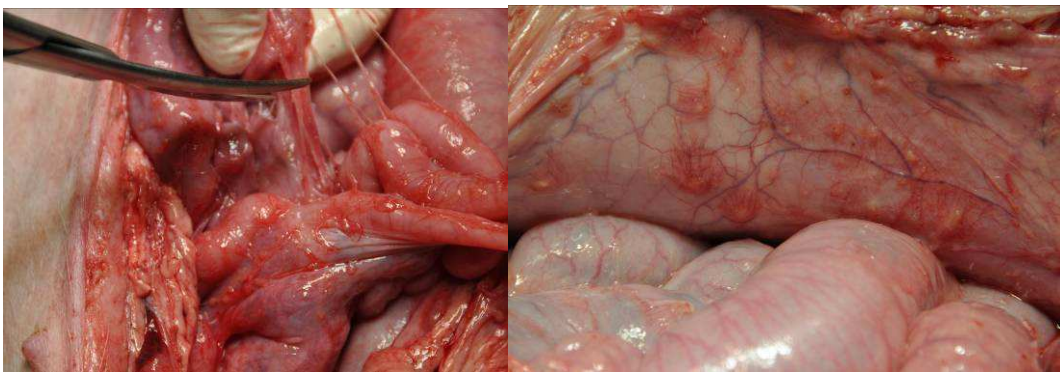
**Contrastes grupos A y B: U de Mann-Whitney.*

4.4. HALLAZGOS DURANTE EXPLORACIÓN QUIRÚRGICA Y EXTRACCIÓN DE LAS MUESTRAS (Tabla 7).

Finalizado el periodo de seguimiento se procedió a anestesiar a los animales y se les practicó una laparotomía exploradora. En este examen se observaron aspectos como la presencia o ausencia de adherencias, abscesos y/o fístulas. Después se extrajeron las muestras de las anastomosis tal y como se describe en el apartado de métodos.

4.4.1. Adherencias.

Durante la laparotomía final y el examen macroscópico se apreciaron adherencias en 2 animales del grupo A (15,4%) frente a 3 (21,4%) del grupo B. Uno de los casos del grupo en el que se empleó el instrumento de sellado mostraba un síndrome adherencial severo en uno de los cerdos del grupo A (figuras 42 y 43), con pequeños nódulos dispersos sugestivos de pequeños abscesos. Este animal había evolucionado asintomático clínicamente y con un desarrollo y ganancia ponderal normales. Se encontraron adherencias laxas y en escasa-moderada cuantía en los 3 animales del grupo B y otro del grupo A (figura 44).



Figuras 42 y 43. Detalle de adherencias y nódulos encontrados durante exploración quirúrgica.

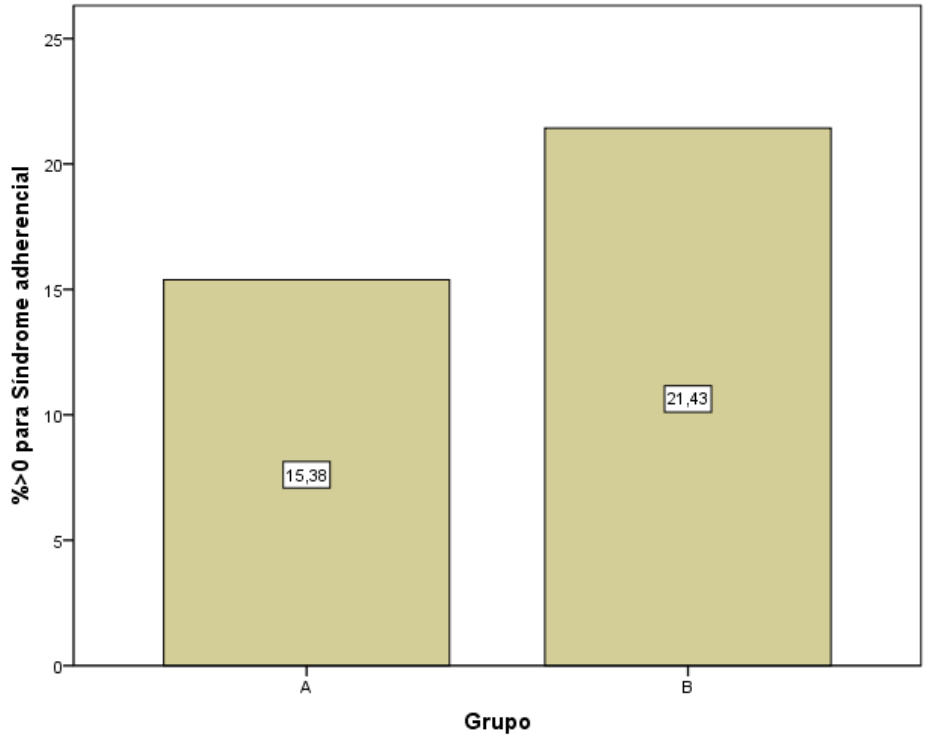


Figura 44. Adherencias postquirúrgicas

4.4.2. Abscesos

Adyacentes a las anastomosis se encontraron zonas de fibrosis que impresionan de granulomas o abscesos en zona perianastomótica en 2 animales en cada grupo (figura 45).

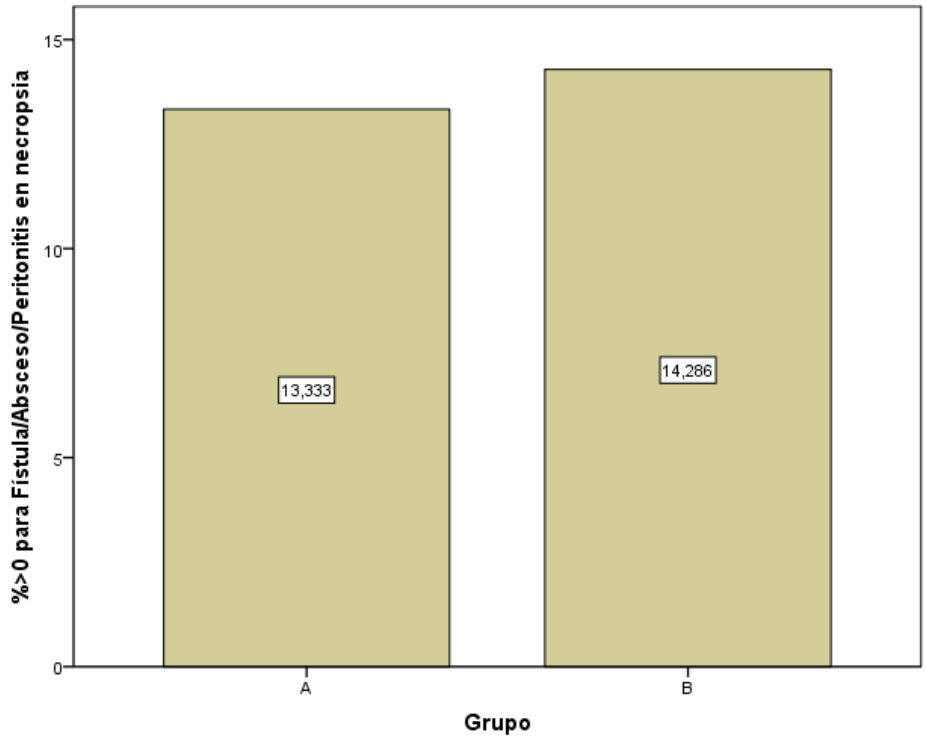


Figura 45. Hallazgos sugestivos de proceso séptico intraabdominal en la exploración quirúrgica.

Algunos autores recomiendan considerar los abscesos pélvicos en la proximidad de la anastomosis como dehiscencias de la misma [250]. En este supuesto en el grupo A se podría hablar de dehiscencia en la sutura en 2 de las 13 anastomosis completadas por este procedimiento frente a 3 de los 15 animales del grupo B (Ji cuadrado 0,10; p=0,75).

4.4.3. Estenosis

En cuanto a la presencia de estenosis en 4 animales del grupo A (30,8%) y tres del B (21,4%) se observaron estrechamientos marcados de la zona anastomótica con respecto al calibre normal del colon (figuras 46, 47 y 48), pese a lo cual ninguno de los animales mostraba signos de obstrucción intestinal.

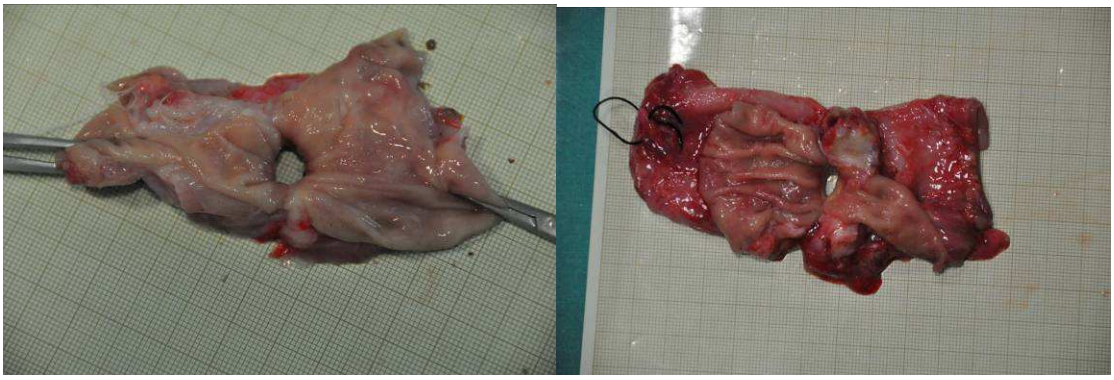


Figura 46 y 47. Imágenes de estrechamientos de la luz intestinal a nivel de la zona anastomótica. En la imagen de la izquierda se aprecia zona de fibrosis por absceso/granuloma adyacente a línea de anastomosis.

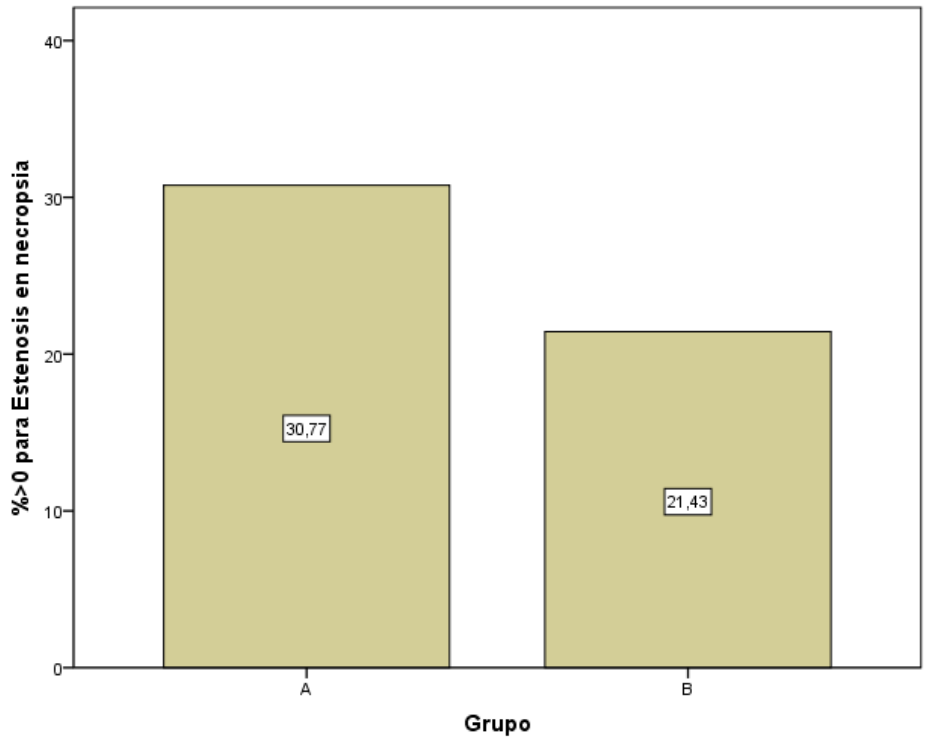


Figura 48. Estenosis macroscópicas.

4.4.4. Área de sección de la anastomosis

En la medición del área de sección de las anastomosis se ve en el grupo A una superficie media menor que en el B con 89,7mm2 en el grupo en que se empleo el dispositivo de sellado LigaSure® frente a 100 mm2 para el grupo de endograpadora. En el análisis estadístico esta diferencia no llega a ser significativa.

Tabla 7: Hallazgos de la laparotomía

	Grupos		p
	A (n = 13)	B (n = 14)	
Fístulas/abscesos/peritonitis	2 (15,4%)	2 (14,3%)	1
Estenosis	4 (30,8%)	3 (21,4%)	0,68
Síndrome adherencial	2 (15,4%)	3 (21,4%)	1
Área de sección (mm2)	89,7 ± 48,1	100,0 ± 28,3	0,52*

*Contrastes grupos A y B: Ji cuadrado. *Contrastes grupos A y B: U de Mann-Whitney*

4.5. ESTUDIO FUNCIONAL.

En el estudio funcional de las anastomosis no se aprecian diferencias reseñables en cuanto a las dimensiones de las muestras que se analizaron en cada uno de los grupos, que pueden considerarse homogéneas en este sentido.

El parámetro principal que nos habla de la resistencia a la tracción de la anastomosis es la carga máxima resistida por la muestra, que fue de 13,8 ± 4,9 Newton en el grupo A frente a 15,7 ± 4,4 en el grupo B (p=0,17). No se han encontrado por lo tanto diferencias significativas en cuanto al máximo de carga entre las muestras del

grupo A y B (figura 49). Tampoco las ha habido en los demás parámetros analizados como se aprecia en la tabla 8.

Cuando se han comparado las muestras de las anastomosis con muestras de tejido colónico sano han visto diferencias en cuanto al espesor entre las muestras de tejido sano y las de ambos grupos. Estas diferencias de espesor se deben al proceso inflamatorio en evolución que subyace en la zona de anastomosis y determinan a su vez diferencias en el área de sección de las muestras.

En las figuras 50 a 52 se aprecian las curvas de carga/deformación de los grupos A, B y un grupo de control con muestras de colon sano.

