

TESIS DOCTORAL.

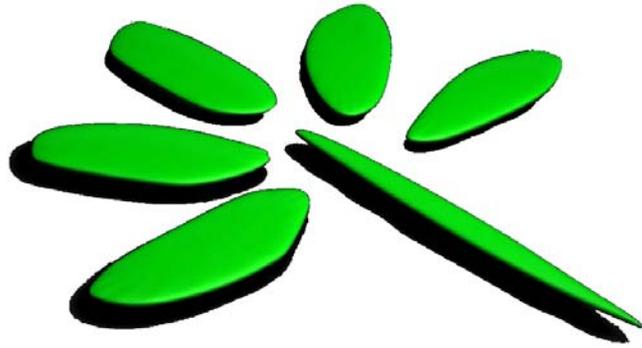
VIABILIDAD DE LA SUTURA GASTRICA CON ADHESIVOS
SINTETICOS DE ULTIMA GENERACION.
ESTUDIO EXPERIMENTAL EN RATAS.

UAB

Universitat Autònoma de Barcelona

Jordi Tarascó Palomares.

TESIS DOCTORAL.



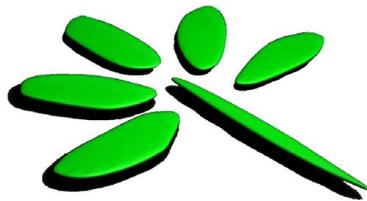
***“ VIABILIDAD DE LA SUTURA GASTRICA
CON ADHESIVOS SINTETICOS
DE ULTIMA GENERACION.
ESTUDIO EXPERIMENTAL EN RATAS.”***

**DOCTORANDO:
JORDI TARASCÓ PALOMARES.**

**DIRECTORES:
DR. JAIME FERNÁNDEZ LLAMAZAREZ
DR. JUAN FRANCISCO JULIÁN IBÁÑEZ**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BARCELONA.
FACULTAD DE MEDICINA.**

DEPARTAMENTO DE CIRUGIA GENERAL.



TESIS DOCTORAL.

***“ VIABILIDAD DE LA SUTURA GASTRICA
CON ADHESIVOS SINTETICOS
DE ULTIMA GENERACION.
ESTUDIO EXPERIMENTAL EN RATAS. ”***

JORDI TARASCÓ PALOMARES.

BARCELONA, OCTUBRE DE 2015.

“Para mis hijas, Gara y Nira”.

Para Mónica, mi esposa”.

AGRADECIMIENTOS.

En primer lugar, he de manifestar mi más profundo agradecimiento al Profesor Jaime Fernández Llamazares, por sus enseñanzas y apoyo iniciados en mis tiempos de estudiante en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona, y culminados en la dirección del presente trabajo de Tesis Doctoral.

En segundo lugar, al Dr. Juan Francisco Julián Ibáñez por sus ideas, motivación constante y tutorización de la presente Tesis Doctoral. Sin duda, ha sido el pilar fundamental en este estudio experimental.

También quiero agradecer, al Dr. Jordi Navinés por sus consejos y colaboración en la redacción de varios trabajos relacionados con esta tesis doctoral.

A la Dra. Natàlia Guàrdia por su colaboración en varias etapas de este proyecto.

Al Dr. Miguel Ángel Pacha por sus enseñanzas en la cirugía experimental en ratas.

Quiero mostrar mi reconocimiento a todo el personal del estabulario de animales del Centro de Experimentación Animal del IGTP, especialmente a Anna García, por su valiosa labor en el cuidado de los animales intervenidos.

Al Dr. Napoleón de la Ossa por su meritoria asistencia en la valoración histológica de las muestras de las ratas.

A la Dra. Yolanda Capell por su colaboración en el análisis estadístico de los resultados.

No debo olvidar el ánimo que en todo momento me prestaron mis maestros, compañeros y amigos del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol de Badalona, especialmente al Dr. Pau Moreno.

Y muy especialmente expongo mi gratitud a mi madre, que siempre ha sido un ejemplo y apoyo para mi; y sobre todo a mi esposa por su consejo, ánimo continuo y por encontrarse siempre a mi lado.

A todos, muchas gracias.

ÍNDICE.

CAPÍTULO I.- PRÓLOGO	5
CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN	9
1.-Embriología del estómago en Vertebrados	11
2.-Cicatrización de las heridas	17
2.1.-Cicatrización de las heridas.....	17
2.1.1.-Fase catabólica o desasimilativa.....	17
2.1.2.-Fase anabólica o asimilativa.....	18
2.1.3.-Fase de epitelización.....	19
2.1.4.-Fase de maduración y remodelación.....	20
3.-Anastomosis gastrointestinales	21
3.1.-Cicatrización de la anastomosis gastrointestinal.....	21
3.2.-Factores que actúan sobre las anastomosis.....	24
3.2.1.-Factores sistémicos.....	24
3.2.2.-Factores locales.....	26
3.2.3.-Factores técnicos.....	27
3.3.-Material de unión.....	29
3.3.1.-Sutura manual.....	29
3.3.2.-Sutura mecánica.....	31
3.3.3.-Sustancias sellantes.....	35
4.-Utilidad de los adhesivos tisulares sintéticos en cirugía	39
4.1.-Historia del cianoacrilato.....	39
4.2.-Desarrollo de los cianoacrilatos.....	40
4.3.-Derivados del cianoacrilato.....	42
4.4.-Propiedades.....	44
4.5.-Aplicaciones quirúrgicas.....	47
4.6.- Productos comerciales.....	53

5.-La rata como animal de experimentación	57
5.1.-La rata wistar.....	57
5.2.-Anatomía e histología gástrica.....	59
CAPÍTULO III.- PLANTEAMIENTO, HIPOTESIS Y OBJETIVOS	67
1.-Planteamiento	69
2.-Hipótesis de trabajo	72
3.-Objetivos	73
3.1.-Objetivo principal.....	73
3.2.-Objetivos secundarios.....	73
CAPÍTULO IV.- ESTUDIO PILOTO	75
1.-Estudio Piloto	77
1.1.-Introducción.....	77
1.2.-Objetivos.....	77
1.2.-Material y Métodos.....	77
1.3.-Resultados.....	81
1.4.-Conclusiones.....	83
CAPÍTULO V.- MATERIAL Y MÉTODOS	85
1.-Material	87
1.1.-Animales de experimentación.....	87
1.2.-Marco legal.....	89
1.3.-Instalaciones y material.....	91
1.3.1-Instalaciones	91
1.3.2.-Quirófano y Material quirúrgico.....	93
1.4.-Cianocrilatos: Histoacryl Flex [®] e Histoacryl DK [®]	95
1.4.1.-Características.....	95
2.-Métodos	101
2.1.-Grupos.....	101
2.2.-Muestra plasmática basal.....	102
2.3.-Intervención quirúrgica	106

2.3.1.-Procedimiento Grupo A (Sutura).....	112
2.3.2.-Procedimiento Grupo B (Histoacryl Flex [®]).....	113
2.3.3.-Procedimiento Grupo C (Histoacryl DK [®]).....	115
2.4.- Seguimiento postoperatorio.....	118
2.5.- Muestras plasmáticas durante el seguimiento postoperatorio.....	119
2.6.- Reintervención quirúrgica y Eutanasia.....	120
3.-Plan de trabajo.....	123
4.-Recogida de datos.....	127
4.1.- Datos clínicos.....	127
4.2.- Datos histológicos.....	129
4.3.- Datos analíticos.....	130
4.3.1-Hemograma	130
4.3.2-Análisis Bioquímico	131
4.4.- Datos estadísticos.....	131
CAPÍTULO VI.- RESULTADOS.....	133
1.-Resultados.....	135
1.1.-Resultados Clínicos.....	135
1.1.1-Complicaciones y mortalidad intraoperatoria.....	135
1.2.-Resultados Macroscópicos: Estudio de adherencias.....	137
1.3.-Resultados Histológicos	141
1.4.-Resultados analíticos.....	149
CAPÍTULO VII.- CONSIDERACIONES ETICAS Y LIMITACIONES.....	151
1.-Consideraciones éticas y posibles limitaciones.....	153
CAPÍTULO VIII.- DISCUSIÓN.....	157
1.-Discusión	159
CAPÍTULO IX.- CONCLUSIONES.....	167
1.-Conclusiones.....	169

CAPÍTULO X.- DIVULGACIÓN Y APLICABILIDAD CLINICA.....	171
1.-Divulgación / Importancia científica y aplicabilidad clínica.....	173
1.1.-Divulgación.....	173
1.2.-Importancia científica y aplicabilidad clínica.....	173
CAPÍTULO XI.- Anexos.....	175
1.-Anexos.....	177
1.1.-Resolución favorable del Departamento del Medio Ambiente.....	177
1.2.-Índice de tablas.....	180
1.3.-Índice de imágenes	181
CAPÍTULO XII.- BIBLIOGRFÍA.....	185
1.-Referencia bibliográfica.....	187

I. PROLOGO.

En el natural entender del ser humano siempre ha existido la idea y el afán de volver a unir los bordes de las heridas tras sufrir una lesión o traumatismo. Este hecho se constata en la elaboración y diseño de procedimientos para este fin a lo largo de la tradición humana.

En este sentido, históricamente y de forma general, se han descrito dos categorías distintas de recursos; las suturas y los adhesivos. Ambos se encuentran reflejados en la historia desde épocas similares y de forma prácticamente sincrónica.

Los primeros procedimientos de sutura de las heridas, probablemente con lino, se recogen en textos tan antiguos como el papiro egipcio de Edwin Smith, datado en el siglo XVI antes de Cristo, y en el Shusruta Samhita, un texto clásico de la India fechado entre el año 600 y 1000 antes de Cristo, sirviéndose de crin de caballo, tiras de cuero y fibras vegetales.

El empleo de adhesivos se remonta al 1700 antes de Cristo en el antiguo Egipto. En el citado papiro de Edwin Smith se recoge la utilización en el cierre de heridas de una mezcla de cereales y miel. Además es conocido que las heridas sufridas por el cadáver durante el embalsamamiento no se suturaban sino que se sellaban con cera de abejas. Por otra parte el empleo de cintas adhesivas es aún más antiguo, remontándose a los albores de la época histórica.

En el campo de la cirugía digestiva, los avances técnicos se han llevado a cabo básicamente gracias al desarrollo de los estudios anatómicos y de las suturas, con una exigua contribución hasta la fecha de las sustancias adhesivas.

Cierto es que las experiencias con elementos sellantes en cirugía gastrointestinal han sido aún muy limitadas, quizás por el relativamente reciente desarrollo de las mismas. Sin embargo, en otras áreas de la ciencia quirúrgica su uso es cotidiano y se encuentra estandarizado.

Es de esperar, que ha medida que se incrementen las investigaciones bioquímicas, experimentales y clínicas, y seamos capaces de obtener resultados alentadores, estos elementos muestren también su potencial y utilidad en esta compleja y peculiar rama del proceder quirúrgico.

II. INTRODUCCION.

1.-EMBRIOLOGIA DEL ESTOMAGO EN VERTEBRADOS.

El diseño del tubo digestivo está relacionado con la dieta del organismo. Si bien la digestión comienza en la cavidad bucal, el procesamiento del alimento se produce en el tubo digestivo; proceso que involucra la degradación del bolo, la absorción de sus constituyentes disponibles y la eliminación de los restos indigeribles. Debido a que la dieta varía entre distintos grupos de vertebrados, los tubos digestivos pueden ser significativamente distintos entre vertebrados relacionados filogenéticamente.

La mayor parte de los vertebrados tienen un tubo digestivo formado por un esófago, un estómago, intestinos y una cloaca. Por muy distintos que parezcan ser, todos comparten un diseño similar subyacente.⁽¹⁾ El desarrollo del aparato digestivo se rige por un patrón conservado a lo largo de las especies.⁽²⁾ En términos muy generales sigue la secuencia de eventos que van desde la gastrulación, formación del intestino primitivo desde el endodermo y aposición de parte de la hoja esplácnica del mesodermo lateral.⁽³⁾ Debido al plegamiento del embrión durante el período somítico, la parte dorsal del saco vitelino queda incluida dentro de éste y constituye el intestino primitivo, un tubo endodérmico que consta de tres partes intestino anterior, intestino medio e intestino posterior (*Imagen. 1A*).

La mayor parte del epitelio de revestimiento y de las glándulas del tubo digestivo se originan en el endodermo del intestino primitivo.⁽⁴⁾ El tejido muscular, el conectivo y el peritoneo visceral de la pared del tubo derivan de la hoja esplácnica del mesodermo. El intestino anterior, cerrado en fondo de saco, contribuye cefálicamente a formar la membrana bucofaríngea junto con el revestimiento ectodérmico que se aplica por fuera. El intestino medio permanece ampliamente comunicado con el saco vitelino ubicado fuera del embrión. El intestino posterior, termina también en fondo de saco y forma junto con el ectodermo, la membrana cloacal (*Imagen. 1A y 1B*).

Del intestino posterior nace una evaginación larga denominada alantoides que se hace extraembrionaria y forma parte del pedículo embrionario y posteriormente se convierte en un anexo embrionario muy importante en la formación de la placenta.

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

Durante la semana siguiente, (*Imagen 1B*) el intestino primitivo presenta los siguientes cambios, el intestino anterior origina:

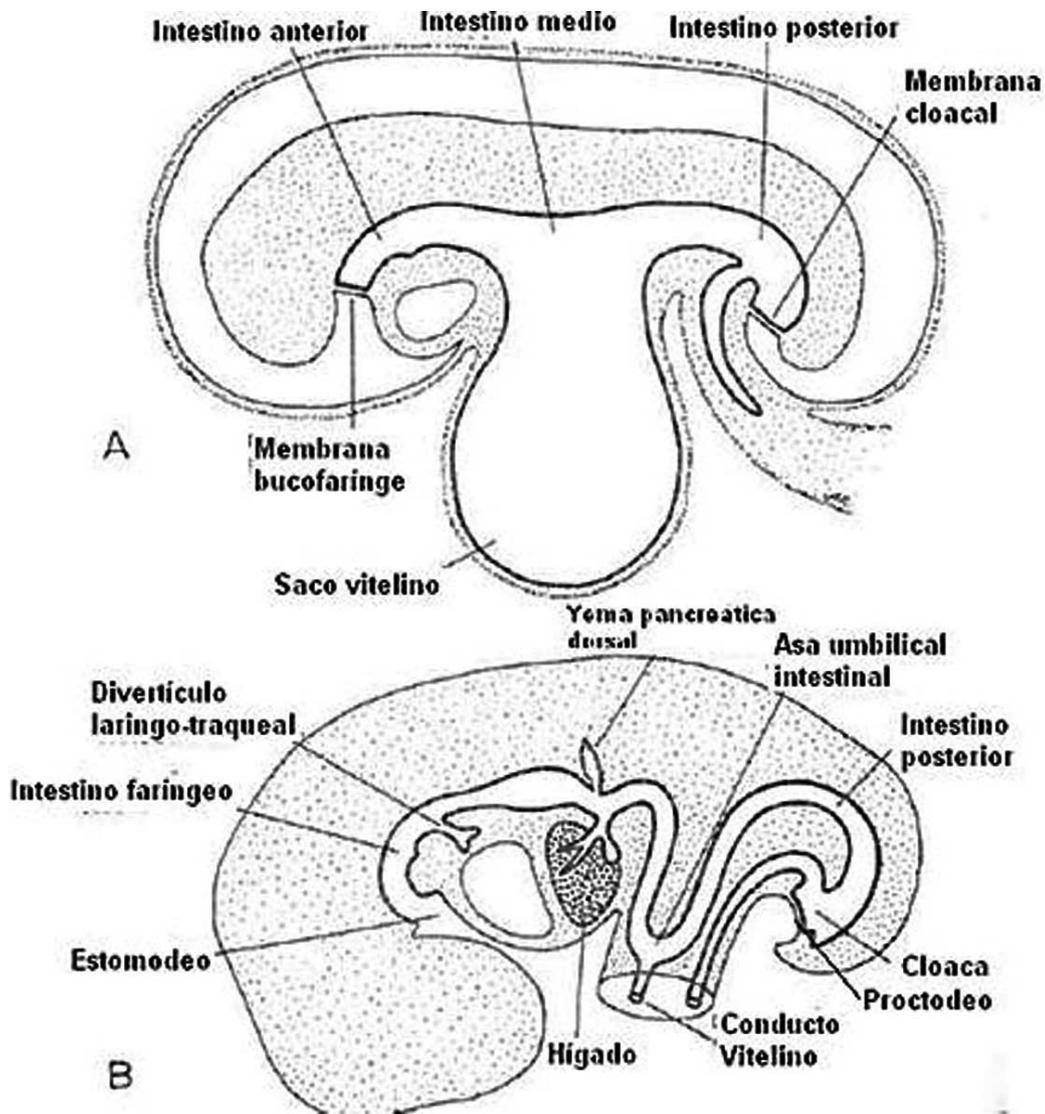


Imagen 1A. Intestino primitivo constituido por intestino anterior, intestino medio e intestino posterior. Se observa además membrana bucofaringea, saco vitelino y alantoides.

Imagen 1B. El intestino anterior se diferencia en dos partes : Intestino faringeo y porción caudal del intestino anterior. El intestino medio da origen a las ramas cefálicas y caudal, las cuales están unidas por un conducto vitelino al saco vitelino. El intestino posterior desemboca en la cloaca, terminando en la membrana cloacal.

1.) Una porción cefálica también denominada intestino faríngeo, que se extiende desde la cavidad bucal primitiva o estomodeo hasta el brote traqueo bronquial (también llamado divertículo laríngeo traqueal), origen del aparato respiratorio.

2.) Una porción caudal que se extiende hasta el esbozo hepático. La membrana bucofaríngea desaparece de manera que la boca primitiva (estomodeo) comunica con la región faríngea. Del intestino medio se origina el asa intestinal primitiva, que mantiene una comunicación con el saco vitelino a través del conducto vitelino y que se extiende desde el divertículo hepático hasta el comienzo del intestino posterior (*Imagen 1B*).

El intestino posterior termina desembocando en una porción dilatada del tubo denominada cloaca, en comunicación con el alantoides y ocluida por la membrana cloacal.

Desarrollo del intestino anterior:

A.-Esófago .

Se desarrolla a partir del primer segmento del intestino anterior comprendido entre el origen del divertículo respiratorio laringotraqueal y el ensanchamiento que originará el estómago.

En las aves y mamíferos, al principio del desarrollo, el esófago es muy corto, pero posteriormente se alarga debido a la formación del cuello y al descenso del corazón y los pulmones. Durante las primeras etapas del desarrollo el esófago se tiene que separar de la tráquea y esto ocurre gracias a un divertículo traqueo esofágico que los separa. En peces y anfibios el esófago continúa siendo corto aún en las etapas más avanzadas del desarrollo. Durante un período de tiempo el lumen del esófago esta ocluido totalmente, por una activa proliferación de las células del epitelio y durante el período fetal cuando la gestación esta avanzada ocurre la recanalización del lumen.

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

Histológicamente, en la mucosa esofágica aparecen glándulas tubulares compuestas de secreción mucosa y está limitada por la muscular de la mucosa de desarrollo muy variable. En peces es una capa de disposición longitudinal, formada por músculo estriado. En anfibios, reptiles y aves suele haber dos capas: circular interna y longitudinal externa, ambas de músculo liso. La submucosa presenta glándulas túbulo acinares de secreción mucosa (glándulas esofágicas sólo en mamíferos) En mamíferos, la túnica muscular del esófago tiene diferente origen, según se trate de la parte superior o inferior de éste. La musculatura estriada, característica del tercio superior, se origina del mesénquima de los arcos braquiales. Sin embargo la musculatura lisa del tercio inferior, se diferencia del mesénquima de la esplacnopleura circundante, tal como ocurre en el resto del tubo digestivo el segmento próximo a su desembocadura en el estómago está formado por músculo liso. La musculatura del esófago tiene una capa longitudinal interna y otra circular externa. En carnívoros y artiodáctilos rumiantes se agrega una tercera capa que es longitudinal externa. Al igual que en la faringe, la parte craneal del esófago no está envuelta por el celoma, y no que se encuentra detrás de la cavidad pleuroperitoneal; luego tras el crecimiento de los pulmones se encontrará en el seno del mediastino y sólo en el diafragma habrá un corto mesoesófago. ⁽⁵⁾

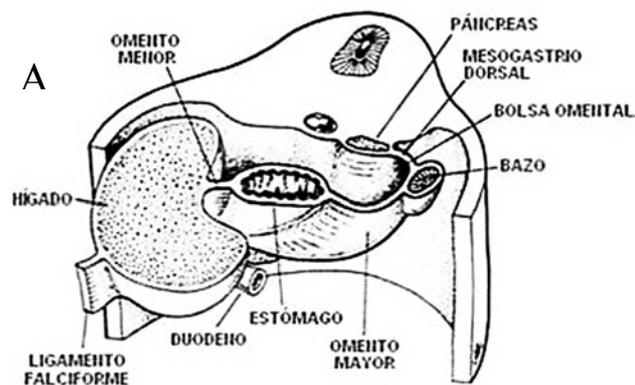


Imagen 2A. Corte transversal de embrión humano de siete semanas, al cual se le ha quitado la pared ventral del cuerpo. El meso gastrio dorsal crece y se abomba hacia el lado izquierdo, dando origen a la bolsa omeital, paralelamente a la rotación del estómago.

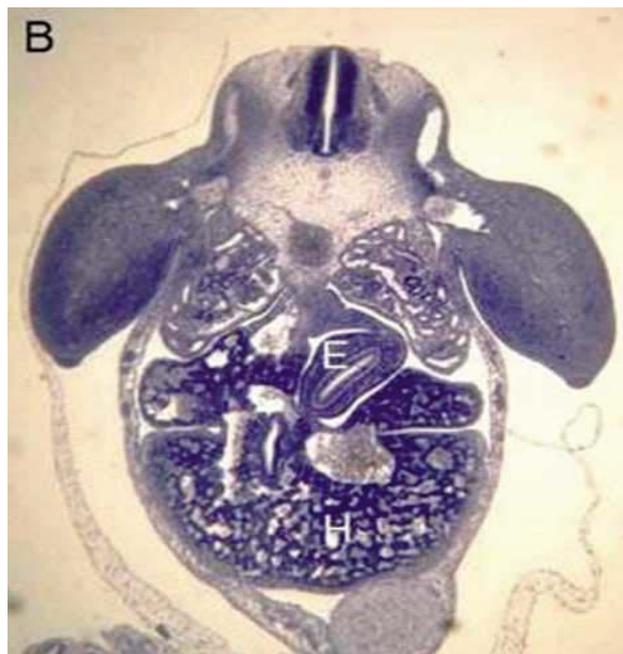


Imagen 2B. Corte transversal de embrión de cerdo. Se observa hígado (H), estómago (E) experimentando su rotación.

B.-Estómago.

El primer esbozo del estómago se reconoce como una dilatación fusiforme del intestino anterior, esta dilatación se forma debido al desigual crecimiento de sus paredes dorsal y ventral, las cuales presentan un índice mitótico distinto. Este es mayor en la pared dorsal que en la ventral, por lo cual crece más rápido que esta última y determina que se pueda identificar una curvatura mayor que es convexa, viene a ser convexa ventral. Más adelante, la porción craneal de la curvatura mayor crece y forma el fundus (*Imagen 2*). En la especie humana y en los animales con estómago monocavitario como el gato, el perro , cerdo y rata, tienen lugar dos rotaciones sucesivas que explican su disposición definitiva en la cavidad abdominal. Primero gira de izquierda a derecha en dirección de los punteros del reloj en aproximadamente, 90° respecto del eje sagital. De este modo, el lado primitivamente izquierdo se hace ventral y el derecho, dorsal. Además este giro del estómago arrastra consigo al mesogastrio dorsal, determinando en parte, la formación de la transcavidad de los epiplones o bolsa omental. (En la *Imagen 2A* se puede ver el omento mayor).⁽⁶⁾

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

2.-CICATRIZACIÓN DE LAS HERIDAS.

2.1.-CICATRIZACIÓN DE LAS HERIDAS.

El objetivo del proceso reparador de las heridas quirúrgicas es reintegrar la normalidad funcional del órgano dañado aunque habitualmente no se suele obtener una restitución tisular *ad integrum*, ya que los elementos celulares lesionados se sustituyen mayoritariamente por tejido conectivo.

En este proceso de cicatrización podemos diferenciar cuatro fases sucesivas: catabólica, anabólica, de epitelización y de remodelación.

2.1.1.-FASE CATABÓLICA O DESASIMILATIVA.

Comienza en el mismo instante en que se produce la herida y se extiende aproximadamente hasta el sexto día. Su objetivo es el de ejercer una acción de limpieza sobre el lecho tisular lesionado eliminando cuerpos extraños, gérmenes, restos necróticos y exudados. Esta función depende de una compleja actividad enzimática local.

Existe un primer periodo de inflamación postraumática, cuya duración está en relación con el grado de contaminación existente, y una segunda fase de migración caracterizado por la llegada de células inflamatorias y mesenquimales.

En la fase de *inflamación postraumática* las plaquetas se adhieren al endotelio de los vasos lesionados y al colágeno expuesto formando un tapón. Los fosfolípidos liberados estimulan la vía intrínseca de la coagulación. La vía extrínseca se activa por la tromboplastina exudada por los tejidos dañados. Ambas vías generan bandas de fibrina, que junto con las plaquetas, dan lugar a un coágulo en la zona central de la herida. En la proximidad de la lesión se demuestran el conjunto de fenómenos comunes a toda reacción inflamatoria. Durante los primeros cinco a diez minutos el epitelio palidece a consecuencia de la vasoconstricción mediada por las prostaglandinas (PGF2 α

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

y Tromboxano) y por las catecolaminas. Esta vasoconstricción es seguida de vasodilatación, mediada por prostaglandinas vasodilatadoras (PGE α y PGI 2) liberadas por las células lesionadas, histamina segregada por los mastocitos y plaquetas, y serotonina excretada por las células cebadas. Se objetiva un incremento en la permeabilidad vascular que da lugar a que los leucocitos (predominantemente neutrófilos), plaquetas y eritrocitos abandonen los vasos y junto con suero pasen a los tejidos, causando edema.

Tras esta primera fase se objetiva el *periodo de migración* en el que los macrófagos reemplazan paulatinamente a los neutrófilos hasta llegar a ser las células predominantes. Cuando la contaminación persiste, la excesiva acción de los leucocitos ocasiona su destrucción, liberando enzimas lisosomales (proteasas y colagenasas) produciendo daño tisular con prolongación de la respuesta inflamatoria. Las células muertas y el tejido licuado constituyen el pus, que puede ser o no estéril. Los fibroblastos son atraídos a la lesión por sustancias como PDGF, FGF, TGF α , TGF β , IL-1, IL-2, TNF α e IFN.

2.1.2.-FASE ANABÓLICA O ASIMILATIVA.

En esta fase se diferencian a su vez tres periodos: de angiogénesis, de proliferación de fibroblastos y síntesis de colágeno, y por último de retracción de la herida. En esta fase participan las citoquinas liberadas por las células involucradas: PDGF, FGF, TGF α , TGF β , IL-1, IL-2, TNF α , KGF, IGF-1, EFG e IFN.

En el periodo de *angiogénesis* (que alcanza su máxima expresión hacia el octavo día) se observa neovascularización, actuando los capilares como ejes tróficos, aportando el oxígeno y la energía necesaria para la síntesis tisular.

Durante la fase de *proliferación de fibroblastos y síntesis de colágeno* se comprueba que el incremento de estas células se encuentra en íntima relación con el desarrollo vascular, dependiendo directamente del aporte de oxígeno y nutrientes. Se mueven a través de la red de fibrina creada en la fase de inflamación postraumática, guiados por inhibición de contacto, cambiando el rumbo por diapédesis cuando su

membrana se aproxima a la de otro fibroblasto, ocupando así toda la red fibrinosa existente. La síntesis de colágeno aumenta rápidamente a partir del quinto al séptimo día, alcanzando su máximo en la tercera semana. Por otra parte, la dirección de la formación de las fibras parece depender del tipo de fuerzas que actúan sobre el tejido. De esta forma resultan varios tipos de colágeno (tejido conectivo irregular, ligamentoso y tendinoso) dependiendo de la orientación de las mismas. La sustancia fundamental se dispone entre los fibroblastos, depositándose en el lecho de la herida. Básicamente se compone de glicoproteínas (procedentes del plasma extravasado y del tejido conectivo despolimerizado y degradado) y glucosaminoglicanos o mucopolisacáridos ácidos (sintetizados por los fibroblastos).

La *retracción de la herida* se produce por la aparición de miofibroblastos. Esto se observa con más claridad en los bordes de la lesión, con una velocidad de 0.6-0.75 mm/día, variando en función de la laxitud de los tejidos. Esta retracción continúa por regla general durante doce a quince días.

2.1.3.-FASE DE EPITELIZACIÓN.

Depende de la migración de células de la capa basal del epitelio hacia el área denudada de la herida y se produce progresiva y solapadamente durante las dos fases anteriores. Las células epiteliales adyacentes a la herida pierden sus adhesiones al tejido conectivo y también las uniones intercelulares y comienzan a migrar. Cuarenta y ocho horas después de la lesión, la capa basal en los bordes de la herida crece y prolifera. Inicialmente las células constituyen una monocapa epitelial, adquiriendo diferenciación específica y completa, con lo que se obtiene un cierto grado de recuperación funcional. Este nuevo epitelio no llega a ser idéntico al normal ya que se encuentra engrosado y presenta bordes hiperplásicos, mientras que en el resto de la herida es más tenue y frágil.

2.1.4.-FASE DE MADURACIÓN Y REMODELACIÓN.

Se inicia simultáneamente con el comienzo de la síntesis de colágeno, siendo más notorio del sexto al duodécimo día. Aunque la herida ya se encuentra ocupada por un tejido conectivo reparador, puede decirse que no alcanza la solidez deseada para resistir ulteriores agresiones externas hasta que transcurren varias semanas e incluso meses; por tanto el tejido debe madurar para adaptarse a las exigencias mecánicas propias del área donde asienta. Tres semanas después de la lesión, la actividad predominante del proceso cicatricial es la remodelación de la cicatriz. Las colagenasas destruyen el colágeno antiguo al mismo tiempo que se sintetiza el nuevo, manteniéndose constante su cantidad total. El nuevo colágeno se forma paralelo a las líneas de tensión que soporta el tejido, adaptándose a los vectores de fuerza, y aumentando gradualmente la resistencia de la cicatriz. Esta alternancia de síntesis y degradación de colágeno ocurre durante toda la vida del paciente, cambiando de aspecto la cicatriz pero sin recobrar nunca la fuerza original del tejido sano. ^(7, 8)

3.-ANASTOMOSIS GASTROINTESTINALES.

La anastomosis digestiva es la comunicación entre dos segmentos intestinales con el fin de reconstruir el tránsito digestivo después de una resección intestinal.

3.1.-CICATRIZACIÓN DE LA ANASTOMOSIS GASTROINTESTINALES.

La mayor complicación que aparece en las anastomosis es la pérdida por las suturas y las dehiscencias especialmente del colon, recto y esófago, las mismas que están asociadas a una alta morbilidad y mortalidad. En la literatura médica existen muchas variaciones respecto a la incidencia con la que ocurre la falla en las anastomosis. Las complicaciones que aparecen después de anastomosis del colon se ha reportado entre el 2 y el 18%. Sin embargo si se realizan estudios controlados guiados por enemas y examen radiológico de las anastomosis en forma temprana, se observan perdidas por la línea de sutura entre el 40 y 51%. En el esófago la frecuencia de fugas anastomóticas se encuentra entre el 5 y 21% el mismo que esta asociado a una mortalidad mucho mas alta que las fugas del colon mientras que las complicaciones de las anastomosis del intestino delgado tienen una incidencia mucho menor que la del colon y esófago reportándose porcentajes entre el 1 y 4%.

Sin embargo, a pesar de las diferencias que existen entre los protocolos de investigación, la incidencia exacta de las complicaciones que se observan en las anastomosis gastrointestinales es desconocida y posiblemente dependa de la región donde se realiza la anastomosis, sin embargo la frecuencia es alta y generalmente sus consecuencias son muy serias por lo cual en los últimos años la cicatrización gastrointestinal ha recibido mucha atención por parte de los cirujanos e investigadores, llegando a la conclusión que toda complicación en las anastomosis como dehiscencia, fuga anastomótica temprana o tardía depende de defectos de suturas, alteraciones tisulares del borde anastomótico y/o anomalías en la secuencia de cicatrización.

Como se menciono anteriormente, la fuerza mecánica de la pared intestinal intacta depende principalmente del tejido conectivo fibroso localizado en la submucosa

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

y constituido en su mayoría de colágena es el único plano capaz de soportar las suturas, de aquí su enorme importancia quirúrgica.

El proceso de curación de una anastomosis, significa que entre ambos bordes se entrelacen puentes de tejido fibroso. Con el tiempo la colágena contenida en él se convertirá en factor determinante de la resistencia anastomótica. Por esta razón los estudios están encaminados a determinar que sucede con la colágena preexistente y que factores influyen en la formación de la nueva para poder manejar posibles mecanismos de complicaciones.

Durante los primeros 3 a 4 días que siguen a una anastomosis intestinal y durante la llamada fase inflamatoria, la integridad de ella depende totalmente de la sutura y del sello de fibrina que evita cualquier tipo de fuga por la línea de sutura. Suturas defectuosas pueden ser una causa rara de dehiscencia anastomótica. Escogiendo una adecuada sutura que mantenga su fuerza ténsil y la realización de parte del cirujano de nudos seguros pueden eliminar ese problema. La fuerza tensional inicial de la anastomosis y su pérdida a través del tiempo es similar en el esófago, duodeno y colon excepto el intestino delgado cuya pérdida es menor, esto implica que pueden existir diferencias en la calidad del tejido conectivo con la que se reparan las distintas regiones intestinales, especialmente cuando se compara la curación entre el íleon y el colon donde se han observado diferencias en el tiempo de cicatrización, la secuencia y magnitud de los cambios bioquímicos. Así por ejemplo se ha observado que la colágena contenida en la línea anastomótica se deposita en forma más temprana en el colon que en el intestino delgado. Cabe mencionar que el plano mucoso a todo nivel del tracto gastrointestinal es reparado por migración e hiperplasia de las células epiteliales para cubrir el defecto. Esta acción de las células epiteliales cubriendo el tejido de granulación y formando una barrera biológica para el contenido intestinal posiblemente inhibe la inflamación y el crecimiento excesivo de tejido conectivo que podría obstruir la anastomosis. La curación de las anastomosis se realiza generalmente por primera intención pero, su mucosa puede cicatrizar por segunda intención.

Todo cirujano conoce que el tiempo más crítico de la integridad de una anastomosis es durante los primeros días del postoperatorio debido a una pérdida de

cohesión en el borde del intestino anastomosado, Esa pérdida se ha sugerido es producido por un aumento de la actividad colagenolítica en el borde adyacente a la anastomosis en el orden del 25% en el tercer día del postoperatorio. ⁽¹⁰⁾

Un importante fenómeno que altera la cicatrización está relacionada directamente con los neutrófilos que se acumulan de manera temprana en los bordes de la herida. Experimentalmente en ratas la administración de suero antineutrófilos evita que la anastomosis pierda su fuerza ténsil durante los primeros días del postoperatorio, por lo cual Se sugiere que la presencia de radicales libres de oxígeno o proteinasas mediadas por los neutrófilos causan degradación de las fibras de colágena, disminuyendo la fuerza tisular de la unión. Se considera entonces, que cuando ocurren complicaciones en la anastomosis como la dehiscencia, o fugas, estas son causadas por infección local o por trauma que son los factores que aumentarían la cantidad de neutrófilos alrededor de la anastomosis y causarían la degradación excesiva de colágena. Por el contrario, los inhibidores de las proteinasas y los liberadores de radicales libres de oxígeno tienen un efecto benéfico en mantener la fuerza de cohesión sobre los bordes de la herida en forma temprana.