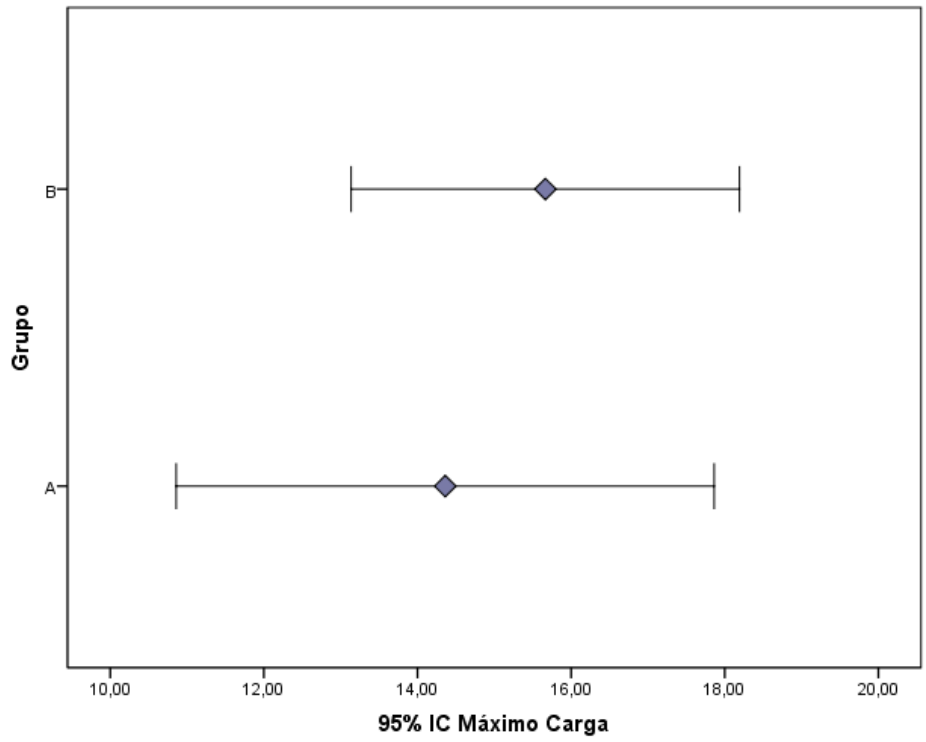
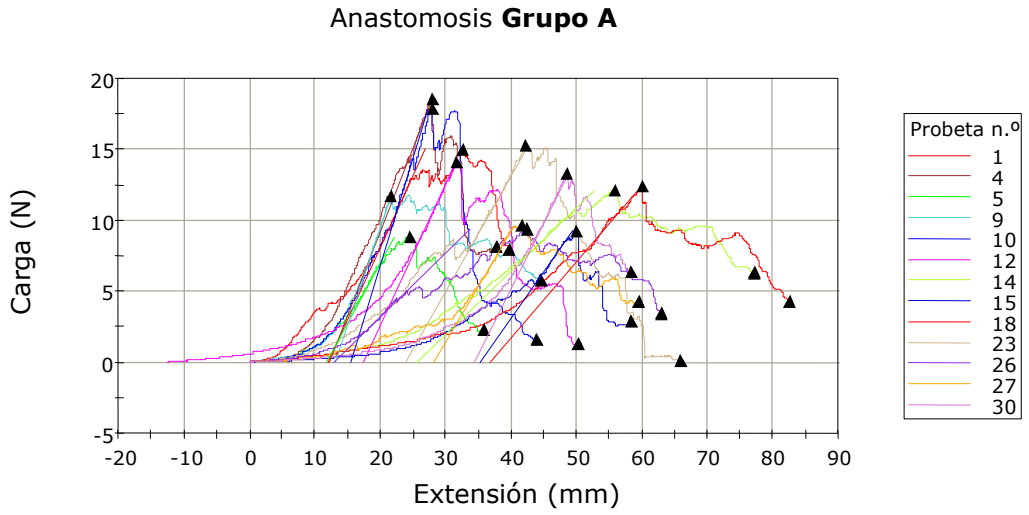
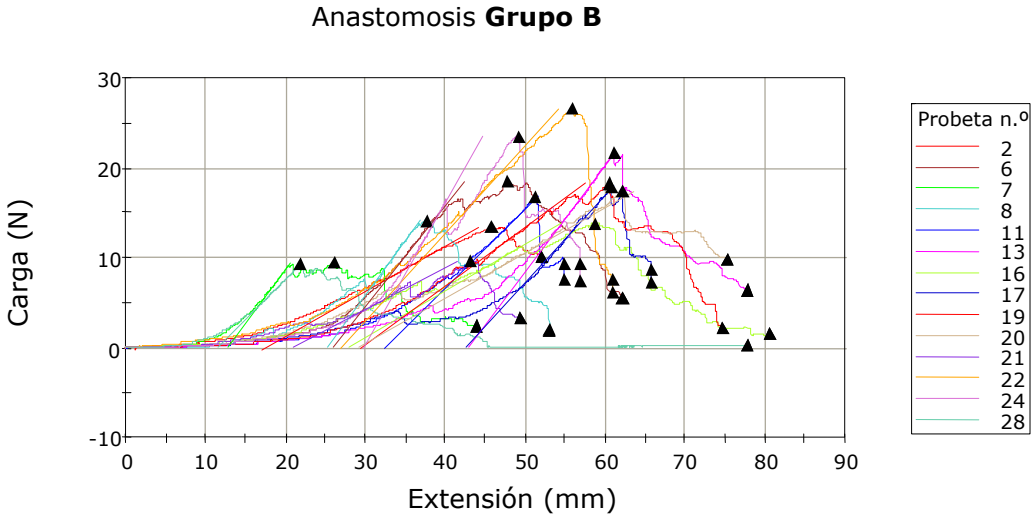
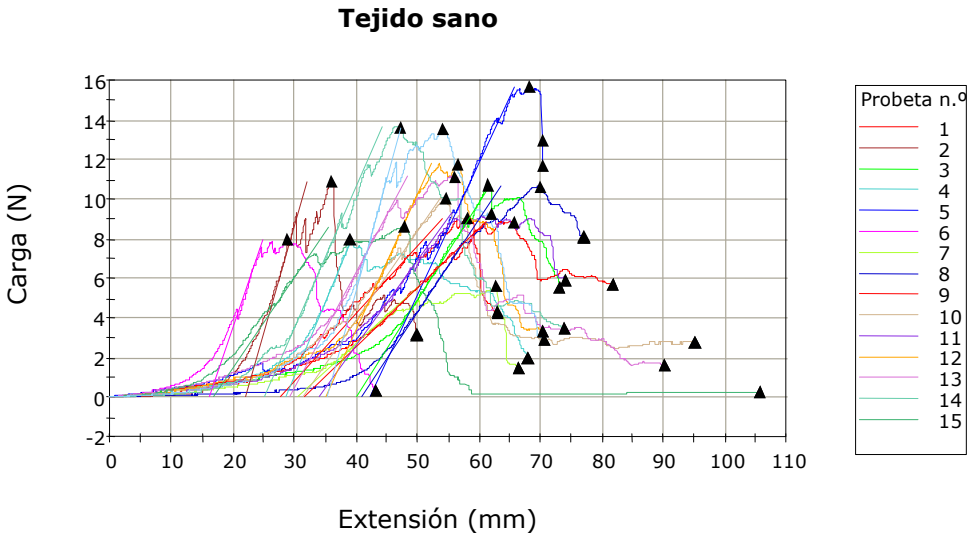


Figura 49 . Carga máxima resistida por la muestra







Figuras 50, 51 y 52. Diagramas de carga/deformación

Tabla 8: Resultados de tensiometría.

	Grupos		A vs. B	Tejido Normal	P** A / B
	A	B	P*		
Anchura	20,6 ± 2,1	21,5 ± 3,1	0,20	23,8 ± 3,9	0,12 / 0,16
Espesor	2,6 ± 0,9	2,7 ± 0,7	0,76	0,93 ± 0,22	0,05 / 0,01
Área	54,0 ± 18,7	58,7 ± 18,34	0,55	21,8 ± 5,7	0,01 / 0,01
Superficie (mm2)	617,8 ± 63,8	645,0 ± 93,0	0,20	713,6 ± 115,8	0,12 / 0,16
Módulo de Young	0,54 ± 0,25	0,50 ± 0,24	0,65	0,88 ± 0,53	0,12 / 0,05
Resistencia a la tracción (Mpa)	0,27 ± 0,10	0,28 ± 0,09	0,55	0,50 ± 0,19	0,12 / 0,07
CMAX/superficie	0,022 ± 0,010	0,024 ± 0,006	0,38	0,015 ± 0,005	0,56 / 0,02
Carga al pico absoluto	4,71 ± 2,30	4,72 ± 3,44	0,91	3,92 ± 2,96	0,60 / 0,78
Carga a la rotura	4,83 ± 2,41	5,09 ± 3,80	0,91	4,16 ± 3,27	0,60 / 0,74
Máximo carga	13,8 ± 4,9	15,7 ± 4,4	0,17	10,5 ± 2,6	0,35 / 0,04
Deformación máximo carga (%)	133,7 ± 43,9	156,5 ± 49,0	0,19	185,5 ± 34,1	0,046 / 0,67

**Contrastes grupos A y B: U de Mann-Whitney*

*** Contrastes Grupo Normal con grupo A y B: Willcoxon*

4.6. ESTUDIO HISTOLÓGICO.

4.6.1 ESTUDIO CELULAR.

Desde un punto de vista morfológico se valoró la reepitelización, el grado de inflamación y la presencia o ausencia de granulomas o microabscesos (tabla 9).

4.6.1.1. Reepitelización

En lo que se refiere a la reepitelización de la anastomosis se aprecia una tasa de reepitelización completa menor en los animales del grupo A (38,5%) que en los del grupo B (66,7%), aunque la diferencia no alcanza significación estadística.

4.6.1.2. Grado de inflamación

La mayoría de las muestras (61,5% en el grupo A y 75% en el B) presentan una reacción inflamatoria leve, en ocasiones prácticamente inexistente, constituida por escasos monocitos/macrófagos y células gigantes de cuerpo extraño que localizaban en torno a las zonas de inserción de las grapas. En el resto de los casos se describe una reacción inflamatoria moderada constituida por monocitos/macrófagos y células gigantes de cuerpo extraño. La estructura intestinal se encuentra en estos casos más o menos bien conservada, pero se observa tejido de cicatrización con intensa angiogénesis en la zona de contacto de las dos vertientes de la anastomosis. No se describe ningún caso con inflamación severa.

4.6.1.3. Presencia de microabscesos

En ambos grupos se vieron microabscesos en aproximadamente la mitad de las preparaciones (55,5% del grupo a y 50% del B; p=0,83).

4.6.2. TINCIÓN CON ROJO SIRIO

Si bien la impresión inicial al observar las preparaciones para colágena mediante tinción histoquímica con rojo sirio es la de un predominio aparente de colágeno tipo III en entre las muestras de los animales del grupo A, mientras que en los del grupo B habría predominio del colágeno tipo I, finalmente, el estudio morfométrico de la colagenización de las anastomosis no ha demostrado que las diferencias entre ambos grupos en lo que respecta a los porcentajes de colágeno tipo I y tipo II depositados a los 30 días de la anastomosis sean significativas una vez que los datos se someten a análisis estadístico, como se indica en la tabla 9.

Tabla 9: Resultados estudio morfológico

	Grupos A	B	p
Reepitelización			
No completa	8 (61,5%)	4 (33,3%)	0,24
Completa	5 (38,5%)	8 (66,7%)	
Abscesos / granulomas			
No	5 (45,5%)	6 (50%)	0,83
Sí	6 (55,5%)	6 (50%)	
Colágeno I			
< 25	3 (23,1%)	1 (8,3%)	0,23*
25 – 45	6 (46,2%)	2 (16,7%)	
46 – 75	1 (7,7%)	3 (25%)	
> 75	3 (23,1%)	6 (50%)	
Colágeno III			
< 25	3 (23,1%)	6 (50%)	0,23*
25 – 45	1 (7,7%)	3 (25%)	
46 – 75	6 (46,2%)	2 (16,7%)	
> 75	3 (23,1%)	1 (8,3%)	

Contrastes grupos A y B: Ji cuadrado (significación exacta de Monte Carlo)*

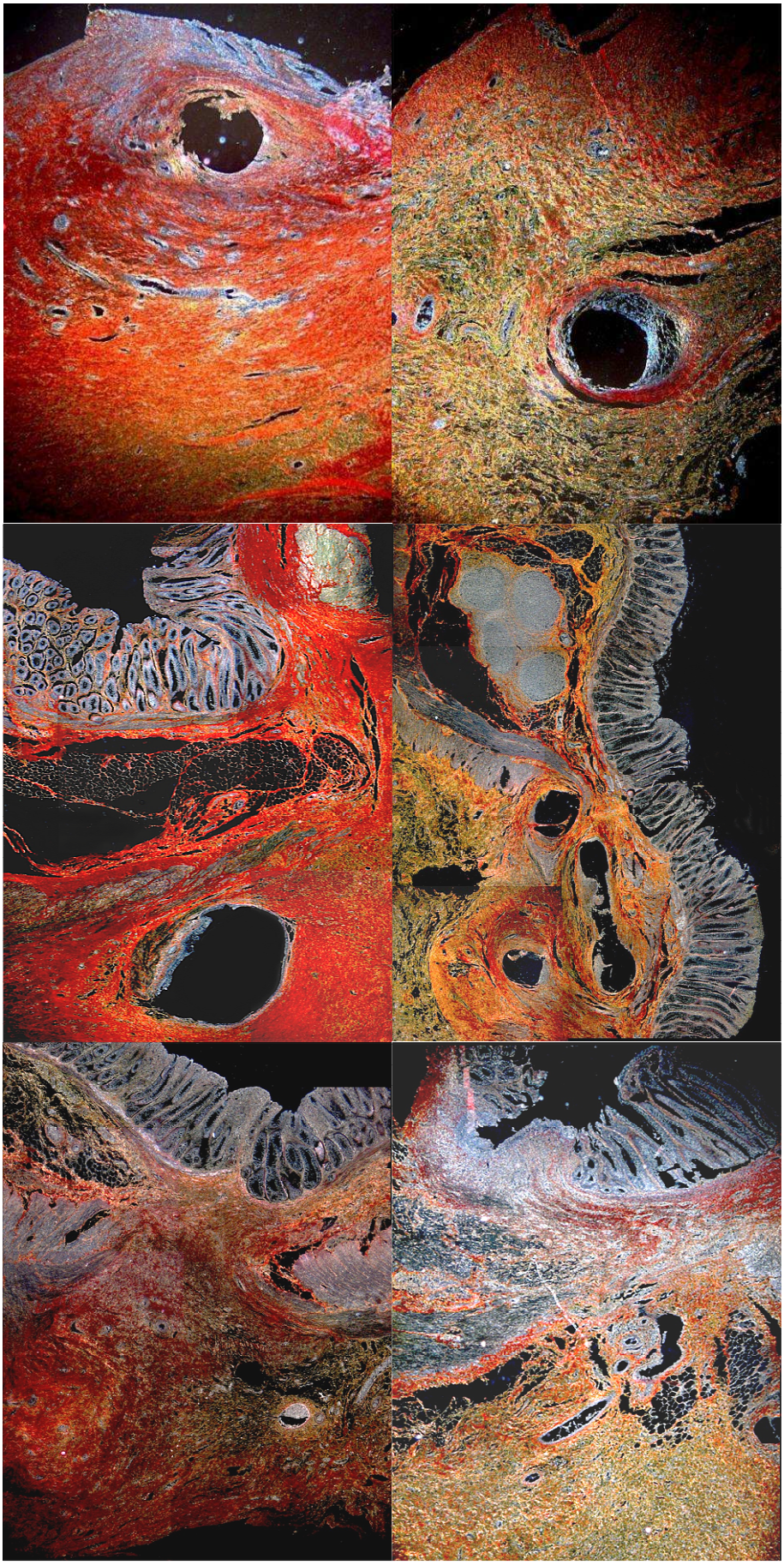


Figura 53. Muestras de tejido de las anastomosis teñidas con colorante rojo sirio.

4.7. COSTE DE LAS INTERVENCIONES

El proyecto se presupuestó inicialmente en 34000 euros. El gasto de las intervenciones incluyendo materiales ascendió a 21700 euros. La principal partida del mismo fue la correspondiente a los aparatos de sutura mecánica (14300 euros). El coste por intervención en el grupo A fue de 556 euros, mientras que en el grupo B ascendió a 890 euros. Esta diferencia se debió a los aparatos de grapado y las cargas utilizados para la sección y cierre del muñón rectal.

5. DISCUSIÓN

5.1. PAPEL DE LOS DISPOSITIVOS DE SELLADO MEDIANTE ENERGÍA BIPOLAR EN LA UNIÓN DE TEJIDOS BIOLÓGICOS.

5.1.1. División de estructuras vasculares con fines de hemostasia.

Los dispositivos de sellado mediante energía bipolar, como el empleado en este estudio, se han convertido en la última década en elementos habituales de los quirófanos. Se utilizan principalmente en la hemostasia de vasos de pequeño y mediano calibre, para lo que han demostrado de forma clara su eficacia.

Estudios con animales indican que el LigaSure® sella adecuadamente arterias y venas de hasta 7mm [137, 140, 141, 294], aguantando presiones que garantizan la seguridad del cierre [294] y que se han comprobado comparables a las obtenidas con la colocación de clips o ligaduras, con la ventaja sobre estos últimos de que el sello no puede desplazarse puesto que está formado por la propia pared del vaso[137].

Los resultados clínicos también demuestran que su uso para esta finalidad es seguro y efectivo. Son muchos los estudios que avalan su empleo en el control de vasos de pequeño y mediano calibre con fines hemostáticos en diferentes áreas quirúrgicas[3-6] como cirugía digestiva, torácica, ginecología, urología ...

Entre otras ventajas se ha sugerido que su uso proporciona un ahorro de tiempo importante con respecto a las ligaduras[138]. En accesos como la vía laparoscópica hacen más fácil el abordaje de las estructuras vasculares, en especial en procedimientos complejos. Además son más baratos que el empleo de aparatos de grapado para el control vascular.

A nivel fisiológico estos dispositivos actúan de forma que el colágeno y la elastina de las paredes vasculares quedan reformados por efecto del calor que se genera durante el proceso de liberación de energía[137]. Para ello emplean energía eléctrica de

alto voltaje y baja corriente, que se diferencia de la energía estándar monopolar y bipolar utilizada para cauterización (de alta tensión, baja corriente)[138]. De este modo la capa íntima de las arterias o venas queda totalmente fusionada, formando un sello homogéneo, consistente y seguro, que puede ser seccionado a su través manteniendo cerrados los extremos.

5.1.2. Unión de tejidos biológicos mediante energía eléctrica bipolar.

5.1.2.1. División y cierre de parénquimas y estructuras no vasculares.

Esta capacidad de sellar y fusionar tejidos con un componente abundante de tejido conectivo ha despertado el interés hacia otras posibilidades de uso. Por ejemplo se ha estudiado y empleado para realizar secciones de parénquimas como el hepático, tiroideo o pulmonar.

En cirugía tiroidea se ha empleado, además de en el control vascular de los pedículos tiroideos, para la sección del parénquima a nivel del istmo tiroideo en las hemitiroidectomías [7].

En cirugía hepática, el dispositivo LigaSure® se ha mostrado efectivo y seguro para la transección del parénquima hepático [8-10]. Autores como Horgan [8] notifican que el LigaSure® puede usarse para el sellado tanto de los vasos como de los conductos biliares intrahepáticos durante la resección hepática. Mathews [9] sin embargo, basándose en datos histológicos y de presiones de estallido de estudios con tejido humano ex vivo y en animal de experimentación, desaconseja su uso para sellado de conductos biliares.

Estudios experimentales con cerdos muestran que el dispositivo LigaSure® es capaz de sellar el conducto cístico durante la colecistectomía[11, 12]. Schulze[11] en 2002 publicó un estudio piloto con ocho cerdos a los que se les realizó una colecistectomía

con el sistema LigaSure® para sellar el conducto cístico además de la arteria cística. Los animales, sacrificados al octavo día, no tuvieron complicaciones relacionadas con el procedimiento y el sellado del conducto cístico macroscópica y microscópicamente se observó adecuado. Aunque advierten de la necesidad de más estudios que evalúen la seguridad de la técnica concluyen que puede tener un papel en el manejo del conducto y arteria císticos durante la colecistectomía. Shamiyeh et al.[12], ese mismo año, publican también un estudio con el objetivo de evaluar si es posible el cierre del conducto cístico durante la colecistectomía con el dispositivo LigaSure®. Para ello emplean diez cerdos a los que se realiza la sección y cierre del cístico y arteria cística con el dispositivo de sellado, sacrificados al cuarto y octavo días postoperatorio. No encuentran fugas biliares. Relatan eso sí una necrosis total del conducto cístico al examen histológico en los dos primeros casos, que atribuyen a un exceso de energía aplicada. Concluyen que este método puede ser una alternativa al uso de clips.