Resumiendo se puede decir que la disminución de la fuerza en una anastomosis es característica de los pacientes traumatizados durante los primeros días que siguen a la operación, que es donde se observan la mayor parte de las complicaciones anastomóticas. A partir del tercero y cuarto día del postoperatorio se observa un notable aumento en la síntesis de colágena que rodea a la anastomosis, ganando esta rápidamente fuerza mientras que las suturas pierden la capacidad de mantener juntos los bordes de la pared Intestinal. Siendo estas innecesarias 1 o 2 semanas después del procedimiento. Así, los hilos modernos sintéticos reabsorbibles pueden ser usados con toda seguridad. Estudios realizados por Van Winkle et al en perros demostraron que la fuerza de la anastomosis en el colon después de 14 días del procedimiento tenía una resistencia de 45% al de la pared intestinal intacta y mantenía siendo sólo del 70% del normal después de los cuatro meses.

3.2.-FACTORES QUE ACTUAN SOBRE LAS ANASTOMOSIS.

"Cortar bien, suturar bien y todo irá bien" reza un aforismo quirúrgico siempre en vigencia. La meta de una sutura gastrointestinal es proporcionar un cierre hermético en el intestino o en la anastomosis con otra víscera. ⁽¹⁰⁾

La realización de una anastomosis gastrointestinal segura es una de las principales metas en la cirugía digestiva. A pesar de intervenir en condiciones ideales los estudios demuestran una tasa de fuga entre el 0 y el 5%.

Para alcanzar estos objetivos la sutura gastrointestinal debe buscar ciertos factores, que en la literatura médica a menudo han sido divididos ampliamente como: factores sistémicos, factores locales y factores técnicos. Los estudios experimentales y clínicos se han enfocado en determinar estos factores en forma aislada tratando de encontrar la relación existente entre aquellos y las complicaciones.

3.2.1.-FACTORES SISTÉMICOS.

a.) Edad. Entre los factores sistémicos que colaboran en las complicaciones de las anastomosis, uno de los más importantes es la edad, clínicamente se ha demostrado que la incidencia de dehiscencia en las anastomosis colónicas entre pacientes del grupo entre 60-80 años ha sido presentada tan alta como en el 22%, y su causa podrían ser multifactoriales incluyendo la desnutrición, aterosclerosis, trastornos cardiocirculatorios y la coexistencia de malignidad. ⁽¹¹⁾

b.) Desnutrición. La desnutrición como factor de dehiscencia y fuga anastomótica fue inicialmente reconocido en 1948 por Localio, Chassin y Hinton. ⁽¹²⁾ La hipoproteinemia ha sido asociada clínicamente a un aumento de frecuencia de las complicaciones anastomóticas después de la cirugía del colon. A pesar que los estudios realizados han fallado en demostrar el rol que desempeña la nutrición, y que la cantidad de colágena permanece inalterable a pesar del uso de la hiperalimentación y que en ratas sometidas a ingesta pobre en proteínas, sólo se observa disminución de la

fuerza ténsil de la anastomosis en aquellos animales con más de 7 semanas de dieta. Si extrapolamos estos hallazgos clínicamente concluiremos que grados menores de depleción proteica por corto tiempo no tendría ningún efecto en la presentación de complicaciones anastomóticas.

Además de la deficiencia de proteína, la de vitaminas tiene también importancia, especialmente la vitamina "C" o "ácido ascórbico" por ser un importante cofactor en la conversión de la prolina en hidroxiprolina parte constituyente de las fibras de colágena. La vitamina A ha sido asociada a efectos benéficos durante la cicatrización de las anastomosis del colon, especialmente cuando los pacientes han necesitado irradiación.

c.) Estado hemodinámico. La anemia, asociada a una pérdida aguda de sangre tiene consecuencias negativas en la cicatrización y aunque la volemia sea restituida la fuerza ténsil de la anastomosis no se recupera y el peligro de dehiscencia es elevado. La necesidad de transfusiones intraoperatorias ha sido presentada como un factor importante de las fallas anastomóticas, al producir una reducción de la viscosidad sanguínea por hemodilución ya que ella mantiene las tensiones de oxígeno en condiciones normales en los bordes intestinales. En cambio la anemia normovolémica no tiene efecto alguno sobre la curación. La cicatrización de las anastomosis aparentemente no son afectadas por sepsis o por trauma distante.

d.) Oxigenación y ventilación. La hipoxia tiene un notable efecto negativo sobre las anastomosis y esta depende de un adecuado flujo de sangre arterial oxigenada. El oxígeno es un elemento importante para la vida y en la cicatrización participa activamente en la hidroxilación de la lisina y prolina en la síntesis de colágena, se ha relacionado que la producción de ella es proporcional al nivel de P_{O_2} . El efecto general de la hipoxia es retardar la angiogénesis y la epitelización. La hiperoxigenación en experimentos sobre ratas aparentemente no tiene ningún efecto sobre la cicatrización de las anastomosis sin complicación o isquémicas.

e.) Trastornos metabólicos. La diabetes Mellitus tiene una influencia indirecta deletérea sobre la cicatrización de las anastomosis por su efecto sobre la disminución de la perfusión microvascular de los bordes y todos los otros procesos relacionados con la

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

hiperglicemia especialmente si esta se encuentra sin control. En presencia de un paciente controlado, la frecuente de complicaciones de las anastomosis no tiene diferencia estadística significativa con los normales.

f.) Tratamiento con corticoides. En la práctica clínica, los niveles terapéuticos de esteroides no parecen tener influencia en la curación de las anastomosis intestinal. Sin embargo experimentalmente pequeñas dosis de esteroides en combinación con menores grados de desnutrición tiene un efecto adverso en la formación de colágena. El efecto deletéreo de los esteroides en la curación de las heridas puede ser revertido con la administración de vitamina A.

3.2.2.-FACTORES LOCALES.

a.) Trauma. Los efectos adversos del trauma en la cicatrización del tracto gastrointestinal puede estar relacionado localmente a la perfusión tisular el cual el colon es particularmente sensible a los cambios de volumen sanguíneo; una reducción del 10%, puede reducir la perfusión clónica a más del 30%. El trauma local relacionado a la extirpación de tumores fijos y grandes están muy relacionados a fallas anastomóticas al igual, la cirugía motivada por injurias del colon está asociada a disminución en la capacidad de cicatrización produciendo con frecuencias fugas y dehiscencias. Mientras tanto el trauma producido a distancia, tiene muy poco efecto negativo sobre las anastomosis. ⁽¹¹⁾

b.) Infección. Por estudios clínicos y experimentales se conoce que la sepsis peritoneal tiene un efecto negativo en los bordes intestinales por una actividad colagenolítica aumentada, el mismo que puede contribuir a la falla de la anastomosis.

La resección y anastomosis primaria en presencia de una enfermedad diverticular perforada, sólo podrá realizarse si la infección es localizada, Si existe una diseminación de la infección, un tercio de las anastomosis fallarán.

c.) Obstrucción. Las anastomosis que se realizan en un colon obstruido, está propenso a complicarse. En el trabajo presentado por Anderson y Lee encontraron que

30% de los pacientes que tuvieron resección y anastomosis primaria desarrollaron fístulas fecales. Sin embargo, las complicaciones presentadas en las anastomosis de colon obstruido en el colon izquierdo son menos peligrosas que en el derecho y alcanzan estas últimas hasta un 23% de mortalidad cuando la operación es una hemicolectomía de Emergencia. Los problemas de cicatrización en las obstrucciones intestinales, están más relacionados a una alteración del riego sanguíneo, carga fecal y cambios en la flora bacteriana que a las alteraciones de la colágena, así vemos que Jiborn comprobó experimentalmente que la síntesis de colágena estaba notablemente incrementada en la pared intestinal en aquellos animales con dilatación colónica después de resección de colon izquierdo en comparación con aquellos que evolucionaron con normalidad. Siendo así, la falla de la anastomosis se realizaría sólo en un pequeña área como resultado de la necrosis por isquemia de la línea de sutura la que es suficiente para llevar al paciente a complicaciones dramáticas como la fuga anastomótica y la dehiscencia con la consecuente sepsis y fallo multiorgánico.

d.) Tratamiento adyuvante. Es un método utilizado para tratamiento del cáncer, puede ser aplicado en el preoperatorio o postoperatorio y su relación con perforaciones intestinales espontáneas es bien conocido. Cuando se realiza una anastomosis en un intestino previamente irradiado, la fuerza de la anastomosis está muy comprometida ya que los cambios tisulares incluyen fibrosis, obstrucción e isquemia por hialinización de los vasos sanguíneos lo que altera el balance de la colágena. ⁽¹³⁾

3.2.3.-FACTORES TECNICOS.

La cicatrización de las heridas asume un rol significativo cuando se trata de la cirugía del tracto gastrointestinal porque sus complicaciones se acompañan de una morbi-mortalidad seria y significativa.

a.) Vascularización. El fracaso o éxito de las anastomosis está directamente relacionado con la irrigación sanguínea de sus bordes. La hemostasia del borde antes de realizar la anastomosis debe ser perfecta especialmente en las resecciones del estómago el cual tiene abundante irrigación, pero esa hemostasia no debe ser realizada a expensa

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

de la isquemia.⁽¹⁴⁾ Otra manera de conservar la irrigación del borde es que al momento de cortar el intestino siempre debe hacerse con el bisturí y no con la hoja del electrobisturí y de ser posible debe verse sangrar libremente los bordes. La isquemia también se previene cuando ligamos los vasos del mesenterio bajo transiluminación y evitamos nuevamente el uso del electrobisturí cerca del la línea de sutura.

b.) Hemostasia. Delimitar la hemorragia de la pared intestinal en forma muy precisa. La hemostasia del borde antes de realizar la anastomosis debe ser perfecta, pero no debe ser realizada a expensas de la isquemia.

c.)Aposición. Poner frente a frente las superficies serosas para formar una unión sólida lo más rápido posible por la línea de sutura.

d.)Aproximación. Aproximar los bordes seccionados de la mucosa para evitar la estenosis cicatricial. Además se debe invertir la mucosa para evitar que sobresalga por la línea de sutura.

e.) Tensión. Se debe evitar la tensión en la línea de sutura mediante una correcta aposición y aproximación de los segmentos a anastomosar. Es una condición importante especialmente en las anastomosis del colon, se previene con una buena y adecuada movilización del intestino.⁽¹³⁾

f.) Inversión de los bordes. Es importante para obtener una anastomosis segura invertir la mucosa en la línea de sutura, situación exitosa que ha sido comprobada en estudios experimentales y clínicos. Parece ser que la ausencia de una línea continua de peritoneo y la eversión de la mucosa es un factor importante de orden técnico que favorece la dehiscencia. La técnica utilizada por los cirujanos para invertir la mucosa puede variar: algunos lo realizan en un sólo plano el cual en cada punto incluye todas las capas del intestino excepto la mucosa, esta técnica es referida en algunos textos como seromuscular o serosubmucosa. Las ventajas de esta sutura es que produce muy poco disturbio en la irrigación de los bordes y además Las ventajas de esta sutura es que produce muy poco disturbio en la irrigación de los bordes y además permite mantener una anastomosis más amplia que la confeccionada en dos planos.^(11,13)

g.) Cirujano y Técnica. El especialista que la realiza, sus años de experiencia y el número de intervenciones previas con esa técnica. Las anastomosis con suturas necesitan una curva de aprendizaje larga, múltiples estudios revisados demuestran que los grupos de especialistas en cirugía obtienen mejores resultados en morbi-mortalidad que en los grupos de no especialistas.

En resumen conservar una buena irrigación en las bocas anastomóticas, evitar la tensión en la línea de sutura y asegurar una completa inversión de los bordes mucosos del intestino además de escoger el material adecuado de sutura son factores técnicos sencillos pero que requieren de un buen juicio y experiencia quirúrgica para su correcta aplicación. ^(11,15-17)

3.3.-MATERIAL DE UNIÓN.

3.3.1.-SUTURAS MANUALES.

Los diversos materiales de sutura se utilizan en función de distintas razones, aunque el catgut ha sido muy útil durante mucho tiempo, presenta algunas fallas, como su resistencia variable y su reabsorción impredecible, dadas estas fallas desde 1960 comenzó la búsqueda de una sustancia sintética que pudiera ser reabsorbida o degradada por los tejidos en un tiempo razonable, que no fuera tóxico, que pudiera fabricarse en forma de una fibra fuerte de anudamiento fácil y que pudiera ser esterilizable sin alteración de sus calidades físicas y propiedades biológicas.

Recién desde la década de los 70 se introdujo las primeras suturas sintéticas absorbibles, derivadas de un polímero del ácido poliglicólico, los primeros estudios demostraron que estas suturas tenían un comportamiento igual al del catgut cromado, sin los efectos secundarios de ese material.

Desde 1977 en que Laufman y Rubel publicaron una excelente revisión general del desarrollo de las suturas sintéticas absorbibles, estas han ganado el favoritismo de los cirujanos, más aún dada la persistencia de su resistencia y la baja reactividad tisular,

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

se están aplicando en lugar de las no absorbibles, lo cual permite al cirujano utilizar, en toda la operación, suturas sintéticas absorbibles de varios tamaños, en vez de diferentes materiales.

El comportamiento final de las suturas intestinales difiere de acuerdo a su localización. Las suturas absorbibles que penetran la mucosa sufren una rápida desintegración, las no absorbibles, que atraviesan todas las capas y que quedan expuestas a la luz intestinal pueden algunas veces ser expulsadas al tubo digestivo. Las suturas no absorbibles, que no ingresan a la luz intestinal, siguen sumergidas en forma parcial o total, de acuerdo con la técnica utilizada, las suturas absorbibles se comportan como las no absorbibles hasta que comienza su absorción, momento en el que se produce una reacción inflamatoria que persiste hasta que la sutura ha sido absorbida, las suturas monofilamento son las menos reactivas.

En las suturas intestinales se requiere que las agujas utilizadas sean redondas en su cuerpo y hasta su punta, ya que el orificio redondo utilizado por estas agujas se cierra con seguridad con el material de sutura y no dañan otras suturas colocadas con anterioridad.

La aguja no debe tener un diámetro mayor que el hilo que arrastra a fin de que este llene en forma total el conducto creado por la aguja.

Cuando se utiliza un sólo plano, se prefieren los materiales no absorbibles como la seda. Otros materiales usados corrientemente son el ácido Poliglycolico (Dexon®), Poliglactin (Vicryl®) o polidioxanona (PDS®). Las anastomosis requieren como soporte las suturas en un tiempo limitado de aproximadamente 10 días a partir del cual la fuerza tensil de la anastomosis es dependiente de la formación de colágena nueva y no del material de sutura.

Característica quirúrgica del Estómago: Su gruesa capa muscular, y su gran irrigación hacen que la hemorragia en la línea de sutura sea uno de los principales riesgos durante una resección o gastrotomía por esto es deseable siempre realizar una sutura continua de todos los planos, de manera preferente reforzándolo con un segundo plano seromuscular. Los aparatos mecánicos son también excelentes para hacer la nueva

curvatura menor, cerrar el duodeno y construir la anastomosis Billroth I o Billroth II ahorrando tiempo en forma significativa. El problema es el costo y mientras no se logre hacerlo más barato, la sutura manual que ha tenido tanto éxito en los cirujanos entrenados seguirá siendo ejecutado por nuestros cirujanos por mucho tiempo.

3.3.2.-SUTURAS MECÁNICAS.

Desde hace algunos años los cirujanos tenemos la opción de utilizar aparatos mecánicos para las anastomosis cuya seguridad y velocidad en su confección ha sido extensamente comprobada sin embargo no han demostrado ser mas seguras que aquellas realizadas a mano aunque son excelentes para realizar anastomosis en sitios de difícil accesos.

a.) Generalidades. La importancia de la invaginación del intestino y de la aproximación serosa-serosa, la señaló Lembert, aunque indicó que la excesiva invaginación favorecía la obstrucción intestinal. Este principio quedó establecido firmemente para las anastomosis intestinales, es decir el cierre con invaginación mucosa y aproximación de las serosas, sin embargo Travers comentaba que era mucho lo que se había hecho con las técnicas para la anastomosis intestinal y que si las suturas se colocaban en forma apropiada, cualquiera que fuera la técnica utilizada, la cicatrización se producía. Travers había dado directivas para realizar anastomosis evertidas muco-mucosas.

El uso de suturas mecánicas se inicia con Henroz, que publicó el uso de anillos gemelos que contenían agujas y orificios alternativos, que podían ser colocados por fuera del intestino y luego calzar uno contra el otro a través de los bordes evertidos de los dos extremos intestinales, este aparato es el precursor del botón de Murphy que consiste en dos cilindros huecos, que se telescopan y que presentan una cabeza en forma de hongo en cada extremo, de tal modo que cada zona terminal del intestino puede ser contenida dentro de una especie de jareta en cada cabeza del aparato, que luego se une mediante un telescopaje comprimiendo los bordes intestinales.

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

Desde estos primeros trabajos las suturas mecánicas del aparato digestivo van constituyendo una variante de las tradicionales técnicas manuales, variaciones que se dan en ciertas características especiales como los cierres muco-mucosos con suturas evaginantes, el uso de suturas metálicas, la aplicación de equipos mecánicos y la velocidad con que se pueden efectuar anastomosis casi cerradas, disminuyendo la potencial contaminación.

b.) Historia. En 1921 Aladar de von Petz presenta en Hungría un instrumento, que consistía en una pinza gigante de Payr, que transportaba dos filas de ganchos contruidos de plata, que se cargaban con la mano y que en forma secuencial iban penetrando en los tejidos mediante la rotación de una rueda. El trabajo de von Petz se baso en el instrumento de su maestro Humer Hüttl que de hecho fue el que introdujo las suturas mecánicas, si bien es cierto que en un inicio se lo utilizó sólo para el cierre temporal de viseras, cuyo extremo engrapado era luego invaginado en la forma convencional, Meyer en Nueva York refirió el uso de este instrumento para la construcción de un tubo de Beck-Jianu para el reemplazo del esófago torácico.

Friedrich logra uno de los avances más importantes al introducir cartuchos intercambiables donde podían ser recargados a mano los ganchos, permitiendo el uso repetido del mismo instrumento durante la cirugía. Es en Moscú donde se presenta un fuerte impulso al desarrollo de instrumentos de sutura mecánica, el primer instrumento parece haber sido creado por Gudov para las anastomosis vasculares, se desarrollaron toda una gama de grapas, instrumentos para el cierre del aparato digestivo, para las anastomosis muco-mucosas con invaginación o para las suturas sero-serosas de asas contiguas de intestino delgado así como otros instrumentos para el cierre y sección del estómago.

En la actualidad los instrumentos se caracterizan por su construcción funcional, la provisión de cartuchos precargados, esterilizados y descartables, de colores codificados, con partes móviles delicadas, con hojas cortantes incorporadas que convierten al instrumento en un equipo simple.

c.) Suturas mecánicas y cicatrización intestinal. Siempre debemos recordar que las técnicas para las suturas mecánicas no habilitan al cirujano para abandonar las reglas básicas de la cirugía, los instrumentos no permiten hacer al cirujano, lo que de otra manera no podría ejecutar con sus manos, no eliminan el necesario entrenamiento quirúrgico y requieren el aprendizaje de las técnicas manuales.

Las grapas o los ganchos modernos que utilizan acero carecen de reactividad para los tejidos, no se corroen y mantienen su forma gracias a sus propiedades físicas, además no son deformados por la peristalsis y no se debilitan durante el cierre.

Por su forma permiten que los vasos penetren a través de sus aberturas y entre ellos permitiendo que los muñones permanezcan viables más allá de la línea de ganchos. La cicatrización del intestino seccionado, suturado en forma mucosa-mucosa con una doble hilera de ganchos alternados, se produce en forma segura sin necesidad de invaginar o cubrir con tejidos adyacentes, la nutrición de los extremos intestinales fijados con suturas mecánicas y la cicatrización de esos extremos depende de la circulación intrínseca de la pared intestinal y no de los tejidos adyacentes.

La comparación macroscópica y microscópica de las suturas mecánicas y las realizadas con maniobras manuales muestra menor edema, hemorragia o necrosis en aquellas durante los primeros 10 días, este es el momento en que las suturas manuales muestran edema, equimosis, desgarros mucosos y aflojamiento de las suturas que penden en la luz. En experimentos controlados, la cicatrización de las anastomosis mecánicas ha resultado tan confiable como la observada con las suturas convencionales en dos planos en anastomosis entero-enterales, entero-cólicas o colo-colónicas.

d.)Complicaciones de las Suturas Mecánicas. Relacionadas con las suturas mecánicas se consideran las siguientes complicaciones:

I. Aproximación Inadecuada de los Tejidos. Puede observarse durante la cirugía que una parte del borde de sección no ha sido aproximado con los ganchos, por lo que se debe volver a aplicar el instrumento, o recurrir a la utilización de suturas manuales para cerrar el defecto. Las interrupciones de las anastomosis pueden llevar a

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

complicaciones serias o a la muerte de los pacientes por lo que se requiere tener total seguridad sobre el cierre de las mismas.

II. Hemorragia. Se pueden observar hemorragias importantes vinculadas con las suturas mecánicas y en muchos casos es necesario colocar puntos adicionales para su control. La hemorragia proveniente del borde de sección de la víscera reseca que ha sido tratada con suturas mecánicas se menciona en diferentes publicaciones y exigió la colocación de sutura sobre la línea de los ganchos, estas publicaciones consideran que las hemorragias observadas en la línea de sutura con ganchos deben atribuirse en forma directa a la técnica utilizada.

III. Falta de Visualización. Esto puede conducir a que tratemos inadecuadamente la patología como por ejemplo la ausencia de observación de una úlcera sangrante en el duodeno o al extirpar un divertículo de Meckel con suturas mecánicas, encontrar mucosa gástrica ectópica en los bordes de la pieza de resección.

La inclusión inadvertida de estructuras adyacentes, como por ejemplo la que produce ictericia debido a la inclusión del colédoco en una sutura mecánica durante la ejecución de una gastrectomía total.

IV. Fallos Técnicos. El funcionamiento defectuoso de los instrumentales puede dar lugar a bloqueos en el mecanismo de disparo que hace muy dificultosa la extracción del aparato, provoca que los ganchos no sean bien aplicados o falta de disparo de los mismos, requiriéndose colocar suturas manuales.

El uso de suturas mecánicas ha quedado establecido como un método aceptable para las suturas efectuadas en muchas operaciones del aparato digestivo, sus índices de morbilidad y mortalidad no exceden a los observados con el uso de suturas manuales, el tiempo operatorio se acorta, los estomas son más amplios y el funcionamiento se efectúa más temprano. El uso de suturas mecánicas reduce el manoseo de los tejidos.

Pero las suturas mecánicas no pueden utilizarse en todos los pacientes o circunstancias y antes de considerar su uso el cirujano debe tener cierta familiaridad con el uso de estos instrumentos y las técnicas para su adecuada utilización.

3.3.3.-SUSTANCIAS SELLANTES.

La idea de unir heridas, tejidos y anastomosis con colas o pegamentos es bastante antigua en la historia de la cirugía, conllevando la búsqueda de un adhesivo quirúrgico seguro, de acción rápida, biológicamente compatible y con la resistencia adecuada.

Hacia el año 1100 a. C. los egipcios desarrollaron una gran variedad de adhesivos que incluían la goma de acacia y muchos tipos de resinas vegetales. En el Papiro Quirúrgico de Edwin Smith, escrito en el 1700 a. C. probablemente por el médico egipcio Imhotep, se describe el cierre de lesiones con una sustancia consistente en una mezcla de cebada, avena y miel. También se sabe que las heridas practicadas durante el embalsamamiento no eran suturadas, siendo cubiertas por cera de abejas. La cinta adhesiva tiene unos cuatro mil años de antigüedad siendo posiblemente más añeja que las suturas. Hunter recomendaba un método de “sutura seca” empleando tiras de yeso con vendas de París. Por otra parte el cirujano francés Ambrosio Paré propuso un método de “sutura indirecta” utilizando fragmentos adhesivos de lino, los cuales se pegaban a la herida directamente. En 1787, Haberlein observó que muchos artesanos cerraban sus llagas usando cola de carpintero diluida con agua.

Los adhesivos tisulares son biomateriales o materiales sintéticos utilizados con fines terapéuticos, que deben reunir una serie de condiciones definidas por Cumberland en 1950, y Sales en 1953:

- El material en cuestión no debe ser alterado físicamente por los tejidos.
- Debe ser químicamente inerte.
- Debe producir escasa o nula reacción a cuerpo extraño.
- No debe ser carcinogénico.
- No debe provocar reacciones de hipersensibilidad o alergia.
- Debe resistir la tracción mecánica adecuándose a los esfuerzos a los que es sometida la herida.
- Debe poder ser esterilizado sin perder sus propiedades.

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

En 1970 W. H. Heiss establece las propiedades de un adhesivo tisular para uso quirúrgico:

- Alto poder adherente.
- Polimerización rápida sin cambio de volumen en medio húmedo.
- Baja toxicidad y ausencia de irritación tisular.
- Acción rápida, en unos segundos.
- No poseer propiedades carcinogénicas.
- Reabsorción lenta tras el cierre de la herida.
- Esterilización eficiente sin variar sus propiedades.⁽⁹⁾

Actualmente existen varias sustancias que se utilizan como sellantes en cirugía: derivados del cianoacrilato, derivados de fibrina, derivados de albúmina-glutaraldehído y los derivados de polietilenglicol entre otros.

El campo de los adhesivos tisulares (AT) esta ganando popularidad en el ámbito actual de la medicina. Los AT están presentes de forma bastante común en el ámbito quirúrgico.⁽⁹¹⁻⁹⁶⁾

Los cianoacrilatos (CA) CA son el grupo más fuerte y más homogéneo de todos los AT en términos de resistencia mecánica.⁽⁹⁰⁾

Tabla 1. Clasificación de los adhesivos tisulares (AT) en función de su origen.⁽¹⁸⁾

<u>Biológicos</u>	Fibrina homóloga	-Tissucol® (Baxter, Westlake Village, California, EE. UU.)
	Fibrina autóloga	- Vivostat® (Vivolution A/S, Birkerød, Dinamarca) -Cryoseal® (Thermogenesis, Rancho Cordova, California, EE. UU.)
	Trombina bovina	-Flo seal® (Baxter, Westlake Village, CA, EE. UU.)
	Gelatina porcina	-Surgiflo® (Ethicon, Nueva Jersey, EE. UU.)
<u>Semisintéticos</u>	Formaldehído	-Bioglue® (Cryolife, Kennesaw, Georgia, EE. UU.)
	Glutaraldehído	-GFR
	Gelatina porcina	
<u>Sintéticos</u>	Cianoacrilatos	-Glubran II® (<u>n-butil-CA</u> ; GEM Srl, Viareggio, Italia) -Ifabond® (<u>α-hexil-CA</u> ; Fimed, Les treilles, Quincie-en-Beaujolais, Francia) -Omnex® (<u>2-octil-CA y butil-lactoil-CA</u> ; Ethicon, Nueva Jersey, EE. UU.) -Histoacryl® (<u>n-butil-CA</u> ; Braun, Aesculap AG, Tuttingen, Alemania) -Dermabond® (<u>n-octil-CA</u> ; J&J, Somerville, Nueva Jersey, EE. UU.) -Indermil® (<u>n-octil-CA</u> ; Covidien, Norwalk, Connecticut, EE. UU.)

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

En el presente estudio experimental, utilizaremos dos nuevos productos derivados del n-butil-cianoacrilato, pero antes realizaremos un repaso del uso de estos sellantes en la cirugía digestiva y de los distintos tipos de derivados del cianoacrilato.



Imagen 3. n-butil-2-Cianoacrilato: Histoacryl®.

4.-UTILIDAD DE LOS ADHESIVOS TISULARES SINTETICOS EN LA CIRUGÍA.

4.1.-HISTORIA DEL CIANOACRILATO.

En el año 1942, Harry Coover descubre de forma casual el cianoacrilato de metilo (CA) mientras trabajaba en los laboratorios de Kodak buscando un material transparente para ser usado en las miras telescópicas plásticas de los fusiles de asalto; sin embargo, el producto obtenido es abandonado por su imposibilidad de empleo, debido a su rápida adhesión.

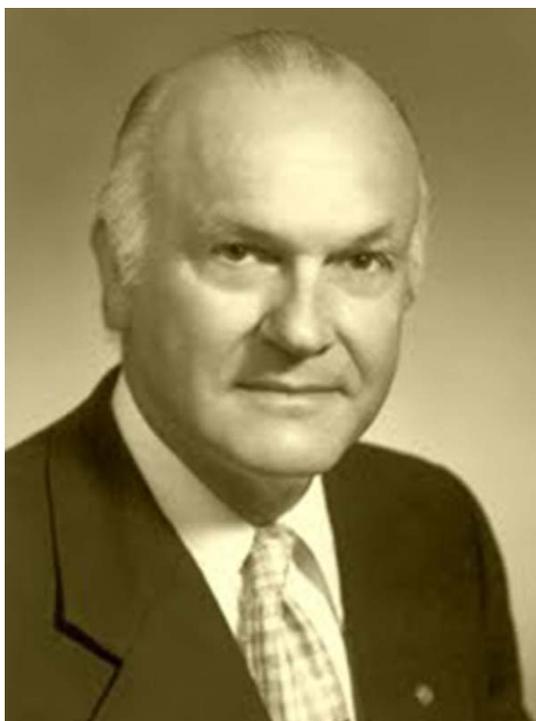


Imagen 4. Harry Coover, descubridor de los cianoacrilatos.

En 1951, cuando trabajaba con polímeros resistentes al calor para los toldos de los aviones, Coover se da cuenta por fin del interés de esta sustancia como pegamento de gran Resistencia que no precisa calor o presión para ejercer su función. El producto fue patentado en 1958 como Eastman 910 (Superglue: alcohol-catalyzed cyanoacrylate adhesive compositions), y adquirió una rápida difusión y aceptación en múltiples aplicaciones comerciales y domésticas (*Imagen 4*).

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

En la guerra de Vietnam los CA fueron usados para tratar las heridas de los soldados, con lo que se consiguió disminuir el sangrado y facilitar su traslado a centros médicos mejor dotados. Los buenos resultados obtenidos hicieron posible su aprobación para usos médicos, aunque pronto se demostró la existencia de una posible toxicidad y fueron retirados del uso civil. Estudios experimentales posteriores demostraron que el efecto tóxico era debido al formaldehído que se producía durante la degradación del metil-2-cianoacrilato. Sir H. Coover fue galardonado con la medalla nacional de la tecnología y la innovación en 2010. Murió en 2011, a la edad de 94 años. ⁽²¹⁻²³⁾

4.2.-DESARROLLO DE LOS CIANOACRILATOS.

El primer producto desarrollado tras el metil-CA fue el etil-CA ($C_6H_7NO_2$), que se caracteriza por tener una densidad específica de 1.05 g/ml, un punto de ebullición de 65 °C, un punto de ignición de 83 °C, una presión de vapor de < 0.27 kPa a 25 °C. Además, es soluble en metil-etil-cetona y tolueno, y se define ya como un adhesivo tisular sintético (AT) –es decir, no biológico– que al contacto con una superficie y mediante reacción exotérmica se pega formando una cubierta de gran resistencia. Los AT son sintetizados por condensación a partir del cianoacetato y para-formaldehído en presencia de un catalizador. Son líquidos incoloros de baja viscosidad y altamente reactivos. La aplicación de una fina lámina del producto desarrolla una rápida polimerización, usualmente entre 5 y 60 s, desencadenada por los grupos hidroxilo en la superficie en la que se está pegando.

El agua puede actuar fácilmente como este catalizador y activar la polimerización aniónica. Dado que los tejidos biológicos contienen muchos residuos de bases proteicas, los CA son extremadamente adhesivos para ellos, dado su buen potencial de humedad. Como extensión a esta propiedad principal, los CA en aplicaciones biológicas suman también los beneficios de un efecto hemostático y bacteriostático para los gérmenes grampositivos, al formar una capa oclusiva impermeable.

Los CA son capaces de mantener los tejidos en su lugar durante el tiempo necesario para que se lleve a cabo una correcta cicatrización. Un exceso de humedad (sangre, suero, etc.) puede alterar esta unión. A temperatura ambiente polimerizan por 3 mecanismos básicos: radicalia, aniónica y zwitteriónica. Iniciadores de esta polimerización pueden ser los aniones CH_3COO^- , OH^- , I^- , las bases débiles como los alcoholes, el agua, y los aminoácidos presentes en los tejidos vivos.

Al degradarse forman cianoacetato y formaldehído, causante este último de una reacción inflamatoria local tóxica e irritante (*Imagen 5 y 6*).

Como adhesivos tisulares poseen 3 características elementales: a) gran resistencia en la adhesión; b) son biocompatibles, y c) son biodegradables, además de tener una gran facilidad de aplicación y estabilidad. Su desventaja fundamental es la rapidez de su efecto, que hace prácticamente imposible poder rectificar las superficies a unir (*tablas 1 y 2*).^(18, 24, 25)

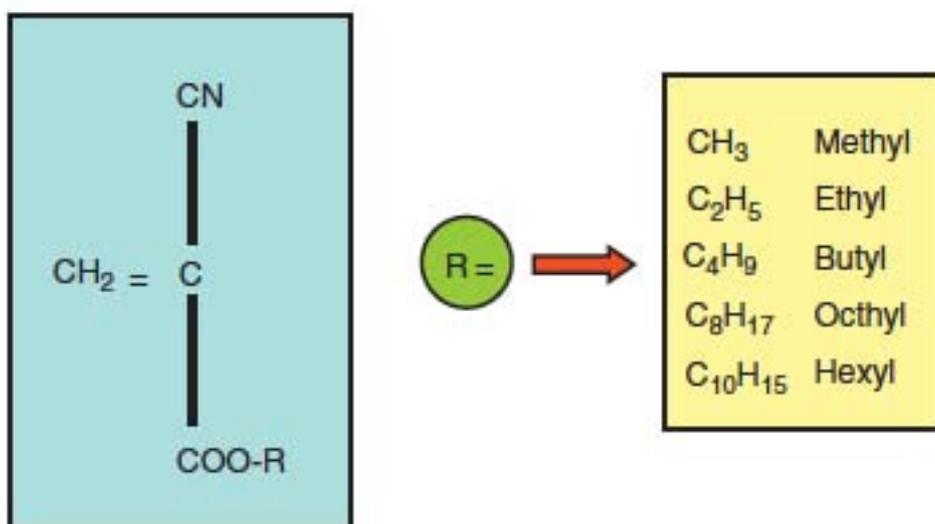


Imagen 5. Estructura general de los cianoacrilatos.

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

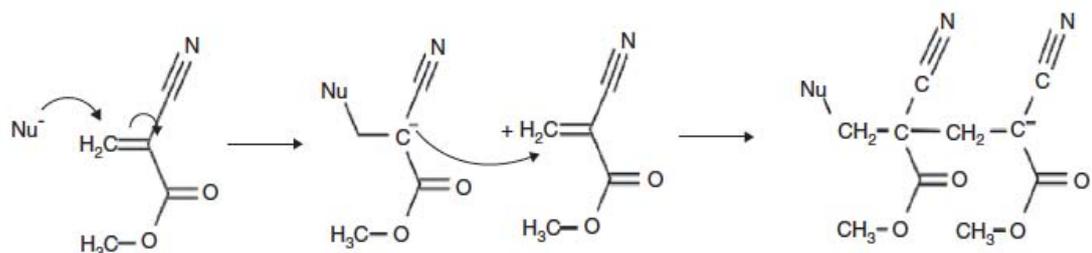


Imagen 6. Reacción de polimerización y subproductos de degradación.