En esta misma línea, Bergström et al.[295] presentan en 2009 una comunicación de los resultados iniciales con un nuevo dispositivo flexible para coagulación bipolar (BELA, Ethicon Endosurgery) en el cierre del conducto cístico durante la colecistectomía NOTES (Natural orifice translumenal endoscopic surgery). Argumentan los autores que, para realizar una colecistectomía segura mediante este abordaje, existe la necesidad de una herramienta fiable para sellar en conducto cístico y que los clips endoscópicos que hasta la fecha se han probado se han visto insuficientes para este procedimiento. Emplean en el estudio un modelo porcino con tejido exvivo y con supervivencia animal. Encuentran que el sellado conseguido exvivo mantiene una presión de de estallido de 285-320 mmHg, más de tres veces la presión basal del conducto biliar que determinan de 49.5 mmHg. En el modelo con animal vivo, a las dos

semanas, la presión media de estallido fue 427 mmHg (273-727). Encuentran por tanto suficiente el sellado del conducto cístico con este dispositivo.

Sin embargo, no todos los estudios con animales han presentado datos favorables al empleo de este tipo de aparatos con esta finalidad. En 2010, Hope et al.[296] evalúan el sellado del conducto cístico en un modelo porcino con un dispositivos bipolar de sellado vascular y otro de coagulación por ultrasonidos frente al empleo de clips para laparoscopia, desaconsejando el uso rutinario en cirugía biliar de los dos primeros por las elevadas tasas de fallo a la hora de conseguir un cierre consistente del conducto biliar.

Los datos favorables en los estudios con animales han llevado a algunos autores a ensayar esta posibilidad en humanos [13,14]. El propio grupo de Schulze[13] publicó en 2010 un estudio para evaluar el cierre y división del conducto cístico con el sistema LigaSure®. En él concluyen que el sistema es seguro y eficaz para esta finalidad. Para ello analizan los resultados de 218 colecistectomías laparoscópicas consecutivas realizadas en dos hospitales, 102 de las cuales se llevaron a cabo con LigaSure®. En este estudio no se produjo ninguna salida de liquido biliar por fuga del cístico, aunque refieren un caso de de salida de bilis por un pequeño conducto aberrante. Por su parte, Turial et al.[14] en 2011 evalúan la eficacia del LigaSure® para el cierre del conducto cístico durante la colecistectomía laparoscópica en niños y adolescentes. En total se analizan 21 casos, en ninguno de los cuales tiene lugar fuga de bilis. Describen un caso de obstrucción del colédoco, que, explorado por laparotomía, atribuyen al daño térmico causado por la energía transmitida a los tejidos circundantes y no a lesión directa de la vía biliar común. En función de sus hallazgos consideran que el cierre del cístico con el dispositivo de sellado es factible y efectivo, pero advierten del riesgo de daño colateral por la transmisión de energía térmica a los tejidos adyacentes con este tipo de aparatos.

En cirugía torácica los dispositivos de sellado vascular por medio de energía bipolar se ha empleado desde tiempos precoces. En 2002 Shigemura et al.[297] describen un método para el sellado de los bordes de resección de bullas gigantes con el sistema de sellado LigaSure®, proponiéndolo como posible alternaniva futura al uso de suturas o grapadoras.

Estudios en animales, han comprobado la seguridad del cierre del tejido pulmonar cuando se realizan resecciones en cuña[15, 16]. En el caso de Tirabassi[15] el método empleado ha sido un modelo ovino con 16 animales divididos en dos grupos. En ambos se realiza una biopsia pulmonar mediante toracotomía izquierda con excisión de la língula. En un grupo se efectúa con una grapadora estándar tipo endoGIA (US Surgical, Norwalk, CT) y en el otro con el dispositivo LigaSure® (Valley Lab, Boulder, CO), empleando un terminal de 5 mm. Tras un periodo de supervivencia de 7 días comprueban que ambos métodos soportan a nivel de la cicatriz presiones de estallido iguales o superiores al tejido pulmonar normal. Santini et al.[16] publican sus estudios en animales y humanos, en los que el sellado bronquial muestra buenos resultados en bronquios pequeños, menores de 3mm [16]. En el ensayo clínico utilizan el dispositivo LigaSure® en 36 pacientes, incluyendo tanto toracotomías como toracoscopias, para la realización de diversos procesos entre los que incluyen: resecciones en cuña, segmentectomías y extirpación de bullas. Aunque refieren dos casos de fuga aérea prolongada (más de 7 días), concluyen que el uso del dispositivo permite de forma sencilla una hemostasia y prevención de fugas de aire satisfactorias, comparables a las obtenidas con aparatos de sutura mecánica.

Basándose en estos resultados algunos autores sugieren que el LigaSure® es un sistema adecuado para resecciones pulmonares no anatómicas [16-18]. En el trabajo de Kovács et al. [18] se comparan los resultados obtenidos en 44 pacientes a los que se realiza

resección en cuña de nódulos pulmonares solitarios, 22 con LigaSure Atlas® y 22 con una endograpadora tipo ETS Flex 45 mm (ETHICON, Route 22 West Somerwille, NJ, USA). Tras evaluar diversos parámetros como la estancia media hospitalaria, el tiempo operatorio, las complicaciones o el coste del procedimiento, resuelven que es preferible el Ligasure Atlas® para la resección en cuña frente a las endograpadoras.

5.1.2.2. Unión de tejido intestinal con energía eléctrica bipolar.

Recientemente se ha planteado la posibilidad de sellar vísceras huecas y fusionar sus paredes, llegándose incluso a crear anastomosis completas. Esto ha llevado a especular con la posibilidad de que puedan reemplazar con el tiempo en este uso a las grapas y suturas [149-151]. Sin embargo, por el momento, son escasos los estudios que evalúan la fusión de tejido intestinal.

Se han publicado algunos artículos en los que se emplea energía eléctrica bipolar en la realización de apendicectomías, tanto en animales [19, 20, 21] como en humanos [22].

En estudios con animales se han practicado apendicectomías en conejos y ratas [19-21]. En 2006 Miquilarena[19] publicó su estudio del cierre del muñón apendicular con LigaSure® en conejo, concluyendo que, aunque se requieren más estudios, este procedimiento puede cambiar la manera como se trata en la actualidad el muñón apendicular por vía abierta o laparoscópica al ser un procedimiento seguro. Describe además una disminución en la formación de adherencias con este método.

En 2008 se publicó otro estudio experimental en el que se realizaba apendicectomía sin empleo de clips metálicos ni ligaduras, cerrando el muñón apendicular mediante electrocoagulación bipolar[20]. En el estudio, Aslan y colaboradores, emplearon 40 ratas en las que se compara la ligadura del muñón con hilo de seda 3/0 con el cierre del mismo mediante coagulación con pinza Power Blade (Lina Tripol 5,

Denmark). Concluyen que el cierre del muñón apendicular solamente con coagulación bipolar es seguro y factible. Todos los animales sobrevivieron sin complicaciones. No se vieron mayores tasas de dehiscencia en el grupo en el que se emplea electrocoagulación y en el estudio mecánico el cierre soportó presiones de hasta 30 cm H_2O sin que se produjeran aperturas al igual que ocurrió con la ligadura del muñón. Como hallazgo histológico se describen una mejor reepitelización en los casos en los que se emplea la electrocoagulación, mientras que los casos en que se emplea ligadura muestran más cambios inflamatorios severos, abscesos y necrosis.

En 2010 Elemen et al.[21] publican su estudio con ratas que compara los resultados del cierre del muñón apendicular en ratas con el dispositivo LigaSure Precise® (Valleylab, Boulder, CO, USA), con cierres con ligaduras de polyglactin 910 (Vicryl, Ethicon, Edinburgh, UK) y con endoclips (Ligaclip ERCA, Ethicon,OH, USA). El propósito de este trabajo es la comparación de los cambios en el proceso de cicatrización del muñón apendicular con los diferentes métodos antes mencionados. Analizan lo que sucede tanto en el instante posterior al cierre del extremo apendicular como a los 7 días de cicatrización. Encuentran una mejor curación, con menor inflamación en los casos en los que se usa el dispositivo Ligasure. También describen un tiempo operatorio menor a favor del dispositivo de sellado. En el estudio mecánico las características son similares en todos los grupos, sin que se aprecien diferencias.

Los datos disponibles del uso de este tipo de dispositivos para el cierre del muñón apendicular en animales parecen por tanto satisfactorios. Curiosamente la experiencia clínica publicada en el tratamiento de pacientes con este tipo de procedimiento es muy escasa. Khanna et al.[22] Publicaron en 2004 una serie 60 pacientes con apendicitis a los que se les había identificado y coagulado el muñón apendicular con

energía bipolar. La duración media del procedimiento fue 25 minutos y la estancia postoperatoria en el hospital fue de 3 días.

Aparte del manejo del apéndice cecal, el dispositivo LigaSure® se ha empleado en la fusión de tejido digestivo con otras finalidades.

En humanos se ha publicado la sección y cierre temporal del intestino delgado durante la hemicolectomía derecha en lugar de usar para ello una endograpadora [26]. Se trata de un cierre temporal mientras se completa el procedimiento y se restituye el tránsito mediante anastomosis. Representa una opción sencilla y sin coste para optimizar el procedimiento de hemicolectomía derecha laparoscópica.

También se ha propuesto su uso en la realización de bypass gástrico sin utilización de endograpadoras [27-29]. Tanto Himpens et al.[27,28] como Ettinger et al.[29] utilizan el Ligasure Atlas®(Valleylab, Tyco, Boulder, CO, USA) para seccionar el estómago y el yeyuno y mantenerlos cerrados durante el proceso de creación del bypass gástrico. Esta aproximación permite un cierre un cierre temporal de la luz que hace posible una sutura continua de los órganos divididos sin riesgo de fuga intraoperatoria. De este modo intentan demostrar que se pueden realizar de un modo seguro procedimientos de cirugía laparoscópica avanzada sin el uso de dispositivos de grapado, reduciendo de este modo los costes.

Por último quedaría analizar cual es la situación del sellado con dispositivos eléctricos bipolares en lo que se refiere a crear anastomosis intestinales. Se han realizado estudios experimentales con modelos con tejido intestinal porcino y con animales vivos en los que se ha visto que es factible fusionar el tejido e incluso realizar una anastomosis completa, si bien la evidencia publicada es muy escasa[23-25,149, 150,151].

Inicialmente, Salameh et al.[24] estudiaron la validez y eficacia del sistema Ligasure®(Valleylab, Boulder, CO) para dividir intestino delgado en cerdo,

comparándolo con la división del mismo con grapadora lineal endoscópica con carga vascular (Endopath ETS45, Ethicon Endo-Surgery, Cincinnati, OH). Observaron que la presión de estallido para los segmentos en los que se empleó grapadora era significativamente más alta que la obtenida con el sellado bipolar. El estudio, publicado en 2006 concluye que el Ligasure® no sella de forma segura el intestino delgado.

En 2007 Smulders et al.[25] publicaron un trabajo en el que investigan la posibilidad de crear anastomosis intestinales utilizando la tecnología de los aparatos de sellado bipolar con sistema integrado de control mediante feedback. Emplean para ello un prototipo del Dispositivo Anastomótico Ligasure (LAD en sus siglas en inglés). Realizan un total de 8 anastomosis sobre las que estudian el proceso de curación en función de su examen macroscópico e histológico. Según describen, los cierres se mantuvieron intactos tanto de forma inmediata tras su creación como al séptimo día postoperatorio y los animales permanecieron sanos durante ese periodo y sin signos de obstrucción. Desde el punto de vista histológico las anastomosis presentaron una adecuada cicatrización. De este modo confirman la posibilidad de realizar anastomosis intestinales experimentales con esta tecnología.

En 2009, Aslan et al.[149] publicaron un trabajo en el que ensayan la soldadura de los extremos intestinales seccionados a la altura de la unión colorrectal en ratas Wistar por medio de unos fórceps de coagulación bipolar (Scoville-Greenwood, ConMed, USA) comparando los resultados obtenidos con los de anastomosis realizadas mediante sutura manual. Estudiaron las condiciones generales, ganancia ponderal, presión de estallido, estenosis y datos histopatológicos a las seis semanas. Refieren que no hubo mortalidad ni fístulas. Ambos grupos aguantaron presiones de estallido de hasta 40cm H_2O. No se apreciaron diferencias en cuanto a grado de estenosis . Además describen una significativa mejora en la epitelización y una menor inflamación en el grupo sin suturas.

Winter et al.[140] publican en 2010 un estudio encaminado a investigar cómo influyen el proceso de unión de las paredes intestinales en la termofusión los diferentes parámetros como la fuerza de compresión, la temperatura alcanzada en los tejidos o la duración del impulso. Para ello utilizan un modelo exvivo con tejido intestinal porcino y desarrollan un dispositivo anastomótico experimental para anastomosis circular por termofusión inducida por radiofrecuencia bipolar, que incorpora control de temperatura y compresión. En el estudio encuentran que la fuerza de compresión durante el proceso de fusión influencia de forma significativa la estabilidad de la unión de la anastomosis. Describen un máximo de resistencia mecánica a una determinada compresión (de acuerdo a unos parámetros de fusión previamente establecidos), por encima y por debajo de la cual el resultado es un descenso de la presión de estallido. Otros aspectos de los principales parámetros que pueden afectar la calidad de la unión siguen sin aclararse, por lo que los autores abogan por seguir estudiándolos para comprender mejor y poder mejorar el proceso de fusión tisular.

Holmer et al.[151], del mismo grupo que el trabajo referido con anterioridad, ha presentado en 2011 otro estudio que valora exvivo el proceso de termofusión de tejido intestinal en cerdo y rata en el que no encuentran diferencias en cuanto a la estabilidad de las uniones así realizadas cuando las comparan con anastomosis mecánicas con grapadora en los cerdos o con sutura manual en el modelo con rata.

En resumen, se ha demostrado que la fusión de tejido intestinal el posible e incluso que se pueden llevar a cabo anastomosis completas por este medio. Sin embargo se ha valorado poco si esas anastomosis son, al menos, tan seguras como las que se realizan habitualmente con suturas manuales o con aparatos de grapado. Hasta ahora sólo se dispone de un trabajo que compare los resultados de este tipo de anastomosis realizadas fusionando tejido intestinal con anastomosis hechas con sutura manual.

Otro aspecto poco valorado en cuanto a la fusión de tejido intestinal por este método es su evolución a largo plazo, conforme se completa el proceso de cicatrización. La mayoría de los modelos presentados con supervivencia del animal, estudian los resultados obtenidos en la primera semana de cicatrización. Complicaciones como sangrado o fugas anastomóticas se presentan habitualmente en esta fase inicial del proceso de curación, sin embargo, la aparición de estenosis suele producirse conforme la cicatriz madura.

5.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

5.2.1. Observaciones generales.

Al analizar los resultados del estudio nos encontramos que la mortalidad global fue del 3.3% (1/30). Estos datos son similares a los publicados en otros estudios [72, 281]. En el grupo de anastomosis en las que se empleó el dispositivo de sellado (grupo A) no se produjo ningún fallecimiento antes del periodo de finalización del experimento. En el grupo B, un animal hubo de ser sacrificado antes de completar el tiempo de observación establecido por presentar una fístula con cuadro séptico y deterioro importante, que ocasionaba sufrimiento al animal. El diseño inicial del estudio no contemplaba la reintervención. Desconocemos que evolución hubiera seguido el animal en caso de que hubiese sido reintervenido de forma urgente como ocurriría en un contexto clínico habitual. De acuerdo a los criterios predefinidos, la mortalidad del grupo B fue del 6,6% (1/15). Esta diferencia no se ha visto significativa desde el punto de vista estadístico.

En cuanto a las incidencias intraoperatorias hay un aspecto que llama la atención al analizar los resultados obtenidos, el cual no se había contemplado inicialmente entre las variables a estudio. Se trata los casos en los que el sellado del muñón rectal con el

dispositivo LigaSure® no se completa adecuadamente en un primer instante tras la aplicación del la energía y el corte. En la actualidad es difícil, aunque no imposible, que se produzca un fallo en la sección y cierre con engograpadora. El alto número de fallos en este sellado inicial con que nos hemos encontrado es, como indican algunos autores[296], un inconveniente a la hora de recomendar su empleo en la práctica habitual para determinadas aplicaciones. En este experimento, la razón por la que nos encontramos con un tercio de casos en los que se produce algún incidente durante el termosellado del muñón rectal puede deberse a varios factores.

En primer lugar hemos de considerar que el dispositivo empleado está diseñado para el control de pedículos vasculares, por lo que los parámetros de programación pudieran no estar optimizados para esta nueva aplicación. En este sentido hay que considerar que, dada la escasa experiencia en el sellado y fusión de tejido intestinal que tenemos, se desconocen cuales son los ajustes óptimos para que esa fusión tenga lugar de la forma más satisfactoria.

La fuerza de la fusión de los tejidos depende tanto de parámetros dependientes de los propios tejidos como son su grosor y la perfusión que presentan en vivo, como de parámetros del procedimiento como la fuerza de compresión de la pinza, la temperatura de fusión y la duración del impulso eléctrico[298, 299]. En estudios con un modelo experimental, con tejido intestinal porcino, se ha visto que la compresión ejercida durante el proceso de fusión tiene una influencia significativa sobre la estabilidad de la fusión anastomótica. Winter et al.[150] encuentran un máximo de presión de estallido para una presión de compresión concreta de acuerdo a parámetros preseleccionados. Presiones de compresión superiores o inferiores dieron como resultado una disminución de la presión de ruptura o estallido. En el caso del LigaSure® la fuerza de compresión viene predeterminada por la pinza, en este caso un terminal Atlas 10mm. Es fundamental

que el instrumento mantenga los bordes unidos mientras dura el proceso de unión para lo que se necesita una presión adecuada. Al tratarse de tejido elástico, el volumen de tejido contenido entre los electrodos para su fusión vendrá también determinado en parte por esa compresión, de forma que a mayor compresión menor volumen y al revés. Esto sin duda afectará al resultado final de alguna forma.

Por otro lado la longitud de las palas del instrumento ha obligado a realizar la sección y sellado en varias aplicaciones y, como ocurre cuando se deben emplear varias cargas de endoGIA para la sección intestinal o gástrica, el defecto al superponer la línea nueva sobre la previa puede ser otro factor que contribuya a explicar esa tasa de fallos.

El hecho de ser una aplicación nueva y la consiguiente falta de experiencia por parte del cirujano durante su realización puede justificar también alguno de los casos. De hecho los casos se produjeron principalmente en los primeros animales intervenidos. Tras analizar las intervenciones y revisar las grabaciones se interpretó, de un modo subjetivo, que los fallos en el sellado podían deberse a una tracción demasiado enérgica de la pieza.

El tiempo quirúrgico empleado fue mayor en el grupo de los animales en los que se empleo la termofusión, aunque no de forma significativa. Esto pudiera explicarse en parte por la novedad técnica y la necesidad del cirujano de adaptarse al nuevo procedimiento, aunque también hay otros factores como una tasa mayor de conversión y la consiguiente prolongación del proceso que pueden haber contribuido a ello.

5.2.2. Evolución clínica de las anastomosis.

El objetivo primario del estudio incluye el análisis de las posibles complicaciones que pudiera presentar la modificación de sellar y dividir el intestino con el dispositivo LigaSure® respecto a hacerlo con endograpadora, técnica aceptada como

estándar. Se han valorado diferencias en cuanto a tasas de sangrado por la anastomosis, dehiscencias de la misma o desarrollo de estenosis.

Con relación al primer aspecto, no se han visto diferencias relevantes. Se apreciaron dos casos de sangrado intraoperatorio en el grupo B durante el acto quirúrgico que requirieron maniobras de hemostasia específicas para su control, pero no supusieron un compromiso hemodinámico ni una anemización importantes en los animales afectos. Durante estas primeras 24 horas uno de los animales perteneciente al grupo A expulsó coágulos junto con la deposición. El proceso se limitó por si solo sin que se apreciara repercusión hemodinámica ni en el hemograma.

En lo referente a la aparición de dehiscencias, la variabilidad que existe en la tasa de incidencia de esta complicación entre los distintos estudios publicados se debe a la falta de unidad en la definición de esta condición [250,251]. En este estudio se ha considerado como dehiscencia de la anastomosis tanto los casos en que hubo clínica compatible con ello, como aquellos en los que, estando el animal asintomático, se verificó mediante estudio radiológico la comunicación entre los compartimentos intra y extraluminal debido a un defecto en la integridad de la anastomosis. Estos serían los hallazgos con que nos podríamos encontrar en un entorno clínico real. Otros hallazgos encontrados durante una exploración quirúrgica o mediante pruebas de imagen de mayor resolución irán probablemente dirigidos por el hallazgo previo de datos clínicos que sugieran esta posibilidad. Durante este estudio no se han observado diferencias significativas en cuanto a la incidencia de esta complicación entre ambos grupos. Desde el punto de vista clínico únicamente se objetivó un fallo anastomótico, que se corroboró en el estudio radiológico, donde no se apreciaron otros defectos que hubieran cursado subclínicos. Este animal, como se comenta más arriba, fue sacrificado tras fracasar el intento de controlar el cuadro séptico con antibioterapia sistémica y durante la

exploración se comprobó la dehiscencia de parte de la línea anastomótica. Sin embargo, tras la exploración quirúrgica del resto de animales se apreciaron áreas de fibrosis residual adyacentes a las anastomosis debidas a granulomas o abscesos en zona perianastomótica en 2 animales en cada grupo, los cuales pueden interpretarse como consecuencia de un proceso subclínico de dehiscencia de la sutura, aunque pudieran también darse otras explicaciones. Uno de los casos descritos anteriormente, correspondiente al grupo en el que se usó el dispositivo LigaSure® , presentaba además un síndrome adherencial severo, con pequeños nódulos fibrosos dispersos sugestivos de pequeños abscesos, que ponía en evidencia la existencia de un proceso peritoneal inflamatorio difuso. Hay autores que sugieren que los abscesos pélvicos en la proximidad de la anastomosis deben considerarse como dehiscencias o fallos de la misma [250]. En caso de aceptar este planteamiento en el grupo A se podría hablar de dehiscencia en la sutura en 2 de las 13 anastomosis completadas por este procedimiento frente a 3 de los 15 animales del grupo B en los que se confeccionó la anastomosis siguiendo una técnica de doble grapado. En este supuesto las diferencias tampoco alcanzarían significación estadística.

El tercer aspecto a valorar, dentro de los objetivos primarios, fue el desarrollo de estenosis en la anastomosis en ambos grupos. Desde el punto de vista clínico ninguno de los animales mostró síntomas ni signos que hicieran sospechar del desarrollo de esta complicación. No obstante, como se comenta en la introducción en el apartado correspondiente, no existe habitualmente relación entre el grado de estenosis y el desarrollo de síntomas obstructivos. Tampoco el enema opaco realizado al séptimo día ni la colonoscopia a las dos semanas permitieron diagnosticar ningún caso. Esto no implica que posteriormente no puedan desarrollarse estrechamientos. En estudios con endoscopias precoces tras la cirugía se han encontrado cifras muy bajas de estenosis, del

0 – 3% [276]. Analizando las posibles estenosis de las anastomosis tras el examen de la pieza, la impresión subjetiva fue la de que hubo una marcada disminución del calibre a nivel del anillo anastomótico con respecto al calibre normal del colon en cuatro animales del grupo A y tres del grupo B. Sin embargo, no se apreciaron dilataciones previas del calibre intestinal en ninguno de los casos y, como se ha explicado ya, tampoco habían mostrado signos de obstrucción. Al medir las áreas de sección a nivel de las anastomosis se aprecia una superficie media menor en el grupo en el que se emplea el dispositivo de sellado en relación con el de engograpadora, si bien, en el análisis estadístico, esta diferencia no llega a ser significativa.

Además de estos datos, se han valorado también como parámetros clínicos la evolución del peso de los animales, datos analíticos del hemograma y hallazgos durante la exploración quirúrgica final. En general, el curso postoperatorio de los animales fue adecuado en ambos grupos y los animales siguieron un desarrollo similar, lo que se tradujo en una ganancia de peso adecuada en todos ellos. No se encontraron alteraciones en los análisis de sangre ni en el control endoscópico de las anastomosis. La distancia de las anastomosis al margen fue semejante en los dos grupos. Es lo esperable si consideramos que el punto elegido para realizar la sección y anastomosis intestinal corresponde en todos los animales al segmento inmediatamente por debajo de la reflexión peritoneal, pero tiene interés por el hecho de que ambos grupos sean homogéneos, de modo que este hecho no suponga un factor que aumente el riesgo de complicaciones como la dehiscencia de la anastomosis en ninguno de los dos grupos.

En la laparotomía final se evaluó la presencia de adherencias intraperitoneales. Se encontraron adherencias leves y escasas en 3 animales del grupo B y 1 del grupo A. También hubo un caso de síndrome adherencial severo en el grupo A, que como se ha descrito antes se asociaba además a nódulos fibrosos dispersos por toda la cavidad

peritoneal y a una zona de fibrosis en la proximidad de la anastomosis, hallazgos sugestivos de un proceso séptico intraabdominal que pudiera deberse a una dehiscencia de la anastomosis como causa más probable, que cursó sin datos clínicos ni radiológicos y sin alteración en el desarrollo del animal.

5.2.3. Valoración de la calidad de la anastomosis.

Para el estudio de las propiedades físicas de la anastomosis se ha empleado un modelo de resistencia a la tracción. Dado que la resistencia a la ruptura se recupera a un ritmo más lento que la presión de estallido algunos autores sugieren que este método no es lo suficientemente sensible como para medir los cambios tempranos en la curación de la anastomosis[195, 199]. Sin embargo, puede ser de mayor utilidad para encontrar diferencias al analizar anastomosis en fases más tardías, como el caso que nos ocupa, en el que se estudian las anastomosis a los 30 días de su realización. Se ha descrito que la fuerza de ruptura de la anastomosis aumenta progresivamente desde el 7º al 28º días postoperatorios, lo que sugiere que la resistencia a la rotura puede ser utilizada para estudiar a la evolución tardía de la anastomosis cólica, aunque fuera ya del periodo clínicamente relevante[300]. En nuestro estudio se aplica una carga sólo sobre un segmento de la anastomosis. Esto tiene el inconveniente de asumir que ésta presenta unas características homogéneas en toda su circunferencia, hecho que bien pudiera no ser así. Sin embargo elimina la dificultad, casi imposibilidad, de aplicar una tensión homogénea en toda la circunferencia, que constituye una crítica habitual en este tipo de ensayos [200]. Se trata en definitiva de valorar si el proceso cicatricial en sí mismo se ve afectado y con ello la fuerza de la anastomosis, más que de buscar en ésta puntos aislados de debilidad. Por otro lado, el sistema es fácilmente reproductible y no depende tanto del tamaño del animal. Los resultados del estudio funcional de las anastomosis

muestran un comportamiento mecánico semejante en ambos grupos, sin diferencias en los distintos parámetros analizados.

Desde el punto de vista morfológico los estudios con microscopia óptica de las muestras de ambos grupos han presentado características similares: presencia de tejido fibrótico en evolución que aun no había completado la cicatrización, un componente de células inflamatorias moderado o escaso y un grado variable de angiogénesis. Se han descrito microabscesos en ambos grupos en aproximadamente la mitad de los casos. El proceso de reepitelización en los animales del grupo en el que se empleó termosellado fue más deficitario que en aquellos en los que se utilizó endograpadora, aunque esta diferencia no alcanza significación estadística. Esto contrasta con los hallazgos descritos en otros estudios [20, 21] en los que se describe una mejor reepitelización y menor componente inflamatorio cuando se emplea sellado frente a ligadura o clips para cierre del muñón apendicular. Es posible que esto se deba a una coincidencia casual, por el reducido tamaño de los grupos. De confirmarse podrían buscarse explicaciones como los efectos por el daño térmico en la zona adyacente a la aplicación de las pinzas del dispositivo. Sin embargo, resulta extraño que se observe este hecho aislado sin otros hallazgos asociados de retardo en el proceso de cicatrización de estas anastomosis.

Otro aspecto valorado ha sido la composición colágena en las anastomosis. La fuerza de la cicatriz depende en gran parte de que el depósito de colágeno se realice de forma adecuada tanto en cantidad como en maduración. Para valorar si las anastomosis de ambos grupos presentan diferencias en cuanto a la calidad del componente colágeno se ha empleado un método de tinción con rojo sirio y análisis digital morfocolorimétrico de las imágenes. Esta tinción se ha utilizado como marcador específico para la detección del colágeno en secciones tisulares [209]. Con este método se pretende valorar la madurez del componente colágeno por interacción y orientación entre los grupos sulfónicos del

colorante rojo sirio con los grupos amino de la lisina e hidroxilisina y los grupos guanidina de la arginina correspondiendo la intesidad del color, con la madurez del colágeno, de modo que el colágeno I más compacto y maduro se tiñe en intensidad roja, mientras que el colágeno tipo III más inmaduro adopta una tonalidad amarillo verdosa. Empleando además el análisis computarizado de imágenes para medir el área de tinción y la densidad óptica de tejidos marcados con métodos histoquímicos o inmunohistoquímicos, procesos que antes se apreciaban subjetivamente pueden expresarse hoy en forma numérica. El estudio de la colagenización de las anastomosis por este sistema tampoco ha demostrado diferencias significativas entre ambos grupos en lo que respecta a los porcentajes relativos de colágeno tipo I y tipo III depositados a los 30 días de la anastomosis una vez que los datos han sido sometidos a análisis estadístico.

5.2.4. Valoración de los costes.

Por último se analizan los aspectos económicos de ambos procedimientos. Uno de los principales inconvenientes que presentan las técnicas de anastomosis con aparatos de sutura mecánica es su elevado coste. En el grupo en el que se emplea el dispositivo de sellado se aprecia una reducción importante del gasto como consecuencia del ahorro en endograpadoras y cargas.

5.3. CONSIDERACIONES FINALES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN.

La realización de anastomosis intestinales con objeto de restituir o desviar el tránsito digestivo es una parte esencial de la actividad quirúrgica.

En la actualidad, la sutura manual con distintos tipos de hilo y la sutura mecánica con aparatos de grapado, constituyen el método esencial para su realización.

En ocasiones su confección puede ser dificultosa, en especial en determinadas localizaciones en las que el acceso es más complejo, o cuando se emplean abordajes menos invasivos, que restringen la capacidad de maniobra. Probablemente esta es la causa de que, en este tipo de situaciones, se haya ido imponiendo el uso de aparatos de grapado frente a la sutura manual y del constante interés que existe por desarrollar nuevos dispositivos que ayuden a afrontar estas situaciones de forma más sencilla y segura. Un inconveniente a menudo referido de las grapadoras frente a la sutura manual es su elevado coste económico.

Aunque se ha avanzado mucho en la seguridad de las técnicas anastomóticas, a día de hoy se siguen presentando complicaciones, que pueden poner incluso en riesgo la vida del paciente y que suponen un incremento de las estancias y los costes. En este sentido, aún no existe la técnica de anastomosis ideal, exenta de complicaciones importantes y con un gasto reducido. De ahí el interés en investigar otros métodos para unir los segmentos intestinales. Aparte de la sutura manual o con grapadoras, se han experimentado otros métodos de aproximación y unión de los bordes intestinales, como diversos dispositivos de compresión mecánica, el empleo de sustancias adhesivas o la fusión de los tejidos mediante calor, de los que se trata con mayor extensión en el capítulo correspondiente.

Recientemente se ha especulado sobre la posibilidad de fusionar tejidos biológicos, entre ellos la pared intestinal, con dispositivos que, mediante el empleo de energía bipolar y compresión, permiten la unión de los mismos. Este tipo de dispositivos, están diseñados de forma que pueden acceder con relativa facilidad a localizaciones más o menos complicadas de la cavidad abdominal, y son útiles en su uso

por vía laparoscópica. Un ejemplo sería el sistema LigaSure® (Valleylab, Boulder, CO, USA), cuya utilidad actual se centra en la hemostasia mediante el sellado de vasos arteriales y venosos de pequeño y mediano calibre.

En este estudio se valoran los resultados obtenidos tras realizar anastomosis colorrectales en las que, la sección y cierre del intestino grueso a nivel de la unión rectosigmoidea durante su proceso de confección se realiza con el dispositivo de sellado LigaSure® Atlas® en lugar de emplear para ello una endograpadora.

El objetivo primordial es comprobar que esta modificación, además de realizable, no supone un riesgo superior al que presenta la anastomosis colorrectal que se hace de acuerdo a una técnica habitual como es el doble grapado. Además de la seguridad de estas anastomosis se analizan también aspectos como la calidad de su proceso de cicatrización o la repercusión en el coste que pueda tener esta modificación.

En los animales del grupo a estudio el muñón rectal queda cerrado de forma definitiva por el propio tejido de los bordes fusionado por efecto del calor liberado durante la aplicación del impulso eléctrico sin que se aplique refuerzo alguno. Como las anastomosis se completan después con una grapadora circular de 21mm, es posible que parte de la línea de sellado sea eliminada por la línea de corte y grapado. Aun así, parte de la línea de sellado, en especial los extremos del muñón rectal, permanecerá sellada por termofusión mientras dure el proceso de curación de la anastomosis y deberá mantener ese cierre durante el tiempo necesario para que la cicatrización se complete sin que se produzcan fallos durante el proceso.

En general se puede afirmar, conforme a lo observado, que el empleo del dispositivo para la sección y cierre definitivo del recto como se plantea en el ensayo no ha supuesto un riesgo mayor para los animales del grupo a estudio en comparación con aquellos a los que se les ha practicado una anastomosis con doble grapado. Del mismo

modo que la calidad de las anastomosis en ambos grupos en términos de resistencia a la tracción, celularidad inflamatoria o colagenización de la herida ha sido similar.

Sin embargo hay un aspecto que en un principio no se había contemplado en el diseño del estudio y que debe comentarse. Las anastomosis en las que se practica la sección y sellado del muñón rectal con el dispositivo de sellado tisular LigaSure® presentaron más problemas a la hora de conseguir de entrada un sello adecuado del muñón, hecho que se produjo en un tercio de los casos.