4.3.-DERIVADOS DEL CIANOACRILATO.

Las primeras publicaciones sobre su uso clínico aparecieron en los años sesenta. El metil-2-cianoacrilato (monómero Eastman 910[®]) fue el primer derivado empleado como adhesivo quirúrgico. Posteriormente se desarrollan los derivados de cadena larga; el etil-2-cianoacrilato (Krazy Glue[®]), el isobutil-2-cianoacrilato (Bucrylate[®]), el n-butil-cianoacrilato (Histoacryl[®]) y el octilcianoacrilato (Indermil[®]).

El alquil-2-cianoacetato se obtiene mediante el proceso de esterificación de Fisher entre el éster glicolato y el ácido cianoacético. Posteriormente con la reacción entre el alquil-cianoacetato y el formaldehído, al vacío y con calor, se obtiene un monómero líquido parecido al agua en su aspecto y viscosidad, el cianoacrilato. El número de carbonos del grupo alquilo (cadena lateral -R) puede variar desde uno (metil-cianoacrilato) hasta cuatro (butil-cianoacrilato) u ocho (octil-cianoacrilato); cada uno de estos compuestos tienen su peculiar comportamiento biológico (Imagen 7).

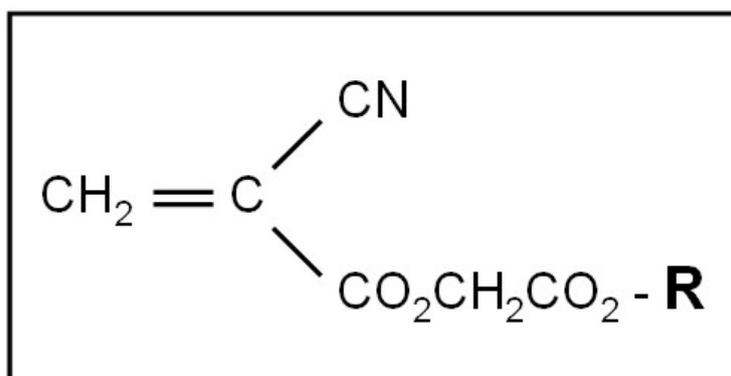


Imagen 7. Fórmula química del alquil-2-cianoacrilato.

Actualmente podemos distinguir 2 grupos de CA basándonos en la longitud del radical en el grupo carboxilo del polímero, ya que esta variación estructural influye significativamente en sus propiedades clínicas:

1) Los de cadena corta (metil- o etil-). Se degradan muy rápidamente *in vivo*, y el formaldehído producido causa una rápida toxicidad tisular. Estos derivados han sido retirados del uso médico.

2) Los de cadena larga (butil-, hexil- y octil-). Son menos citotóxicos, ya que presentan una degradación mucho más lenta, sin alcanzar una concentración de formaldehído superior a la que se presenta en la sangre de forma habitual y, por ello, pueden ser utilizados de forma segura en múltiples aplicaciones médicas, tanto a nivel externo como interno. ⁽²⁶⁻³⁰⁾

El metil-2-CA ya fue utilizado como adhesivo quirúrgico. Este derivado de cadena corta contiene un grupo metil- como subunidad ($\text{R} = \text{CH}_3$). Aunque fue considerado un gran avance, su uso fue rápidamente limitado, al demostrarse su citotoxicidad. Más tarde se sintetizó el etil-2-CA, que aunque contenía un grupo carboxilo más largo, también causaba una considerable reacción inflamatoria con una mayor formación de seromas, necrosis tisular y reacción a cuerpo extraño. En ambos casos la degradación de la cadena corta iniciaba una respuesta inflamatoria aguda, seguida de una reacción crónica tipo células gigantes a cuerpo extraño. Investigaciones posteriores demostraron que la citotoxicidad era proporcional a la longitud de la cadena

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

del monómero, lo que llevó a sintetizar productos de cadena más larga como el butil- o hexil-. El butil-2-CA presenta una biodegradación mucho más lenta, de lo que resulta una mínima toxicidad al permitir una aclaración más eficiente de los subproductos de degradación. A pesar de las buenas publicaciones iniciales, también aparecieron estudios que advertían de que su uso bajo la piel en tejidos bien vascularizados causaba una marcada inflamación subcutánea con el consiguiente eritema o infección. El octil-2-CA fue el primer monómero en pasar todos los requisitos internacionales obligados para el uso de un medicamento en 1998. Su resistencia a la rotura es 4 veces mayor que la de sus predecesores, es muy superior a la de los adhesivos de fibrina y equivale a la de una sutura de nailon de 4-0, pero solo se aconsejaba para uso externo, sobre la piel. Nuevos derivados, como el hexil-2-CA, presentan actualmente los mismos resultados, pero libres de toxicidad (ya que la cantidad producida de formaldehído es muy débil, por debajo de los índices sanguíneos normales) y con posibilidad de aplicación tanto externa como interna, con lo que se consigue una mejor resistencia adición al y plasticidad, lo que aumenta la flexibilidad de los tejidos. ^(28, 31-33, 36)

4.4.-PROPIEDADES.

Inicialmente se demostró que los CA causaban toxicidad tisular. Este efecto es inapreciable en los preparados para uso médico, debido a la pequeña proporción de impurezas del producto. A pesar de ello, es cierto que cuando se usa un AT se produce una reacción inflamatoria que puede conllevar necrosis tisular e incluso fenómenos de trombosis arterial. Los CA se degradan espontáneamente en polímeros, y el formaldehído parece ser el principio que al acumularse en las zonas tratadas causa el efecto citotóxico, tanto *in vitro* como *in vivo*. Actualmente, se sabe que esta degradación del CA y la aparición del formaldehído pueden ser evitadas al modificarse la longitud del radical alkil- (del metil- o etil- al radical butil-o hexil-CA). Este aumento de la cadena produce un enlentecimiento del proceso de degradación y disminuye el efecto tóxico del producto por unidad de tiempo, lo que evita el problema de los derivados de cadena corta. Este fenómeno ha sido clínicamente documentado por Maw *et al.*⁽³⁷⁾ A pesar de todo, no disponemos todavía de estudios metabólicos *in vivo*, por lo que lo más recomendable sería aconsejar siempre el uso de la menor cantidad de CA necesaria para obtener la función que buscamos, lo que aumentará nuestra seguridad en la aplicación del producto.⁽¹⁸⁾

Toxicidad e histocompatibilidad.

Aunque los primeros trabajos afirmaban un escaso poder tóxico, estudios más recientes aseguran su citotoxicidad, siendo menos citotóxicos los de cadena larga (butil y octil-cianoacrilato) que los de corta (etil y metil-cianoacrilato). Esta propiedad se relacionó inicialmente con el calor generado durante el proceso exotérmico de la polimerización y con la producción de compuestos citotóxicos. En la actualidad se cree que el daño tisular es causado principalmente por una reacción oxígeno dependiente, resultado de la activación del TXA2 por la asociación de radicales libres con lípidos, produciendo isquemia local y trombosis. El cianoacrilato es descompuesto en formaldehído y mediadores carbonilo que reaccionan con los citados radicales produciendo la destrucción de las células (*Imagen 8*). Así, la dosis letal media del butil e isobutil-cianoacrilato en ratas es de 230 mg/Kg. y 196 mg/Kg. respectivamente, valores seguros para su uso clínico. ^(26, 38, 39, 71)

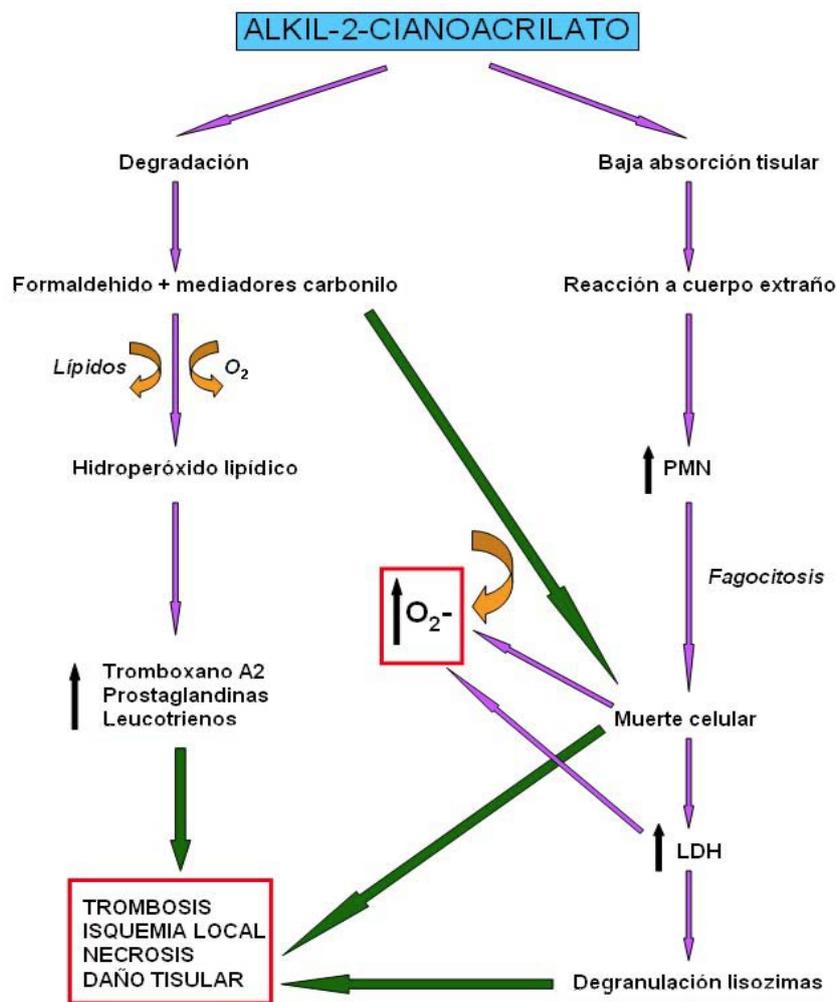


Imagen 8. Mecanismo de toxicidad del cianoacrilato.

Existen referencias en la literatura que muestran un efecto citotóxico de los CA al entrar en contacto directo con células *in vitro*. La polimerización se produce mediante reacción exotérmica, lo que genera calor y explica el potencial daño celular. Se ha sugerido que los CA pueden actuar mediante 2 mecanismos: 1) generar hidroperóxidos lipídicos, que activarían la biosíntesis de prostaglandinas y tromboxanos, y 2) oxidar y lisar membranas celulares. Estos 2 mecanismos explican algunos de los fenómenos trombóticos y de necrosis que aparecían con los derivados de cadena corta. Algunos estudios han observado también que el uso de inhibidores de la prostaglandina H sintetasa, como el ácido acetilsalicílico y la indometacina, reducen dicha citotoxicidad.⁽¹⁸⁾

Degradación y reabsorción del adhesivo.

La degradación de los derivados de cadena corta es más rápida, desencadenando una respuesta inflamatoria aguda con activación del TXA₂, producción de radicales libres y productos histotóxicos como el formaldehído y el cianoacetato, que ocasionan necrosis coagulativa. Esta es la razón por la que estos compuestos no se utilizan en la clínica y si como potentes adhesivos industriales.

Los cianoacrilatos de cadena hidrocarbonada larga, como el hexil, octil y decil derivados, muestran mayor utilidad como adhesivos quirúrgicos ya que producen polímeros que se degradan lentamente liberando pequeñas cantidades de productos tóxicos, permitiendo un mejor aclaramiento tisular. Con estos compuestos sólo se ha comprobado una reacción inflamatoria crónica leve por reacción a cuerpo extraño del tipo de células gigantes multinucleadas.⁽⁴⁰⁾

Potencial carcinogénico.

Los estudios iniciales en la década de los sesenta parecían relacionar la aparición de fibrosarcomas en ratas con la inyección de dosis elevadas de metil-2-cianoacrilato, si bien con escasa significación estadística. Además, estas neoplasias son relativamente frecuentes en estos animales sin necesidad de exposición tóxica.

Actualmente, no existe ninguna publicación clínica que relacione los CA con toxicidad a largo plazo o que evidencie que tengan efecto carcinogénico. Los de cadena

corta sí se han relacionado con la posibilidad de genotoxicidad, como es el caso del methyl-2-CA, con el que se ha demostrado un efecto mutagénico *in vitro* en un microsoma de *Salmonella*. A nivel molecular, el incremento de la cadena alquil- reduce esta posibilidad de toxicidad. La pureza del compuesto y su longitud de radical son, por tanto, 2 parámetros a conocer para evitar posibles efectos adversos. A pesar de todo, necesitamos de mayor documentación sobre el metabolismo de estos productos dada la gran difusión que podrían alcanzar en el campo médico y quirúrgico.^(25, 41)

Propiedades bacteriológicas.

En varios trabajos se ha demostrado un efecto bacteriostático de los adhesivos derivados del cianoacrilato. Este poder antimicrobiano se constata frente a gérmenes gram positivos como *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Candida albicans*. Estos hechos también se han verificado, aunque con menor intensidad, frente a gram negativos como *Escherichia coli* y *Pseudomonas Aeruginosa*. Esta consecuencia puede ser resultado de la potente carga electronegativa del polímero resultante que reacciona con la pared celular del germen. Estudios realizados sobre quemaduras y heridas traumáticas, demuestran que la colonización bacteriana es menor tras el empleo de estos compuestos, observándose por tanto una cicatrización por segunda intención más rápida. A su vez se ha podido objetivar un efecto esporicida.⁽⁴²⁾

4.5.-APLICACIONES QUIRURGICAS.

Son muchas las áreas de la medicina donde los cianoacrilatos se muestran útiles; oftalmología, cirugía máxilofacial y odontología, cirugía torácica, ginecología, cirugía cardiovascular, otorrinolaringología, neurocirugía, cirugía ortopédica, urología, cirugía del aparato digestivo y también en radiología intervencionista como material embolizante. En la clínica se han empleado derivados del butil-cianoacrilato como el Hystoacril[®], el Glubran[®], y del octil-cianoacrilato como el Dermabond[®].

Algunas de las aplicaciones médicas y quirúrgicas en las que han sido empleados los CA se muestran en la *Tabla 2*.

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

Tabla 2. Ejemplos de aplicaciones médicas y quirúrgicas de los compuestos de cianoacrilato publicados en la literatura.⁽¹⁸⁾

Especialidad	Aplicaciones
Cirugía general	Reparación de heridas Control de la hemorragia Refuerzo de anastomosis
Cirugía torácica	Cierre de fuga pulmonar
Neurocirugía	Reparación de nervios periféricos
Cirugía plástica	Tratamiento del labio leporino Laceraciones faciales Barrera de piel humana
Otorrinolaringología	Reconstrucción de la cadena ósea Estabilización de cartílagos
Urgencias Digestivo	Reparación heridas traumáticas Control del sangrado de varices esofagogástricas y úlceras gastroduodenales Cierre de fístulas biliares refractarias a drenaje Cierre de fístulas pancreáticas
Oftalmología	Reparación temporal de perforaciones corneales Cirugía de cataratas
Radiología	Embolización de malformaciones vasculares y aneurismas o fístulas arteriovenosas
Pediatría	Cierre de heridas y hemostasia
Ginecología	Cierre de episiotomía
Traumatología	Fijación de fracturas Tratamiento de colgajos óseos
Urología	Anastomosis de vía urinaria
Odontología	Cierre de heridas de mucosa oral Apósito periodontal Estomatitis aftosa Fracturas dentales

El uso más aceptado es como adhesivo para reparar heridas traumáticas o quirúrgicas, y del que existe una amplia documentación acumulada de más de 30 años. En la actualidad disponemos de algunas revisiones y metanálisis que demuestran que no hay diferencias estadísticamente significativas entre la proporción de heridas con dehiscencia, la tasa de infecciones, el resultado estético o la satisfacción del paciente o del cirujano al tratar una herida de forma mecánica (con sutura) o química (con CA), pero sí que presentan ventajas en cuanto al tiempo de tratamiento (entre un 30-60 % menos que con las suturas, relacionado sobre todo con el tiempo del cirujano, la disminución en la necesidad de equipos, servicios y visitas en el seguimiento), la posible formación de queloides o el riesgo de incidentes por exposición a instrumentos (agujas y pinzas) estimado por Makary entre el 1.4 % y 15 % de todos los procedimientos quirúrgicos, posiblemente infravalorado y asociado a un alto coste económico y social. ^(22, 33-35, 43)

Cirugía plástica.

Probablemente sea el campo quirúrgico donde más profusamente se han empleado estos compuestos, sobre todo en cirugía facial. El resultado estético es comparable o incluso mejor que la sutura convencional, sin observarse mayor número de dehiscencias o infecciones. Cuando se emplea en laceraciones lineales menores de 4 cm, con baja tensión en sus bordes, siendo éstos limpios y separados menos de medio centímetro, el adhesivo se demuestra tan eficaz como una sutura y la unión es igual de estable a los 7 días de la intervención. También se ha descrito menor índice de infecciones, menor reacción a cuerpo extraño y una más rápida epitelización, en particular con el uso de butil-cianoacrilato y octil-2-cianoacrilato. Para ello, la aplicación del adhesivo no debe realizarse en el interior de la herida, ya que actúa como una barrera para la correcta reparación, ocasionando una amplia cicatriz con incremento de la colonización bacteriana por una exagerada reacción a cuerpo extraño. ⁽⁴⁴⁻⁴⁷⁾

Cirugía del árbol traqueobronquial.

Existen varios trabajos experimentales donde se describe la reparación de defectos traqueales a varios niveles en distintos tipos de animales. Así las cosas, en experimentos efectuados en perros en la porción traqueal mediastínica, se practicó cobertura de la

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

lesión realizada con un colgajo músculo-pleural siendo el cierre estanco y satisfactorio a largo plazo.

En experiencias realizadas en conejos a nivel de la tráquea cervical, se practicaba una resección anterior de cinco milímetros y se cubría el defecto con un parche de teflón o con un colgajo miofascial de platisma, empleando en ambos casos adhesivo de cianoacrilato. Se observó que la combinación tejido autólogo-pegamento era eficaz para mantener estanca la pared traqueal a diferencia de los casos en los que se utilizaba material protésico donde se producía mediastinitis supurada. Transcurridas de tres a cuatro semanas apareció una fina cicatriz y la mucosa se presentaba nuevamente turgente y lisa. No se observó estenosis. Los primeros días, en la zona de la herida, se observó el acumulo de pequeñas cantidades de fibrina, inflamación y enrojecimiento de la mucosa. Al examen histológico, las partículas de adhesivo aparecieron inicialmente rodeadas de un denso ribete de leucocitos, detectándose la presencia de células gigantes multinucleadas a cuerpo extraño. Después de la fase inflamatoria aguda, se observa un tejido cicatricial pobre en elementos nucleares. El tejido de granulación en la zona de la herida se extendía entre las partículas de adhesivo formando puentes titulares. Los elementos empleados como plastia finalmente se transformaron en tejido conectivo.^(49, 50)

También se han empleado los adhesivos de cianoacrilato en la preservación de aloinjertos traqueales empleando como animal de experimentación la rata Wistar albina; de esta forma se preservaban segmentos traqueales extirpados de un animal donante empleando el pegamento y se implantaban en el músculo recto del animal receptor. A las tres semanas se sacrificaban los animales y se procesaban los injertos analizando las poblaciones de linfocitos, polimorfonucleares, histiocitos, eosinófilos, plasmocitos, así como la presencia de fibrosis, neovascularización o necrosis, llegando a la conclusión de que estas sustancias se muestran eficaces en la preservación de los aloinjertos y disminuyen los fenómenos de rechazo.^(51, 52)

Desde un punto de vista clínico el empleo de estos adhesivos prácticamente se ha limitado al cierre de fístulas bronquiales postoperatorias frecuentes a resecciones

pulmonares mayores, a través de maniobras endoscópicas, con algunos resultados satisfactorios.⁽⁵³⁾

Cirugía del aparato digestivo.

Los primeros trabajos sobre anastomosis experimentales fueron publicados en los años sesenta, empleando metil-2-cianoacrilato sobre intestino canino en el tratamiento de fistulas yeyunales recurrentes y como refuerzo de anastomosis gastroyeyunales; se pudo demostrar que los resultados clínicos y en tiempo quirúrgico eran equiparables a la sutura convencional. También se ha empleado en hemostasia hepática y esplénica. Sin embargo, poco tiempo después dejó de utilizarse este derivado tras comprobarse un alto grado de histotoxicidad. Debido a esta circunstancia se evaluaron otras sustancias como el n-butil-cianoacrilato observándose incluso una mejor cicatrización que con las uniones convencionales empleándolo sólo, y un incremento de la resistencia de la anastomosis cuando se usa concomitantemente con suturas mecánicas. De hecho, en experimentos en cerdos se constata su utilidad en anastomosis intestinales de alto riesgo.⁽⁴⁸⁾

La eficacia clínica y la seguridad de los adhesivos sintéticos han sido evaluados en las suturas digestivas a nivel experimental. Su uso es cada vez más frecuente. Sin embargo, poco se sabe acerca del papel de los nuevos adhesivos sintéticos flexibles, creados a partir del n-butil-cianoacrilato, en el cierre gástrico y en las anastomosis intestinales.

Cirugía de la pared abdominal.

El análisis de la bibliografía actual nos permite obtener las siguientes afirmaciones respecto al uso de los AT en la cirugía de la pared abdominal: 1) facilidad de aplicación; 2) no precisan de antibióticos; 3) disminuyen la necesidad de anestesia; 4) sellado hermético de las zonas aplicadas; 5) disminuyen el tiempo quirúrgico; 6) eliminan la necesidad de suturas en más del 50 % (en heridas superiores a 5 cm); 7) mayor bienestar durante el tratamiento y durante el periodo postoperatorio; 8) no presentan efectos adversos (salvo en pacientes alérgicos); 9) abaratan el coste global del proceso quirúrgico por el ahorro en la anestesia, en el tiempo de quirófano, en las

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

suturas, necesidad de analgésicos y visitas o curas durante el seguimiento; 10) dejan una cicatriz de resistencia adecuada (aunque algo menor que con suturas o tackers) pero más estética y con menor dolor crónico, y 11) no modifican la tasa de dehiscencias o recidivas respecto al uso de una sutura tradicional.

Sin embargo, estas conclusiones deben ser tomadas con la adecuada reserva, pues aunque están apoyadas en estudios, algunos de ellos presentan problemas metodológicos como los siguientes: a) calidad general deficiente; b) inclusión de diferentes patologías y técnicas; c) diferentes grupos de pacientes en edad y patologías asociadas; d) pequeño tamaño muestral; e) falta de definiciones precisas (dehiscencia, infección, hematoma, dolor, etc.); f) diferentes métodos de medida, de escalas y de puntuación; g) inclusión de varios adhesivos diferentes; h) exclusión de las incisiones en áreas de tensión; i) heridas de longitud superior a 5 cm, y j) pacientes con deterioro de la cicatrización de la herida. ^(18-20, 95)

4.6.-PRODUCTOS COMERCIALES. ⁽¹⁸⁾

Es necesario recordar primero la diferencia entre los AT sintéticos y los biológicos, ya que se confunden con frecuencia, incluso entre los propios cirujanos se utilizan indistintamente. Hay que tener claro que los adhesivos biológicos son concentrados de fibrinógeno y factor XIII, preparados a partir de plasma humano y que son clasificados como «drogas» por la agencia mundial del medicamento, lo cual es una gran diferencia, ya que los AT son clasificados como «productos médicos». Además, los adhesivos biológicos pueden tener contaminación (riesgo de transmisión de enfermedades), requieren de una preparación previa (mientras los AT pueden ser aplicados inmediatamente después de su apertura) y son mucho más caros.

Glubran II®:

Es el adhesivo tisular **derivado de comonomero n-butil-CA**, con elevadas propiedades adhesivas y hemostáticas, y que presenta la marcación de la Unión Europea clase III para uso interno. Es un producto transparente que forma una delgada capa que una vez se solidifica puede ser fácilmente atravesada con una aguja de sutura, ya que la polimerización no forma agregados cristalinos. El tiempo de polimerización puede variar en función del tipo de tejido con el que la cola entra en contacto, de la cantidad y naturaleza de los líquidos presentes y de la cantidad de producto aplicado, y alcanza una temperatura de 45 °C (*Tabla 3*). En condiciones de correcta aplicación la cola empieza a solidificarse después de 1 o 2 s, y completa su reacción de solidificación en torno a los 60-90 s. Al final de esta reacción la cola alcanza su máxima Resistencia mecánica. Una vez sólida ya no tiene ningún poder adhesivo, por lo que se podrán yuxtaponer tejidos o gasas quirúrgicas sin correr el riesgo de adherencias no deseadas. La película de cola se elimina a través de un proceso de degradación hidrolítica cuya duración depende del tipo de tejido y de la cantidad utilizada. Su principal desventaja es su moderada pureza y la presencia de otros compuestos agregados a la formulación. Dispone de introductor para dosificación endoscópica y forma de aplicación en spray, aunque esta es algo engorrosa y necesita de las 2 manos para poder sujetar el dispositivo por su longitud (la cola se une al gas en una varilla larga).



Imagen 9. Glubran II® dispositivo laparoscópico. Derivado de comonomero *n*-butil-CA.

Histoacryl®:

El histoacryl® es un adhesivo tisular líquido y estéril, compuesto por **n-butil-2-CA** (sinónimo: enbucrilato), que polimeriza en contacto con el calor y la humedad y se convierte en un material sólido y resistente que presenta una absorción completa al cabo de un año –aproximadamente– por mecanismos celulares, fagocitosis por macrófagos y células gigantes. Se presenta teñido con un tono azul en ampollas de plástico de 0.5 ml, con una caducidad de 24 meses, y totalmente histocompatible. Para la fijación de mallas en la hernia inguinal se aconseja dejar caer una gota cada 2 cm aproximadamente, para facilitar la integración de la malla o en el lugar donde habitualmente se usan los puntos de sutura o tackers. El color azul facilita la visión de la gota. La polimerización tarda unos 10 s, y la máxima unión se crea en 1 min; por encima de los 10 s ya no se puede recolocar la malla. Se precisa solo una ampolla (0.5 ml) para fijar una malla de 10 x 15 cm. Esta dosis no altera el proceso de integración normal de la malla, ni modifica sus propiedades ni funcionalidad. Aunque es un preparado de mayor pureza, también tiene una temperatura de polimerización cercana a los 50 °C.



Imagen 10. Histoacryl® .*n*-butil-2-CA.

Dermabond®:

Dermabond® es un **derivado del n-octil-CA** que contiene una traza variable de estabilizador radical en su formulación y que en 1998 se convirtió en el primer pegamento aprobado por la FDA para el cierre tópico de heridas cutáneas. A pesar de tener su indicación para uso externo, también se ha utilizado para fijar mallas en la reparación de las hernias. Para conseguir su efecto adhesivo necesita unos 30 s. manteniendo las superficies unidas, que es el tiempo que tarda en cristalizar formando una capa sólida pero flexible. Este proceso no se acelera soplando o ventilando la zona. Posteriormente se aconseja esperar un mínimo de 3 min a que el pegamento se seque completamente, ya que este alcanza su estructura y fuerza definitiva en 3-5 min., proporcionando una firmeza de unión similar a la obtenida a los 7 días cuando se fija mediante sutura. Se presenta en viales líquidos y transparentes de 0.5 y 0.7 ml.



Imagen 11. Dermabond®. Derivado del n-octil-CA

Ifabond®:

Es el adhesivo tisular líquido **derivado del monómero de n-hexil-CA** que sólo contiene mínimas trazas de estabilizantes (radical y aniónico). Fue sintetizado por el Dr. Valérie Vidal-Sailham en 2004, y se denominó pegamento EG 2000. Reformularizado en 2006 para conseguir una mejor duración de su vida, pasó a llamarse Microbond, y obtuvo en 2007 su marca CE para empleo como sustituto de tacker y suturas para fijar mallas en las hernioplastias. Finalmente, en 2009, pasó a llamarse Ifabond®. Obtuvo una nueva licencia para ser usado sin limitaciones en todos los procedimientos quirúrgicos, tanto de nivel externo como interno. Las ventajas fundamentales de este preparado son su gran pureza y la baja temperatura de polimerización que presenta, lo que contribuye a evitar su toxicidad como adhesivo, a la vez que, al no existir casi impurezas en su formulación, no se ve afectada su eficacia como adhesivo.

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

Esta pureza del Ifabond® permite no tener que recurrir al uso de estabilizantes (generalmente tóxicos) utilizados de manera frecuente en otros CA. Se presenta en viales de 0.5 y 1 ml. Dispone de introductor para cirugía endoscópica y de un sencillo aplicador para dosificar en spray fácil de usar y controlar con una sola mano (Tabla 3).



Imagen 12. Ifabond® .Derivado del monómero de n-hexil-CA

Tabla 3. Propiedades de los cianoacrilatos en cirugía (marcación de la comunidad europea).

Adhesivos tisulares sintéticos derivados del cianoacrilato				
	Ifabond®	Glubran II®	Histoacryl®	Dermabond®
Compuesto	α-hexil	n-butil	n-butil	n-octilo
Empresa	Fimed (Francia)	GEM Srl (Italia)	B Braun (Alemania)	J&J (EE. UU.)
Marcación	III	III	IIb	IIa
Pureza	98	64	96	80
Temp. (grados)	+2	45	45	40-45
T. (s)	1-30	1-90	5-7	95-180
Degradación (meses)	3-9	>12	12	5-14d

III: uso interno y externo; IIb: uso externo; pureza en % de cianoacrilato; Temp.: temperatura de polimerización; T.: tiempo de polimerización. Los datos no incluidos no han sido facilitados por la empresa consultada.

5.-LA RATA COMO ANIMAL DE EXPERIMENTACION.

5.1.-RATA WISTAR.

Los roedores son especies muy utilizadas en experimentación biológica por su coste reducido, fácil manejo y mantenimiento en cautividad, precisando de instalaciones relativamente sencillas, siendo además muy prolíficos alcanzando el estado adulto en poco tiempo. La rata de laboratorio deriva de la rata salvaje marrón o *Rattus Norvegicus*.



Imagen 13A. Sala de quirófano del Estabulario.

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

La rata Wistar (*Imagen 5 y 6A ,B, C*), utilizada en este trabajo, fue seleccionada por H.H. Donaldson a principios del siglo XX en el Instituto Wistar de Filadelfia (U.S.A.) (llamado así en honor de Caspar Wistar (1761-1818), médico dedicado al estudio de la anatomía y poseedor de una colección de modelos anatómicos) es una rata albina, de tamaño medio (el peso de una hembra adulta es de unos 300 gramos, y algo mayor el de un macho) con una buena tasa de crecimiento, dócil y fácil de manipular.

Es considerada como un animal polivalente desde el punto de vista experimental, con una vida media larga lo que la hace especialmente útil en técnicas de supervivencia y de patología tumoral.

La taxonomía de la rata de laboratorio es:

- Clase: *Mammalia*.
- Subclase: *Theria*.
- Infraclasse: *Eutheria*.
- Orden: *Rodentia*.
- Suborden: *Myomorpha*.
- Superfamilia: *Muroidea*.
- Familia: *Muridae*.
- Subfamilia: *Murinal*.
- Género: *Rattus*.
- Especie: *Norvergicus*.^(54, 55)



Imagen 13B. Rata Wistar.

5.2.-ANATOMIA E HISTOLOGIA GÁSTRICA DE LA RATA.

El estómago es la cavidad del sistema digestivo donde se degradan los alimentos por la acción de los jugos gástricos. Tiene forma de J y está aplanado en el eje antero-posterior. Se encuentra a continuación del esófago. En la zona de transición entre ambos se encuentra el esfínter esofagogástrico, que evita el reflujo del contenido estomacal hacia el esófago. El paso del esófago al estómago supone un gran cambio anatómico e histológico en el tubo digestivo.

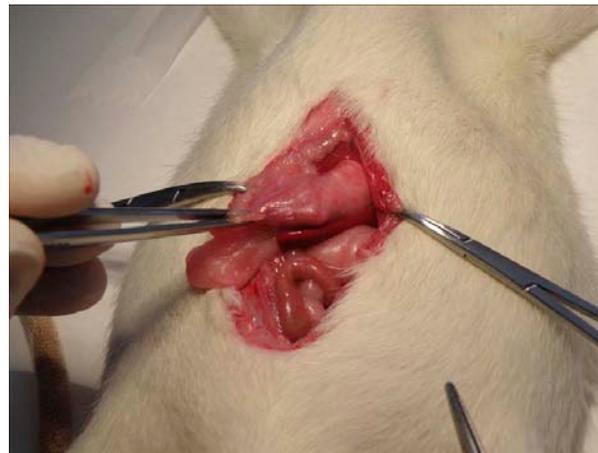


Imagen 14A, 14B y 14C: Rata Wistar.

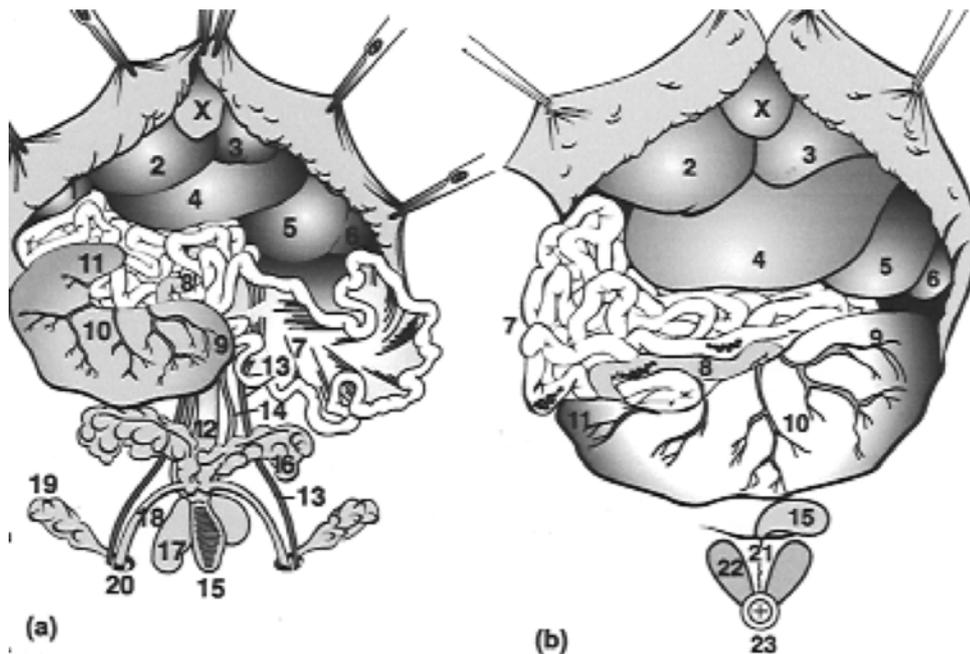


Imagen 15. Visión ventral de la cavidad abdominal (XY), ciego a la derecha (a) o en posición central (b) ^(56, 57)

- X cartilago xifoidea.*
- 1 lobus hepatis dexter lateralis.*
- 2 lobus hepatis dexter medialis.*
- 3 lobus hepatis sinister medialis.*
- 4 lobus hepatis sinister lateralis.*
- 5 fundus ventriculi.*
- 6 lien (spleen).*
- 7 jejunum and its mesenterium.*
- 8 ileum.*
- 9 basis ceci.*
- 10 corpus ceci.*
- 11 apex ceci.*
- 12 rectum.*
- 13 arteria et vena spermatica interna sinistra.*
- 14 ureter sinister.*
- 15 vesica urinaria, facies dorsalis .*
- 16 glandula vesicularis sinistra.*
- 17 prostata ventralis, lobus dexter.*
- 18 ductus deferens dexter.*
- 19 paniculus adiposus.*
- 20 canalis inguinalis dexter.*
- 21 symphysis pelvis.*
- 22 glandula preputialis.*
- 23 preputium.*

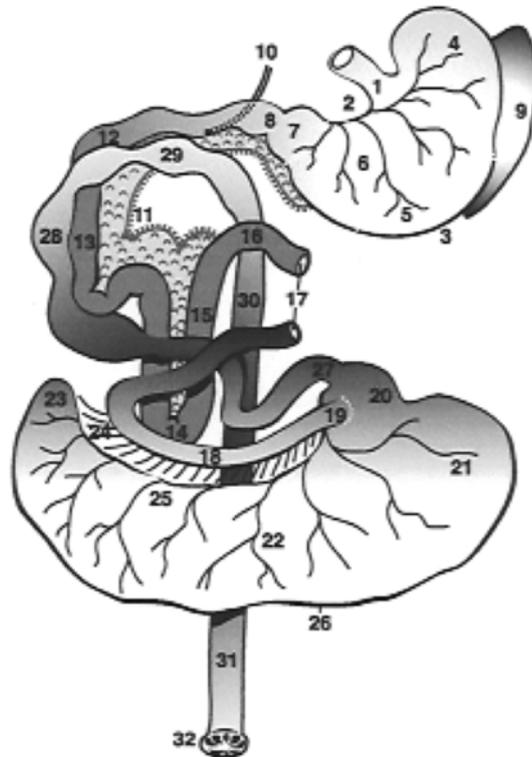


Imagen 16. Visión ventral del tracto gastrointestinal después de retirar el yeyuno.^(56, 57)

- | | |
|--|---------------------------|
| 1 esophagus et ostium cardiacum. | 17 jejunum. |
| 2 curvatura ventriculi minor. | 18 ileum. |
| 3 curvatura ventriculi major. | 19 ostium ileocecale. |
| 4 saccus cecus (proventriculus). | 20 excavatio ceci. |
| 5 fundus ventriculi. | 21 basis ceci. |
| 6 corpus ventriculi. | 22 corpus ceci. |
| 7 pars pylorica ventriculi. | 23 apex ceci. |
| 8 ostium pyloricum. | 24 ligamentum ileocecale. |
| 9 lien (spleen). | 25 curvatura ceci minor. |
| 10 ductus hepatoentericus (choledochus). | 26 curvatura ceci major. |
| 11 pancreas. | 27 ostium cecocolicum. |
| 12 flexura duodeni cranialis. | 28 colon ascendens. |
| 13 pars descendens (duodeni). | 29 colon transversum. |
| 14 flexura duodeni caudalis. | 30 colon descendens. |
| 15 pars ascendens (duodeni). | 31 rectum. |
| 16 flexura duodenojejunalis. | 32 anus. |

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

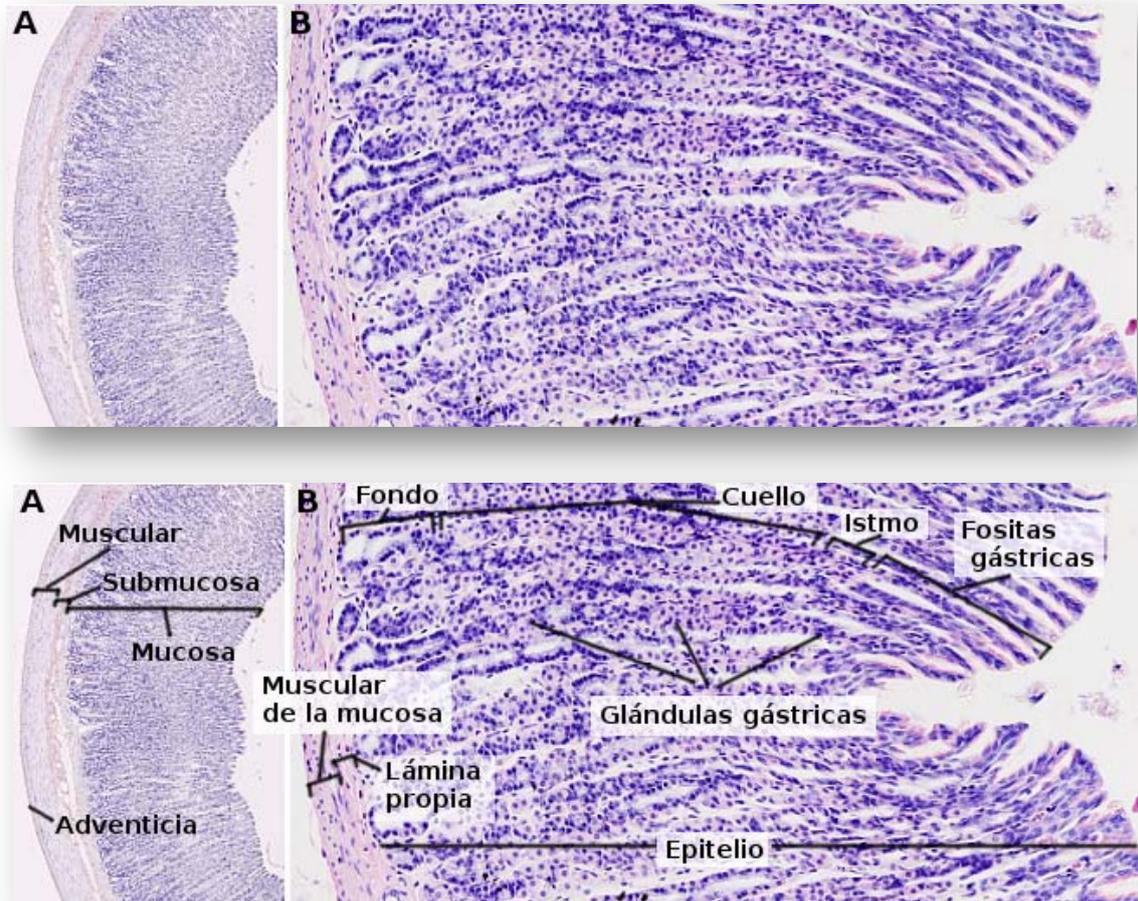


Imagen 17. Órgano: Estómago. Especie: Rata. (*Ratus norvegicus*). Técnica: Secciones de parafina, teñidas con hematoxilina-eosina. ⁽⁵⁸⁾

Al estómago llega la comida masticada y humedecida en saliva. En él permanece la comida varias horas mientras es movida por la musculatura estomacal y degradada gracias a la secreción de los jugos gástricos, los cuales están formados por ácido clorhídrico, enzimas y moco. Los diferentes componentes de los jugos gástricos son liberados por las células epiteliales.

Entre las enzimas liberadas por las células estomacales están la pepsina, que degrada proteínas, o la lipasa, que degrada las grasas. Se liberan también moléculas que permiten la absorción de vitaminas, así como hormonas tales como la gastrina.

En el estómago se observan 4 partes: el cardias es la zona de unión con el esófago; el fundus es una región dilatada que forma una especie de bóveda que sobresale por encima del cardias; el cuerpo es la región más extensa del estómago; el antro pilórico es la región más pequeña del estómago que en forma de embudo se estrecha para unirse al intestino formando el píloro. Esta zona contiene el esfínter pilórico que permite el paso del contenido gástrico a la porción inicial del intestino delgado, el duodeno.

Al igual que el resto del digestivo, el estómago está formado por cuatro capas: la mucosa, la submucosa, la muscular y la serosa (*Imagen 9A*).⁽⁵⁸⁾ La mucosa del estómago está formada por un epitelio simple de células cilíndricas altas que forma pliegues muy compactados. En las zonas más profundas de esos pliegues se forman las fositas gástricas o foveolas, cavidades en las que desembocan las glándulas gástricas. Éstas son tubulares simples o ramificadas. El epitelio de las foveolas está formado por células de revestimiento secretoras de moco que lubrican la superficie de la mucosa, y la protegen de posibles lesiones.

Basándonos en la histología de la mucosa encontramos únicamente tres zonas en el estómago con características propias: el cardias, la región fúndica, que engloba el fundus y el cuerpo, y la región pilórica que incluye el antro pilórico y el píloro.

En la zona del cardias se observa un paso brusco del epitelio estratificado plano del esófago al prismático simple, el cual se invagina para formar las foveolas, que en esta región son poco profundas. En su fondo desembocan glándulas principalmente mucosas y de morfología túbulo alveolar, con características similares a las que se encuentran en el esófago. Pero en este caso entre las células mucosas se localizan unas pocas células enteroendocrinas secretoras de gastrina, hormona que interviene en la motilidad del estómago y en la activación de células secretoras.

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

La región fúndica (comprende al fundus y al cuerpo) se diferencia en que las fositas de los pliegues de la mucosa son de una profundidad moderada, en el fondo de las cuales desembocan hasta siete glándulas gástricas. En este caso son glándulas tubulares, rectas y alargadas, llegando incluso hasta la muscular de la mucosa. La región más alta de la glándula recibe el nombre de cuello o istmo y en esta parte del estómago una glándula gástrica presenta cinco tipos celulares en su epitelio. En mayor o menor medida, estas células también aparecen en las otras regiones del estómago.

Las células mucosas del cuello producen un moco sulfatado líquido distinto del que secretan las células mucosas situadas más superficialmente en los pliegues. Se concentran en la región del cuello de la glándula fúndica.

Las células madre se encuentran en la parte superior del cuello y son responsables de la renovación del epitelio tanto de las células superficiales de revestimiento como de todos los tipos celulares de la glándula.

Las células parietales u oxínticas producen el ácido clorhídrico. Se distinguen claramente de las demás por su voluminoso citoplasma eosinófilo, tienen una forma más o menos triangular y a veces presentan dos núcleos. Se localizan principalmente en la parte del cuello, aunque también se encuentran en la parte más profunda de la glándula.

Las células principales son más pequeñas y de citoplasma basófilo ya que su producto de secreción es la pepsina, que se sintetiza en forma de pepsinógeno inactivo. Esta secreción está estimulada por la gastrina, histamina y acetilcolina. Sin embargo, son inhibidas por la somatostatina. Su localización en esta parte del estómago es principalmente en la parte inferior de la glándula.

Por último, las células endocrinas se distribuyen por toda la mucosa gástrica. Se diferencian por su morfología y sintetizan diversas hormonas y neurotransmisores.

Los últimos 5 cm del estómago constituyen la región pilórica que se caracteriza por la presencia de profundas foveolas y glándulas tubulosas ramificadas y enrolladas.

Las células glandulares producen principalmente moco aunque también se localizan células parietales secretoras de pepsinas y células endocrinas secretoras de gastrina.

El epitelio del estómago descansa sobre una lámina basal bajo la cual se extiende la lámina propia de la mucosa. Esta capa está formada por tejido conjuntivo laxo rico en tejido linfoide difuso. Es delgada y contiene fibras de colágeno y reticulares. Debajo se encuentra la muscular de la mucosa que contiene dos capas, una con fibras musculares orientadas de forma circular y otra de forma longitudinal. A veces aparece una tercera orientada de forma oblicua.

La submucosa está formada por conectivo laxo con numerosos linfocitos y células plasmáticas. Contiene numerosos vasos sanguíneos y linfáticos. Bajo la mucosa se encuentra la capa muscular formada por 3 capas de músculo liso: una interna oblicua, una intermedia circular y una externa longitudinal. Entre las capas longitudinal y circular se encuentran numerosas fibras nerviosas que forman el denominado plexo de Auerbach, las cuales coordinan las contracciones estomacales para digerir la comida.

La serosa del estómago es similar a la de otras partes del aparato digestivo. Se continúa con el peritoneo de la cavidad abdominal y visceral.

CAPÍTULO II.- INTRODUCCIÓN

**III.PLANTEAMIENTO,
HIPOTESIS Y OBJETIVOS.**

1.-PLANTEAMIENTO.

Uno de los aspectos críticos del resultado quirúrgico es la ejecución correcta de la técnica. Esto es particularmente importante mientras se realiza la sutura de una anastomosis.

A pesar de que los materiales y técnicas quirúrgicas empleadas en la actualidad para la realización de suturas gástricas han disminuido considerablemente las complicaciones postoperatorias (como la fistula y la dehiscencia de sutura), la aparición de alguna de estas complicaciones sigue comportando un grave problema de difícil reparación.

Son muchos los factores locales y sistémicos que se han señalado como cruciales para determinar el éxito de la sutura. Por otra parte, una serie de detalles técnicos para la correcta evolución de una sutura, tales como la correcta hemostasia y la vascularización, la aposición de los bordes del tejido o evitar la tensión, ya han sido descritos. ^(59, 60)

A pesar de que los factores locales y sistémicos dependen de las características de los tejidos del propio paciente y que por lo tanto no son susceptibles de modificación en el procedimiento quirúrgico, si que podemos actuar sobre los aspectos técnicos.

Las suturas gástricas y anastomosis se realizan no sólo durante los procedimientos resectivos sino también tras las complicaciones de úlceras pépticas o en el cierre del acceso endoscópico después de la cirugía endoscópica transgástrica. Aunque infrecuente, la dehiscencia de sutura gástrica es una complicación grave con consecuencias potencialmente mortales que se debería evitar. Se produce en el 4,2% de los pacientes tras de una gastrectomía ⁽⁶¹⁾ y en el 4% después de la sutura de una úlcera perforada primaria. ⁽⁶²⁾ Además, los enfoques novedosos como el NOTES (Cirugía Endoscópica Transluminal por Orificios Naturales) se asocian en ocasiones a la contaminación abdominal e infección postoperatoria, lo que contribuyen notablemente a aumentar la morbi-mortalidad relacionada con este procedimiento. ^(63, 64)

CAPÍTULO III.- PLANTEAMIENTO. HIPOTESIS Y OBJETIVOS

Muchas sustancias diferentes se han utilizado como alternativas a las suturas manuales o suturas mecánicas clásicas. ^(65, 90) Estas se pueden subdividir en biológicas (fibrina, trombina, colágeno, transglutaminasa tisular, polisacáridos ...) o sintéticas (acrilo, cianocrilato, polietilenglicol y sustancias a base de uretano).

Un procedimiento ideal con adhesivos, alternativo a la sutura, debería ser fácil de aplicar, debería polimerizarse rápidamente, crear respuesta inflamatoria intraabdominal leve con el fin de evitar adherencias y debería tener una toxicidad mínima.

A pesar de algunos otros comentarios críticos ^(48, 67), los adhesivos tisulares derivados del cianocrilato tienen esas características, y por lo tanto pueden facilitar un cierre óptimo de la herida gástrica. Los cianoacrilatos se pueden aplicar de manera uniforme y rápida y sus propiedades físicas permiten aproximar los bordes de la herida, aislando la cavidad peritoneal de la luz gastrointestinal sin perjudicar la correcta vascularización.

En los últimos años se ha incrementado la investigación y el uso de colas y sellantes en las diferentes especialidades quirúrgicas, evaluándose y demostrándose de esta manera su fiabilidad en múltiples intervenciones. ⁽⁹¹⁻⁹⁶⁾

Los adhesivos derivados del cianoacrilato se han empleado previamente en el campo vascular ^(68, 69), a nivel nervioso ^(66, 70, 91-95), fijaciones de malla ^(18, 96) y más recientemente, como refuerzo de las anastomosis intestinales.

Sin embargo, los cianoacrilatos se han utilizado casi exclusivamente de forma experimental en las anastomosis de colon, donde muestran resultados prometedores en términos de seguridad y de viabilidad en animales pequeños y grandes. ^(71-73, 97-100) Tal como demuestra la Tesis Doctoral de la Dra. Natàlia Guàrdia, donde parte de su trabajo influye en este proyecto de investigación coordinado por el Dr. Juan Francisco Julián en el Hospital Universitari Germans Trias i Pujol.

Además, la experiencia clínica con este adhesivo en la zona gastroesofágica se limita a la anastomosis gastroyeyunal ⁽⁷⁴⁾ y a las fistulas postoperatorias o cutáneas ⁽⁷⁵⁻⁷⁷⁾ , pero siempre como refuerzo complementario a la sutura manual o mecánica previa, y no como único material de unión.

En el campo concreto de la cirugía digestiva gástrica, la utilidad de los sellantes no está bien establecida. No hemos encontrado ninguna experiencia ni clínica ni experimental en el que el cianoacrilato se utilice como único mecanismo de unión en ambos bordes de la sutura.

Por lo tanto, nuestro planteamiento es determinar si los adhesivos sintéticos nos permiten realizar una unión permanente entre las estructuras orgánicas para el cierre de una sutura gástrica induciendo una correcta cicatrización.

Y para ello, evaluamos la viabilidad técnica y la seguridad del cierre gástrico usando dos nuevos y diferentes adhesivos sintéticos flexibles derivados del n-butil-cianocrilato (Histoacryl Flexible[®] e Histoacryl DK[®]) como un único elemento de unión después de una gastrotomía longitudinal comparándolo con una sutura manual tradicional.

2.-HIPOTESIS DE TRABAJO.

Si las colas sintéticas derivadas del cianocrilato pueden conseguir una adhesión permanente en diferentes tejidos orgánicos, tal como se refleja en la literatura reciente, su utilización como único elemento de unión en las suturas gástricas va a permitir mantener la integridad del tubo digestivo postoperatorio y su estanqueidad de una forma inmediata y mantenida.

3.-OBJETIVOS.

3.1.-OBJETIVO PRINCIPAL.

- Demostrar la eficacia de las nuevas y flexibles colas sintéticas derivadas del n-butil-cianocrilato (Histoacryl Flexible[®] e Histoacryl DK[®]) como único material de unión en las suturas gástricas en el animal de experimentación.

3.2.-OBJETIVOS SECUNDARIOS.

- Demostrar la resistencia de los n-butil-cianoacrilato mediante un test de presión en un estudio piloto.
- Determinar la correcta evolución de los parámetros clínicos y analíticos del animal sometido a sutura gástrica efectuadas con adhesivo sintético derivado del n-butil-cianocrilato.
- Determinar la correcta evolución de los parámetros analíticos y de inflamación (PCR) del animal sometido a sutura gástrica efectuadas con adhesivo sintético derivado del n-butil-cianocrilato.
- Demostrar la integridad histológica y la cicatrización progresiva de las anastomosis.
- Evaluar posible toxicidad orgánica en relación al uso de los nuevos cianocrilatos.
- Efectuar un análisis comparativo entre los tres grupos sobre la aparición de adherencias o fugas anastomóticas.

CAPÍTULO III.- PLANTEAMIENTO, HIPOTESIS Y OBJETIVOS

IV.ESTUDIO PILOTO.

1.-ESTUDIO PILOTO:

Estudio comparativo de presión mínima de fuga entre sutura manual gástrica, unión gástrica con cianocrilato (HF) y unión gástrica con cianoacrilato (H2K).

1.1.-INTRODUCCION.

Se realiza una prueba piloto antes del procedimiento experimental con la intención de determinar la resistencia de la sutura en función del tipo de cierre primario mediante un test de presiones. Además, esta prueba piloto nos permitirá limar y refinar el procedimiento quirúrgico experimental. Se mejora así, la capacidad del personal que realiza el estudio permitiendo el perfeccionamiento de las técnicas y la reducción al mínimo de las posibles complicaciones no previstas .

En este proyecto no hay métodos alternativos, ya que la cicatrización es un proceso evolutivo en el tiempo, a más participan varios sistemas orgánicos por el que no se podría demostrar con pruebas *in vitro* o órganos aislados, por lo tanto, se requiere de un organismo vivo completo.

1.2.-MATERIALES Y METODOS.

Se ha realizado el estudio piloto con 10 ratas, dónde cada una de las ratas se le ha aplicado el siguiente esquema con la misma técnica que se ha expuesto en el Capítulo V.- Material y Metodos (apartado 2.3):

RATA	Método de Unión
1	Estómago Sano-Control
2, 3, 4	Sutura Manual
5, 6, 7	Histoacryl Flex [®]
8, 9, 10	Histoacryl DK [®]

CAPÍTULO IV.- ESTUDIO PILOTO

Ratas 2, 3 y 4:

Laparotomía, gastrotomía amplia (1cm) y sutura gástrica manual mediante puntos discontinuos de **Seda 5/0** con aguja cilíndrica, cierre de la laparotomía con Seda 2/0 continua.

Ratas 5, 6, y 7:

Laparotomía, gastrotomía amplia (1 cm) y unión gástrica con **Histoacryl Flex[®]**, cierre de la laparotomía con Seda 2/0 continua .

Ratas 8, 9, y 10:

Laparotomía, gastrotomía amplia (1 cm) y unión gástrica con **Histoacryl DK[®]**, cierre de la laparotomía con Seda 2/0 continua .

Este estudio piloto compara la presión mínima de fuga entre los tres grupos de ratas y es útil para minimizar errores de procedimiento y aumentar la pericia en la aplicación de los cianoacrilatos en la gastrotomía de cara al estudio experimental principal, ya que es la primera vez que se usa esta sustancia adhesiva como único material de unión. Al finalizar la sutura o la unión de la gastrotomía en función del grupo se procede al cierre duodenal y esofágico mediante mosquitos.

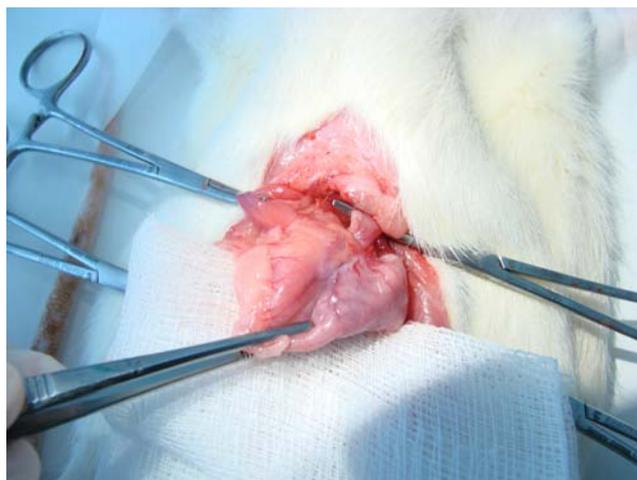


Imagen 18. Cierre duodenal y esofágico mediante mosquitos .

Se introduce un catéter intragástrico que nos dará las presiones del interior del estómago. El catéter está conectado a un equipo de suero con 2 conexiones con una llave de 3 pasos y a un suero fisiológico de 500 cc. Al pie de un palo de suero se coloca un manómetro graduado en centímetros de agua. El punto 0 se hace coincidir a nivel abdominal del animal. Se gira la llave de 3 pasos haciendo que el suero llene la columna de agua del manómetro hasta el 0. Después se gira la llave de manera que se abre la conexión entre el manómetro y el catéter y se puede calcular la presión del estómago sin contenido intestinal. Por la otra vía se administra suero fisiológico, 1 cc a 1 cc, para medir la presión máxima capaz de soportar el estómago suturado. Esto nos va a permitir determinar el grado de resistencia y de distensibilidad gástrica que ofrece el estómago en función del adhesivo y de la sutura aplicada.

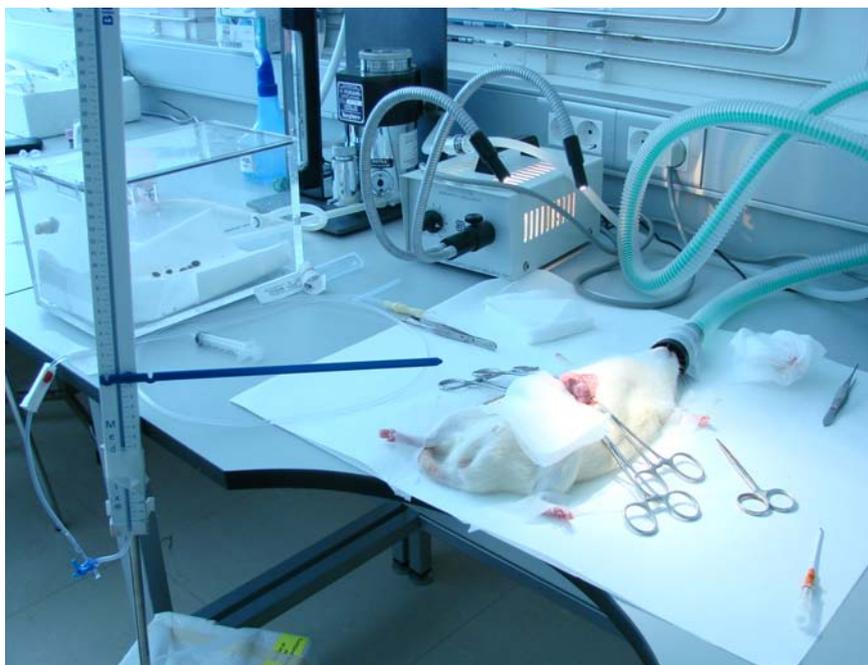


Imagen 19. Preparación para la realización del estudio de presiones.

Inicialmente se realiza comprobación de la capacidad del estómago sin aplicar ningún tipo de adhesivo sintético ni sutura. Se añade suero a nivel del catéter hasta alcanzar los 30 cmH₂O que es la máxima distensión gástrica.



Imagen 20. (A). Catéter intragástrico que nos dará las presiones del interior del estómago .

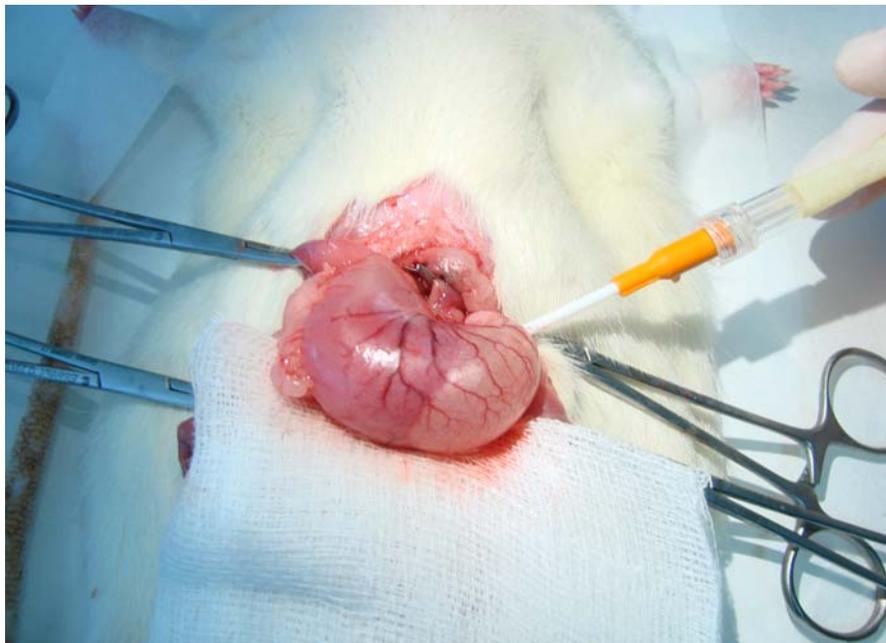


Imagen 20. (B). Introducción de suero fisiológico en el estómago ocluido en ambos extremos con mosquitos.



Imagen 21. Presiones que tolera el estómago control.

1.3.-RESULTADOS.

En el grupo **Sutura** (ratas 2, 3, y 4) las presiones mínimas de fuga son 12, 13 y 11 cmH₂O respectivamente.

En el grupo **Histoacryl Flex**[®] (ratas 5, 6, y 7) las presiones mínimas de fuga son 25, 23 y 20 cmH₂O respectivamente.

En el grupo **Histoacryl DK**[®] (ratas 8, 9, y 10) las presiones mínimas de fuga son 19, 17 y 17 cmH₂O respectivamente.

Tabla 4: En los siguientes grupos los resultados fueron estos.

Rata	Aplicación	Valores
2	Sutura	Fuga a los 12 cmH ₂ O
3	Sutura	Fuga a los 13 cmH ₂ O
4	Sutura	Fuga a los 11 cmH ₂ O
5	Histoacryl Flex	Fuga a los 25 cmH ₂ O
6	Histoacryl Flex	Fuga a los 23 cmH ₂ O
7	Histoacryl Flex	Fuga a los 20 cmH ₂ O
8	Histoacryl DK	Fuga a los 19 cmH ₂ O
9	Histoacryl DK	Fuga a los 17 cmH ₂ O
10	Histoacryl DK	Fuga a los 17 cmH ₂ O

1.4.-CONCLUSION.

Los cianoacrilatos son el grupo más fuerte y más homogéneo de todos los adhesivos tisulares en términos de resistencia mecánica. ⁽⁹⁰⁾

En el estudio piloto se observa que existe mayor resistencia con el Histoacryl Flex, pero macroscópicamente se observa una mayor elasticidad del tejido con el Histoacryl DK.

Con la sutura manual hay fugas mas precoces a medida que aumentamos los niveles de presión intragástrico. En cuanto a resistencia, la sutura queda en último lugar.

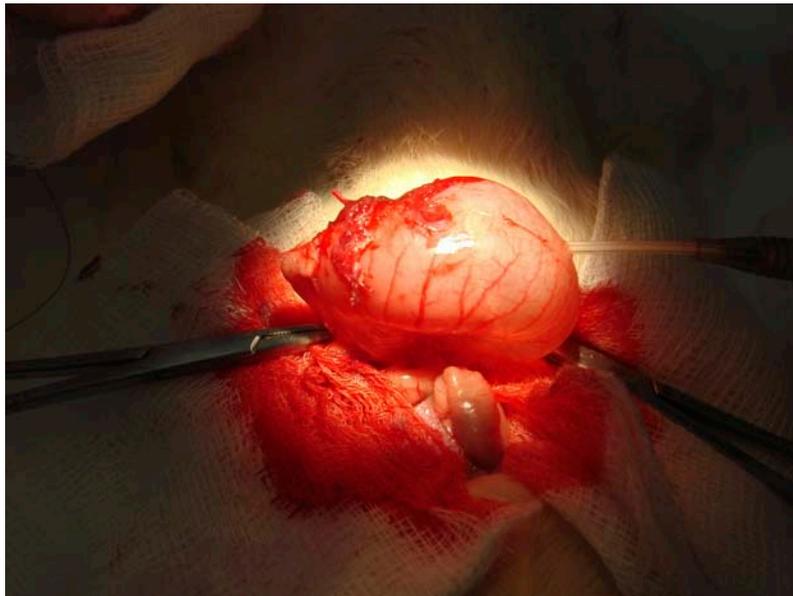


Imagen 22. Introducción de suero al estómago con gastrotomía cerrada con HF.

Estos resultados, nos permiten afirmar la viabilidad inicial y la reológica básica de los cianoacrilatos para llevar a cabo nuestro estudio experimental principal.

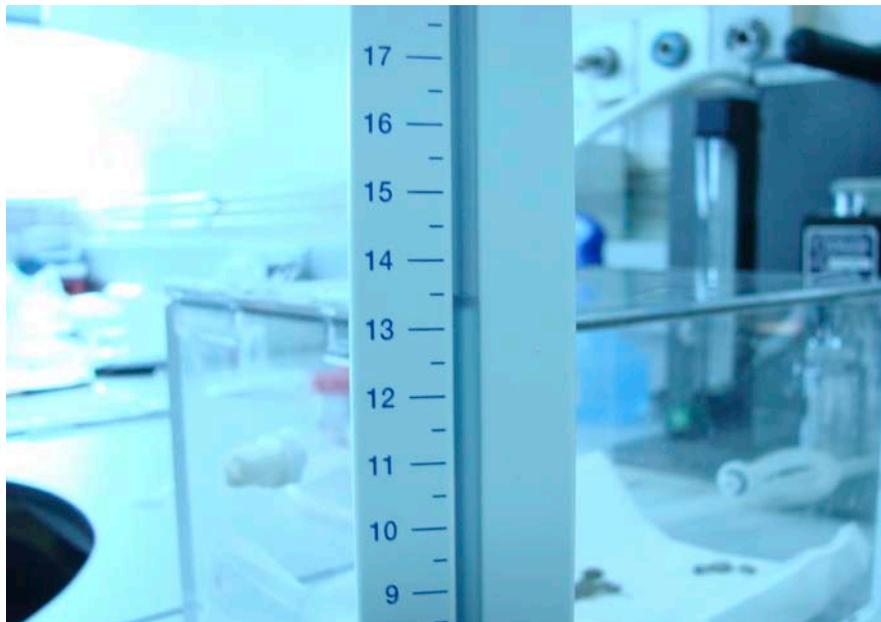


Imagen 23. Presión mínima de fuga de la sutura manual en la rata 3.



Imagen 24. Presión mínima de fuga del HF en la rata 5.

V.MATERIAL Y METODOS.

1.-MATERIAL.

1.1.-ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.

Al ser el primer estudio donde se utilizan adhesivos sintéticos flexibles de nueva generación derivados del cianoacrilato como material de unión, y no como sellantes o refuerzo de una sutura gástrica, se utilizan en primera instancia con animales pequeños.

La decisión de utilizar estos muridos en los experimentos se fundamenta en varias motivaciones; es un animal de accesibilidad y manejo excelentes, podemos decir que su empleo se encuentra estandarizado, es fácil de obtener, de costo relativamente bajo y escaso mantenimiento; presenta además una buena tolerancia a la agresión quirúrgica y anestésica, y permite prescindir de ayudante en la intervención en muchas ocasiones, y también de una estricta asepsia.⁽⁵⁴⁾

Dado el posible riesgo de complicaciones postoperatorias graves que pueden ocasionar sufrimiento a los animales, antes de empezar el proyecto definitivo se realiza un estudio piloto con sólo 10 ratas. Si los resultados son satisfactorios se lleva a cabo el proyecto completo con 24 ratas.



El estudio se realizará con 24 ratas macho Wistar albinas de entre 250 - 350 gr. provenientes de los laboratorios Harlan.

Estas ratas se mantendrán en el estabulario en condiciones estándar de temperatura, ventilación e humedad, con ciclos de luz de 12 hrs. y jaulas conjuntas, controladas antes y después de las intervenciones con la misma dieta a base de pienso Teklad global y agua *ad libitum*.

Imagen 25. Rata Wistar.



Imagen 26. Racks de ratas.



Imagen 27. Dieta a base de pienso.

1.2.-MARCO LEGAL.

En todo momento, tanto en la etapa preoperatoria, como durante la intervención, los cuidados postoperatorios y el sacrificio de los especímenes, se respetó el marco legal vigente sobre experimentación animal.

En instancias europeas, la Directiva 86/609/CEE se modificó en 2003, mediante la Directiva 2003/65/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de julio. (D.O.U.E, L 230 de 16 de septiembre, p. 32) para poder adoptar el Protocolo de Enmienda al Convenio 123.⁽⁷⁸⁾

En nuestro país, el Real Decreto 1201/2005, de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos (BOE no 252, de 21 de octubre, p. 34367) desarrolla la Directiva 86/609/CEE. Regula, entre otros aspectos, las condiciones en que se pueden utilizar animales de experimentación, el registro de establecimientos de cría, suministradores y usuarios de animales, los requisitos de las instalaciones y equipos de los mismos, tanto humanos – haciendo especial hincapié en cual debe ser su formación- como materiales. Establece asimismo la creación tanto de comités éticos de bienestar animal en los centros de titularidad estatal como de la Comisión Ética Estatal de Bienestar Animal.⁽⁷⁹⁾

Desde el 8 de diciembre de 2007 es de aplicación la Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio. El objetivo de esta Ley es establecer las normas básicas para la manipulación y experimentación animal. Con esta Ley se completa la normativa nacional ya existente, incorporando al ordenamiento jurídico algunos aspectos de la normativa comunitaria en materia de protección animal, incluyendo la tipificación de infracciones y sanciones. Comprende en su ámbito de aplicación tanto las explotaciones (incluyendo los centros donde se alojan animales de experimentación) como los medios de transporte y de sacrificio.⁽⁸⁰⁾

CAPÍTULO V.- MATERIAL Y METODOS

En resumen, se utilizarán en el presenta estudio 34 ratas adultas macho tipo Wistar (250-350 gr., Harlan S.A. Barcelona, España) que serán alojadas y alimentadas en condiciones estándar de laboratorio.