El presente estudio establece aspectos básicos en la utilización de esta tecnología para la confección de anastomosis. Sin embargo, son necesarios estudios que evalúen mejor los parámetros óptimos de compresión de las pinzas, temperatura de fusión y duración e intensidad impulso eléctrico, que contribuyan a mejorar los algoritmos con los que se regula la fusión para el tejido intestinal, antes de trasladar estos conocimientos al contexto clínico.

También es posible que esto ayude a modificar algunos aspectos como el tamaño y morfología de los instrumentos, actualmente pensados para el control vascular, para que se adapten mejor a esta finalidad.

El empleo de este tipo de dispositivos en la realización de anastomosis intestinales abre la posibilidad de desarrollar instrumentos nuevos que faciliten la cirugía abdominal mediante abordajes menos invasivos y contribuyan a su evolución.

La capacidad de disminuir el tamaño de este tipo de instrumentos parece mayor que la de los mecanismos de grapado. Estos últimos encuentran un límite en su capacidad de miniaturización en el tamaño mínimo de la grapa que es necesario para que cumpla con su función. En este estudio el tamaño del trócar que se precisó para introducir la endograpadora fue de 12 mm, frente a los 11 mm con los que se trabaja con el terminal ATLAS, aunque se dispone ya de terminales de 5mm capaces de sellar vasos

con resultados equivalentes en cuanto al control de la hemostasia[301], pero con las ventajas de un orificio de tamaño más reducido: menor riesgo de eventración y mejor resultado estético.

Su futuro en cirugía de mínima invasión pudiera orientarse hacia la fabricación de equipos que, con un solo dispositivo, permitan sellar vasos, seccionar parénquimas e incluso realizar anastomosis intestinales eliminando la necesidad de otros instrumentos como endograpadoras o clip, combinando de este modo propiedades de disección y reconstrucción.

Al tratarse de instrumentos habituales ya en los quirófanos y empleados cada vez con mayor asiduidad en las intervenciones quirúrgicas por su utilidad en el control vascular, el que sean útiles para otras funciones puede repercutir en la reducción de costes tanto en tiempo como materiales.

6.- CONCLUSIONES

1.- La sección y sellado del muñón rectal con el dispositivo de sellado tisular LigaSure® es factible en el modelo experimental propuesto.

2.- El cierre del muñón rectal con el dispositivo de sellado es menos fiable que el cierre convencional con endograpadora, puesto que presenta una tasa de fallos significativamente mayor.

3.- Las anastomosis colorrectales realizadas tras el cierre y división del muñón rectal con el dispositivo de sellado han demostrado tanta seguridad como la realizada mediante la técnica de doble grapado en cuanto a los criterios de morbilidad y mortalidad.

4.- El tiempo operatorio de ambos grupos no ha demostrado diferencias.

5.- Los dos grupos han presentado tasas de conversión a cirugía abierta equivalentes.

6.- La calidad del proceso de cicatrización, en lo que se refiere a sus características mecánicas de resistencia a la tracción, es semejante en ambos grupos.

7.- No se han encontrado diferencias destacables en el estudio histológico de las anastomosis.

8.- La calidad del proceso de cicatrización en el grupo de estudio, en cuanto a la composición colágena de la cicatriz, es similar a la mostrada con la técnica de doble grapado.

9.- El empleo del dispositivo de sellado tisular LigaSure® , en este estudio, ha supuesto un ahorro considerable en el coste del procedimiento con respecto a la técnica de doble grapado.

7. BIBLIOGRAFÍA

1.- Del Cañizo López JF, López Martín D, Lledó García E, García Barreno P. Unidad Medicina y Cirugía Experimental. Servicio de Urología. Hospital General Univ. Gregorio Marañón Madrid. Diseño de modelos experimentales en investigación quirúrgica. Actas Urol Esp. 2008; 32(1): 27-40

2.- Rodríguez Yunta E. Etica de la investigación en modelos animales de enfermedades humanas. Acta Bioethica 2007; 13 (1): 25-40.

3.- Sayfan J, Becker A, Koltun L. Sutureless closed hemorrhoidectomy: a new technique. Ann Surg. 2001; 234(1): 21-4.

4.- Campagnacci R, de Sanctis A, Baldarelli M, Rimini M, Lezoche G, Guerrieri M. Electrothermal bipolar vessel sealing device vs. ultrasonic coagulating shears in laparoscopic colectomies: a comparative study. Surg Endosc. 2007; 21(9): 1526-31.

5.- Hübner M, Hahnloser D, Hetzer F, Müller MK, Clavien PA, Demartines N. A prospective randomized comparison of two instruments for dissection and vessel sealing in laparoscopic colorectal surgery. Surg Endosc. 2007; 21(4): 592-4.

6.- Gelmini R, Romano F, Quaranta N, Caprotti R, Tazzioli G, Colombo G, Saviano M, Uggeri F. Sutureless and stapleless laparoscopic splenectomy using radiofrequency: LigaSure device. Surg Endosc. 2006; 20(6): 991-4.

7.- Kirdak T, Korun N, Ozguc H. Use of ligasure in thyroidectomy procedures: results of a prospective comparative study. World J Surg. 2005; 29(6): 771-4.

8.- Horgan PG. A novel technique for parenchymal division during hepatectomy. Am J Surg. 2001; 181(3): 236-7.

9.- Matthews BD, Pratt BL, Backus CL, Kercher KW, Mostafa G, Lentzner A, et al. Effectiveness of the ultrasonic coagulating shears, LigaSure vessel sealer, and surgical clip application in biliary surgery: a comparative analysis. Am Surg 2001; 67 (9): 901-6.

10.- Strasberg SM, Drebin JA, Linehan D. Use of a bipolar vessel-sealing device for parenchymal transection during liver surgery. J Gastrointest Surg. 2002; 6(4): 569-74.

11.- Schulze S, Krisitiansen VB, Hansen B, Rosenberg J Sealing of cystic duct with bipolar electrocoagulation. Surg Endos 2002; 16: 342-4.

12.- Shamiyeh A, Schrenk P, Tulipan L, Vattay P, Bogner S, Wayand W. A new bipolar feedback-controlled sealing system for closure of the cystic duct and artery.Surg Endosc. 2002; 16(5): 812-3.

13.- Schulze S, Damgaard B, Jorgensen LN, Larsen SS, Kristiansen VB. Cystic duct closure by sealing with bipolar electrocoagulation. JSLS. 2010; 14(1): 20-2.

14.- Turial S, Engel V, Sultan T, Schier F. Closure of the cystic duct during laparoscopic cholecystectomy in children using the LigaSure Vessel Sealing System. World J Surg. 2011; 35(1): 212-6.

15.- Tirabassi MV, Banever GT, Tashjian DB, Moriarty KP. Quantitation of lung sealing in the survival swine model. J Pediatr Surg. 2004; 39(3): 387-90.

16.- Santini M, Vicidomini G, Baldi A, Gallo G, Laperuta P, Busiello L, Di Marino MP, Pastore V. Use of an electrothermal bipolar tissue sealing system in lung surgery. Eur J Cardiothorac Surg. 2006; 29(2): 226-30.

17.- Shigemura N, Akashi A, Nakagiri T, Ohta M, Matsuda H. A new tissue-sealing technique using the Ligasure system for nonanatomical pulmonary resection: preliminary results of sutureless and stapleless thoracoscopic surgery. Ann Thorac Surg. 2004; 77(4): 1415-9

18.- Kovács O, Szántó Z, Krasznai G, Herr G. Comparing bipolar electrothermal device and endostapler in endoscopic lung wedge resection. Interact Cardiovasc Thorac Surg. 2009 Jul;9(1):11-4.

19.- Miquilarena R, Coronel P, Arocha R, Troconis E y Navas H. Cierre del muñón apendicular con Ligasure TM en conejos. Un reporte preliminar. Rev Venez Cir. 2006; 59 (1): 8-11.

20.- Aslan A, Karaveli C, Elpek O. Laparoscopic appendectomy without clip or ligature. An experimental study. Surg Endosc. 2008; 22(9): 2084-7.

21.- Elemen L, Yazir Y, Tugay M, Akay A, Aydin S, Yanar K, Ceylan S. LigaSure compared with ligatures and endoclips in experimental appendectomy: how safe is it? Pediatr Surg Int. 2010; 26(5): 539-45.

22.- Khanna S, Khurana S, Vij S. No clip, no ligature laparoscopic appendectomy. Surg Laparosc Endosc Percutan Tech. 2004; 14(4): 201-3.

23 .- Shields CA, Schechter DA, Tetzlaff P, Baily AL, Dycus S, Cosgriff N. Methodfor creating ideal tissue fusion in soft-tissue structures using radio frequency (RF) energy. Surg Technol Int. 2004; 13: 49-55.

24.- Salameh JR, Schwartz JH, Hildebrandt DA. Can LigaSure seal and divide the small bowel? Am J Surg 2006; 191: 791–793.

25.- Smulders JF, de Hingh IH, Stavast J, Jackimowicz JJ. Exploring new technologies to facilitate laparoscopic surgery: creating intestinal anastomoses without sutures or staples, using a radio-frequency-energy-driven bipolar fusion device. Surg Endosc. 2007; 21(11): 2105-9.

26.- Moreno-Sanz C, Picazo-Yeste J, Seoane-Gonzáles J, Manzanera-Díaz M, Tadeo-Ruiz G. Division of the Small Bowel with the LigaSure Atlas Device During the Right Laparoscopic Colectomy. J Laparoendosc Adv Surg Tech A. 2008; 18(1): 99-101.

27.- Himpens J. Laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass performed without staples. Obes Surg 2004; 14: 897

28.- Himpens J, Leman G, Sonneville T. Laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass performed without staples. Surg Endosc 2005; 19: 1003.

29.- Ettinger JE, Ramos AC, Azaro E, Galvão-Neto MP, Mello CA, Galvão MS, Amaral PC, Carlo A, Fahel E. Staplerless laparoscopic gastric bypass: a new option in bariatric surgery. Obes Surg. 2006; 16(5): 638-45.

30.- Gillespie IE. Intestinal anastomosis. Br Med J (Clin Res Ed). 1983 Mar 26; 286(6370): 1002.

31.- Mortensen NJ, Ashraf S. ACS Surgery: Principles and Practice. Capítulo 29: Intestinal anastomosis. 2008 BC Decker Inc.

32.- Resegotti A, Astegiano M, Farina EC, Ciccone G, Avagnina G, Giustetto A, Campra D, Fronda GR. Side-to-side stapled anastomosis strongly reduces anastomotic leak rates in Crohn's disease surgery. Dis Colon Rectum. 2005; 48(3): 464-8.

33.- Scarpa M, Angriman I, Barollo M, Polese L, Ruffolo C, Bertin M, D'Amico DF. Role of stapled and hand-sewn anastomoses in recurrence of Crohn's disease. Hepatogastroenterology. 2004; 51(58): 1053-7.

34.- MacRae HM, McLeod RS. Handsewn vs. stapled anastomoses in colon and rectal surgery: a meta-analysis. Dis Colon Rectum. 1998; 41(2): 180-9.

35.- Lustosa SAS, Matos D, Atallah AN, Castro AA. El uso de grapas frente a la sutura manual para la anastomosis en la cirugía colorectal (Revisión Cochrane traducida). En: La Biblioteca Cochrane Plus, 2008 Número 2. Oxford: Update Software Ltd. (Traducida de The Cochrane Library, 2008 Issue 2. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.).

36.- Choy PYG, Bissett IP, Docherty JG, Parry BR, Merrie AEH. Métodos con grapas versus métodos de sutura manual para las anastomosis ileocólicas (Revisión Cochrane traducida). En: La Biblioteca Cochrane Plus, 2008 Número 2. Oxford: Update Software Ltd. (Traducida de The Cochrane Library, 2008 Issue 2. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.).

37.- Travers B. An inquiry into the process of nature in repairing injuries of the intestines: Ilustrating the treatment of penetrating wounds and strangulated hernia. Published 1812 by Longman, Hurst, Rees, Orme, and Brown in London.

38.- Lembert A. Memoire sur l'enterorrhaphie avec la description d'un procede nouveau pour pratiquer cette operation. Chir Rep Gen Anat Physiol Pathol. 1826; 2: 100-107

39.- Dietz UA, Debus ES. Intestinal anastomoses prior to 1882; a legacy of ingenuity, persistence, and research form a foundation for modern gastrointestinal surgery. World J Surg. 2005; 29(3): 396-401.

40.- Katz S, Izhar M, Mirelman D. Bacterial adherence to surgical sutures. A posible factor in suture induced infection. Ann Surg 1981; 194 (1): 35-41.

41.- Irvin TT, Goligher JC. Aetiology of disruption of intestinal anastomoses. Br J Surg. 1973; 60(6): 461-4.

42.- Sarin S, Lightwood RG. Continuous single-layer gastrointestinal anastomosis: a prospective audit. Br J Surg. 1989; 76(5): 493-5.

43- Burch JM, Franciose RJ, Moore EE, Biffl WL, Offner PJ. Single-layer continuous versus two-layer interrupted intestinal anastomosis: a prospective randomised trial. Ann Surg. 2000; 231(6): 832-7.

44.- Shandall A, Lowndes R, Young HL. Colonic anastomotic healing and oxygen tension. Br J Surg. 1985; 72(8): 606-9.

45.- Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses. The effect of suture technic on collagen concentration in the colonic wall. Am J Surg. 1978; 135(3): 333-40.

46.- Shikata S, Yamagishi H, Taji Y, Shimada T, Noguchi Y. Single- versus two-layer intestinal anastomosis: a meta-analysis of randomized controlled trials. BMC Surg. 2006 27; 6:2.

47.- Aggarwal R, Darzi A. Compression anastomoses revisited. J Am Coll Surg. 2005; 201(6): 965-71.

48.- Ravitch M. Development of intestinal anastomotic devices. Southern medical journal. 1982; 75(12): 1520-1530.

49.- Ho YH, Ashour MA. Techniques for colorectal anastomosis. World J Gastroenterol. 2010; 16(13): 1610-21.

50.- Hardy TG Jr, Pace WG, Maney JW, Katz AR, Kaganov AL. A biofragmentable ring for sutureless bowel anastomosis. An experimental study. Dis Colon Rectum. 1985; 28(7): 484-90.

51.- Hardy TG Jr, Aguilar PS, Stewart WR, Katz AR, Maney JW, Costanzo JT, Pace WG. Initial clinical experience with a biofragmentable ring for sutureless bowel anastomosis. Dis Colon Rectum. 1987; 30(1): 55-61.

52.- Corman ML, Prager ED, Hardy TG Jr, Bubrick MP. Comparison of the Valtrac biofragmentable anastomosis ring with conventional suture and stapled anastomosis in colon surgery. Results of a prospective, randomized clinical trial. Dis Colon Rectum. 1989; 32(3): 183-7.

53.- Bubrick MP, Corman ML, Cahill CJ, Hardy TG Jr, Nance FC, Shatney CH. Prospective, randomized trial of the biofragmentable anastomosis ring. The BAR Investigational Group. Am J Surg. 1991; 161(1): 136-42.

54. Gullichsen R, Havia T, Ovaska J, Rantala A. Colonic anastomosis using thebiofragmentable anastomotic ring and manual suture: a prospective, randomised study. Br J Surg. 1992; 79(6): 578-80.

55. Gullichsen R, Ovaska J, Rantala A, Havia T. Small bowel anastomosis with the biofragmentable anastomosis ring and manual suture: a prospective, randomised study. World J Surg. 1992; 16(5): 1006-9.

56.- Forde KA, McLarty AJ, Tsai J, et al. Murphy's button revisited. Clinical experience with the biofragmentable anastomotic ring. Ann Surg 1993; 217: 78–81.

57.- Chen TC, Ding KC, Yang MJ, Chang CP. New device for biofragmentable anastomotic ring in low anterior resection. Dis Colon Rectum 1994; 37: 834–836.

58.- ChenTC, Yang MJ, Chen SR, et al.Valtrac-secured intracolonic bypass device: an experimental study. Dis Colon Rectum 1997; 40: 1063–1067.

59.- Di Castro A, Biancari F, Brocato R, Adami EA, Truosolo B, Massi G. Intestinal anastomosis with the biofragmentable anastomosis ring. Am J Surg. 1998; 176(5): 472-4.

60.- Pahlman L, Ejerblad S, Graf W, Kader F, Kressner U, Lindmark G, Raab Y. Randomized trial of a biofragmentable bowel anastomosis ring in high-risk colonic resection. Br J Surg. 1997; 84(9): 1291-4.

61.- Choi HJ, Kim HH, Jung GJ, Kim SS. Intestinal anastomosis by use of the biofragmentable anastomotic ring: is it safe and efficacious in emergency operations as well? Dis Colon Rectum. 1998; 41(10): 1281-6.

62.- Galizia G, Lieto E, Castellano P, et al. Comparison between the biofragmentable anastomosis ring and stapled anastomoses in the extraperitoneal rectum: a prospective, randomized study. Int J Colorectal Dis 1999; 14: 286–290.

63.- Ghitulescu GA, Morin N, Jetty P, Belliveau P. Revisiting the biofragmentable anastomotic ring: is it safe in colonic surgery? Can J Surg. 2003; 46(2): 92-8.

64.- Kim SH, Choi HJ, Park KJ, Kim JM, Kim KH, Kim MC, Kim YH, Cho SH, Jung GJ. Sutureless intestinal anastomosis with the biofragmentable anastomosis ring:

experience of 632 anastomoses in a single institute. Dis Colon Rectum. 2005; 48(11): 2127-32.