Todos los animales recibirán atención humanitaria, con acceso libre a comida y agua. También, se han seguido estrictamente las directrices de la Comunidad Autónoma de Cataluña (Directiva Catalana D214/1997) y las directrices de la Unión Europea para el cuidado Ético de animales de experimentación (CE Directiva 86/609/CEE para animales de experimentación). Se ha obtenido el permiso del Comité Autonómico de Ética para la Experimentación Animal.

10 ratas serán utilizadas para un estudio piloto (Estudio comparativo de presión mínima de fuga entre sutura manual, Histoacryl Flexible[®] e Histoacryl DK[®]) para evaluar la viabilidad y la seguridad en el trabajo experimental posterior.

Las otras 24 ratas que formaran parte del estudio experimental serán divididas en 3 grupos (n = 8 cada uno) dependiendo del tipo de material utilizado para el cierre de la gastrotomía.

1.3.-INSTALACIONES Y MATERIAL.

1.3.1.-INSTALACIONES.

El proyecto experimental se realizará en las instalaciones del estabulario del Centro de Experimentación Animal (CEA) de la Fundación de Investigación en Ciencias de la Salud Germans Trias y Pujol, por parte de un equipo del Servicio de cirugía General y Digestiva, que dispone de titulados en experimentación animal, “Personal Investigador Usuario de Animales en Experimentación”. Existe colaboración del Servicio de Anatomía Patológica, el Servicio de Bioquímica y el Servicio de Hematología, a más de los técnicos del estabulario expertos en el mantenimiento y trato de los animales de experimentación.



Imagen 28. Estabulario del Centro de Experimentación Animal (CEA) de la Fundación Instituto de Investigación en Ciencias de la Salut Germans Trias i Pujol.



Imagen 29. Estabulario del Centro de Experimentación Animal (CEA) de la Fundación Instituto de Investigación en Ciencias de la Salud Germans Trias i Pujol.

1.3.2.-Quirófano y Material Quirúrgico.

El quirófano donde se realizaran las intervenciones sigue las normas higiénicas adecuadas, antes y durante las operaciones y las extracciones sanguíneas.

Las ratas se mantienen en dieta hídrica un mínimo de ocho horas antes de la cirugía y el primer día postoperatorio, no los días de extracción de sangre que siguen la dieta habitual. Cualquier tipo de intervención se realiza con los animales bajo anestesia general con Fluorane inhalado más oxígeno. En el postoperatorio se trata a las ratas, para paliar el posible dolor, con Metacam[®] (meloxicam) diluido en el agua de su bebedor a 1 mgr/Kg. La eutanasia se realiza, según el plan de trabajo posteriormente expuesto, con una sobredosis de pentobarbital sódico 200 mgr/Kg. intraperitoneal.



Imagen 30. Sala de quirófano del Estabulario.



Imagen 31. Espacio y material de quirófano.

Para la realización de las intervenciones se dispuso de material quirúrgico estándar y también de microcirugía.^(81, 82)

- Mangos de bisturí de los números 3 y 4 para hojas desechables.
- Tijera curva de Mayo.
- Tijera curva de Metzembraum
- Tijera de Westcott recta.
- Separador de Farabeuf.
- Separador de Langebeck.
- Pinzas de disección, con y sin dientes.
- Disector.
- Pinzas de Dumont, rectas y curvas.
- Porta-agujas de Castroviejo.
- Porta-agujas de Hegar-Mayo.
- Gasas.
- Sutura de seda 5/0 y 2/0 (Silkam[®] de la casa B. Braun).
- Sutura de polipropileno 6/0 (Prolene[®] de la casa Ethicon).

1.4.-CIANOACRILATOS: HISTOACRYL FLEXIBLE[®] (HF) e HISTOACRYL DK[®] O DOUBLE COMPONENT (H2K).

En 1949 se sintetizó la primera cola sintética a base de cianocrilato y diez años después se empezó a usar en la cirugía. Poco después algunos estudios demostraron que los cianocrilatos de cadena corta como el metil-cianocrilato, a pesar de poseer un gran poder adhesivo, eran tóxicos con los tejidos y este hecho limitó su uso. Posteriormente se sintetizaron nuevos cianocrilatos de cadena larga como el butil-2-cianocrilato que conservando la característica de ser un potente adhesivo, disminuye el efecto indeseado de la citotoxicidad.

El adhesivo tisular Histoacryl[®] se compone de monómeros n-butil-2-cianoacrilato, que polimeriza rápidamente en relación con el líquido de los tejidos.

Después de superar las múltiples valoraciones y test que se precisan el Histoacryl[®] ha sido aprobado como un dispositivo médico quirúrgico de clase III (uso quirúrgico interno y externo) conforme a los requisitos de la Disposición Europea 93/42/CEE.

1.4.1.-CARACTERISTICAS.

Las propiedades más destacadas del Histoacryl[®] son su poder adhesivo y su capacidad hemostática. Además ha demostrado poseer una marcada acción antiséptica ante los agentes infecciosos más habituales en las intervenciones quirúrgicas.

La cola Histoacryl[®] es de densidad líquida, el producto está listo para usar, no requiere mezclas entre los diferente componentes , este hecho le confiere una ventaja respecto a otros con las mismas indicaciones.

Los adhesivos titulares basados en cianoacrilatos presentan las ventajas siguientes:

- son 100 % reactivos y fáciles de aplicar.
- son estables cuando se almacenan a menos de 5 °C.
- forman enlaces muy fuertes con gran número de sustratos.
- presentan una polimerización rápido cuando se dispersan en películas finas.

Entre sus desventajas está el hecho de no admitir correcciones, por lo que se precisa de un cuidado extremo a la hora de realizar el afrontamiento de los tejidos para el sellaje.

La utilización de los cianoacrilatos como adhesivos tisulares se reporta a partir de 1950 con el empleo del material comercial Eastman910®, a base de cianoacrilato de metilo. El adhesivo fue usado primeramente como sellante y hemostático de órganos cortados y más tarde sus usos se extendieron a la anastomosis sin sutura en el tracto digestivo y vascular, reforzamiento de aneurismas intracraneales, reposicionamiento de fracturas, como epitelio artificial de la córnea, etc.

Posteriormente, los estudios realizados indicaron que los cianocrilatos de metilo y de etilo son rápidamente hidrolizados por el organismo, lo cual produce efectos adversos en el tejido circundante. Es por ello que se centró la atención en monómeros de cadenas más largas, como el 2-cianoacrilato de n-butilo y el 2-cianoacrilato de n-octilo, los cuales muestran una degradación más lenta y una despreciable histotoxicidad. ^(18, 26-30, 35, 39, 40)

Histoacryl Flexible® (HF) (B.Braun) e Histoacryl DK® (H2K) (B.Braun) son adhesivos sintéticos de nueva generación.

HF y H2K son dos nuevos adhesivos sintéticos estériles, de aplicación tópica en fase de investigación. Sendas colas presentan un sustrato común, monómeros de n-butyl-cianoacrilato. La diferencia entre estas dos nuevas colas y el Histoacryl® original, reside en que están aditivados por componentes absorbibles para mejorar las propiedades de flexibilidad y elasticidad sin pérdida de la capacidad de adhesión del Histoacryl®.

Entre el Histoacryl Flexible® y Histoacryl DK®, la diferencia reside en el grado de flexibilidad que le otorga un componente añadido en el Histoacryl Flexible® denominado “softener” y dos componentes añadidos al Histoacryl DK® denominados “softener” y “hardener” que son mezclados durante el proceso de aplicación.

Histoacryl Flexible[®] (HF): La composición incluye 75w% de ácido n-butil-2-cianocrilato, triacetín 24,85 w%, ácido mirístico 0,14w% y D&C violeta n°. 2 como colorante. HF está contenido en una jeringa de 1ml de polipropileno de forma estéril. Cantidad aplicada aproximadamente: 50 μ l.

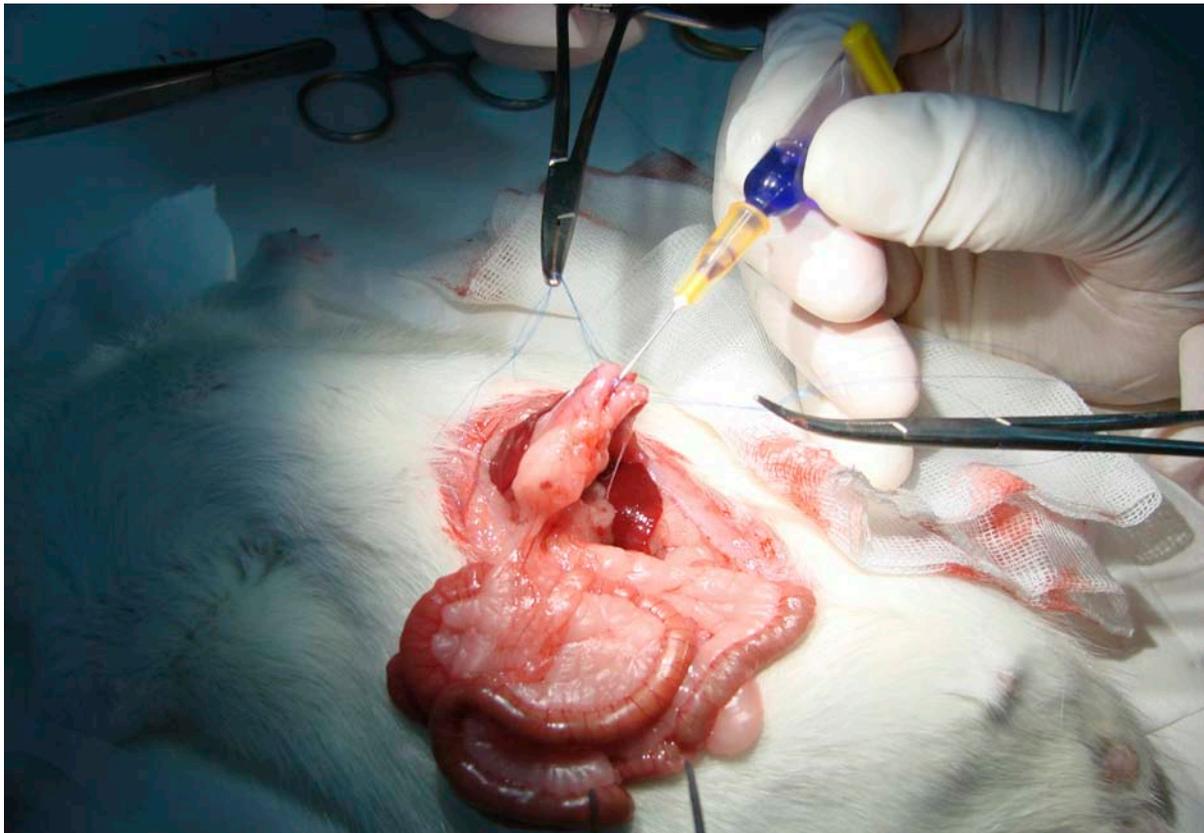


Imagen 31 : (A). Histoacryl Flexible[®] (HF). (B). Órgano: Estómago. Modo de aplicación del Histoacryl Flexible[®]

Histoacryl DK[®] (H2K): también está basado en el ácido n-butyl-2-cianocrilato y es aplicado a los tejidos mediante una una doble jeringa con efecto spray. Uno de los componentes denominado “softener” incluye 60w% de ácido n-butyl-2-cianocrilato, triacetín 40 w%, mientras que el otro componente denominado “hardener” incluye el con 5w% de Histidina Ph 3,2 y 150ppm FD&C green n^o. 3. La mezcla de los dos componentes crea una rápida polimerización y creación de una capa delgada y muy flexible. Cantidad aplicada aproximadamente: 100 µl.

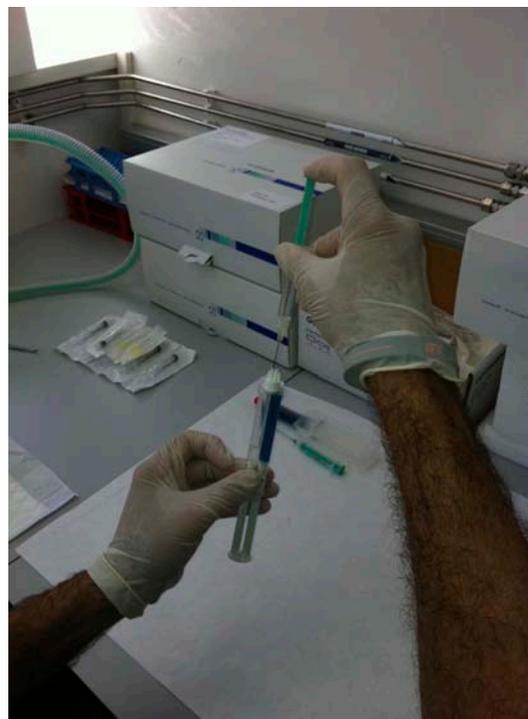
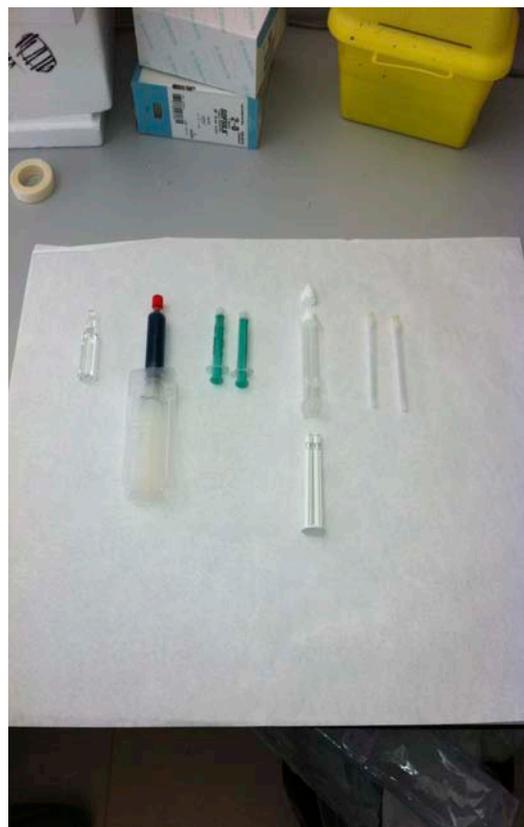


Imagen 32. (A). Histoacryl DK[®] (H2K). (B y C). Preparación del dispositivo.



Imagen 32. (D). El dispositivo de aplicación ya está cargado con el “softener” y “hardener”.



Imagen 32. (E). Exposición gástrica para aplicación del producto.

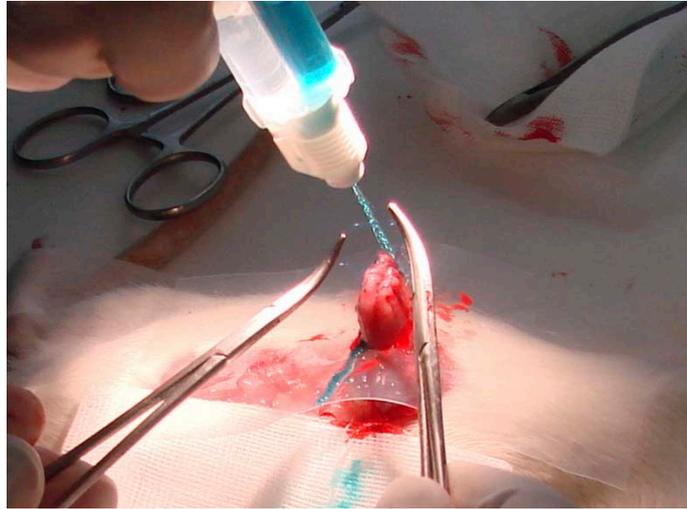


Imagen 32. (F). Durante la aplicación del Histoacryl DK[®] se coloca una pantalla de plástico para protección de los tejidos.

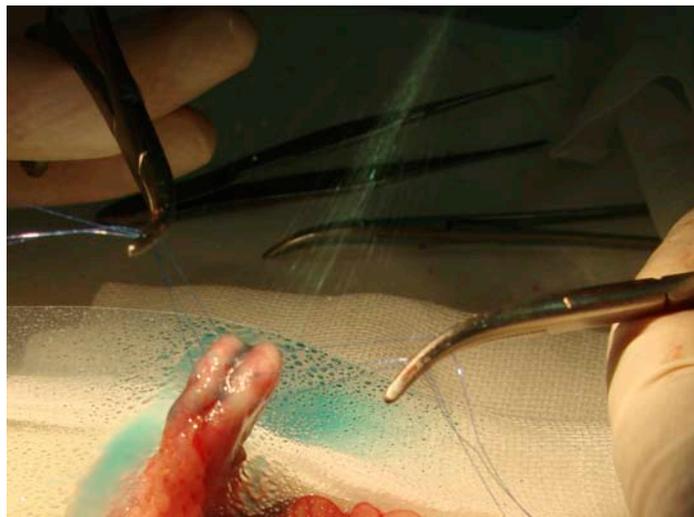


Imagen 32. (G). Exposición y aplicación de Histoacryl DK[®] con pulverizador.

2.-METODOS.

2.1.-GRUPOS.

Las 24 ratas se dividirán aleatoriamente en 3 grupos de intervención según el tipo de material de sutura utilizado.

Grupo A: 8 Ratas.

Laparotomía, gastrotomía amplia (1cm) y sutura gástrica manual mediante puntos discontinuos de **Seda 5/0** con aguja cilíndrica, cierre de la laparotomía con Seda 2/0 continua.

Grupo B: 8 Ratas.

Laparotomía, gastrotomía amplia (1 cm) y unión gástrica con **Histoacryl Flex[®]**, cierre de la laparotomía con Seda 2/0 continua .

Grupo C: 8 Ratas.

Laparotomía, gastrotomía amplia (1 cm) y unión gástrica con **Histoacryl DK[®]**, cierre de la laparotomía con Seda 2/0 continua .

Todos los grupos se dividirán a su vez en 4 subgrupos en función de las semanas en las que se procederá a la reintervención. Se realizan subdivisiones en el tiempo de evolución para poder observar la evolución histológica de la sutura, ya que la cicatrización del tejido seccionado requiere de la formación de nuevas células que compongan el tejido epitelial y conectivo con la que se reparan los segmentos gástricos después de la fase inflamatoria y de granulación. El día de la reintervención, se evalúa macroscópicamente la sutura, se procede a la resección del segmento que la contiene y se realiza la eutanasia del animal según el protocolo.

- Subgrupo I: 1 día. Ratas 7, 8, 15, 16, 23 y 24.
- Subgrupo II: 2 semanas. Ratas 5, 6, 13, 14, 21, y 22.
- Subgrupo III: 4 semanas. Ratas 3, 4, 11, 12, 19, y 20.
- Subgrupo IV: 8 semanas. Ratas 1, 2, 9, 10, 17 y 18.

2.2.-MUESTRA PLASMÁTICA BASAL.

En el día de la intervención, día 0 del estudio, se extraerá una muestra de sangre de cada animal para obtener el estado basal en los parámetros analíticos básicos como el hemograma, leucocitosis y plaquetas, más los valores de los marcadores de inflamación a analizar : proteína C reactiva, fibrinógeno. Al realizarse una laparotomía en el mismo acto y tener acceso a grandes vasos se realiza la extracción de la vena cava, así se evita otra incisión que podría ocasionar más dolor al animal.

El volumen de sangre que se extrae, tanto para la muestra basal como de las extracciones durante el seguimiento, es de 1 ml como máximo para cada animal por día. Se necesita este volumen porque se debe repartir la muestra de sangre en dos para los diferentes servicios de Análisis Clínicos y a más una parte de estas se debe centrifugar perdiéndose parte en el proceso. Siguiendo la “Guidelines for Survival Bleeding of Mice and Rats” se ha calculado que animales de este peso recuperan en 7 días un 7’5% de su volumen de sangre circulante, y en un animal de 300-350 gr., 1 ml de sangre equivale al 4-5% de su volumen total.

Por la tanto la muestra inicial de sangre se reparte en un tubo de EDTA para la realización del Hemograma completo, precisando un mínimo de 0.3-0.4 ml, este tubo se debe mantener en frío i el análisis se debe realizar antes de las 24 hrs. para evitar la coagulación y alteración de los resultados.



Imagen 33 . Introducción de la muestra en tubo EDTA.

El resto de la sangre se introduce en un tubo de Eppendorf para su centrifugación durante 10 minutos a 300 revol/min.



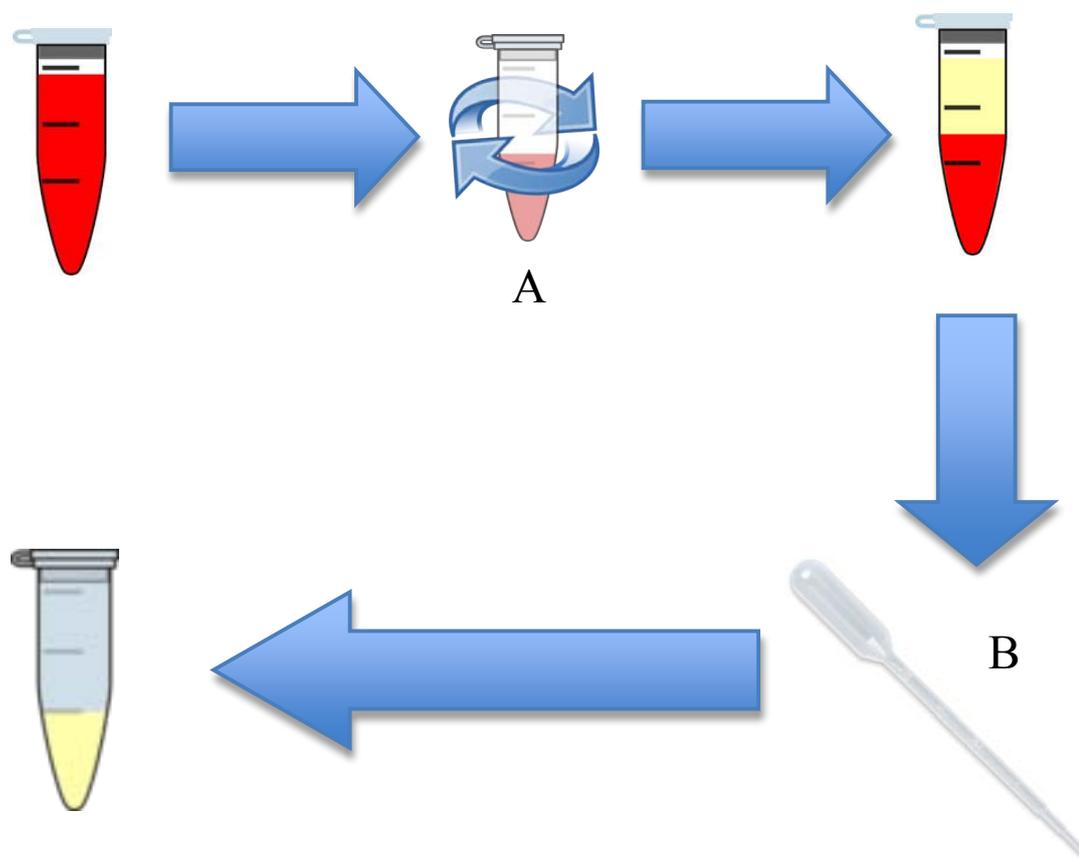
Imagen 34. Introducción de la muestra en tubo de Eppendorf.



Imagen 35 . Panel de la centrifugadora del Estabulario.



Imagen 36 . Tambor interno de la centrifugadora.



*Imagen 37. A.-Centrifugación durante 10 minutos a 300 rev/min.
B.-Aspiración del Plasma sobrenadante con Pipeta Pasteur transparente.*

El siguiente paso es aspirar el plasma sobrenadante con una Pipeta Pasteur transparente y pasarlo a otro tubo de Eppendorf.

Las muestras se congelan y el análisis se realiza con todas las muestras a la vez porque se utilizan Kits específicos para cada determinación para múltiples muestras.

2.3.-INTERVENCION QUIRURGICA.

La intervención quirúrgica se realiza bajo anestesia general con Fluorane inhalado y oxígeno con vaporizador calibrado.

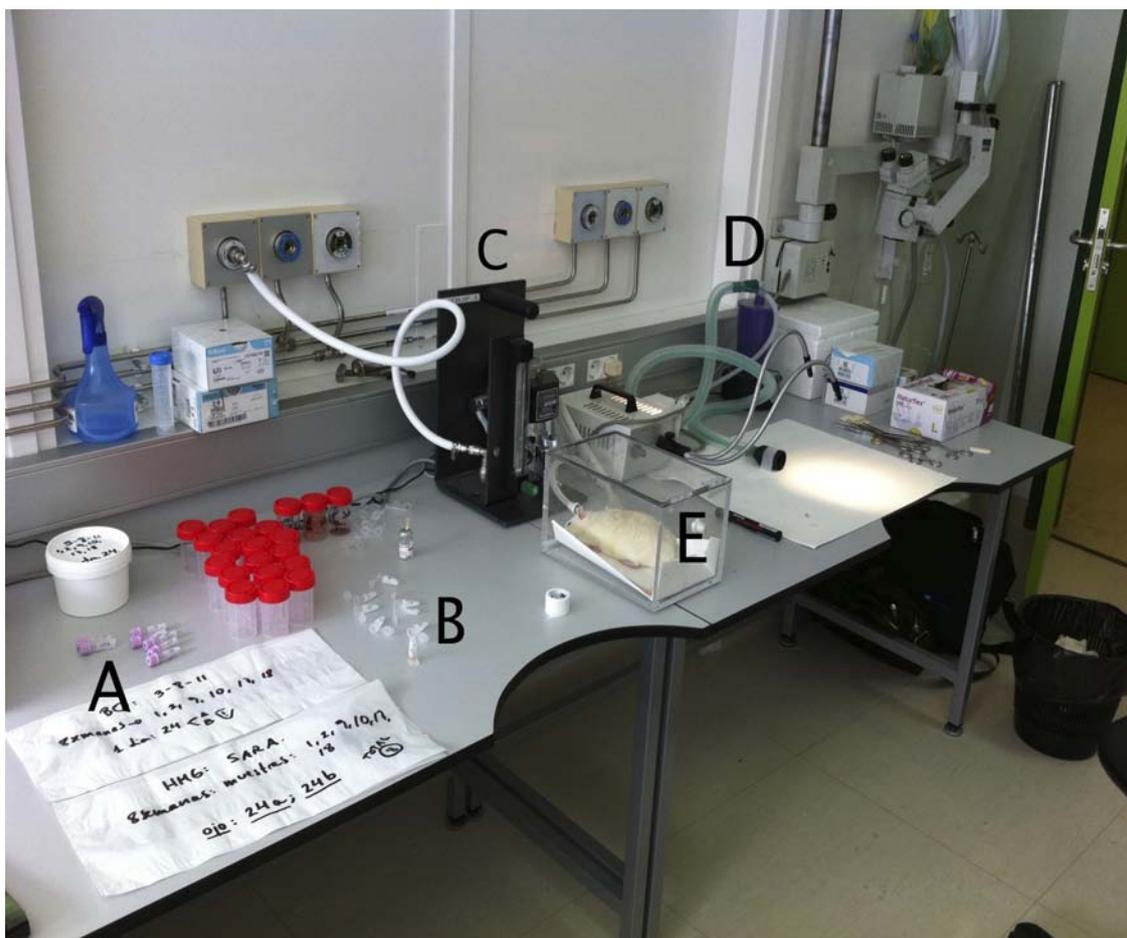


Imagen 38 . A.- Tubos de EDTA, B.- Tubos de Eppendorf, C.- Sistema de Anestesia, D.- Vaporizador Calibrado, E.- Rata en el momento de la inducción a la cámara anestésica.

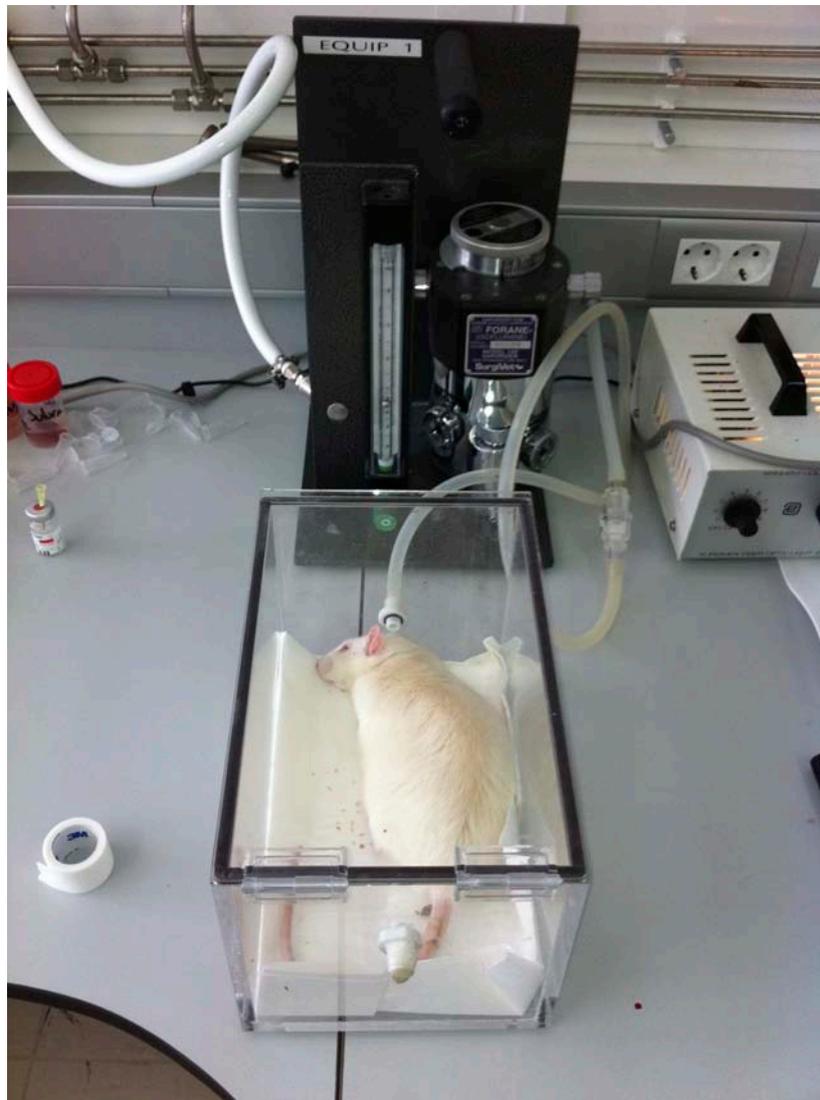


Imagen 39. Rata en el momento de la inducción a la cámara anestésica.

La inducción se lleva a cabo con una dosificación al 4% de Fluorane y 2 litros de oxígeno a la cámara anestésica.

La dosis de mantenimiento será con el 2% de Fluorane y 1 litro de oxígeno.



Imagen 40. Posición de la rata y sistema de mantenimiento anestésico.

Con el animal en decúbito supino y en condiciones de correcta higiene del espacio, material y del personal se realiza una laparotomía media de 4 cm de longitud desde el xifoideas. Apertura por planos.

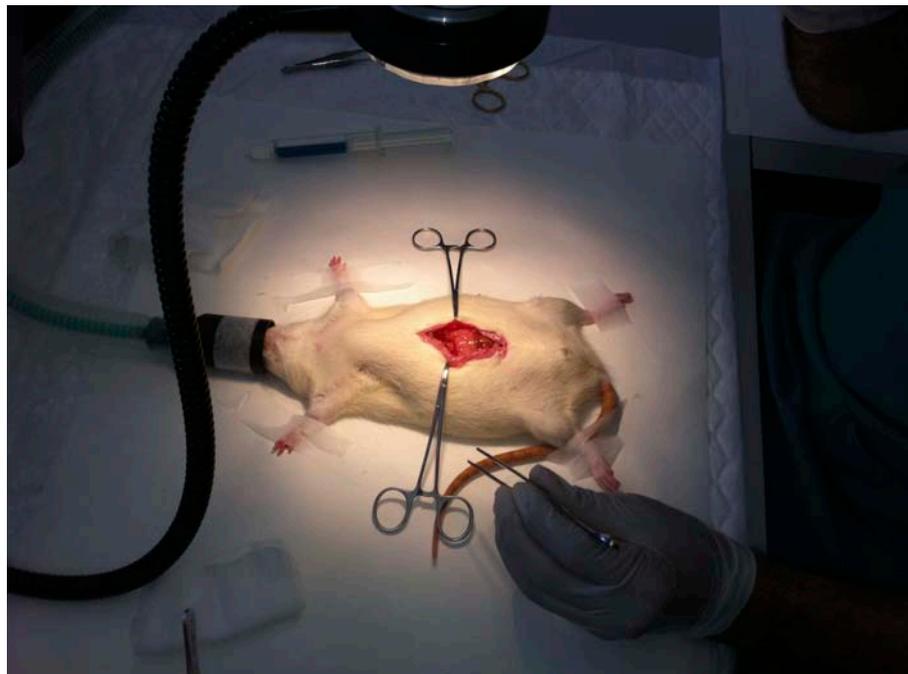


Imagen 41. (A). Realización de la laparotomía media de 4 cm de longitud. (B). Exposición del campo quirúrgico.

CAPÍTULO V.- MATERIAL Y METODOS

El siguiente paso es la extracción de la sangre de la vena cava y hemostasia por compresión.

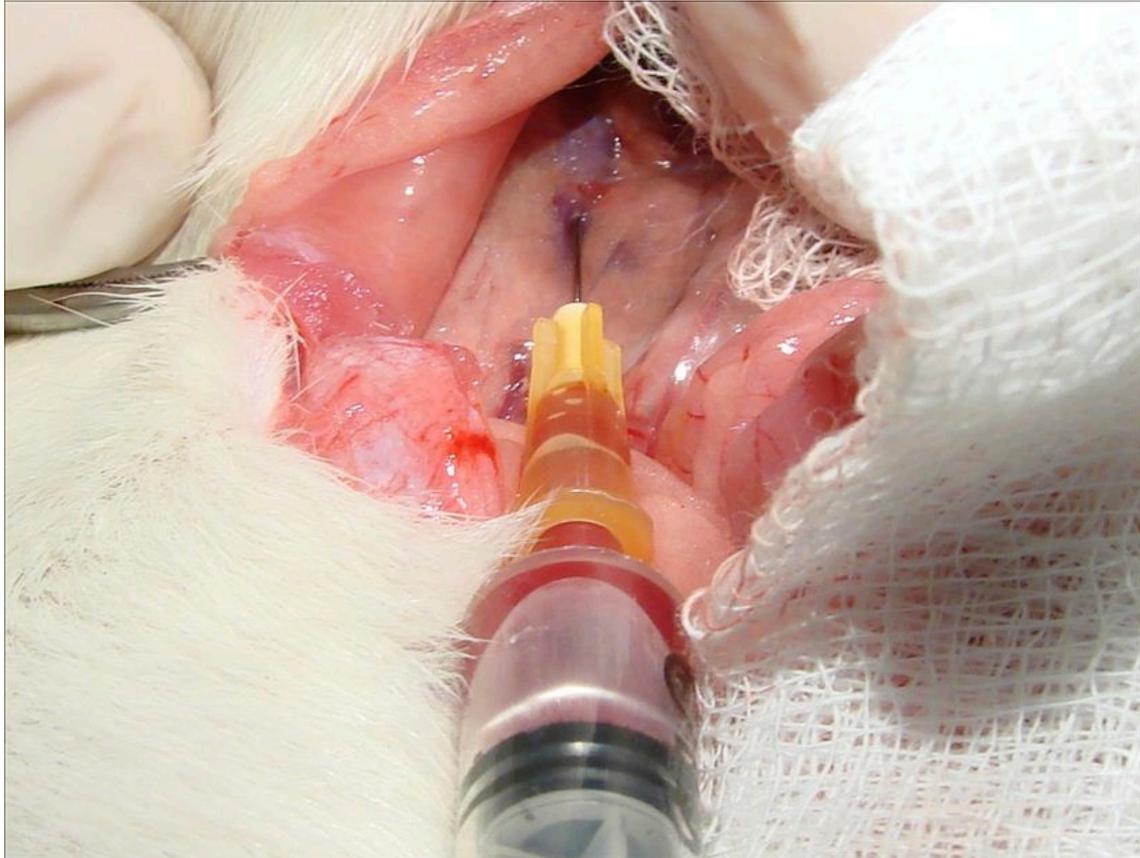


Imagen 42. Extracción basal de la vena cava.

En los 3 grupos la intervención seguirá con la localización y liberación gástrica. Se realizará una gastrotomía longitudinal amplia (1cm) desde el antro hasta el fundus gástrico.



Imagen 43. Preparación de la zona de Gastrotomía.

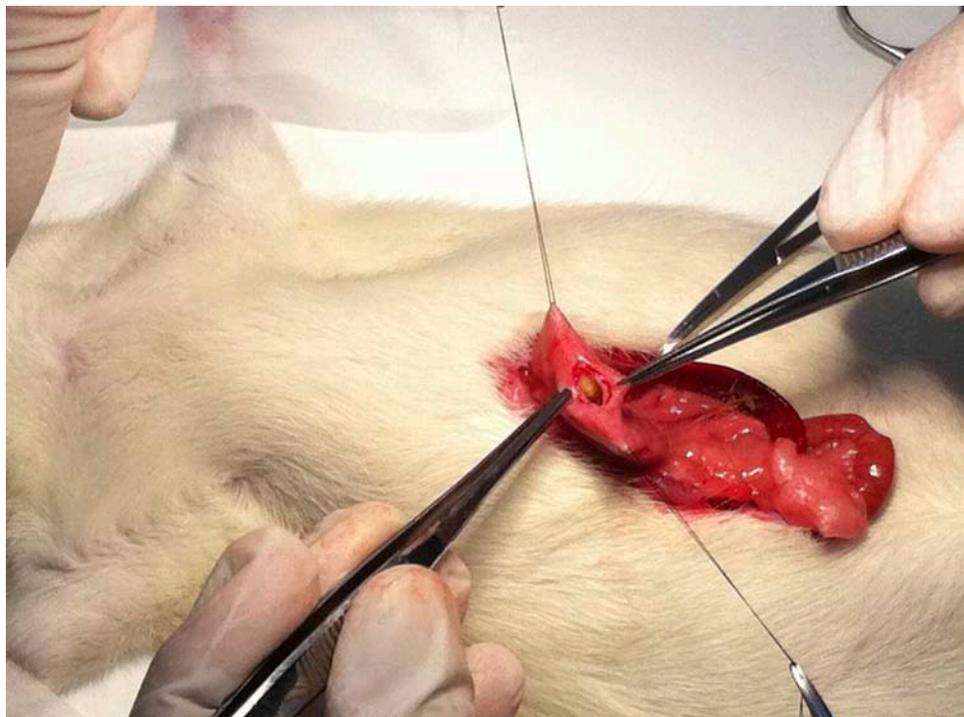


Imagen 44. Gastrotomía de 1 cm.

CAPÍTULO V.- MATERIAL Y METODOS

Se limpia el posible contenido gástrico y después de secar la zona, se realiza el procedimiento de cierre gástrico con sutura o adhesivos (HF o H2K) en función del grupo al que pertenezca aleatoriamente la rata.

2.3.1.-PRODECIMIENTO GRUPO A (SUTURA).

En el grupo A se realiza sutura gástrica manual mediante puntos discontinuos de **Seda 5/0** equidistantes con aguja cilíndrica.

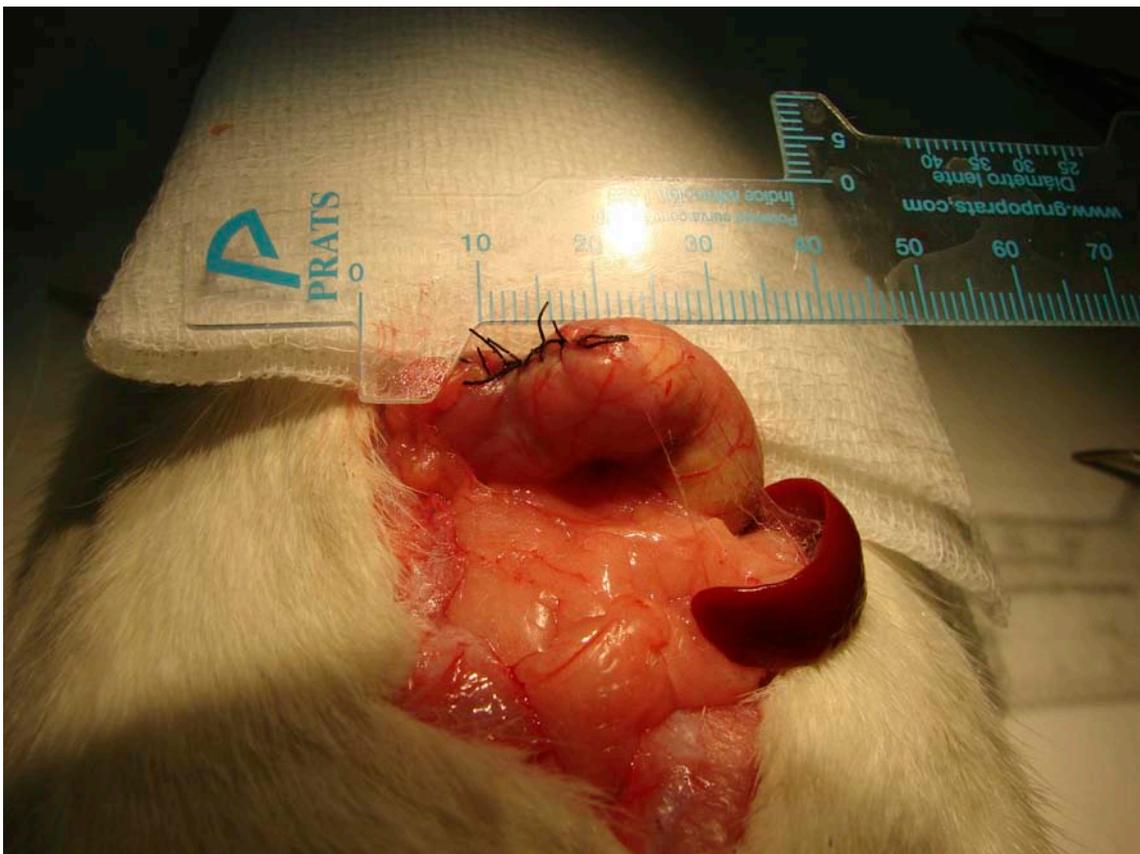


Imagen 45. Sutura manual de la Gastrotomía de 1 cm.

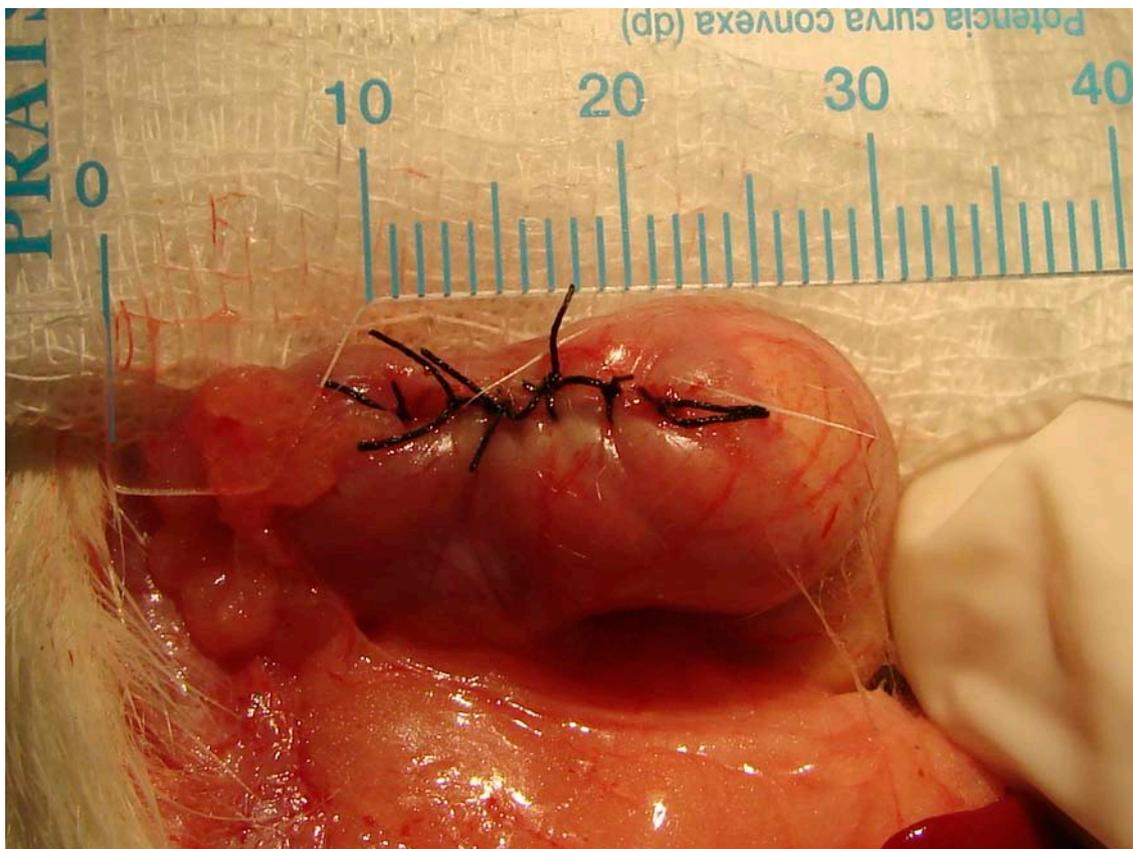


Imagen 46. Puntos discontinuos de Seda 5/0 equidistantes.

2.3.2.-PRODECIMIENTO GRUPO B (HF).

En el grupo B se realiza el cierre de la gastrotomía de 1 cm mediante la aplicación del **Histoacryl Flexible® (HF)**. Se realizan puntos sueltos de Prolene de 6/0 para realizar un afrontamiento de los bordes del estómago y así poder aplicar el adhesivo sintético HF. Según las instrucciones de la aplicación de producto, el adhesivo se debe mantener sin que entre en contacto con otras vísceras y/o material durante un mínimo de 90 segundos que es el tiempo que tarda en polimerizar. El producto presenta un color violeta que nos va a permitir en las reintervenciones localizar la zona del lecho quirúrgico sin necesidad de realizar puntos de referencia.

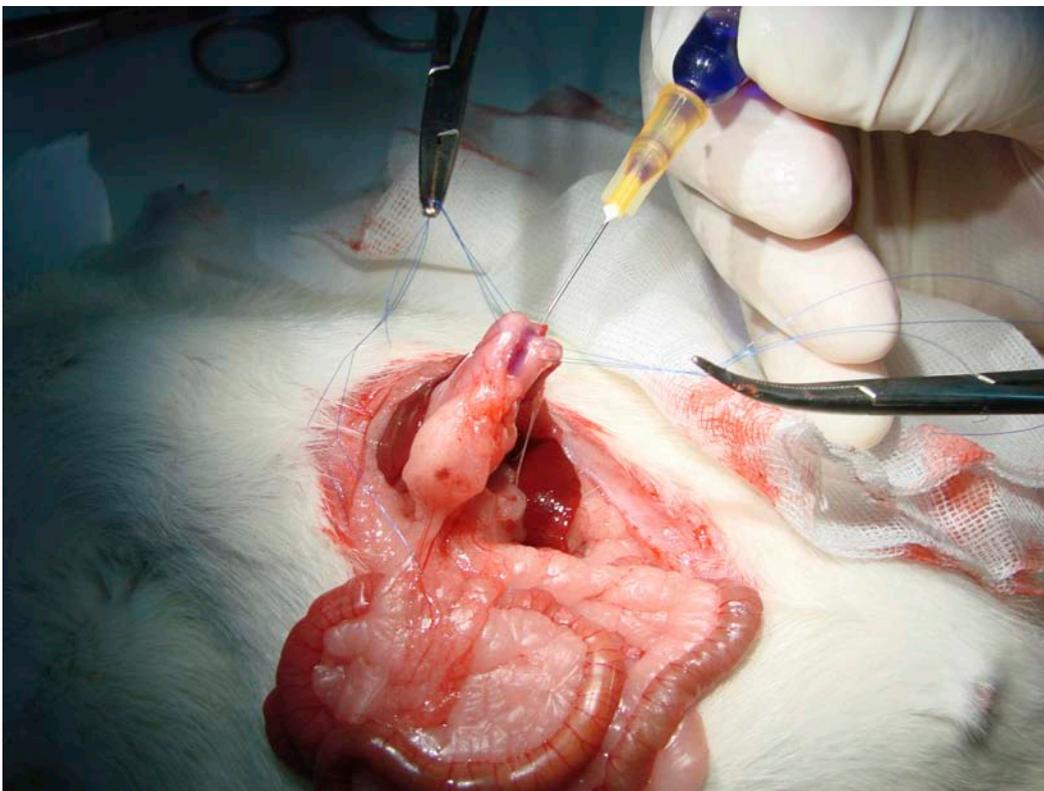
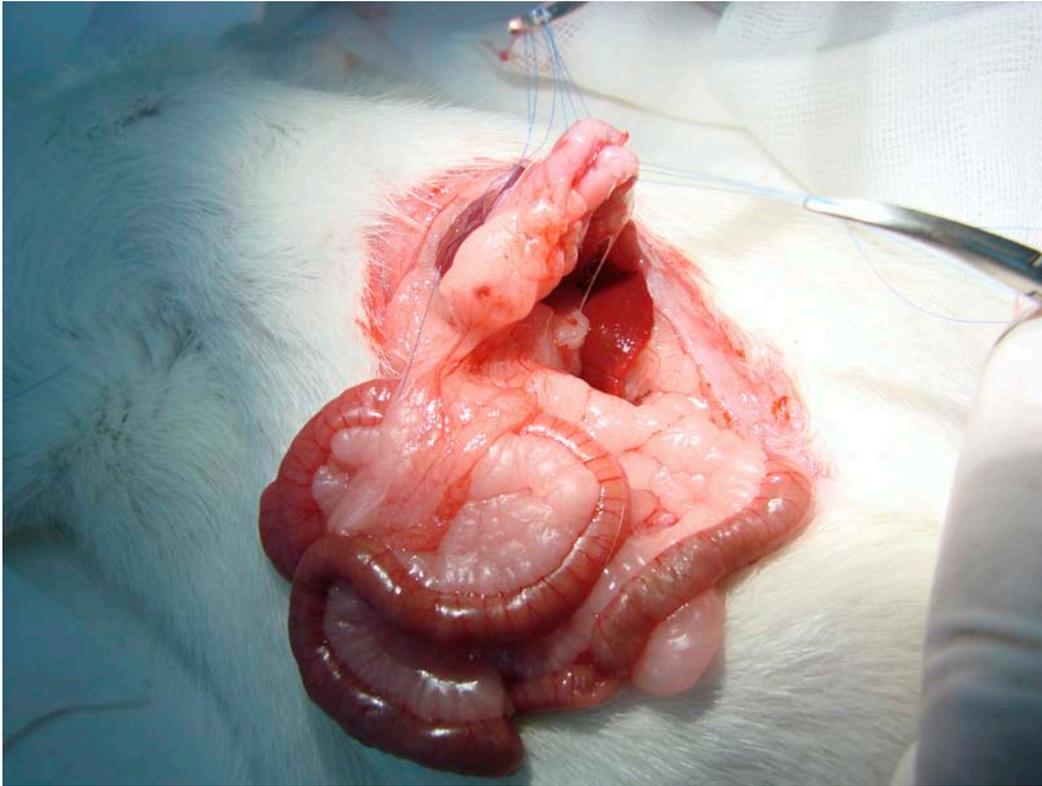


Imagen 47. (A). Colocación de puntos de prolene de 6/0 para una correcta aposición de los bordes. (B). Aplicación cuidadosa de HF mediante una aguja de insulina.

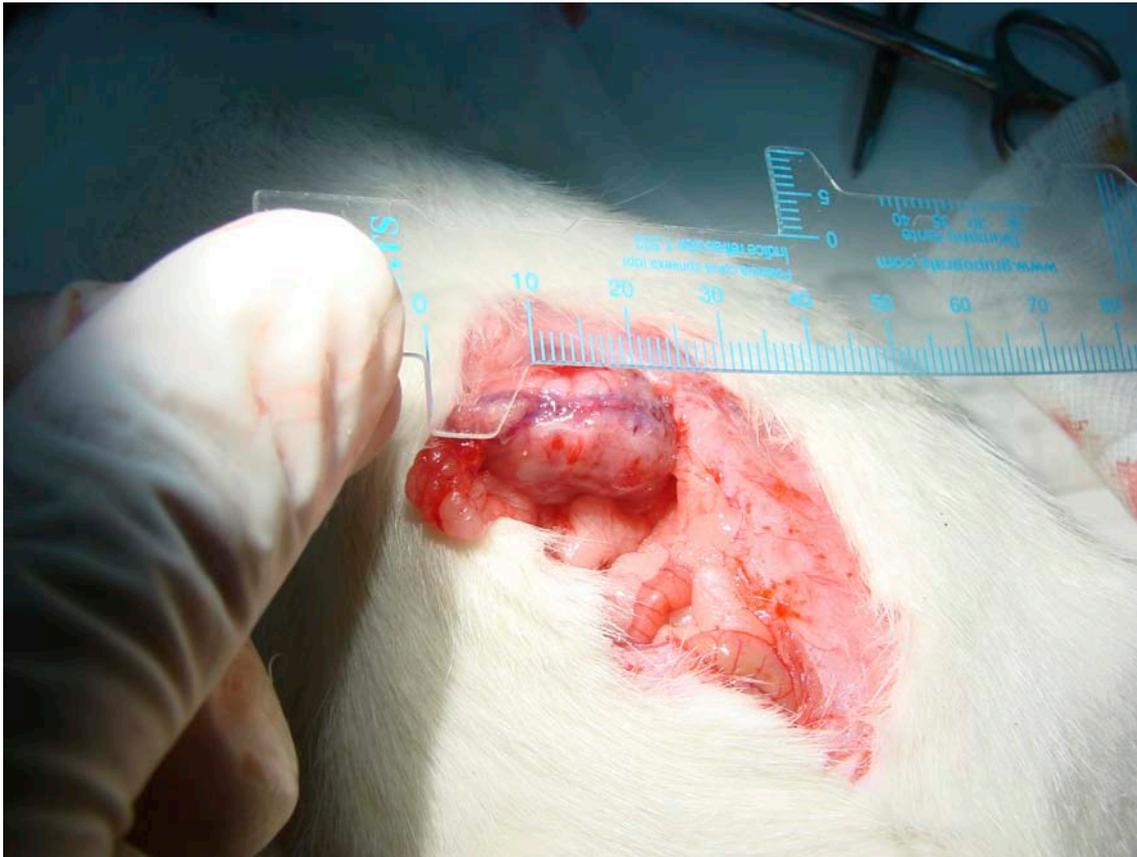


Imagen 48. Retirada de los puntos de Prolene de 6/0.

2.3.3.-PRODECIMIENTO GRUPO C (H2K).

En el grupo B se realiza el cierre de la gastrotomía de 1 cm mediante la aplicación del **Histoacryl DK® (H2K)**. Se realizan puntos sueltos de Prolene de 6/0 para realizar un afrontamiento de los bordes del estómago y así poder aplicar el adhesivo sintético. Como el H2K es aplicado a los tejidos mediante una una doble jeringa con efecto spray, se ha utilizado una pantalla transparente de plástico para proteger los tejidos circundantes. La mezcla de los dos componentes “softener” y “hardener” crea una rápida polimerización y creación de una capa delgada y muy flexible. Según las instrucciones de la aplicación de producto, el adhesivo se debe mantener sin que entre en contacto con otras vísceras y/o material durante un mínimo de 90 segundos que es el tiempo que tarda en polimerizar. El producto presenta un color azul que nos va a permitir en las reintervenciones localizar la zona del lecho quirúrgico sin necesidad de realizar puntos de referencia.

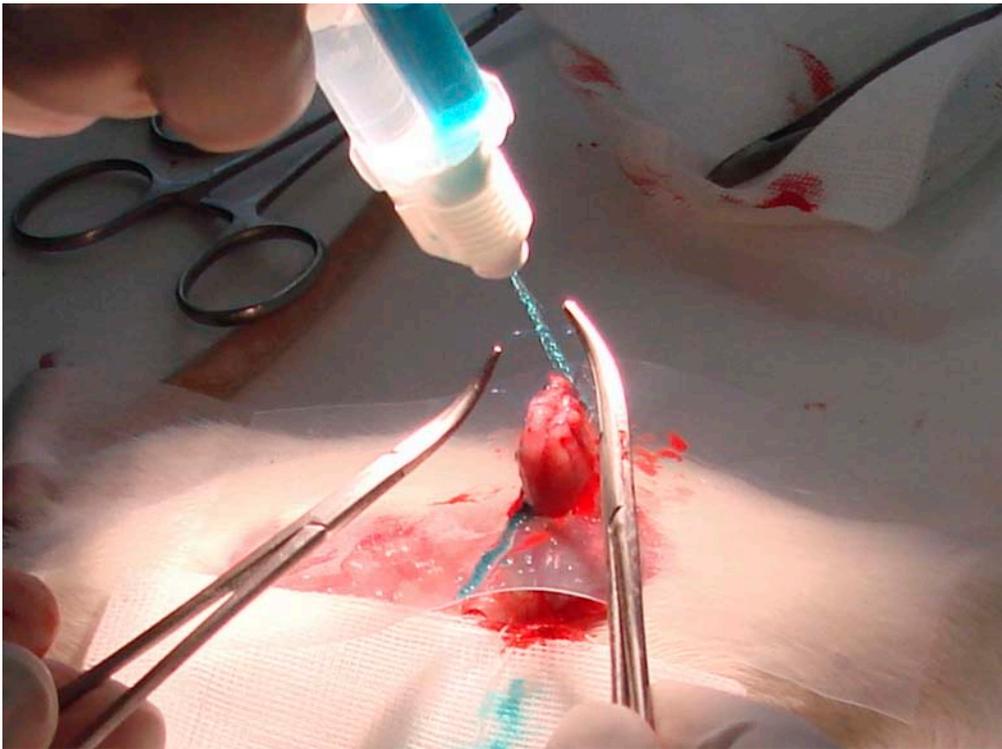


Imagen 49. (A). H2K es aplicado a los tejidos mediante una una doble jeringa con efecto spray. (B). Retirada de los puntos de Prolene de 6/0.

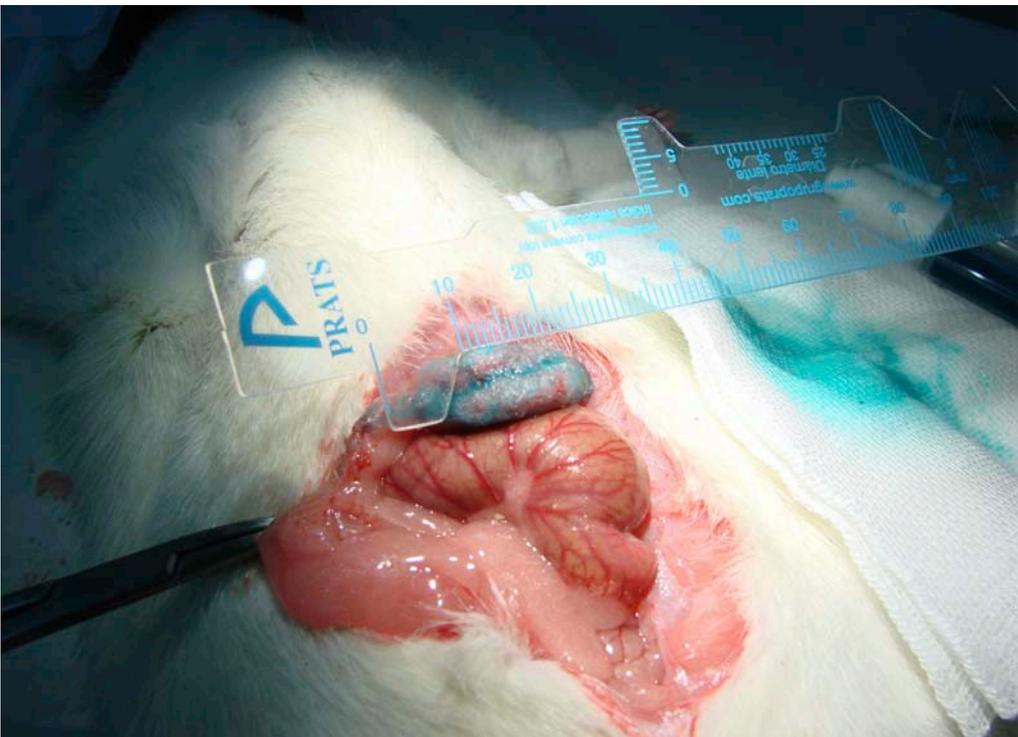


Imagen 50. (A). H2K aplicado con un protector de plástico para proteger los tejidos vecinos.
(B). Se realiza la retirada del plástico protector y se comprueba la longitud de la gastrotomía.

En los tres casos, al finalizar la intervención se realiza cierre de la laparotomía con una sutura continua de seda de 3/0.



Imagen 51. Rata después del cierre de la pared abdominal.

2.4.-SEGUIMIENTO POSTOPERATORIO.

Inmediatamente después de la intervención, el animal se cambia y se mantiene en una jaula individual por diversos motivos: riesgo de lesiones en la laparotomía por las otras ratas, administración de sólo dieta líquida el primer día postoperatorio, así como también que haya una identificación segura. Durante toda la evolución postoperatoria los animales se mantienen en el estabulario, bajo las mismas condiciones ambientales y de alimentación descritas anteriormente en este apartado.

2.5.-MUESTRAS PLASMATICAS DURANTE EL SEGUIMIENTO POSTOPERATORIO.

Se llevan a cabo extracciones de sangre periférica a cada animal en diferentes períodos de tiempo según el subgrupo al que hayan estado aleatorizados, ver plan de trabajo. Las muestras de sangre se obtienen de la vena safena de los animales. Se realiza en esta vía de acceso porque es uno de los métodos recomendados para las ratas de este tamaño, indicado para la obtención de muestras de pequeño o mediano tamaño y que permite la repetición del punto de acceso.

El proceso se realiza por uno de los investigadores con el cual los animales están familiarizados. Se realiza una incisión a nivel inguinal perpendicular a la extremidad inferior, apertura por planos hasta localizar el vaso, una vez extraída la sangre con pocos segundos se retira la aguja para evitar hematomas y se mantiene la zona con presión continua durante sesenta segundos. Una vez revisada la correcta hemostasia se cierra la incisión con una sutura continua de seda de 3.0.



Imagen 52. Extracción de sangre periférica.

De cada muestra de sangre se analizan los mismos parámetros que en la muestra basal, para poder comparar la evolución, a más de detectar posibles marcadores analíticos de complicaciones postoperatorias durante el postoperatorio. La siguiente extracción periférica se realiza de la extremidad inferior contralateral sucesivamente.

2.6.-REINTERVENCIÓN QUIRÚRGICA Y EUTANASIA.

El día de la reintervención, variable según los subgrupos, se inicia el proceso quirúrgico con una laparotomía iterativa, inspección de la cavidad abdominal para una detección posible de complicaciones macroscópicas y/o adherencias. Extracción de la última muestra de la vena cava y hemostasia con compresión.

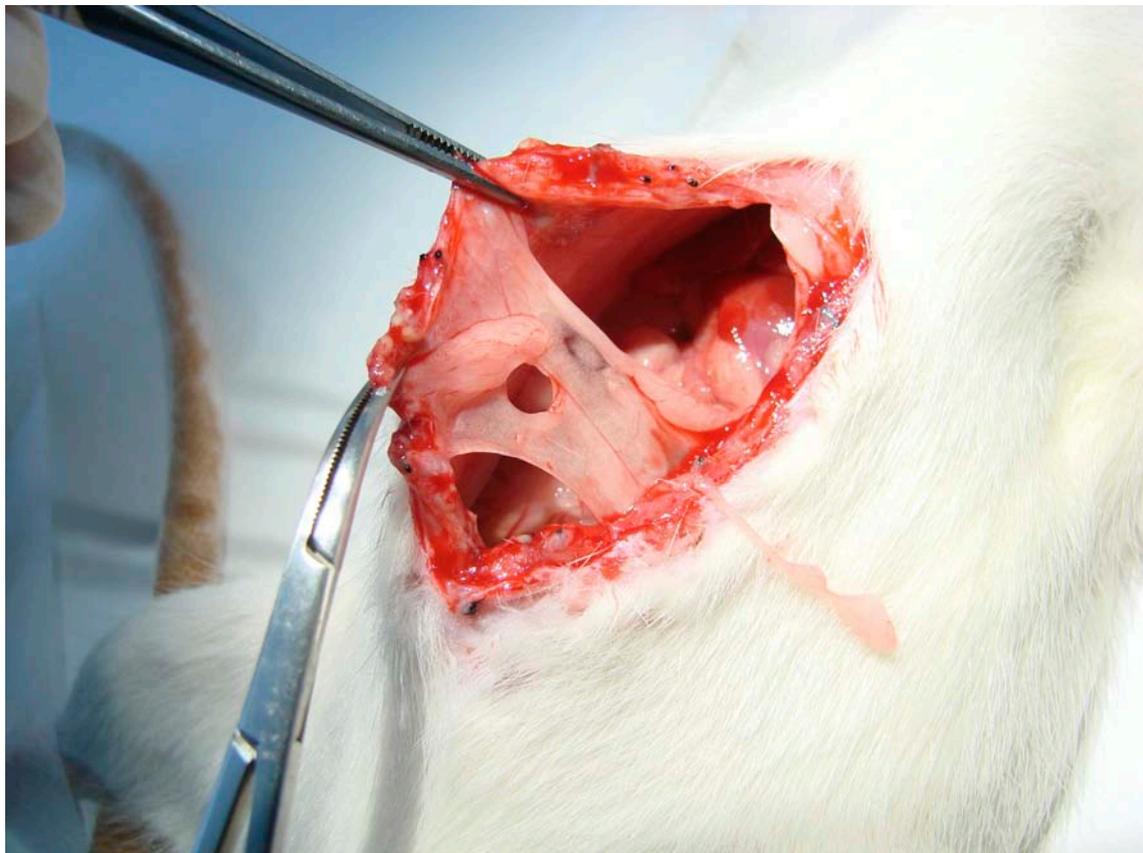


Imagen 53. Valoración de adherencias.

Se localiza el esófago y duodeno de la rata, y se procede a la resección del estomago.

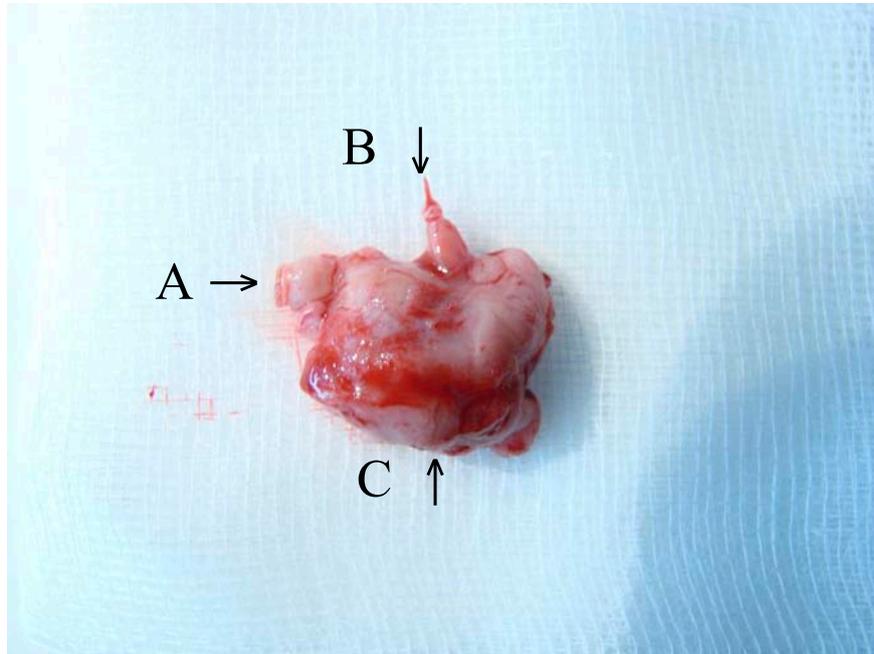


Imagen 54. A. Duodeno, B. Esófago y C. Estómago con la zona donde se realizó el procedimiento de cierre.

Posteriormente se realiza la biopsia hepática y renal para el estudio de la toxicidad.

Para finalizar se aplica la eutanasia mediante una sobredosis de pentobarbital sódico, 200 mgr/Kg. intraperitoneal diluida a un máximo de 60 mgr/ml, para evitar la irritación que puede provocar a mayor concentración y usando un volumen máximo de 10 ml/Kg. para cada animal.

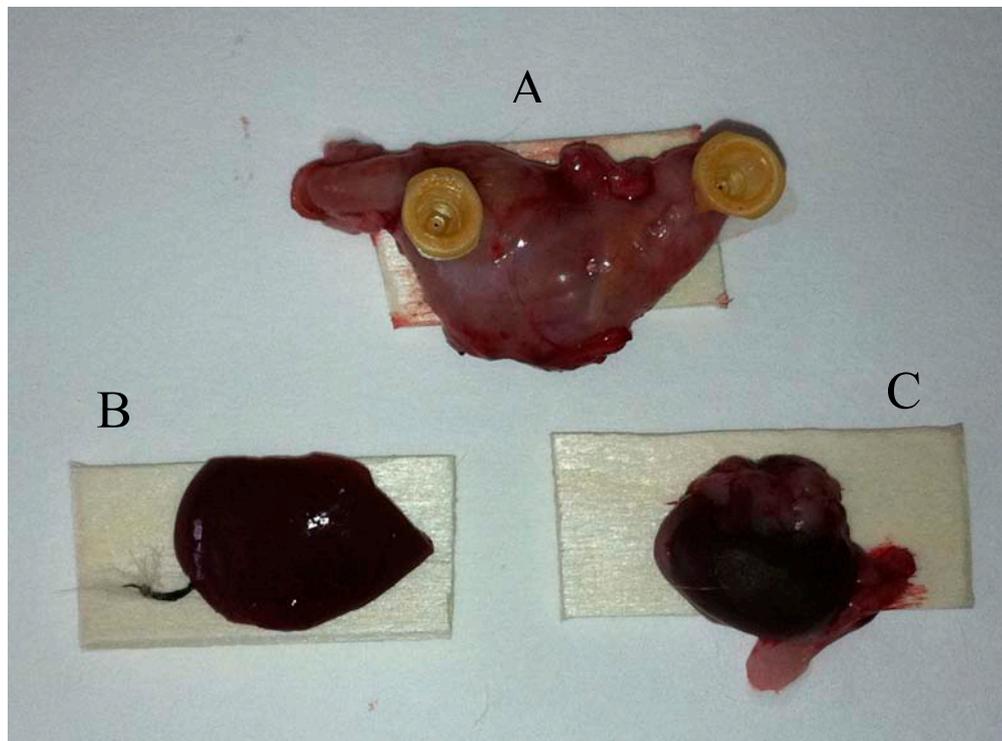


Imagen 55. A. Estómago, B. Biopsia hepática y C. Biopsia renal.