65.- Thiede A, Geiger D, Dietz UA, Debus ES, Engemann R, Lexer GC, Lünstedt B,Mokros W. Overview on compression anastomoses: biofragmentable anastomosis ring multicenter prospective trial of 1666 anastomoses. World J Surg. 1998; 22(1): 78-86.

66.- Wullstein C, Gross E. Compression anastomosis (AKA-2) in colorectal surgery: results in 442 consecutive patients. Br J Surg. 2000; 87(8): 1071-5.

67.- Nudelman IL, Fuko VV, Morgenstern S, Giler S, Lelcuk S. Gastrointestinal anastomosis with the nickel-titanium double ring. World J Surg. 2000; 24(7): 874-7.

68.- Nudelman IL, Fuko V, Greif F, Lelcuk S. Colonic anastomosis with the nickel-titanium temperature-dependent memory-shape device. Am J Surg. 2002; 183(6): 697-701.

69.- Nudelman I, Fuko V, Rubin M, Lelcuk S. A nickel-titanium memory-shape device for colonic anastomosis in laparoscopic surgery. Surg Endosc. 2004; 18(7): 1085-9.

70.- Nudelman I, Fuko V, Waserberg N, Niv Y, Rubin M, Szold A, Lelcuk S. Colonic anastomosis performed with a memory-shaped device. Am J Surg. 2005; 190(3): 434-8.

71.- Liu PC, Jiang ZW, Zhu XL, Wang ZM, Diao YQ, Li N, Li JS. Compression anastomosis clip for gastrointestinal anastomosis. World J Gastroenterol. 2008. 21; 14(31): 4938-42.

72.- Kopelman D, Lelcuk S, Sayfan J, Matter I, Willenz EP, Zaidenstein L, Hatoum OA, Kimmel B, Szold A. End-to-end compression anastomosis of the rectum: a pig model. World J Surg. 2007; 31(3): 532-7.

73.- Stewart D, Hunt S, Pierce R, Dongli Mao, Frisella M, Cook K, Starcher B,Fleshman J. Validation of the NITI Endoluminal Compression Anastomosis Ring (EndoCAR)

device and comparison to the traditional circular stapled colorectal anastomosis in a porcine model. Surg Innov. 2007; 14(4): 252-60.

74.- Buchberg BS, Masoomi H, Bergman H, Mills SD, Stamos MJ. The use of a compression device as an alternative to hand-sewn and stapled colorectal anastomoses: is three a crowd? J Gastrointest Surg. 2011 Feb; 15(2): 304-10.

75.- Dauser B, Winkler T, Loncsar G, Herbst F. Compression Anastomosis Revisited: Prospective Audit of Short- and Medium-term Outcomes in 62 Rectal Anastomoses. World J Surg. 2011; 35(8): 1925-32.

76.- Mimuro A, Tsuchida A, Yamanouchi E, et al. A novel technique of magnetic compression anastomosis for severe biliary stenosis. Gastrointest Endosc 2003; 58(2): 283-7.

77.- Muraoka N, Uematsu H, Yamanouchi E, et al. Yamanouchi magnetic compression anastomosis for bilioenteric anastomotic stricture after living-donor liver transplantation. J Vasc Interv Radiol 2005; 16(9): 1263-7.

78.- Itoi T, Yamanouchi E, Ikeuchi N, Kasuya K, Iwamoto H, Tsuchida A. Magnetic Compression Duct-to-duct Anastomosis for Biliary Obstruction in a Patient with Living Donor Liver Transplantation. Gut Liver. 2010; 4 Suppl 1: S96-8.

79.- Erdmann D, Sweis R, Heitmann C, et al. Side-to-side sutureless vascular anastomosis with magnets. J Vasc Surg 2004; 40(3): 505-11.

80,- Jansen A, Brummelkamp WH, Davies GA, et al. Clinical applications of magnetic rings in colorectal anastomosis. Surg Gynecol Obstet 1981; 153(4): 537-45.

81.- Jamshidi R, Stephenson JT, Clay JG, Pichakron KO, Harrison MR. Magnamosis:magnetic compression anastomosis with comparison to suture and staple techniques. J Pediatr Surg. 2009 ; 44(1): 222-8.

82.- Gennaro AR, Moreira CA. Nonsuture colonic anastomosis. Dis Colon Rectum. 1976; 19(3): 245-9.

83.- Kirkegaard P, Christensen AB, Ibsen J, Hegedüs V, Christiansen J. Experimental nonsuture colonic anastomoses. Am J Surg. 1980; 139(2): 233-6.

84.- Tebala GD, Ceriati F, Ceriati E, Vecchioli A, Nori S. The use of cyanoacrylate tissue adhesive in high-risk intestinal anastomoses. Surg Today. 1995; 25(12): 1069-72.

85.- Kanellos I, Matatzoros I, Demetriades H, Kalfadis S, Sakkas L, Kelpis T, Betsi D. Sutureless colonic anastomoses in the rat. A randomized controlled study. Tech Coloproctol 2002; 6: 143-146.

86.- Singer AJ, Thode HC Jr. A review of the literature on octylcyanoacrylate tissue adhesive. Am J Surg. 2004; 187(2): 238-48.

87.- Nursal TZ, Anarat R, Bircan S, Yildirim S, Tarim A, Haberal M. The effect of tissue adhesive, octyl-cyanoacrylate, on the healing of experimental high-risk and normal colonic anastomoses. Am J Surg. 2004; 187(1): 28-32.

88.- Irkorucu O, Ucan BH, Cakmak GK, Tascilar O, Emre AU, Ofluoglu E, Bahadir B, Karakaya K, Demirtas C, Pasaoglu H, Ankarali H, Comert M. Effect of 2-octyl-cyanoacrylate on ischemic anastomosis of the left colon. J Invest Surg. 2009; 22(3): 188-94

89.- Weiss M, Haj M. Gastrointestinal anastomosis with histoacryl glue in rats. J Invest Surg. 2001; 14(1): 13-9.

90.-Ozmen MM, Ozalp N, Zulfikaroglu B, Abbasoglu L, Kacar A, Seckin S, Koc M. Histoacryl blue versus sutured left colonic anastomosis: experimental study. ANZ J Surg. 2004; 74(12): 1107-0

91.- Kayaoglu HA, Ersoy OF, Ozkan N, Celik A, Filiz NO. Effect of n-butyl-2-cyanoacrylate on high-risk colonic anastomoses. Kaohsiung J Med Sci. 2009; 25(4): 177-83.

92.- Bae KB, Kim SH, Jung SJ, Hong KH. Cyanoacrylate for colonic anastomosis; is it safe? Int J Colorectal Dis. 2010; 25(5): 601-6.

93.- Elemen L, Sarimurat N, Ayik B, Aydin S, Uzun H. Is the use of cyanoacrylate in intestinal anastomosis a good and reliable alternative? J Pediatr Surg. 2009; 44(3): 581-586.

94.- Venkatesh KS, Ramnujam P. Fibrin glue application in the treatment of recurrent anorectal fistulas. Dis Colon Rectum 1999; 42: 1136-1139.

95.- Zilling TL, Jansson O, Walther BS, Ottosson A. Sutureless small bowel anastomoses: experimental study in pigs. Eur J Surg. 1999; 165(1): 61-8.

96.- Detweiler MB, Kobos JW, Fenton J. Gastrointestinal sutureless anastomosis in pigs using absorbable intraluminal stents, stent placement devices, and fibrin glue - a summary. Langenbecks Arch Surg. 1999; 384(5): 445-52.

97.- Houston KA, Rotstein OD. Fibrin sealant in high-risk colonic anastomoses. Arch Surg. 1988; 123(2): 230-4.

98.- Van der Ham AC, Kort WJ, Weijma IM, van den Ingh HF, Jeekel J. Effect of fibrin sealant on the healing colonic anastomosis in the rat. Br J Surg. 1991; 78(1): 49-53.

99. van der Ham AC, Kort WJ, Weijma IM, van den Ingh HF, Jeekel H. Healing of ischemic colonic anastomosis: fibrin sealant does not improve wound healing. Dis Colon Rectum. 1992; 35(9): 884-91.

100. van der Ham AC, Kort WJ, Weijma IM, Jeekel H. Transient protection of incomplete colonic anastomoses with fibrin sealant: an experimental study in the rat. J Surg Res. 1993; 55(3): 256-60.

101.- Van der Ham AC, Kort WJ, Weijma IM, van den Ingh HF, Jeekel H. Effect of fibrin sealant on the integrity of colonic anastomoses in rats with faecal peritonitis. Eur J Surg. 1993; 159(8): 425-32.

102.- Karahasanoglu T, Alcicek S, Altunkaya E, Sahinler I, Goksel S, Sirin F, Ozbal A. Effect of fibrin glue on irradiated colonic anastomoses. Dis Colon Rectum. 1997 ; 40(10): 1240-3.

103.- Byrne DJ, Hardy J, Wood RA, McIntosh R, Cuschieri A. Effect of fibrin glues on the mechanical properties of healing wounds. Br J Surg. 1991; 78(7): 841-3.

104.- Capitán Morales LC, Rodríguez Nuñez E, Morales Conde S, Sanchez Ganfornina F, Del Rio Lafuente FD, Cabot Ostos E, Ortega Beviá JM, Loscertales Abril J, Cantillana Martínez J. Experimental study of sutureless colorectal anastomosis. Hepatogastroenterology. 2000; 47(35): 1284-90.

105.- Kanellos I, Mantzoros I, Goulimaris I, Zacharakis E, Zavitsanakis A, Betsis D. Effects of the use of fibrin glue around the colonic anastomosis of the rat. Tech Coloproctol. 2003; 7(2): 82-4.

106.- Kanellos I, Mantzoros I, Demetriades H, Kalfadis S, Kelpis T, Sakkas L, Betsis D. Healing of colon anastomoses covered with fibrin glue after immediate postoperative intraperitoneal administration of 5-fluorouracil. Dis Colon Rectum. 2004; 47(4): 510-5.

107.- Shinohara K, Kobayashi E, Yoshida T, Toyama N, Kiyozaki H, Fujimura A, Miyata M. Effect of fibrin glue on small and large bowel anastomoses in the rat. Eur Surg Res. 1998; 30(1): 8-12.

108.- Akgün A, Kuru S, Uraldi C, Tekin O, Karip B, Tug T, Ongören AU. Early effects of fibrin sealant on colonic anastomosis in rats: an experimental and case-control study. Tech Coloproctol. 2006; 10(3): 208-14.

109.- Fernandez Fernandez L, Tejero E, Tieso A. Randomized trial of fibrin glue to seal mechanical oesophagojejunal anastomosis. Br J Surg. 1996; (1): 40-1.

110.- Silecchia G, Boru CE, Mouiel J, Rossi M, Anselmino M, Morino M, Toppino M, Gaspari A, Gentileschi P, Tacchino R, Basso N. The use of fibrin sealant to prevent major complications following laparoscopic gastric bypass: results of a multicenter, randomized trial. Surg Endosc. 2008; 22(11): 2492-7.

111.- Bonanomi G, Prince JM, McSteen F, Schauer PR, Hamad GG. Sealing effect of fibrin glue on the healing of gastrointestinal anastomoses: implications for the endoscopic treatment of leaks. Surg Endosc. 2004; 18(11): 1620-4.

112.- R. A. White, G. Kopchok, C. Donayre, R. Lyons, G. White, S. R. Klein, D. Pizzurro, R. P. Abergel, R.M. Dwyer, and J. Uitto, "Large vessel sealing with the argon laser,". Lasers Surg. Med. 1987; 7: 229–235.

113.- White RA, Kopchok G, Peng SK, Fujitani R, White G, Klein S, Uitto J. Laser vascular welding--how does it work? Ann Vasc Surg. 1987 May; 1(4):461-4.

114.- Abergel RP, Lyons RF, White RA, Lask G, Matsuoka LY, Dwyer RM, Uitto J. Skin closure by Nd:YAG laser welding. J Am Acad Dermatol. 1986; 14(5 Pt 1): 810-4.

115.- Fried NM, Walsh JT Jr. Laser skin welding: in vivo tensile strength and wound healing results. Lasers Surg Med. 2000; 27(1): 55-65.

116.- Gulsoy M, Dereli Z, Tabakoglu HO, Bozkulak O. Closure of skin incisions by 980-nm diode laser welding. Lasers Med Sci. 2006; 21(1): 5-10.

117.- Simhon D, Halpern M, Brosh T, Vasilyev T, Ravid A, Tennenbaum T, Nevo Z,Katzir A. Immediate tight sealing of skin incisions using an innovative temperature-controlled laser soldering device: in vivo study in porcine skin. Ann Surg. 2007; 245(2): 206-13.

118.- Alimova A, Chakraverty R, Muthukattil R, Elder S, Katz A, Sriramoju V, Lipper S, Alfano RR. In vivo molecular evaluation of guinea pig skin incisions healing after surgical suture and laser tissue welding using Raman spectroscopy. J Photochem Photobiol B. 2009 4; 96(3): 178-83.

119.- Wolf-de Jonge IC, Beek JF, Balm R. 25 years of laser assisted vascular anastomosis (LAVA): what have we learned? Eur J Vasc Endovasc Surg. 2004; 27(5): 466-76.

120.- Zeebregts CJ, Heijmen RH, van den Dungen JJ, van Schilfgaarde R. Non-suture methods of vascular anastomosis. Br J Surg. 2003; 90(3): 261-71.

121.- O. Shenfeld, E. Ophir, B. Goldwasser, and A. Katzir, "Silver halide fibre optic radiometric temperature measurement and control of CO2 laser-irradiated tisues and application to tissue welding," Lasers Surg. Med. 1994; 14: 323–328.

122.- Amón Sesmero JH. Nuevas perspectivas de la laserterapia. Arch Esp Urol. 2008; 61(9): 1163-9.

123.- Vázquez Alba D, Carballido Rodríguez J. Fundamentos del láser y su aplicación en urología. Arch Esp Urol. 2008; 61(9): 965-70.

124.- Sauer JS, Rogers DW, Hinshaw JR. Bursting pressures of CO2 laser-welded rabbit ileum. Lasers Surg Med. 1986; 6(2): 106-9.

125.- Vlasak JW, Kopchok GE, White RA. Closure of rabbit ileum enterotomies with the argon and CO2 lasers: bursting pressures and histology. Lasers Surg Med. 1988; 8(5): 527-32.

126.- Mercer CD, Minich P, Pauli B. Sutureless bowel anastomosis using Nd:YAG laser. Lasers Surg Med. 1987; 7(6): 503-6.

127.- Cespanyi E, White RA, Lyons R, Kopchok G, Abergel RP, Dwyer RM, Klein SR. Preliminary report: a new technique of enterotomy closure using Nd:YAG laser welding compared to suture repair. J Surg Res. 1987; 42(2): 147-52.

128.- Rochkind S, Rabau MY, Goldman G, Bar-Nea L, Wiznitzer T. Low-energy CO2 laser intestinal anastomosis: an experimental study. Lasers Surg Med. 1988; 8(6): 579-83.

129.- Sauer JS, Hinshaw JR, McGuire KP. The first sutureless, laser-welded,end-to-end bowel anastomosis. Lasers Surg Med. 1989; 9(1): 70-3.

130.- Costello AJ, Johnson DE, Cromeens DM, Wishnow KI, Ro JY. Sutureless end-to-end bowel anastomosis using an argon laser and water-soluble intraluminal stent. J Clin Laser Med Surg. 1990; 8(4): 43-8.

131.- Costello AJ, Johnson DE, Cromeens DM, Wishnow KI, von Eschenbach AC, Ro JY. Sutureless end-to-end bowel anastomosis using Nd:YAG and water-soluble intraluminal stent. Lasers Surg Med. 1990; 10(2): 179-84.

132.- Kuramoto S, Ryan PJ. First sutureless closure of a colotomy: short-term results of experimental laser anastomosis of the colon. Dis Colon Rectum. 1991; 34(12): 1079-84.

133.- Kawahara M, Kuramoto S, Ryan P, Stillwell R. First experimental sutureless laser anastomosis of the large bowel: long-term study. Dis Colon Rectum. 1996; 39(5): 556-61.

134.- Farag A, Nasr SE, el Ashkar MF. Laser welding of everted enterotomies in rats. Eur J Surg. 1995; 161(10): 735-9.

135.- Li ZR, Chi YL, Ke RC. Sutureless end-to-end bowel anastomosis in rabbit using low-power CO(2) laser. World J Gastroenterol. 2000; 6(4): 557-560.

136.- Yamada E, Sumiyoshi H, Yamaga Y, Okamoto Y. Bowel welding technique in dogs and cats using a diode laser: an experimental study. J Vet Med Sci. 2006; 68(7): 669-74.

137.- Kennedy JS, Stranahan PL, Taylor KD, Chandler JG. High-burst-strength, feedback-controlled bipolar vessel sealing. Surg Endosc. 1998; 12(6): 876-8.

138.- Heniford BT, Matthews BD, Sing RF, Backus C, Pratt B, Greene FL. Initial results with an electrothermal bipolar vessel sealer. Surg Endosc. 2001; 15(8): 799-801.

139.- Campbell PA, Cresswell AB, Frank TG, Cuschieri A. Real-time thermography during energized vessel sealing and dissection. Surg Endosc. 2003; 17(10): 1640-5.