3.-PLAN DE TRABAJO:

Una vez superado el período de cuarentena se realiza la primera intervención donde ésta es considerada el día 0. Dado que son un número elevado de intervenciones y extracciones de sangre se realizan en diferentes fechas, y a pesar de esto, se cumple el tiempo estipulado para el estudio. Los procedimientos de un mismo subgrupo, 2 ratas cada uno, se realizan el mismo día para evitar diferencias.

De forma diaria se controlará el estado clínico de las ratas evaluando diferentes ítems siguiendo el protocolo de supervisión estandarizado, ver *tabla 6*. También se observa el inicio de la realización de deposiciones y alteraciones del ritmo deposicional durante el postoperatorio para descartar clínica oclusiva. Si en algún momento de la inspección se objetiva sufrimiento del animal se aplica la eutanasia ese mismo día.

Los días de la extracción de sangre periférica se pesa la rata, el peso es uno de los valores que puede indicar sufrimiento por una posible complicación intraabdominal.

El subgrupo I, compuesto por dos ratas del grupo Sutura con seda, dos ratas del grupo Histoacryl Flex[®] y dos ratas del grupo Histoacryl DK[®] (Ratas 7, 8, 15, 16, 23 y 24) se les realiza la laparotomía, extracción de sangre de la vena cava, gastrotomía y sutura. La misma intervención continúa con la resección del estómago cerrado con seda o con el adhesivo pertinente y la eutanasia de los animales.

El subgrupo II, compuesto por dos ratas del grupo Sutura con seda, dos ratas del grupo Histoacryl Flex[®] y dos ratas del grupo Histoacryl DK[®] (Ratas 5, 6, 13, 14, 21, y 22) el día 0 se realizan los mismos pasos hasta el cierre de la gastrotomía como en el subgrupo I, y posteriormente se cierra la laparotomía y se despierta la rata. **Dos** semanas después, si no hay complicaciones, se realiza la laparotomía iterativa con las ratas bajo los efectos de la anestesia, se extrae la muestra de sangre central y después de inspeccionar la cavidad abdominal y la gastronomía se procede a la resección del segmento y se realiza la eutanasia.

CAPÍTULO V.- MATERIAL Y METODOS

El subgrupo III, compuesto por dos ratas del grupo Sutura con seda, dos ratas del grupo Histoacryl Flex[®] y dos ratas del grupo Histoacryl DK[®] (Ratas 3, 4, 11, 12, 19 y 20) el día 0 se realizan los mismos pasos hasta el cierre de la gastrotomía como en el subgrupo I, y posteriormente se cierra la laparotomía y se despierta la rata. **Cuatro** semanas después, si no hay complicaciones, se realiza la laparotomía iterativa con las ratas bajo los efectos de la anestesia, se extrae la muestra de sangre central y después de inspeccionar la cavidad abdominal y la gastronomía se procede a la resección del segmento y se realiza la eutanasia.

El subgrupo IV, compuesto por dos ratas del grupo Sutura con seda, dos ratas del grupo Histoacryl Flex[®] y dos ratas del grupo Histoacryl DK[®] (Ratas 1, 2, 9, 10, 17 y 18) el día 0 se realizan los mismos pasos hasta el cierre de la gastrotomía como en el subgrupo I, y posteriormente se cierra la laparotomía y se despierta la rata. **Ocho** semanas después, si no hay complicaciones, se realiza la laparotomía iterativa con las ratas bajo los efectos de la anestesia, se extrae la muestra de sangre central y después de inspeccionar la cavidad abdominal y la gastronomía , se procede a la resección del segmento y se realiza la eutanasia.

En los Subgrupos II, III y IV se realizan extracciones de sangre periférica, de la vena femoral, a la mitad del tiempo de evolución.

Resumen:

- **Subgrupo I:** 1 día. Ratas 7, 8, 15, 16, 23 y 24.
- **Subgrupo II:** 2 semanas. Ratas 5, 6, 13, 14, 21, y 22.
- **Subgrupo III:** 4 semanas. Ratas 3, 4, 11, 12, 19, y 20.
- **Subgrupo IV:** 8 semanas. Ratas 1, 2, 9, 10, 17 y 18.

Tabla 5. Tabla esquemática del plan de trabajo.

GRUPO	SUBGRUPO	RATA	08/06/2011	15/06/2011	22/06/2011	29/06/2011	06/07/2011	13/07/2011	20/07/2011	27/07/2011	03/08/2011
SUTURA	8 SEMANAS	1	ESC+IQ				ESP				ESC + 2 ⁿ IQ
		2	ESC+IQ				ESP				ESC + 2 ⁿ IQ
	4 SEMANAS	3		ESC+IQ		ESP		ESC + 2 ⁿ IQ			
		4		ESC+IQ		ESP		ESC + 2 ⁿ IQ			
	2 SEMANAS	5			ESC+IQ	ESP	ESC + 2 ⁿ IQ				
		6			ESC+IQ	ESP	ESC + 2 ⁿ IQ				
	1 DÍA	7						ESC + IQ + 2 ⁿ IQ			
		8							ESC + IQ + 2 ⁿ IQ		
HISTOACRYL Flex	8 SEMANAS	9	ESC+IQ				ESP				ESC + 2 ⁿ IQ
		10	ESC+IQ				ESP				ESC + 2 ⁿ IQ
	4 SEMANAS	11		ESC+IQ		ESP		ESC + 2 ⁿ IQ			
		12		ESC+IQ		ESP		ESC + 2 ⁿ IQ			
	2 SEMANAS	13			ESC+IQ	ESP	ESC + 2 ⁿ IQ				
		14			ESC+IQ	ESP	ESC + 2 ⁿ IQ				
	1 DÍA	15						ESC + IQ + 2 ⁿ IQ			
		16							ESC + IQ + 2 ⁿ IQ		
HISTOACRYL DK	8 SEMANAS	17	ESC+IQ				ESP				ESC + 2 ⁿ IQ
		18	ESC+IQ				ESP				ESC + 2 ⁿ IQ
	4 SEMANAS	19		ESC+IQ		ESP		ESC + 2 ⁿ IQ			
		20		ESC+IQ		ESP		ESC + 2 ⁿ IQ			
	2 SEMANAS	21			ESC+IQ	ESP	ESC + 2 ⁿ IQ				
		22			ESC+IQ	ESP	ESC + 2 ⁿ IQ				
	1 DÍA	23						ESC + IQ + 2 ⁿ IQ			
		24							ESC + IQ + 2 ⁿ IQ		
	HEMATO:		6hg	6hg	6hg	12hg	12hg	6hg	6hg		6hg
	BIOQUIMICA:		6fg	6fg	6fg	12fg	12fg	6fg	6fg		6fg
	AP:					6	6	6	6		6
	HEMATO:60										
	BIOQUIMICA:60										
	AP:24										

ESP: Extracción de sangre periférica.
 ESC: Extracción de sangre de la cava.
 IQ: Gastrostomía y sutura/sealado.
 2ⁿ IQ: Resección y Eutanasia.
 hg: muestra hemograma
 fg: Muestra fibrinógeno

CAPÍTULO V.- MATERIAL Y METODOS

4.-RECOGIDA DE DATOS.

4.1.-DATOS CLINICOS.

Desde el día 0 se evaluará diariamente las ratas según el protocolo de supervisión (ver *Tabla 6*) basados en las recomendaciones del “ Comité de Ética de la Fundació Institut de Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol ” y aprobado por el “Comité de Ética en experimentació animal de la Direcció General del Medi Ambiente del departament de Medi Ambient i Habitatge de la Generalitat de Catalunya”. (*Anexo I*).

Los datos se recogerán en forma de variables cuantitativas discretas con unos valores entre 0 y 3 para evaluar cada parámetro y una escala total al sumarlos del 0 al 10. Si se obtiene un 3 en más de un concepto, todos los 3 pasan a 4. Los valores considerados esperables o dentro de la normalidad en un postoperatorio abdominal son entre 0 y 4, en estos casos se les administra analgesia pautada diluida en el agua de su abrevadero, meloxicam en dilución de 1 mgr/Kg.

En los casos que el dolor o el posible sufrimiento sea de severidad intermedia (valores de 5 a 7) se aplica un segundo analgésico al animal, Buprenorfina a 0.05-0.1 mgr/Kg. por vía subcutánea cada 12 hrs. hasta la mejora del estado del animal y por lo tanto de los valores. Combinando los dos métodos analgésicos se potencian los efectos y se evitan dosis de analgesia aplicada por vía intramuscular, ya que si sólo se utiliza la Buprenorfina la posología recomendada es cada 8 hrs.

En animales con un resultado de 7 persistente o superior se realiza la eutanasia ese día para evitar el sufrimiento innecesario y se recogen los mismos datos como si fuera el día final programado. En cualquier caso e independientemente de la puntuación total lograda, cualquier animal con mutilaciones, en coma o con indicadores de sufrimiento grave es inmediatamente eutanasiado.

CAPÍTULO V.- MATERIAL Y METODOS

Tabla 6. Protocolo de supervisión.

1. Observación de la rata	
<u>1.1 Automutilaciones o vocalizaciones raras :</u>	
- si	3
- no	0
<u>1.2 Aspecto:</u>	
-Normal	0
-Pelaje en mal estado	1
-Secreciones oculo-nasales	2
-Postura anormal	3

2. Conducta	
<u>2.1 Muy agresivo o comatoso</u>	
- si	3
- no	0
<u>2.2 Peso :</u>	
-Normal	0
- Pérdida < 10%	1
-Pérdida 10-20%	2
-Pérdida > 10%	3

3. Aparición de complicaciones postoperatorias	
- si	3
- no	0
Escala de severidad:	
- Baja	< 5
-Media	5-10
-Alta	> 10

4.2.-DATOS HISTOLOGICOS.

Durante la reintervención que se llevará a cabo en los distintos subgrupos, los cirujanos valorarán con detalle la existencia o no de adherencias perisutura en la cavidad peritoneal así como el estado de la sutura registrando la presencia o no de dehiscencia, líquido intraabdominal, adherencias u otras complicaciones postoperatorias.

Posteriormente se mandará a analizar la pieza gástrica, renal y hepática al servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Tras fijarse en formol al 10% las muestras obtenidas serán procesadas mediante la técnica de inclusión en parafina. De los bloques obtenidos se realizarán secciones de 5 micrómetros mediante un microtomo de hoja móvil y se teñirán usando la coloración de Hematoxilina-eosina y Tricómico de Masson.

Como indican los objetivos del proyecto, el estudio anatomopatológico evalúa la viabilidad de la sutura, descartando la presencia de fugas microscópicas y/o dehiscencia encubiertas que no se aprecian a simple vista.

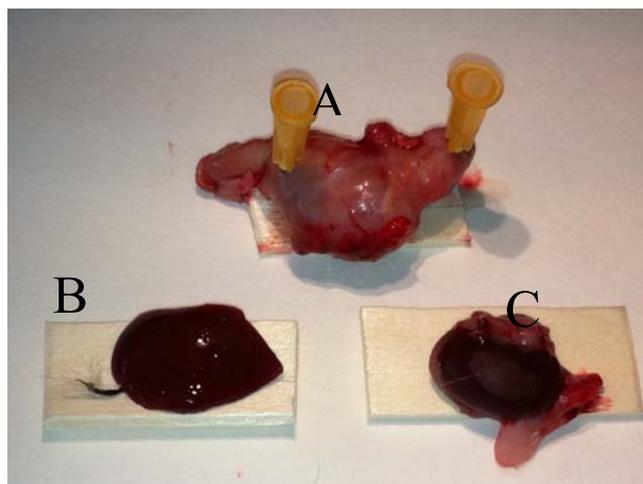


Imagen 56. A. Estómago, B. Biopsia hepática y C. Biopsia renal.

CAPÍTULO V.- MATERIAL Y METODOS

Para el estudio de la reacción inflamatoria de los tejidos suturados, la correcta cicatrización con fibrosis, neovascularización e infiltración de la grasa se sigue el Anexo E de la normativa ISO 10993_6:2007, que basada en la bibliografía da ejemplos de tablas para clasificar la reacción biológica local de los tejidos. Los datos se recogen en forma de variables cuantitativas discretas según la cantidad de células por campo; por ejemplo, el grado de inflamación aguda se evalúa según la cantidad de polimorfonucleares, la inflamación crónica según el número de linfocitos. También se remarca la presencia o no de denudación que es la desaparición de las glándulas de la mucosa.

4.3.-DATOS ANALITICOS.

El Servicio de Bioquímica y el Servicio de Hematología del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol han colaborado con el proyecto analizando las muestras sanguíneas de las ratas siguiendo las recomendaciones de la “ *Guidelines for Survival Bleeding of Mice and Rats* ”

4.3.1.-HEMOGRAMA.

La muestra basal de cada animal nos da sus valores antes de cualquier tipo de manipulación.

Esta determinación de Leucocitos, Hematocrito y Plaquetas nos da información de posibles hemorragias e infecciones. En la actualidad los glóbulos blancos son los reactantes de fase aguda que de forma más habitual se utilizan como indicadores de inflamación aguda. Por este motivo se realizará una comparación entre la determinación de leucocitos progresiva de cada rata, se comparará con el estudio histológico para buscar coincidencias entre determinaciones patológicas de leucocitos y suturas con fugas o mayor grado de inflamación, y se comparará los valores entre los tres grupos.

4.3.2.-ANALISIS BIOQUIMICO.

Se determina : Glucosa, Sodio, Potasio y Proteína C reactiva. Se determina la PCR porque es otro marcador de inflamación bien estudiado y usado actualmente. La finalidad del estudio Bioquímico es ver la evolución de los distintos parámetros durante el estudio y realizar una comparación con los distintos grupos en función de los hallazgos.

4.4.-DATOS ESTADISTICOS.

Para la realización del análisis estadístico se utilizará el programa Statgraphics Plus (Statpoint Inc., USA) para Microsoft Windows.

Las variables numéricas son expresadas como medias y desviación estándar. El test no paramétrico utilizado es (Kruskal Wallis y “U” de Mann-Whitney) y se considera significativo un nivel de confianza del 95%.

VI. RESULTADOS.

1.-RESULTADOS.

1.1.-RESULTADOS CLINICOS.

Como se ha explicado en el apartado de Métodos, después de la primera intervención se realiza un seguimiento a diario de cada animal operado según la cronología de la *tabla 5*.

1.1.1.-COMPLICACIONES Y MORTALIDAD INTRAOPERATORIA.

Entre los animales de la prueba piloto y los del estudio se intervinieron un total de 32 ratas. En el estudio principal, fueron un total de 24 ratas que se dividieron en 3 grupos como ya se ha comentado anteriormente.

Grupo A: 8 Ratas (Sutura Manual).

No se observaron complicaciones en ninguna tipo de intervención ni en el postoperatorio inmediato en ninguna de las ratas y no se produjo ningún exitus. Al terminar la intervención se despertaron en todos los casos sin sufrir alteraciones cardiorespiratorias.

Grupo B: 8 Ratas (Histoacryl Flex[®]).

En este grupo tampoco se presentaron complicaciones intraoperatorias ni se registró ningún exitus de las 8 ratas durante o inmediatamente después de la intervención.

Grupo C: 8 Ratas (Histoacryl DK[®]).

No se observaron complicaciones en ninguna tipo de intervención ni en el postoperatorio inmediato en ninguna de las ratas y no se produjo ningún exitus.

CAPÍTULO VI.- RESULTADOS

Siguiendo el protocolo de supervisión, se observó el comportamiento, aspecto y conducta de las 24 ratas durante la duración del estudio experimental. En ninguno de los animales se observó automutilaciones o vocalizaciones extrañas, tampoco cambios en el pelaje ni secreciones oculo-nasales o posturas anormales. Ninguna de las ratas presentó comportamiento agresivo ni estado comatoso.

Tabla 7. Tabla de pesos (gr.). Valores crudos.

GRUPO	SUBGRUPO	RATA	08/06/2011	15/06/2011	22/06/2011	29/06/2011	06/07/2011	13/07/2011	20/07/2011	27/07/2011	03/08/2011	
SUTURA	8 SEMANAS	1	310	321	354	370	399	400	412	426	441	
		2	305	316	349	372	402	413	425	442	451	
	4 SEMANAS	3		355	323	329	350	365				
		4		345	390	407	430	450				
	2 SEMANAS	5			397	365	375					
		6			370	333	354					
	1 DÍA	7								438		
		8								490		
HISTOACRYL Flex	8 SEMANAS	9	320	350	374	405	425	430	443	454	465	
		10	300	310	335	361	392	397	410	424	439	
	4 SEMANAS	11		388	376	384	400	410				
		12		368	353	370	382	395				
	2 SEMANAS	13			405	410	418					
		14			439	420	430					
	1 DÍA	15								494		
		16								465		
HISTOACRYL DK	8 SEMANAS	17	320	340	348	376	404	403	419	436	448	
		18	305	330	352	369	397	400	422	430	450	
	4 SEMANAS	19		370	345	360	380	388				
		20		362	350	364	384	395				
	2 SEMANAS	21			387	362	384					
		22			370	350	352					
	1 DÍA	23								449		
		24								499		

Tabla 8: Peso de los Animales (gr.) durante el periodo postoperatorio.

	Sutura Manual	Histoacryl flex	Histoacryl DK	<i>p</i> value
24hrs	464,0+/-36,8	479,5+/-20,5	474+/-35,3	<i>ns</i>
2 semanas	365,7+/-24,3	420,3+/-12,6	367,5+/-15,7	<i>ns</i>
4 semanas	375,2+/- 45,1	385,8+/-15,8	373,2+/-14,7	<i>ns</i>
8 semanas	384,9+/-63,6	390,3+/-66,9	387,3+/-62,1	<i>ns</i>

No hay cambios significativos en el peso de los animales entre los grupos durante el periodo de seguimiento (los resultados son expresados como media +/- SD; $p = ns$; Kruskal Wallis Test).

1.2.-RESULTADOS MACROSCOPICOS: ESTUDIO DE ADHERENCIAS.

En el momento de realizar la laparotomía iterativa, diferente según el subgrupo, no se observó en ningún animal líquido intraperitoneal, colecciones, abscesos ni dehiscencias, fuga o fístula en el lugar de la gastrotomía.

Siguiendo una clasificación según la incidencia, extensión y la consistencia de las adherencias se va rellenando la siguiente tabla.

CAPÍTULO VI.- RESULTADOS

Tabla 9. Tabla donde se recoge la incidencia y extensión de las adherencias, así como también su consistencia.

GRUPO	SUBGRUPO	RATA	08/06/2011	15/06/2011	22/06/2011	29/06/2011	06/07/2011	13/07/2011	20/07/2011	27/07/2011	03/08/2011
SUTURA	8 SEMANAS	1									1,1
		2									2,1
	4 SEMANAS	3						1,2			
		4						1,2			
	2 SEMANAS	5					1,1				
		6					1,2				
	1 DÍA	7							0		
		8							0		
HISTOACRYL Flex	8 SEMANAS	9									2,3
		10									2,3
	4 SEMANAS	11						2,2			
		12						2,3			
	2 SEMANAS	13					2,2				
		14					2,2				
	1 DÍA	15							0		
		16							0		
HISTOACRYL DK	8 SEMANAS	17									3,3
		18									3,3
	4 SEMANAS	19					3,2				
		20					3,3				
	2 SEMANAS	21						3,3			
		22						3,2			
	1 DÍA	23							0		
		24							0		

- **Primer Valor: Incideneacia y extensión de las adherencias:** - **Segundo Valor: Clasificación práctica de adherencias según su consistencia.**

0 = No adherencias.

1 = Adherencias mínimas.

2 = Adherencias pequeñas.

3= Adherencias extensas.

0 = Sin adherencias y/o proceso cicatricial.

1 = Adherencias laxas, desplegadas a la manipulación.

2 = Adherencias moderadamente laxas, desplegadas a la manipulación intencionada.

3 = Adherencias densas, no desplegadas a la manipulación, requiere corte.

Para el análisis estadístico de las adherencias según su consistencia de forma unificada entre los tres grupos se ha utilizado un test no paramétrico (Kruskal Wallis). El estadístico de contraste utilizado es la Chi-Cuadrado.

Cuando se realiza la valoración estadística conjunta entre los tres grupos no se observan diferencias significativas entre ellos.

Para el análisis estadístico de la Incidencia y extensión de las adherencias entre los tres grupos se ha utilizado un test no paramétrico (Kruskal Wallis). El estadístico de contraste utilizado es la Chi-Cuadrado.

Cuando se realiza la valoración estadística conjunta entre los tres grupos se observa que existen diferencias entre ellos con una significación estadística de 0,041.

Cuando el resultado de la prueba de Kruskal-Wallis es significativo (nuestra “p” es de 0.04), tiene interés comparar los rangos medios de los grupos para averiguar que grupos difieren.

El error estándar de las diferencias entre cada par de rangos medios y el cociente entre la diferencia de rangos medios y su error estándar sigue una ley de Student-Fisher con n-k grados de libertad, lo que nos permite descubrir los pares de grupos que difieren estadísticamente a partir de la siguiente desigualdad:

$$[R_i/n_i - R_j/n_j] > SE_{ij} * t_{n-k; \alpha/2}$$

Rata	Incidencia y extensión de las adherencias	Grupo	Posición	Posición ²	Suma Posición	Suma Posición ²
1	1	0	9	81	67	654.5
2	2	0	15	225		
3	1	0	9	81		
4	1	0	9	81		
5	1	0	9	81		
6	1	0	9	81		
7	0	0	3.5	12.25		
8	0	0	3.5	12.25		
9	2	1	15	225	97	1374.5
10	2	1	15	225		
11	2	1	15	225		
12	2	1	15	225		
13	2	1	15	225		
14	2	1	15	225		
15	0	1	3.5	12.25		
16	0	1	3.5	12.25		
17	3	2	21.5	462.25	136	2798
18	3	2	21.5	462.25		
19	3	2	21.5	462.25		
20	3	2	21.5	462.25		
21	3	2	21.5	462.25		
22	3	2	21.5	462.25		
23	0	2	3.5	12.25		
24	0	2	3.5	12.25		

CAPÍTULO VI.- RESULTADOS

$$SE_{ij}=3.043 \text{ y } t_{21; \text{alfa}/2}= 2.0796$$

Comparación	Rango medio ₀	Rango medio ₁	Rango medio ₂	Diferencia Rango medio	SE _{ij} * t _{n-k ; alfa/2}	Significación
0 - 1	8.38	12.13		3.75	6.328	NS
0 - 2	8.38		17.00	8.62	6.328	P<0.05
1 - 2		12.13	17.00	4.87	6.328	NS

El cuadro superior resume las comparaciones múltiples y permite concluir que la incidencia y extensión de las adherencias presenta diferencias significativas entre el grupo sutura y el grupo DK, pero no entre sutura-Flex o Flex-DK.

Para el análisis estadístico de la Incidencia y extensión de las adhesiones entre sutura y Flex , y Sutura y DK se ha utilizado un test no paramétrico (Prueba de Mann-Whitney). El estadístico de contraste utilizado es la U de Mann-Whitney.

Cuando se realiza la valoración estadística entre el grupo sutura y Flex no hay significación estadística, es decir no hay diferencia entre ellos.

Cuando se realiza la valoración estadística entre el grupo sutura y DK si hay significación estadística, es decir, hay diferencia entre ellos. P< 0.05.

La conclusión es que existen más adherencias en el grupo DK que en la sutura.

Luego analizaremos este resultado, que puede ser debido al modo de administración de este tipo de cola sintética.

1.3.-RESULTADOS HISTOLOGICOS .

El día de la reintervención se realiza una sección gástrica que incluye la anastomosis. La pieza fijada por cada extremo, se introduce en un recipiente con formol y se evalúan todas por el mismo anatomopatólogo. Se realiza una inspección de las diferentes características microscópicas indicadores de inflamación aguda o crónica, a más a más de buscar dehiscencias microscópicas.

Para el análisis de los resultados histológicos se ha utilizado un Test no Paramétrico, la prueba de Kruskal-Wallis. Se ha utilizado como estadístico de contraste la Chi-Cuadrado.

No hay diferencias significativas entre los tres grupos en relación a : inflamación aguda, inflamación crónica, reacción gigantocelular, tejido de granulación o localización de la inflamación. Tampoco hay diferencias en cuanto al daño hepático o renal en los diferentes grupos.

Imágenes comparativas mostrando los hallazgos microscópicos.

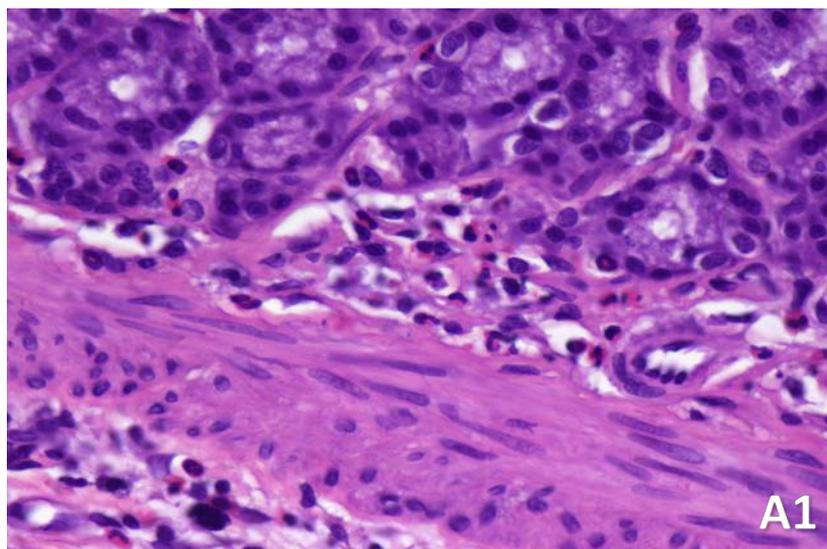
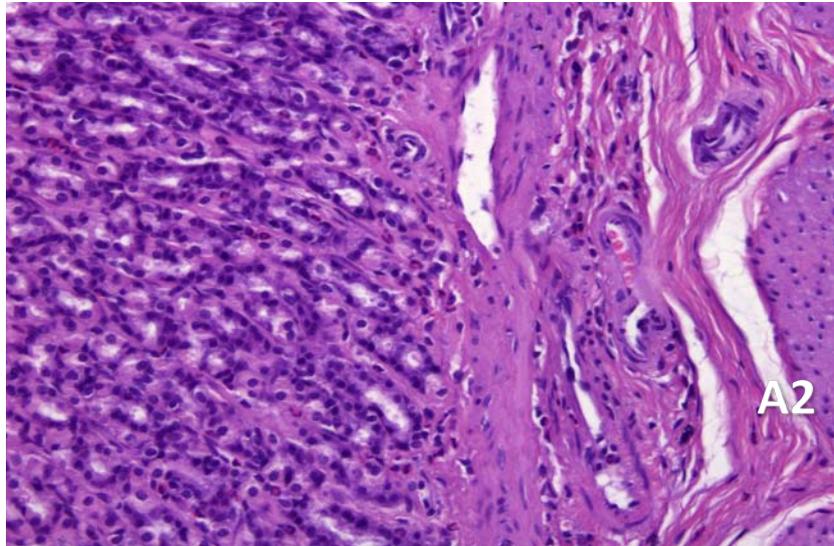
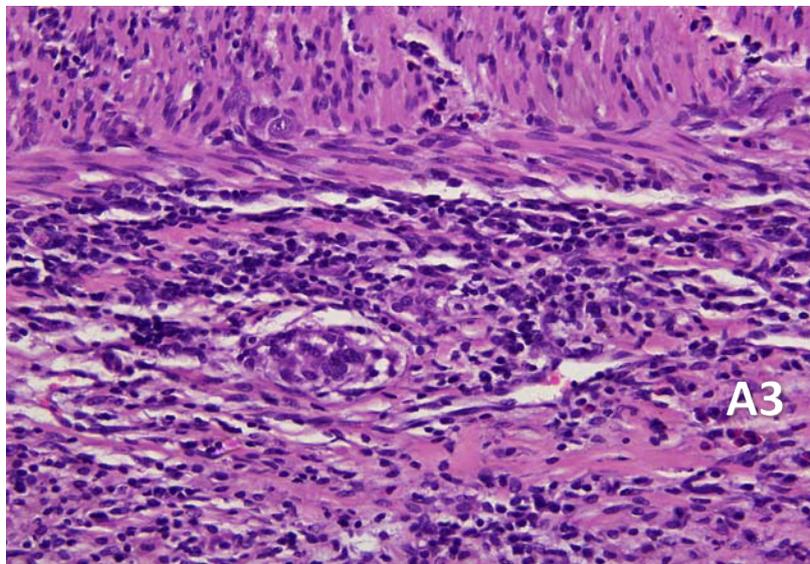


Imagen 57. Pared gástrica con signos de inflamación aguda en el grupo de sutura manual. (A1; 40x)



*Imagen 57. Pared gástrica con signos de inflamación aguda en el grupo de HF.
(A2; 20x)*



*Imagen 57. Pared gástrica con signos de inflamación aguda en el grupo de H2K.
(A3; 20x)*

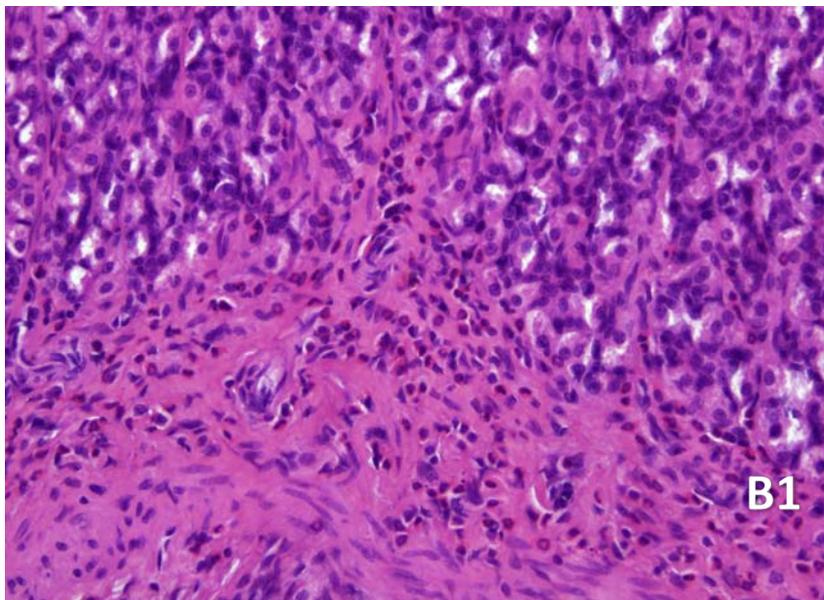


Imagen 58. Mucosa y submucosa gástrica con signos de inflamación crónica en el grupo de sutura manual. (B1; 20x)

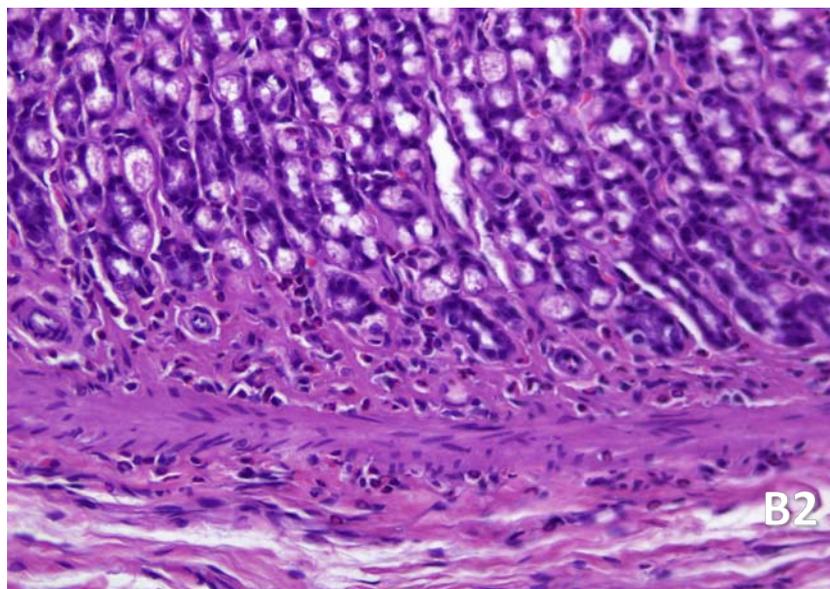


Imagen 58. Mucosa y submucosa gástrica con signos de inflamación crónica en el grupo de HF. (B2; 20x)

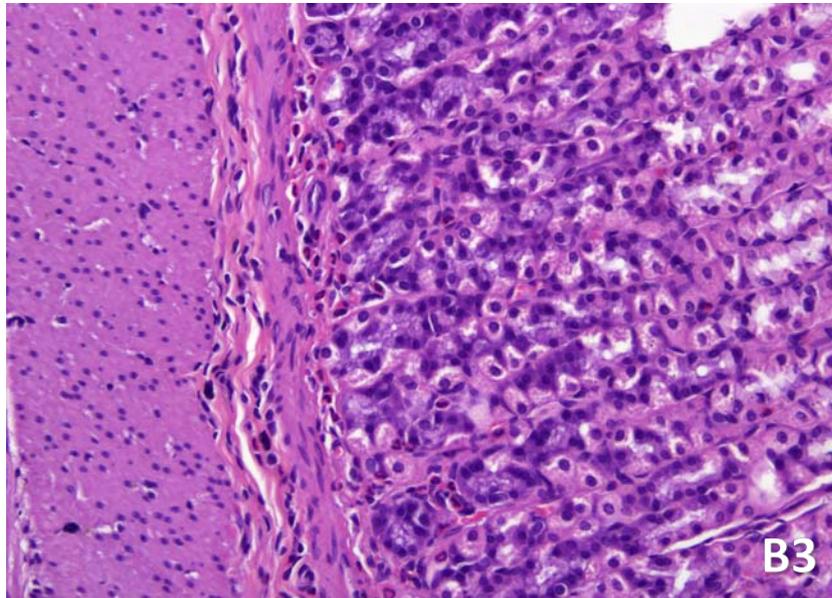


Imagen 58. Mucosa y submucosa gástrica con signos de inflamación crónica en el grupo de H2K . (B3; 20x)

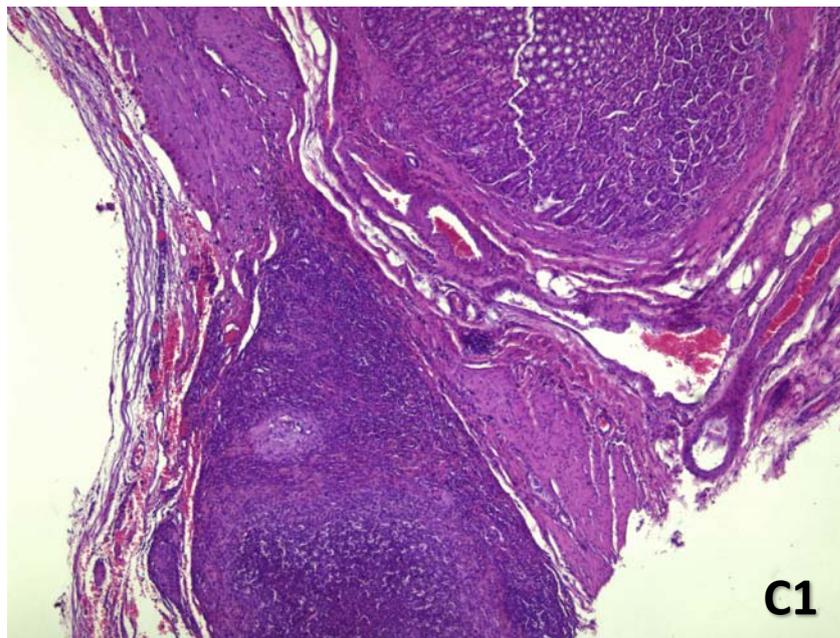


Imagen 59. Reacción gigante celular en el grupo de sutura manual. (C1; 10x)

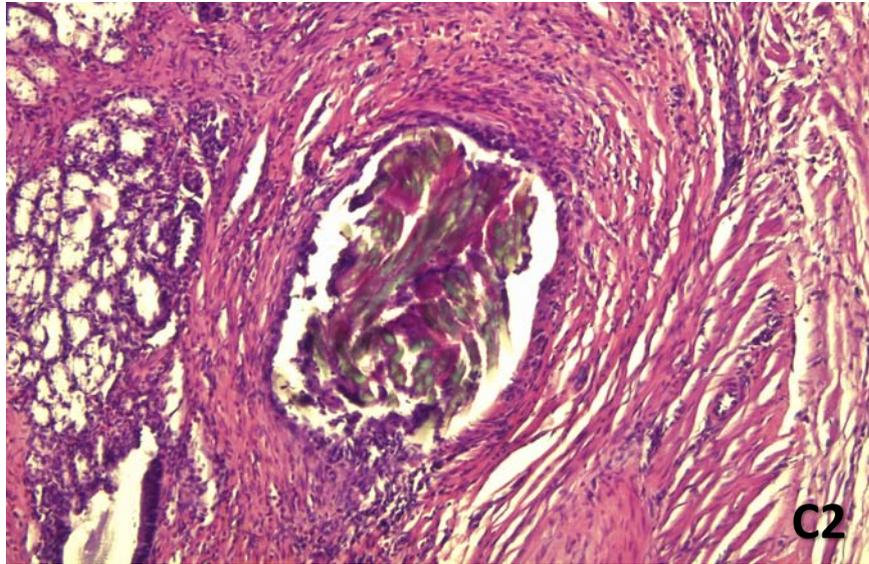


Imagen 59. Reacción gigante celular en el grupo de HF (C2; 20x)

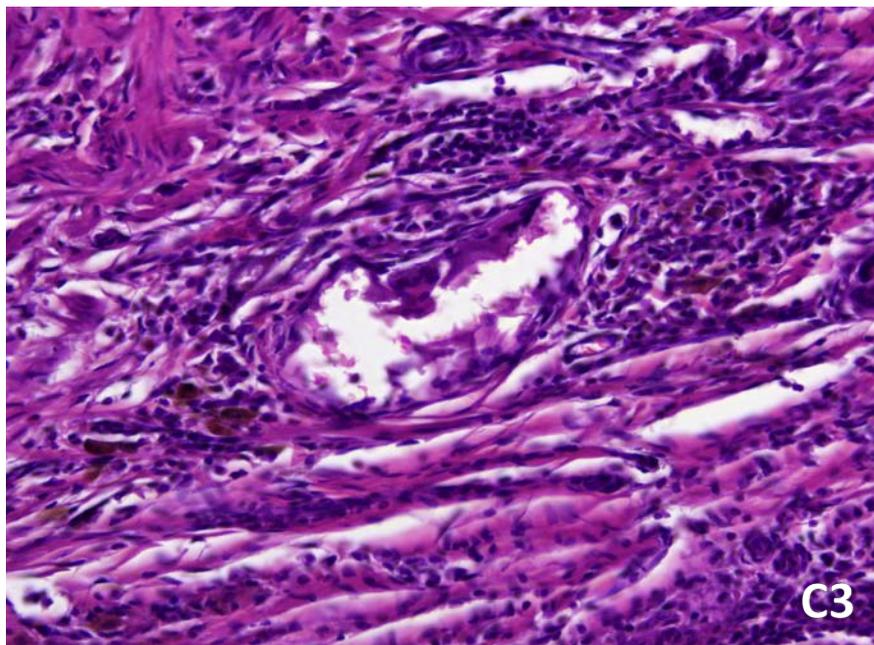


Imagen 59. Reacción gigante celular en el grupo de H2K (C3; 20x)

CAPÍTULO VI.- RESULTADOS

Tabla 10: Tabla valoración histológica.