140.- Harold KL, Pollinger H, Matthews BD, Kercher KW, Sing RF, Heniford BT. Comparison of ultrasonic energy, bipolar thermal energy, and vascular clips for the hemostasis of small-, medium-, and large-sized arteries. Surg Endosc. 2003; 17(8): 1228-30.

141.- Riegler M, Cosentini E. Update on LigaSure® / Atlas® vessel sealing technology in general surgery. Eur Surg. 2004; 36(2): 85–88.

142.- Diamantis T, Kontos M, Arvelakis A, Syroukis S, Koronarchis D, Papalois A, Agapitos E, Bastounis E, Lazaris AC. Comparison of monopolar electrocoagulation, bipolar electrocoagulation, Ultracision, and Ligasure. Surg Today. 2006; 36(10): 908-13.

143.- Person B, Vivas DA, Ruiz D, Talcott M, Coad JE, Wexner SD. Comparison of four energy-based vascular sealing and cutting instruments: A porcine model. Surg Endosc. 2008; 22(2): 534-8.

144.- Hübner M, Hahnloser D, Hetzer F, Müller MK, Clavien PA, Demartines N. A prospective randomized comparison of two instruments for dissection and vessel sealing in laparoscopic colorectal surgery. Surg Endosc. 2007; 21(4) :592-4.

145.- Campagnacci R, de Sanctis A, Baldarelli M, Rimini M, Lezoche G, Guerrieri M. Electrothermal bipolar vessel sealing device vs. ultrasonic coagulating shears in laparoscopic colectomies: a comparative study. Surg Endosc. 2007; 21(9): 1526-31.

146.- Balagué C. Hemostasia y tecnología. Energía. Desarrollo de las nuevas tecnologías. Cir Esp. 2009; 85 Suppl 1: 15-22.

147.- Paton BE. Electric welding of soft tissues in surgery "The Paton Welding Journal", number: 9. 2004r. Disponible en: http://www.iaw.com.ua/english /publications/.

148.- Sorgato N, Bernante P, Pelizzo MR. Application of the LigaSure tissue sealing system to intestinal resection. Experimental and clinical trial. Ann Ital Chir.2008; 79(5): 383-8.

149.- Aslan A, Elpek O. A novel technique of sutureless colorectal anastomosis by bipolar coagulation. Eur J Pediatr Surg. 2009; 19(6): 384-387.

150.- Winter H, Holmer C, Buhr HJ, Lindner G, Lauster R, Kraft M, Ritz JP. Pilot study of bipolar radiofrequency-induced anastomotic thermofusion-exploration of therapy parameters ex vivo. Int J Colorectal Dis. 2010; 25(1): 129-33.

151.- Holmer C, Winter H, Kröger M, Nagel A, Jaenicke A, Lauster R, Kraft M, Buhr HJ, Ritz JP. Bipolar radiofrequency-induced thermofusion of intestinal anastomoses--feasibility of a new anastomosis technique in porcine and rat colon. Langenbecks Arch Surg. 2011; 396(4): 529-33.

152.- Graham MF, Blomquist P, Zederfeldt B The alimentary canal. In Wound Healing: Biochemical and Clinical Aspects. Philadelphia, WB Saunders, 1992, p 433.

153.- Stanley JR, Woodley DT, Katz SI, Martin GR. Structure and function of basement membrane. J Invest Dermatol. 1982; 79 Suppl 1: 69-72.

154.- Timpl R, Wiedemann H, van Delden V, Furthmayr H, Kühn K. A network model for the organization of type IV collagen molecules in basement membranes. Eur J Biochem. 1981; 120(2): 203-11.

155.- Elson CO, Kagnoff MF, Fiocchi C, Befus AD, Targan S. Intestinal immunity and inflammation: recent progress. Gastroenterology. 1986; 91(3): 746-68.

156.- Fulcheri E, Cantino D, Bussolati G. Presence of intra-mucosal smooth muscle cells in normal human and rat colon. Basic Appl Histochem. 1985; 29(4): 337-44.

157.- Joyce NC, Haire MF, Palade GE. Morphologic and biochemical evidence for a contractile cell network within the rat intestinal mucosa. Gastroenterology. 1987; 92(1): 68-81.

158.- Ellison GW. Wound healing in the gastrointestinal tract. Semin Vet Med Surg (Small Anim). 1989; 4(4): 287-93.

159.- Thornton FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. Surg Clin North Am. 1997; 77: 549-573.

160.- Graham MF, Diegelmann RF, Elson CO, Lindblad WJ, Gotschalk N, Gay S, Gay R. Collagen content and types in the intestinal strictures of Crohn's disease. Gastroenterology. 1988; 94(2): 257-65.

161.- Graham MF, Drucker DE, Diegelmann RF, Elson CO. Collagen synthesis by human intestinal smooth muscle cells in culture. Gastroenterology. 1987; 92(2): 400-5.

162.- Halsted WS. Circular suture of the intestine: An experimental study. Am J Med Sci 1887; 94:436.

163.- Mori N, Doi Y, Hara K, Yoshizuka M, Ohsato K, Fujimoto S. Role of multipotent fibroblasts in the healing colonic mucosa of rabbits. Ultrastructural and immunocytochemical study. Histol Histopathol. 1992; 7(4): 583-90.

164.- Goligher JC, Graham NG, De Dombal FT. Anastomotic dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid. Br J Surg. 1970; 57(2): 109-18.

165.- Schilling JA. Wound healing. Surg Clin North Am. 1976; 56(4): 859-74.

166.- Witte M.B., Barbul A. General principles of wound healing. Surg Clin North Am. 1997; 77: 509-528.

167.- Ofosu FA, Nyarko KA. Human platelet thrombin receptors. Roles in platelet activation. Hematol Oncol Clin North Am. 2000; 14: 1185-98.

168.- Bielsa I. Proceso de cicatrización de las heridas. Piel. 2006; 21 (4): 207-12

169.- Wahl LM, Wahl SM. Inflammation in wound healing. Biochemical and Clinical Aspects. Philadelphia, WB Saunders, 1992, p 40.

170.- Grinnell F, Feld M, Minter D. Fibroblast adhesion to fibrinogen and fibrin substrata: requirement for cold-insoluble globulin (plasma fibronectin). Cell. 1980; 19(2): 517-25.

171.- Kurkinen M, Vaheri A, Roberts PJ, Stenman S. Sequential appearance of fibronectin and collagen in experimental granulation tissue. Lab Invest. 1980 Jul; 43(1): 47-51

172.- Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. Physiol Rev. 2003; 3:835-70.

173.- Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. N Engl J Med. 1999 2; 341(10): 738-46.

174.- Efron JE, Frankel HL, Lazarou SA, Wasserkrug HL, Barbul A. Wound healing and T-lymphocytes. J Surg Res. 1990; 48(5): 460-3.

175.- Davis PA, Corless DJ, Aspinall R, Wastell C. Effect of CD4(+) and CD8(+) cell depletion on wound healing. Br J Surg. 2001; 88(2): 298-304.

176.- Jameson J, Ugarte K, Chen N, Yachi P, Fuchs E, Boismenu R, Havran WL. A role for skin gammadelta T cells in wound repair. Science. 2002 26; 296(5568): 747-9.

177.- Workalemahu G, Foerster M, Kroegel C, Braun RK. Human gamma delta-T lymphocytes express and synthesize connective tissue growth factor: effect of IL-15 and TGF-beta 1 and comparison with alpha beta-T lymphocytes. J Immunol. 2003; 170(1): 153-7.

178.- Chesney J, Metz C, Stavitsky AB, Bacher M, Bucala R. Regulated production of type I collagen and inflammatory cytokines by peripheral blood fibrocytes. J Immunol. 1998; 160(1): 419-25.

179.- Soo C, Shaw WW, Zhang X, Longaker MT, Howard EW, Ting K. Differential expression of matrix metalloproteinases and their tissue-derived inhibitors in cutaneous wound repair. Plast Reconstr Surg. 2000; 105(2): 638-47.

180.-Lawrence WT. Physiology of the acute wound. Clin Plast Surg. 1998; 25(3): 321-340.

181.- Monaco JL, Lawrence WT. Acute wound healing an overview. Clin Plast Surg. 2003; 30(1): 1-12.

182.- Rapraeger AC, Krufka A, Olwin BB. Requirement of heparan sulfate for bFGF-mediated fibroblast growth and myoblast differentiation. Science. 1991 21; 252 (5013): 1705-8.

183.- Baum CL, Arpey CJ. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. Dermatol Surg. 2005; 31(6): 674-86.

184.- Li J, Zhang YP, Kirsner RS. Angiogenesis in wound repair: angiogenic growth factors and the extracellular matrix. Microsc Res Tech. 2003; 60(1): 107-14.

185.- Witte MB, Barbul A. Repair of full-thickness bowel injury. Crit Care Med. 2003; 31(8 Suppl): 538-46.

186.- Martens MF, Huyben CM, Hendriks T. Collagen synthesis in fibroblasts from human colon: regulatory aspects and differences with skin fibroblasts. Gut. 1992; 33(12): 1664-70.

187.- Sturm A, Dignass AU. Epithelial restitution and wound healing in inflammatory bowel disease. World J Gastroenterol. 2008 21; 14(3): 348-53.

188.- Kilicoglu SS, Kilicoglu B, Erdemli E. Ultrastructural view of colon anastomosis under propolis effect by transmission electron microscopy. World J Gastroenterol. 2008; 14(30): 4763-70.

189.- Robson MC, Steed DL, Franz MG. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. Curr Probl Surg. 2001; 38(2): 72-140.

190.- Thompson SK, Chang EY, Jobe BA. Clinical review: Healing in gastrointestinal anastomoses, part I. Microsurgery. 2006; 26(3): 131-6.

191.- Hawley PR, Faulk WP, Hunt TK, Dunphy JE. Collagenase activity in the gastro-intestinal tract. Br J Surg. 1970 Dec; 57(12): 896-900.

192.- Hunt TK, Hawley PR. Surgical judgment and colonic anastomoses. Dis Colon Rectum. 1969; 12(3): 167-71.

193.- Herrmann JB, Woodward SC, Pulaski EJ. Healing of colonic anastomoses in the rat. Surg Gynecol Obstet 1964; 119: 269–75.

194.- Mansson P, Zhang XW, Jeppsson B, Thorlacius H. Anastomotic healing in the rat colon: comparison between a radiological method, breaking strength and bursting pressure. Int J Colorectal Dis. 2002; 17(6): 420-425.

195.- Brasken P. Healing of experimental colon anastomosis. Eur J Surg 1991 Suppl.; (566): 1-51.

196.- Alamo JM, Galindo A, Morales S, Daza G, Socas M, Suárez-Artacho G, Suárez-Grau JM, García-Moreno J, Pareja F, Gómez MA. Efectos de la desnutrición sobre la colagenización de anastomosis intestinales: análisis de procolágeno y telopéptido carboxiterminal mediante radioinmunoanálisis. Rev Esp Enferm Dig. 2007; 99(2): 76-83

197.- Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses: I. Bursting strength of the colon after left colon resection and anastomosis. AmJ Surg 1978; 136(5): 587–94.

198.- Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses: II. Breaking strength of the colon after left colon resection and anastomosis. Am J Surg 1978; 136(5): 595–9.

199.- Munireddy S, Kavalukas SL, Barbul A. Intra-abdominal healing: gastrointestinal tract and adhesions. Surg Clin North Am. 2010; 90(6): 1227-36.

200.- Ekmektzoglou KA, Zografos GC, Kourkoulis SK, Dontas IA, Giannopoulos PK, Marinou KA, Poulakou MV, Perrea DN. Mechanical behavior of colonic anastomosis in experimental settings as a measure of wound repair and tissue integrity. World J Gastroenterol. 2006 21; 12(35): 5668-73.

201.- Savage FJ, Lacombe DL. Effect of colonic obstruction on the distribution of matrix metalloproteinases during anastomotic healing. Br J Surg. 1998; 85: 72-5.

202.-. Shaper KR, Savage FJ, Hembry RM. Regulation of matrix metaloproteinases in a model of colonic wound healing in a rabbit. Dis Colon Rectum. 2001; 44: 72-82.

203.- Gallegos NC, Smales C, Savage FJ. The distribution of matrix metalloproteineses and tissue inhibitor of metalloproteinases in colorectal cancer. Surg Oncol. 1995; 4(1): 21-29.

204.- Bode MK, Mosorin M. Complete processing of type III collagen in atherosclerotic plaques. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999; 19: 1506-11.

205.- . Bode MK, Karttunen J. Type I and III collagens in human colon cancer and diverticulosis. Scand J Gastroenterol 2000; 35: 747-52.

206.- Sweat F, Puchtler H, Rosenthal SI. Sirius red F3BA as a stain for connective tissue. Arch Pathol 1964; 78: 69–72.

207.- Montuenga, L. / Esteban, F.J. / Calvo, A. Técnicas en Histología y Biología Celular. ELSEVIER-MASSON. 1 ª ed. 2009.

208.- Constantine VS, Mowry RW. Selective staining of human dermal collagen. II. The use of picrosirius red F3BA with polarization microscopy. J Invest Dermatol 1968; 50: 419–23.

209.- Junqueira LCU, Bignolas G, Brentani RR. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. Histochem J 1979; 11: 447–55.

210. Vidal BC, Mello ML, Pimentel ER. Polarization microscopy and microspectrophotometry of Sirius Red, Picrosirius and Chlorantine Fast Red aggregates and of their complexes with collagen. Histochem J. 1982; 14(6): 857-78.

211.- Weatherford TW. Staining of collagenous and non-collagen structures with picrosirius red F3BA. J Med Sci 1972; 9: 383–8

212.- Coleman R. Picrosirius red staining revisited. Acta Histochem. 2011; 113(3): 231-223.

213.- Whittaker P, Kloner RA, Boughner DR, Pickering JG. Quantitative assessment of myocardial collagen with picrosirius red staining and circularly polarized light. Basic Res Cardiol 1994; 89: 397–410.

214.- Koren R, Yaniv E, Kristt D, Shvero J, Veltman V, Grushko I, et al. Capsular collagen staining of follicular thyroid neoplasms by picrosirius red: role in differential diagnosis. Acta Histochem 2001; 103: 151–7.

215.- Junqueira LC, Cossermelli W, Brentani R. Differential staining of collagens type I, II and III by Sirius Red and polarization microscopy. Arch Histol Jpn. 1978 Jun; 41(3): 267-74.

216.- Montes GS, Krisztán RM, Shigihara KM, Tokoro R, Mourão PA, Junqueira LC. Histochemical and morphological characterization of reticular fibers. Histochemistry. 1980 Feb; 65(2): 131-41.

217.- Debessa CRG, Maifrino LBM and de Souza RR. Age related changes of collagen network of the human heart. Mech Ageing Dev. 2001; 122: 1049–1058

218.- Pierard GE.Sirius red polarization method is useful to visualize the organization of connective tissue but not the molecular composition of their fibrous polymers. Matrix 1989; 9 : 68–71.

219.- Fachinelli A, Maciel Trindade MR. Qualitative and quantitative evaluation of total and types I and III collagens in patients with ventral hernias. Langenbecks Arch Surg. 2007; 392(4): 459-64.

220.- Taflampas P., Christodoulakis M., and Tsiftsis D. Anastomotic Leakage After Low Anterior Resection for Rectal Cancer: Facts, Obscurity, and Fiction. Surg Today. 2009; 39: 183–188.

221.- Mahadevan V. The anatomy of the rectum and anal canal. Surgery (Oxford). 2011; 29(1): 5-10.

222.- Stahl TJ. Technical Considerations in the Difficult Colorectal Anastomosis. Operative Techniques in General Surgery. 2007; 9(4): 142-151.

223.- Ho YH. Techniques for restoring bowel continuity and function after rectalcancer surgery. World J Gastroenterol. 2006 21; 12(39): 6252-60.

224- Ravitch MM, Steichen FM. A stapling instrument for end-to-end inverting anastomoses in the gastrointestinal tract. Ann Surg. 1979; 189(6): 791-7.

225.- Nance FC. New techniques of gastrointestinal anastomoses with the EEA stapler. Ann Surg. 1979; 189(5): 587-600.

226.- Knight CD, Griffen FD. An improved technique for low anterior resection of the rectum using the EEA stapler. Surgery. 1980; 88(5): 710-4.

227.- Cohen Z, Myers E, Langer B, Taylor B, Railton RH, Jamieson C. Double stapling technique for low anterior resection. Dis Colon Rectum. 1983; 26(4): 231-5.

228.- Wale RJ, Royston CM. Anterior resection of the rectum a simplified stapling technique. Ann R Coll Surg Engl. 1985; 67(5): 288-9.

229.- Feinberg SM, Parker F, Cohen Z, Jamieson CG, Myers ED, Railton RH, Langer B, Stern HS, McLeod RS. The double stapling technique for low anterior resection of rectal carcinoma. Dis Colon Rectum. 1986; 29(12): 885-90.

230.- Griffen FD, Knight CD Sr, Whitaker JM, Knight CD Jr. The double stapling technique for low anterior resection. Results, modifications, and observations. Ann Surg. 1990; 211(6): 745-51.

231.- Rudi M, Roumen H. “Dog ear” formation after double stapled low anterior resection as a risk factor for anastomotic disruption. Dis Colon Rectum 2000; 43: 4.

232.- Blanco-Engert R, Diaz Maagb R, Gascone M, Delgado Gomis F, Rosenthald R, Weiner R. Complicaciones postoperatorias en cirugía laparoscópica del colon. Cir Esp 2002; 72(2): 000-000.

233.- Hallbook O, Johansson K, Sjodahl R. Laser Doppler blood flow measurement in rectal resection for carcinoma: comparison between the straight and colonic J pouch reconstruction. Br J Surg 1996; 83: 389–392.

234.- Wise L, McAlister W, Stein T, Schuck P. Studies on the healing of anastomoses of small and large intestines. Surg Gynecol Obstet 1975; 141: 190-194.

235.- Fielding LP, Stewart-Brown S, Blesovsky L & Kearney G. Anastomotic integrity after operations for large-bowel cancer: a multicentre study. Br Med J 1980; 281: 411–414.

236.- Tuson JR & Everett WG. A retrospective study of colostomies, leaks and strictures after colorectal anastomosis. Int J Colorectal Dis 1990; 5: 44–48

237.- Docherty JG, McGregor JR, Akyol AM, et al. Comparison of manually constructed and stapled anastomosis in colorectal surgery. West of Scotland and Highland Anastomosis Study Group. Ann Surg 1995; 221: 176–184

238.- Vignali A, Fazio VW, Lavery IC et al. Factors associated with the occurrence of leaks in stapled rectal anastomoses: a review of 1014 patients. J Am Coll Surg 1997; 185: 105–113.

239.- Alves A, Panis Y, Trancart D et al. Factors associated with clinically significant anastomotic leakage after large bowel resection: multivariate analysis of 707 patients. World J Surg 2002; 26: 499–502

240.- Eriksen MT, Wibe A, Norstein J, Haffner J, Wiig JN. Anastomotic leakage following routine mesorectal excision for rectal cancer in a national cohort of patients. Colorect Dis 2005; 7: 51-57

241.- Biondo S, Pares D, Kreisler E, et al. Anastomotic dehiscence after resection and primary anastomosis in left-sided colonic emergencies. Dis Colon Rectum 2005; 48: 2272–2280

242.- Branagan G, Finnis D. Prognosis after anastomotic leakage in colorectal surgery. Dis Colon Rectum 2005; 48: 1021–1026

243.- Gastinger I, Marusch F, Steinert R, Wolff S, Koeckerling F, Lippert H; Working Group 'Colon/Rectum Carcinoma'. Protective defunctioning stoma in low anterior resection for rectal carcinoma. Br J Surg. 2005; 92(9): 1137-42.

244.- Wong NY, Eu KW. A defunctioning ileostomy does not prevent clinical anastomotic leak after a low anterior resection: a prospective, comparative study. Dis Colon Rectum. 2005; 48(11): 2076-9.

245.- Lipska MA, Bissett IP, Parry BR, Merrie AE. Anastomotic leakage after lower gastrointestinal anastomosis: men are at a higher risk. ANZ J Surg 2006; 76: 579–585.

246.- Platell C, Barwood N, Dorfmann G, Makin G. The incidence of anastomotic leaks in patients undergoing colorectal surgery. Colorectal Dis. 2007 ; 9(1): 71-9.

247.- Hyman N, Manchester TL, Osler T, Burns B, Cataldo PA. Anastomotic leaks after intestinal anastomosis: it's later than you think. Ann Surg. 2007; 245(2): 254-8.

248.- Kruschewski M, Rieger H, Pohlen U, Hotz H, Buhr H. Risk factors for clinical anastomotic leakage and postoperative mortality in elective surgery for rectal cancer. Int J Colorectal Dis. 2007; 22: 919–927

249.- Buchs NC, Gervaz P, Secic M, Bucher P, Mugnier-Konrad B, Morel P. Incidence, consequences, and risk factors for anastomotic dehiscence after colorectal surgery: a prospective monocentric study. Int J Colorectal Dis. 2008; 23(3): 265-70.

250.- Rahbari NN, Weitz J, Hohenberger W, Heald RJ, Moran B, Ulrich A, Holm T, Wong WD, Tiret E, Moriya Y, Laurberg S, den Dulk M, van de Velde C, Büchler MW. Definition and grading of anastomotic leakage following anterior resection of the rectum: a proposal by the International Study Group of Rectal Cancer. Surgery. 2010; 147(3): 339-51.

251.- Bruce J, Krukowski ZH, Al-Khairy G, Russell EM, Park KG. Systematic review of the definition and measurement of anastomotic leak after gastrointestinal surgery. Br J Surg. 2001; 88(9): 1157-68.

252.- Mann B, Kleinschmidt S, Stremmel W. Prospective study of hand-sutured anastomosis after colorectal resection. Br J Surg. 1996 Jan; 83(1): 29- 31.

253.- Karanjia ND, Corder AP, Bearn P & Heald RJ. Leakage from stapled low anastomosis after total mesorectal excision for carcinoma of the rectum. Br J Surg 1994; 81: 1224–1226.

254.- Rullier E, Laurent C, Garrelon JL et al. Risk factors for anastomotic leakage after resection of rectal cancer. Br J Surg 1998; 85: 355–358.

255.- Law WI, Chu KW, Ho JW, Chan CW. Risk factors for anastomotic leakage after low anterior resection with total mesorectal excision. Am J Surg 2000; 179: 92–96.

256.- Alberts JC, Parvaiz A, Moran BJ. Predicting risk and diminishing the consequences of anastomotic dehiscence following rectal resection. Colorectal Dis 2003; 5: 478–482.

257.- Makela JT, Kiviniemi H, Laitinen S. Risk factors for anastomotic leakage after left-sided colorectal resection with rectal anastomosis. Dis Colon Rectum 2003; 46: 653–660.

258.- Sorensen LT, Jorgensen T, Kirkeby LT, et al. Smoking and alcohol abuse are major risk factors for anastomotic leakage in colorectal surgery. Br J Surg 1999; 86: 927 – 931.

259.- Golub R, Golub RW, Cantu R Jr, Stein HD. A multivariate analysis of factors contributing to leakage of intestinal anastomoses. J Am Coll Surg 1997; 184: 364–372.

260.- Choi HK, Law WL, Ho JW. Leakage after resection and intraperitoneal anastomosis for colorectal malignancy: analysis of risk factors. Dis Colon Rectum 2006; 49: 1719–1725.

261.- Konishi T,Watanabe T, Kishimoto J,Nagawa H. Risk factors for anastomotic leakage after surgery for colorectal cancer: results of prospective surveillance. J Am Coll Surg 2006; 202: 439–444

262.- Naraynsingh V, Rampaul R, Maharaj D, Kuruvilla T, Ramcharan K, Pouchet B. Prospective study of primary anastomosis without colonic lavage for patients with an obstructed left colon. Br J Surg. 1999; 86(10): 1341-3.

263.- Miettinen RP, Laitinen ST, Makela JT, Paakkonen ME. Bowel preparation with oral polyethylene glycol electrolyte solution vs.no preparation in elective open colorectal surgery: prospective, randomized study. Dis Colon Rectum 2000; 43: 669–675.

264.- Ram E, Sherman Y,Weil R, et al. Is mechanical bowel preparation mandatory for elective colon surgery? A prospective randomized study. Arch Surg 2005; 140: 285–288.

265.- Contant CM, Hop WC, van't Sant HP, Oostvogel HJ, Smeets HJ, Stassen LP, Neijenhuis PA, Idenburg FJ, Dijkhuis CM, Heres P, van Tets WF, Gerritsen JJ, Weidema WF. Mechanical bowel preparation for elective colorectal surgery: a multicentre randomised trial. Lancet. 2007 Dec 22; 370(9605): 2112-7.

266.- Guenaga KF, Matos D, Castro AA, Atallah AN, Wille-Jørgensen P. Preparación mecánica del intestino para la cirugía colorrectal electiva (Revisión Cochrane traducida). En: La Biblioteca Cochrane Plus, 2008 Número 2. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: http://www.update-software.com. (Traducida de The Cochrane Library, 2008 Issue 2. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.).

267.- Köckerling F, Rose J, Schneider C, Scheidbach H, Scheuerlein H, Reymond MA,Reck T, Konradt J, Bruch HP, Zornig C, Bärlehner E, Kuthe A, Szinicz G, Richter HA, Hohenberger W. Laparoscopic colorectal anastomosis: risk of postoperative

leakage. Results of a multicenter study. Laparoscopic Colorectal Surgery Study Group (LCSSG). Surg Endosc. 1999; 13(7): 639-44. PubMed PMID: 10384066

268.- Patankar SK, Larach SW, Ferrara A, Williamson PR, Gallagher JT, DeJesus S, Narayanan S. Prospective comparison of laparoscopic vs. open resections for colorectal adenocarcinoma over a ten-year period. Dis Colon Rectum. 2003; 46(5): 601-11.

268.- Clinical Outcomes of Surgical Therapy Study Group. A comparison of laparoscopically assisted and open colectomy for colon cancer. N Engl J Med. 2004. 13; 350 (20): 2050-9.

269.- Kim JS, Cho SY, Min BS, Kim NK. Risk factors for anastomotic leakage after laparoscopic intracorporeal colorectal anastomosis with a double stapling technique. J Am Coll Surg. 2009 ; 209(6): 694-701.

270.- El-Gazzaz G, Geisler D, Hull T. Risk of clinical leak after laparoscópica versus open bowel anastomosis. Surg Endosc. 2010; 24(8):1898-903.

271.- 3. Beart RW, Kelly KA. Randomized prospective evaluation of the EEA stapler for colorectal anastomoses. Am. J. Surg. 1981;141:143–147

272.- Luchtefeld MA, Milsom JW, Senagore A, Surrell JA, Mazier WP. Colorectal anastomotic stenosis. Results of a survey of the ASCRS membership. Dis Colon Rectum. 1989; 32(9): 733-6.

273.- 8. Fingerhut A, Elhadad A, Hay JM, Lacaine F, Flamant Y. Infraperitoneal colorectal anastomosis: hand-sewn versus circular staples. A controlled clinical trial. French Associations for Surgical Research. Surgery. 1994; 116(3): 484-90.

274.- Marchena Gómez J, Ruiz de la Cuesta E, Gómez Guerra G, Vallejo Gallego I, García-Anguíano F, Hernández Romero JM. Estenosis de la anastomosis colorrectal tras reseccion anterior de recto con eea-stapler. Rev Esp Enferm Dig. 1997; 89(11): 835-42.

275.- Bannura GC, Cumsille MA, Barrera AE, Contreras JP, Melo CL, Soto DC. Predictive factors of stenosis after stapled colorectal anastomosis: prospective analysis of 179 consecutive patients. World J Surg. 2004; 28(9): 921-5.

276.- Placer C, Urdapilleta G, Markinez I, Mugika F, Múgica JA, Elósegui JL,Murgoitio J, Irazusta M, Enríquez-Navascués JM. Estenosis anastomóticas benignas en la cirugía radical del cáncer de recto. Resultados del tratamiento con dilatación hidrostática. Cir Esp. 2010; 87(4): 239-43.

277.- Araujo SEA, Costa AF. Efficacy and safety of endoscopic ballon dilation of benign anastomotic strictures after oncologic anterior rectal resection. Report on 24 cases. Surg Laparosc Endosc Percutan Tech. 2008;18:565–8.

278.- Chambers WN, Mortensen NJ. Postoperative leakage and abscess formation alter colorrectal surgery. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2004; 18: 865–80.

279.- Senagore A, Milsom JW, Walshaw RK, Dunston R, Chaudry IH. Direct comparison between Czerny-Lembert and circular-stapled anastomotic techniques in colorectal anastomosis: a similar pattern of healing for both. Dis Colon Rectum. 1992; 35(9): 862-9.

280.- Bessler M, Whelan RL, Halverson A, Allendorf JD, Nowygrod R, Treat MR. Controlled trial of laparoscopic-assisted vs open colon resection in a porcine model. Surg Endosc. 1996; 10(7): 732-5.

281.- Tsereteli Z, Sporn E, Geiger TM, Cleveland D, Frazier S, Rawlings A, Bachman SL, Miedema BW, Thaler K. Placement of a covered polyester stent prevents complications from a colorectal anastomotic leak and supports healing: randomized controlled trial in a large animal model. Surgery. 2008; 144(5): 786-92.

282.- Rodríguez-García JI, Turienzo-Santos E, Vigal-Brey G, Brea-Pastor A. . Formación quirúrgica con simuladores en centros de entrenamiento. Cir Esp. 2006; 79 (6): 342-8.

283.- Usón Gargallo J, Sánchez Margallo FM, Díaz-Güemes Martín-Portugués I, Loscertales Martín de Agar B, Soria Gálvez F, Pascual Sánchez-Gijón S. Modelos experimentales en la cirugía laparoscópica urológica. Actas Urol Esp 2006; 30 (5): 443-450

284.- Balén EM, Sáez MJ, Cienfuegos JA, Zazpe CM, Ferrer JV, Herrera J, Lera J. Anatomía del cerdo aplicada a la experimentación en cirugía general. Cir Esp 2000; 67: 586-593.

285.- Burke P, Mealy K, Gillen P, Joyce W, Traynor O, Hyland J. Requirement for bowel preparation in colorectal surgery. Br J Surg. 1994; 81(6): 907-10.

286.- Roig J, García-Armengol J, Alós R, Solana A, Rodríguez-Carrillo R, Galindo P, Fabra MI, López-Delgado A y García-Romero J. Preparar el colon para la cirugía. ¿Necesidad real o nada más (y nada menos) que el peso de la tradición?. Cir Esp. 2007; 81(5): 240-6.

287.- Pena-Soria MJ, Mayol JM, Anula R, Arbeo-Escolar A, Fernandez-Represa JA. Single-blinded randomized trial of mechanical bowel preparation for colon surgery with primary intraperitoneal anastomosis. J Gastrointest Surg. 2008; 12 (12): 2103-8.

288.- Alcantara Moral M, Serra Aracil X, Bombardó Juncá J, Mora López L, Hernando Tavira R, Ayguavives Garnica I, Aparicio Rodriguez O, Navarro Soto S. Estudio prospectivo controlado y aleatorizado sobre la necesidad de la preparación mecánica de colon en la cirugía programada colorrectal. Cir Esp. 2009; 85(1): 20-5.

289.- 301.- Urbach DR, Kennedy ED, Cohen MM. Colon and rectal anastomoses do not require routine drainage: a systematic review and meta-analysis. Ann Surg. 1999; 229(2): 174-80.

290.- 302.- Merad F, Hay JM, Fingerhut A, Yahchouchi E, Laborde Y, Pélissier E, Msika S, Flamant Y. Is prophylactic pelvic drainage useful after elective rectal or anal anastomosis? A multicenter controlled randomized trial. French Association for Surgical Research. Surgery. 1999; 125(5): 529-35.

291.- Petrowsky H, Demartines N, Rousson V, Clavien PA. Evidence-based value of prophylactic drainage in gastrointestinal surgery: a systematic review and meta-analyses. Ann Surg. 2004;240(6): 074-84.

292.- Yeh CY, Changchien CR, Wang JY, Chen JS, Chen HH, Chiang JM, Tang R. Pelvic drainage and other risk factors for leakage after elective anterior resection in rectal cancer patients: a prospective study of 978 patients. Ann Surg. 2005; 41(1): 9-13.

293.- Rodríguez Gómez, J; Rodríguez Fabián, G; Aller Reyero, MA. Normas éticas para el cuidado y utilización de los animales de experimentación. Cirugía Española. 2000; 67 (1): 10-13, 15

294.- Landman J, Kerbl K, Rehman J, Andreoni C, Humphrey PA, Collyer W, Olweny E, Sundaram C, Clayman RV. Evaluation of a vessel sealing system, bipolar electrosurgery, harmonic scalpel, titanium clips, endoscopic gastrointestinal anastomosis vascular staples and sutures for arterial and venous ligation in a porcine model. J Urol. 2003; 169(2): 697-700.

295- Bergström M, Azadani A, Jonsson H, Park P. Sealing of the Cystic Duct During Transgastric NOTES® Cholecystectomy Is Reliable Using BELA, a New Flexible Bipolar Forceps. Gastrointestinal Endoscopy 2009; 69 (5), p AB169.

296.- Hope WW, Padma S, Newcomb WL, Schmelzer TM, Heath JJ, Lincourt AE, Heniford BT, Norton HJ, Martinie JB, Iannitti DA. An evaluation of electrosurgical vessel-sealing devices in biliary tract surgery in a porcine model. HPB (Oxford). 2010; 12(10): 703-8

297.- Shigemura N, Akashi A, Nakagiri T. New operative method for a giant bulla: sutureless and stapleless thoracoscopic surgery using the Ligasure system. Eur J Cardiothorac Surg. 2002; 22(4):646-8

298.- Hoebeke PB, Zubair S, Oosterlinck W, Verbeeck RM. Low-voltage coagulation for welding sutures watertight: an experimental study. Urol Res. 1992; 0(6): 25-7.

299.- Wallwiener CW, Rajab TK, Zubke W, Isaacson KB, Enderle M, Schäller D, Wallwiener M. Thermal conduction, compression, and electrical current--an evaluation of major parameters of electrosurgical vessel sealing in a porcine in vitro model. J Minim Invasive Gynecol. 2008; 15(5): 605-10.

300.- Weiber S, Jiborn H, Zederfeldt B. Preoperative irradiation and colonic healing. Eur J Surg. 1994; 160(1): 47-51.

301.- Hübner M, Hahnloser D, Hetzer F, Müller MK, Clavien PA, Demartines N. A prospective randomized comparison of two instruments for dissection and vessel sealing in laparoscopic colorectal surgery. Surg Endosc. 2007;21(4):592-4.