		Cambios Reactivos				Cambios Renales	Cambios Hepáticos
Rata	Inflam. Aguda	Inflam. Crónica	RGCCE (Granuloma)	Tejido de granulación	Localización		
1	1	3	0	0	2	2	1
2	3	3	1	1	3	3	2
3	1	2	0	0	0	3	2
4	0	2	0	0	2	1	2
5	0	2	0	0	1	3	2
6	1	0	0	0	1	0	2
7	0	1	0	0	1	3	0
8	1	0	0	0	1	1	2
9	1	2	0	0	1	3	3
10	2	0	0	0	1	3	0
11	1	3	0	0	1	3	2
12	1	3	0	0	2	1	0
13	1	2	0	0	2	0	2
14	1	3	0	0	2	1	0
15	1	2	0	0	2	1	2
16	0	1	0	0	1	3	1
17	3	3	2	3	4	3	0
18	2	3	0	0	2	3	2
19	1	3	0	0	1	3	0
20	1	2	0	0	1	3	2
21	3	3	0	0	4	3	0
22	0	2	0	0	1	3	1
23	1	2	0	0	1	3	1
24	0	1	0	0	1	1	1

Leyenda tabla valoración histológica según clasificación de Ehrlich-Hunt: ⁽⁸⁴⁾

- Inflamación aguda y crónica:

- 0: Grado 0
- 1: Grado 1
- 2: Grado 2
- 3: Grado 3

- Reacción gigante celular (granuloma):

- 0: Ausencia
- 1: Leve
- 2: Moderada

- Tejido granulocítico:

- 0: Ausencia
- 1: Grado 1
- 2: Grado 2
- 3: Grado 3

- Localización:

- 0: mucosa
- 1: lámina propia
- 2: Lámina propia y submucosa
- 3: Muscular
- 4: Transmural

- Cambios renales:

- 0: sin alteraciones significativas
- 1: Congestión glomerular
- 2: Congestión vascular y glomerular
- 3: Congestión y dilatación vascular más congestión glomerular
- 4: Congestión i dilatación vascular, congestión glomerular más hemorragia

CAPÍTULO VI.- RESULTADOS

- Cambios hepáticos:

0: sin alteraciones significativas

1: Dilatación vascular

2: Dilatación y congestión vascular

3: Dilatación y congestión vascular más hemorragia

1.4.-RESULTADOS ANALITICOS.

Se estudiaron variaciones en los leucocitos, plaquetas y PCR en todas las ratas y al analizarlas no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros estudiados al comparar los diferentes grupos entre ellos.

Tabla 11: Tabla de valores de Leucocitos, PCR y Plaquetas.

GRUPO	SUBGRUPO	RATA	08/06/2011	15/06/2011	22/06/2011	29/06/2011	06/07/2011	13/07/2011	20/07/2011	27/07/2011	09/08/2011
SUTURA	8 SEMANAS	1	3.6/0.02/734				2.6/0.29/714				1.4/0.25/756
		2	1.5/0.10/848				0.9/0.22/863				0.2/0.13/862
	4 SEMANAS	3		9.3/0.24/750		9.9/0.61/971		3/0.41/869			
		4		3.2/0.05/924		9.7/0.08/1080		2.9/0.16/1046			
	2 SEMANAS	5			2.1/0.13/706	2.1/0.51/1524	3.9/0.13/894				
		6			7/0.30/781	14.7/0.24/1255	11.4/0.44/1058				
	1 DIA	7							A1.4/0.39/701 B1.3/0.50/739 A16/0.26/790 B1.2/0.38/763		
HISTOACRYL Flex	8 SEMANAS	9	3.1/0.11/691				2.5/0.20/860				1.1/0.27/632
		10	2.6/0.02/808				1.6/0.29/724				1.8/0.19/813
	4 SEMANAS	11		3.5/0.06/767		17.4/0.01/930		11.1/0.17/797			
		12		3.4/0.15/824		6/0.31/987		1.8/0.15/857			
	2 SEMANAS	13			6.3/0.09/719	1.8/0.15/758	5.8/0.09/941				
		14			2.6/0.05/379	3.6/0.15/1320	3/0.15/889				
	1 DIA	15							A 4.7/0.30/847 B4.8/0.41/840 A 4/0.30/788 B3.9/0.03/738		
		16									
HISTOACRYL DK	8 SEMANAS	17	2.3/0.12/551				7.8/0.09/715				3.6/0.23/748
		18	0.8/0.17/207				8.4/0.30/638				2/0.06/697
	4 SEMANAS	19		3.7/0.30/799		12.6/0.09/1030		7/0.31/889			
		20		6.3/0.30/852		9.2/0.13/1106		2.3/0.37/706			
	2 SEMANAS	21			0.8/0.41/905	14.1/0.48/1111	10.7/0.52/1353				
		22			2.6/0.11/717	6.3/0.22/843	4.5/0.50/1000				
	1 DIA	23							A1.1/0.30/826 B 0.9/0.40/806 A2.1/0.13/877 B1.2/0.08/804		
	24										

Hematología:
Leucocitos x 10³ micro/L
PCR
Plaquetas x 10³ micro/L

**VII. CONSIDERACIONES ETICAS Y
POSIBLES LIMITACIONES.**

1.-CONSIDERACIONES ETICAS Y POSIBLES LIMITACIONES.

Para poder realizar este estudio experimental con animales se solicitó los siguientes permisos y valoraciones. El primer de todos fue la valoración del Comité de Ética de la “ Fundació Institut d’Investigacions en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol “. Fundación responsable del Centro de Experimentación de animales (CEA) donde pertenecen las instalaciones en las cuales se realizaría el proyecto de ser aprobado.

Se inició el proyecto una vez aprobados los documentos solicitados por “ la Direcció General del Medi Ambient del Departament de Medi Ambient i Habitage de la Generalitat de Catalunya ” para la experimentación con animales. Los documentos fueron la Solicitud de autorización expresa de procedimientos de experimentación con animales conocida como SAE y la Notificación previa de procedimientos que no requieren autorización expresa o NPP.

Después de varias modificaciones para esclarecer detalles de la alimentación y protocolo de supervisión de las ratas, finalmente a principios de Octubre del 2010, se recibió la resolución favorable y con ella, la autorización para llevar a cabo nuestra investigación y poder demostrar nuestra hipótesis. Esta notificación la firma el “ Cap de Servei de Fauna, Flora i Animals de Companyia del Servei de Protecció de Fauna, Flora i Animals de Companyia de la Direcció General de Medi Natural”, que pertenece al “ Departament de Medi Ambient y Habitage de la Generalitat de Catalunya ”.

Las limitaciones en referencia al diseño del presente estudio puede ser la realización de la gastrotomía simple, y no una sección gástrica completa. Es decir, la prueba se realiza sólo con una sutura simple y no con una anastomosis. Se decidió realizarlo de esta manera por dos motivos.

En primer lugar, para disminuir las variables locales que condicionan una correcta evolución de los resultados. Al efectuar una sencilla gastrotomía y repararla con adhesivo o puntos, no entraban en juego otros factores implicados en las complicaciones

CAPÍTULO VII.- CONSIDERACIONES ETICAS Y POSIBLES LIMITACIONES

de las suturas. La tensión entre los segmentos anastomosados no podía alterar los resultados y afectar la demostración de nuestra hipótesis. Tampoco se afectaría la sutura por una posible falta de riego sanguíneo, secundaria a una alteración de la vascularización como pasa en las resecciones gástricas.

Los factores sistémicos también quedan eliminados ya que todos los animales del estudio son de la misma especie, edad similar, peso entre 250 y 350 gr., sin enfermedades o tratamientos previos que puedan afectar la sutura que realizamos. Dado que las intervenciones siempre las realiza el mismo cirujano también es un factor menos a considerar como a diferencia que pudiera variar los resultados. Así, prácticamente el único factor a analizar es el material de sutura que es del lo que se trata este estudio.

En segundo lugar, por el echo de que no hay estudios experimentales previos con el uso de cianoacrilatos en el tracto digestivo como único elemento de unión.

No existen estudios experimentales en animales (ratas, conejos o cerdos) en los cuales se hayan realizado anastomosis gástricas únicamente con cianoacrilatos como único elemento de unión. Es por este motivo, que nos pareció correcto como iniciación realizar nuestra hipótesis cerrando primero una gastrotomía.

El tamaño muestral de nuestro estudio ha sido de 24 ratas. Evidentemente, aumentando la N en nuestro estudio se aumentaría la potencia del mismo, pero muchas veces en estos estudios experimentales hay que lidiar con los recursos. De todas formas, esta N no dista mucho de otros estudios experimentales en animales pequeños.

Konstantinos A. *et al.* ⁽⁶⁵⁾ realizaron una magnífica revisión sistemática en el 2013 de estudios experimentales y clínicos acerca de los adhesivos tisulares en las anastomosis gastrointestinales. Revisaron 48 estudios desde el año 2000, tres relacionados con anastomosis esofágicas, 13 con anastomosis gástrica, cuatro con anastomosis pancreática, ocho con anastomosis de intestino delgado y veinte con anastomosis de intestino grueso. 15 estudios de los 48 eran en humanos, pero el resto eran experimentales con animales pequeños (ratas y conejos) y grandes (cerdos). Yurtcu *et al.* ⁽¹⁰¹⁾ utilizaron una N de 24 ratas para realizar anastomosis esofágicas,

utilizando cianoacrilato como refuerzo de la sutura. Nguyen *et al.*⁽¹⁰²⁾ Utilizaron una N de 16 cerdos para realizar anastomosis gastroyeyunales, utilizando adhesivo de fibrina como refuerzo de la sutura. Weiss and Haj⁽⁷⁵⁾ utilizaron una N de 64 ratas para realizar anastomosis gastroyeyunales, utilizando cianoacrilato como refuerzo de la sutura. Ensari *et al.*⁽¹⁰³⁾ utilizaron una N de 40 ratas para realizar anastomosis yeyunoyeyunales, utilizando cianoacrilato como refuerzo de la sutura. Ozmen *et al.*⁽⁷³⁾ utilizaron una N de 40 ratas para realizar anastomosis colonicas, utilizando cianoacrilato como refuerzo de la sutura.

A pesar de todos los estudios experimentales que se han realizado hasta la fecha en el campo de adhesivos quirúrgicos, sigue siendo difícil sacar conclusiones sobre los efectos de los adhesivos tisulares utilizados como refuerzo en las distintas anastomosis del tracto gastrointestinal. La razón de esto es que hay demasiada heterogeneidad en los métodos experimentales entre grupos de investigación. Al igual que la mayoría de autores, nosotros hemos utilizado en el estudio piloto el “ anastomotic bursting pressure” o “test de minima presión de fuga” como un punto importante en nuestro estudio, porque refleja la resistencia de la sutura de la gastrotomía con el adhesivo sintético.

Sin embargo, aunque es popular, esta prueba también se ha analizado y se afirma que el “ anastomotic bursting pressure” podría no estar correlacionada con la integridad de la anastomosis y el resultado clínico.⁽¹⁰⁴⁾

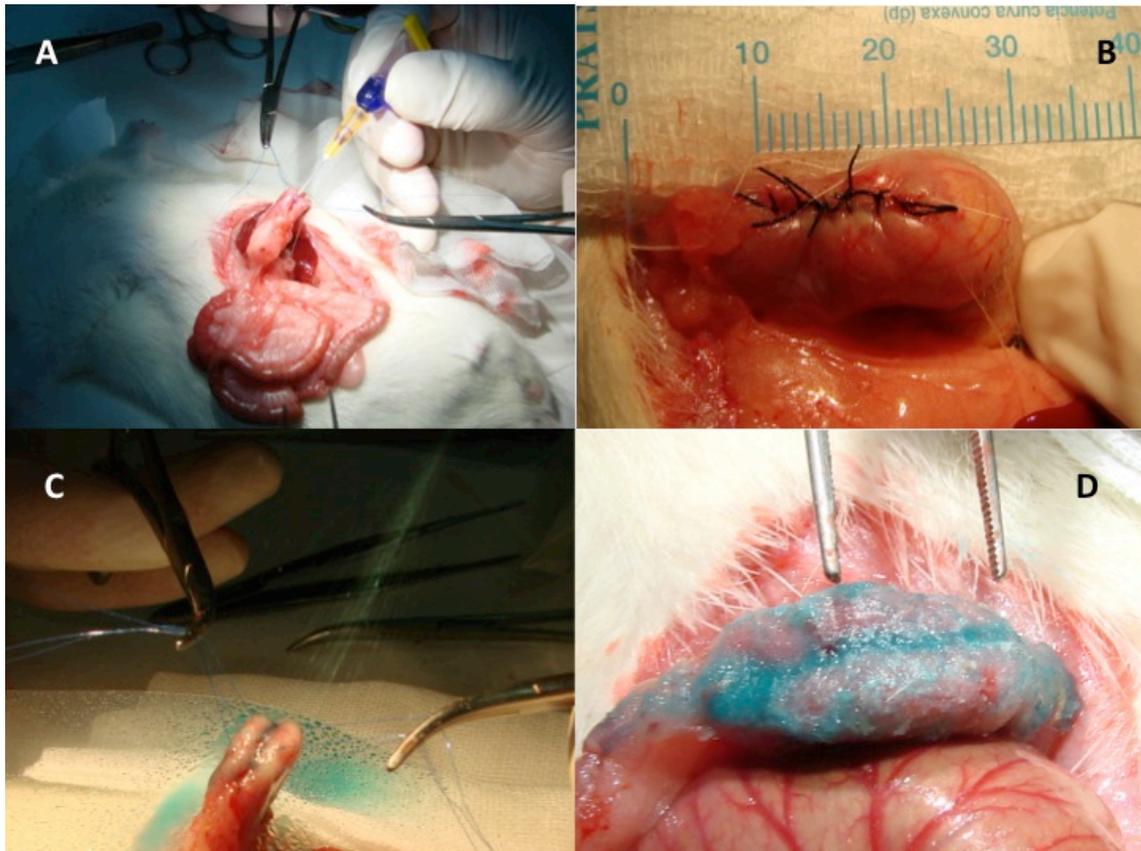


Imagen 60. Las fotografías muestran los tres metodos diferentes de cierre que se realizaron para la gastrotomía. Histoacryl[®] flexible (A), sutura manual con seda discontinua 5/0 (B), y Histoacryl[®] Double Component (C and D).

VIII. DISCUSSION.

1.- DISCUSION.

A lo largo de la historia se ha buscado la solución más adecuada para cerrar una herida (traumática o quirúrgica) no sólo con la intención de restituir la integridad del organismo, sino también de que cause la menor reacción inflamatoria y consiga una cicatriz lo más estética posible. Durante décadas se ha forjado la imagen del cirujano como la de un "profesional o artesano que cose", que usa suturas para cerrar las heridas. Pero todas las suturas, ya sean absorbibles o no, añaden un nuevo microtrauma, y con él, una variable reacción tisular. No obstante, en la actualidad las heridas también pueden ser tratadas mediante adhesivos tisulares sintéticos o colas. El desarrollo de este nuevo método de tratamiento es importante en la medida en que puede ofrecer ventajas a los pacientes en cuanto a rapidez, fuerza de tensión y barrera contra infecciones, aumentando de este modo su calidad de vida. Por lo tanto, la introducción de los adhesivos en cirugía ha sido recibida con un gran entusiasmo inicial tanto por parte de los cirujanos como de los pacientes, ya que parece que pueden conseguir una resistencia de tensión equivalente o superior a la de cualquier sutura, con mejor aspecto estético de la cicatriz final y una tasa de infección menor. Si estos hechos se terminan confirmando, si los adhesivos demuestran ser una mejor solución (con mayor eficacia y menor daño), la imagen tradicional del cirujano unido a una sutura podría modificarse en un futuro no muy lejano, o incluso desaparecer.

No existen estudios experimentales en animales (ratas, conejos o cerdos) en los cuales se hayan realizado suturas gástricas únicamente con cianoacrilatos como único elemento de unión. Si que existen estudios experimentales donde se refuerza una sutura manual o mecánica con cianoacrilatos, e incluso algunos con anastomosis colónicas únicamente con adhesivos. Es por este motivo por lo que nos pareció correcto plantear esta hipótesis cerrando primero una gastrotomía.

Tras haber comprobado la eficacia de los cianoacrilatos en suturas de colon como único elemento de unión a nivel experimental, nos proponemos valorar de nuevo su eficacia precisamente allí donde no se ha probado, en la cámara gástrica. La cámara gástrica permite una gran distensibilidad lo que supone una prueba límite de la capacidad de los CA, no sólo como mecanismo de unión, sino como valoración de su

CAPÍTULO VIII.- DISCUSION

eficacia como sellante de líquidos biológicos. En consecuencia nos pareció correcto plantear la sutura de una gastrotomía amplia, sin los condicionantes de tipo isquémico que comporta una sección vascular, como hipótesis de nuestro trabajo y poder evaluar de este modo la eficacia real en su aplicación gástrica.

Las formulaciones anteriores de CA no tienen tanta capacidad elástica y la rigidez de su polimerización no permite esta gran distensibilidad de los tejidos que ofrecen los CA flexibles. Por lo tanto, ante una solicitud de elevada distensibilidad, como es la gástrica, la rigidez de conllevan los CA menos flexibles podría producir pequeñas fisuras que posteriormente evolucionarían a fugas intestinales.

Nuestro estudio se centra en la necesidad de comprobar si dos nuevas formulaciones flexibles derivadas del n-butil-CA son viables para el cierre de una gastrotomía como único material de unión. Queremos destacar que estos dos CA tienen una mayor capacidad elástica y por lo tanto permiten una mayor flexibilidad de los tejidos en los que se ha aplica. Cabe recordar que este estudio experimental es una parte de un proyecto de análisis de los cianoacrilatos en suturas digestivas, en el que inicialmente empezamos con animales pequeños y posteriormente se seguirá con animales mayores de experimentación. Existen estudios previos experimentales en los que se analizaron las evolución y diferencias entre anastomosis gastrointestinales utilizando CA no flexibles únicamente como refuerzo de las suturas y no como material único de unión. En estos estudios no hay diferencias significativas ni en la tasa de fugas anastomóticas ni en la incidencia de las adherencias entre el grupo se sutura sin CA respecto al grupo en el que si se hizo la sutura con refuerzo mediante CA.

Una de las características más conocidas hoy en día de los cianoacrilatos es su grado de rigidez y su potencia adhesiva. La primera de las dos supone, en realidad, un hándicap para esta finalidad ya que sí realmente lo que queremos plantear es la posibilidad de que los cianoacrilatos puedan ser utilizados como único elemento de unión en una sutura gástrica, deberían de proporcionar una capacidad de mimetización máxima con el tejido, empezando sobre todo por aportar flexibilidad, y permitir una mejor distensión del mismo. Fue precisamente esta disyuntiva la que nos llevó a realizar un estudio piloto con la intención de detectar si había diferencias en cuanto a la presión

mínima de fuga entre el grupo sutura y el grupo CA. Este estudio piloto no sólo nos ha sido útil como test de presión de fuga, sino que también nos ha permitido ver la capacidad de distensión del estómago con la aplicación de estos dos nuevos cianoacrilatos mucho mas allá de lo inicialmente esperado. Nuestra sorpresa fue que los CA no sólo permitían una mayor distensibilidad de la cámara gástrica, sino que además sellaba la gastrotomía soportando presiones casi el doble que las realizadas con la sutura manual.

A pesar que el dispositivo del H2K es en formato difusor y la cantidad que se aplica es más difícil de controlar dado el pequeño tamaño del lugar de su aplicación, en el análisis macroscópico realizado durante el estudio piloto se objetivó una menor rigidez y una mayor flexibilidad que el en el grupo en el que se aplicó HF. Sin embargo, la evidencia de que tras la aplicación con “spray” del H2K el grosor de la capa de CA era mayor confirió, tras su polimerización, una cierta pérdida del grado de elasticidad y en consecuencia pensamos que este hecho pudo ser el responsable de la aparición de la fuga a más baja presión que el grupo HF.

Entre los cirujanos existe una tendencia digamos “natural” y espontánea a realizar una capa de un grosor considerable de modo que nos aporte, aunque de forma subjetiva, una mayor “falsa” seguridad. Pero en realidad es todo lo contrario. Cuanto mayor es la capa aplicada, mayor grosor de polimerización, menor flexibilidad y mayor riesgo de fisura y fuga. De ahí la insistencia por parte de los delegados comerciales en la presentación del producto en realizar una capa uniforme y de mínimo grosor.

Resulta evidente, analizando los resultados de nuestro estudio piloto sobre las presiones, que los resultados muestran de modo determinante una mayor presión de la cámara gástrica y de su distensibilidad cuando aparece la fuga al aplicar los CA flexibles respecto a la sutura manual. Estos resultados discrepan de los hallazgos en otros estudios que señalan que la anastomosis colónica con adhesivos no eran tan resistentes como las anastomosis realizadas con sutura manual ^(73, 85), aunque probablemente esto se debe a que los CA de estos estudios no disponían de esta capacidad elástica, una característica integrada en la configuración molecular de los CA utilizados en nuestro estudio.

CAPÍTULO VIII.- DISCUSION

Hace unos meses, en Febrero del 2015, el grupo Holandés de Rotterdam encabezados por Konstantinos A. *et al.* ⁽⁹⁰⁾, publicó un artículo en el que se comparan las propiedades de la fuerza mecánica y la reología de los distintos tipos adhesivos tisulares en las anastomosis colorectales. Es un estudio *ex vivo* en ratas y su interés no sólo radica en sus conclusiones, sino que establece unas directrices iniciales y una estandarización para mejorar la metodología experimental en este tipo de estudios. Coincidimos de pleno con su opinión ya que describen, de modo analítico, que al utilizar un adhesivo tisular es imprescindible proporcionar detalles sobre su aplicación, tales como la cantidad utilizada, el grosor y anchura de la capa, y el tiempo esperado para su polimerización (ya que como hemos apuntado un mayor grosor dificulta la capacidad elástica de estos CA). Destacamos también la necesidad, según el trabajo de Konstantinos, de que la técnica de anastomosis debe estandarizarse al máximo para conseguir que los resultados sean fácilmente comparables. Concretamente la cantidad de suturas utilizadas para la anastomosis colónica varía mucho entre distintos estudios con el mismo modelo animal, y en el caso de la anastomosis colónica únicamente con adhesivos hubo variaciones en el uso de suturas de referencia en los bordes antimesentéricos. De ahí que, para no desvirtuar con factores externos la eficacia en su fuerza tensil de los CA que presentamos en este estudio, llevásemos a cabo una gastrotomía amplia con la intención de disminuir la variable de tipo isquémico que pudiera alterar la cicatrización. En el fondo, tal como apunta y propone el trabajo de Konstantinos, se trata de estandarizar un modelo quirúrgico animal que permita evaluar la eficacia real del producto analizado, en este caso los cianocrilatos de mayor flexibilidad.

Del mismo modo recomiendan para poder comparar resultados en este tipo de investigación, que sería aconsejable utilizar un animal como modelo único, con la intención de disminuir la variabilidad entre estudios al utilizar ratas, conejos o cerdos como modelos experimentales. En este sentido nuestro grupo de investigación en CA ha iniciado estudios en ratas como modelo experimental de animal pequeño y, una vez demostrada su eficacia, seguirá con el cerdo como modelo de experimentación de animal grande tal como indica la correcta evolución de los proyectos en animales de experimentación.

En nuestra opinión la investigación en este campo debería proporcionar una mejor perspectiva de la biomecánica del proceso de adhesividad para las diferentes ubicaciones anatómicas donde se efectúan las anastomosis. Ello podría permitir el desarrollo de los adhesivos tisulares por encargo, es decir en base a las distintas localizaciones anatómicas. O lo que aún sería mejor, una cola universal para las distintas ubicaciones en que se ejerciesen las suturas. Esta circunstancia nos proporcionará una mejor comprensión del por qué ciertos adhesivos tisulares tienden a ser más efectivos que otros, además de aportar información sobre los siguientes pasos a seguir en el desarrollo de nuevos adhesivos tisulares para las anastomosis colónicas o viscerales.

No nos extrañaría nada que en un futuro no muy lejano una de las posibles aplicaciones de los CA flexibles pudiera ser el cierre de perforaciones gastrointestinales ⁽⁸⁶⁾, especialmente para perforaciones por úlcera péptica o tras una colonoscopia. Se ha descrito el empleo con éxito de los N-butilcianoacrilato para el cierre de perforaciones gástricas en un modelo experimental en ratas ⁽⁸⁷⁾. Cuando se comparó con sutura estándar, el cianoacrilato tópico logró resultados similares en términos de seguridad (dehiscencias y presión mínima de fuga) con un mejor perfil histopatológico aunque aumentaba significativamente la formación de adherencias. A diferencia de nuestro estudio, este cianoacrilato de n-butilo fue empleado como refuerzo y sellado, y no como único material de sutura para las perforaciones gástricas. Es destacable el hecho de que hasta la fecha no hay evidencia sobre la eficacia real de n-butil-cianoacrilato ni en un escenario de sepsis ni bajo condiciones de pH ácido extremas. Por lo tanto son imprescindibles nuevos trabajos no solo con la finalidad de demostrar su eficacia, sino de demostrarla además bajo condiciones fisiológicamente adversas, que permitan asegurar la eficacia de estos CA en esas situaciones antes de recomendar su uso en clínica no experimental.

Nuestros resultados muestran que el cierre gástrico con Hystoacryl® flexible e Hystoacryl® doble componente no afecta a los patrones de curación en términos de integridad de la herida o la cicatrización de la pared gástrica en comparación con la sutura tradicional. Esto es consistente con estudios anteriores que no muestran

CAPÍTULO VIII.- DISCUSION

diferencias en comparación con otras opciones técnicas ⁽⁸⁶⁾. Sin embargo, aunque parece que las modificaciones en el Histoacryl® tradicional o clásico no generan patrones inflamatorios aberrantes en la curación de la pared gástrica, se ha señalado anteriormente que el n-butil-cianocrilato puede afectar a la plasticidad de los nervios vagos aferentes ⁽⁸⁸⁾. Esto debe tenerse en cuenta especialmente cuando las condiciones anteriores que alteran la motilidad gástrica (por ej. diabetes mellitus) están presentes. Otro grupo de alto riesgo que podría beneficiarse de los CA flexibles para realizar cierres gástricos y anastomosis gastrointestinales, especialmente en situaciones clínicas que requieren un procedimiento seguro y rápido, serían los lactantes, niños pequeños o pacientes críticos. ⁽⁸⁹⁾ Por otro lado, parece razonable suponer que mientras no se aplique como elemento único de sutura, si que quizás se pueda aplicar como un refuerzo óptimo en algunas anastomosis gastrointestinales de alto riesgo, tales como las realizadas en cirugía oncológica o bariátrica.

Las suturas gástricas y anastomosis se realizan comúnmente no sólo durante los procedimientos resectivos sino también después de las complicaciones de úlceras pépticas o cierre del acceso endoscópico tras la cirugía endoscópica transgástrica. Aunque infrecuente, la dehiscencia de sutura gástrica es una complicación grave con consecuencias potencialmente mortales que se debería evitar. Se produce en el 4,2% de los pacientes después de la gastrectomía ⁽⁶¹⁾ y en el 4% después de la sutura de una úlcera perforada primaria. ⁽⁶²⁾ Enfoques novedosos como el NOTES transgástrico se asocian en ocasiones a la contaminación abdominal e infección postoperatoria que contribuyen notablemente a aumentar la morbi-mortalidad relacionada con el procedimiento ^(63, 64). En este sentido cabe destacar que la gran mayoría de las suturas o anastomosis gástricas en estas circunstancias, se realizan con el uso de grapadoras mecánicas o bien con una sutura manual. En contraposición a estas opciones fiables, las anastomosis experimentales con adhesivos son más rápidas y más fáciles de realizar. Los adhesivos pueden evitar la variabilidad de la sutura manual que depende esencialmente de la técnica individual del cirujano a la hora de realizar la anastomosis, además de causar menos daño a los tejidos que las suturas mecánicas, por lo que es aconsejable seguir investigando a nivel experimental su aplicación en este tipo de lesiones hasta disponer de la evidencia científica necesaria. ⁽⁴³⁾

Consideramos a raíz de nuestros resultados que el Histoacryl®, modificado para ser más flexible, puede ser utilizado con seguridad para cerrar heridas gástricas sin efectos secundarios significativos ni locales ni sistémicos a nivel experimental en animal pequeño. A pesar del hecho de que hay una serie de estudios que evalúan diferentes tipos de cianoacrilato en anastomosis colónicas en comparación con las suturas, el papel de los adhesivos en suturas gástricas sigue siendo poco conocido. La aportación más relevante de nuestro estudio, es que ésta es la primera vez que se evalúa un cierre de tejido gástrico sin sutura gástrica, únicamente con Histoacryl® flexible. Destaca además el hecho de que se evalúan dos modificaciones diferentes de n-butilcianoacrilato (H2K y HF) y dos sistemas de aplicación diferentes, por goteo y por difusión.

Queremos enfatizar en que los excelentes resultados de este trabajo son similares entre los dos tipos de Histoacryl® y la sutura estándar en todos los aspectos, salvo por la mayor incidencia de adherencias de la variante de doble componente (H2K) en comparación con la sutura manual. Es probable que esto se deba al tipo de aplicación (difusor) ya que aplica mayor cantidad de producto y de manera más extensa. HF provocó menos incidencia de adherencias que los otros dos grupos. En general, las adherencias son debido a la afinidad de proteínas como el fibrinógeno hacia la superficie del polímero lo que explica muy bien por qué el área de pulverización más grande con una película ligeramente más gruesa desarrolla adherencias más consistentes. En consecuencia deducimos de estos resultados que la técnica apropiada es una aplicación cuidadosa del líquido sólo en los bordes de la herida sin extenderse al tejido contiguo adyacente. Estas diferencias observadas entre los dos tipos de adhesivos podrían explicarse por el dispositivo de pulverización del H2K, que cubría un área de superficie mayor de lo que era deseable.

La mayoría de los estudios previamente publicados que evalúan el papel del cianoacrilato en suturas gastrointestinales se circunscriben a aspectos locales de la anastomosis propiamente dicha o aspectos intraperitoneales yuxtaanastomóticos. En nuestro trabajo hemos querido analizar también los posibles cambios en diversos parámetros hematológicos y bioquímicos inflamatorios durante el seguimiento después de la intervención quirúrgica. Y podemos concluir que no hay diferencias entre los tres

CAPÍTULO VIII.- DISCUSION

grupos, lo que sugiere que el uso de Hystoacryl® flexible e Hystoacryl® doble componente no genera cambios sustanciales en la homeostasis. Por lo tanto, se puede afirmar que los adhesivos de cianoacrilato crean una respuesta inflamatoria similar al del material de sutura tradicional.

Obviamente son necesarios más estudios para evaluar la utilidad de los cianocrilatos flexibles en el cierre gástrico. Sin embargo, nuestros resultados positivos son lo suficientemente alentadores para considerar nuevos estudios en animales grandes incluso en situaciones desfavorables, a fin de evaluar la correcta cicatrización de las suturas sin puntos y confirmar la idoneidad de estos cianoacrilatos.

VIII. CONCLUSIONES.

1.- CONCLUSIONES.

- Las dos nuevas colas sintéticas utilizadas en este estudio (derivados del n-butil-CA) son viables para llevar a cabo suturas gástricas como único mecanismo de unión en ratas tipo Wistar.
- En el estudio piloto se observa que existe mayor resistencia de la gastrotomía cerrada con el Histoacryl Flex, en segundo lugar Histoacryl DK[®] y la sutura manual queda en último lugar porque hay fugas mas precoces.
- Las ratas del grupo (Histoacryl Flex[®] e Histoacryl DK[®]) presentaron una correcta evolución postoperatoria, no se objetivó ningún síntoma de alarma, ningún animal presentó pérdidas de peso patológico y no se precisó en ningún caso de analgesia de rescate, ni de una eutanasia precoz siguiendo el protocolo de dolor.
- No hay diferencias estadísticamente significativas en la respuesta inflamatoria analizando los leucocitos y la PCR entre los tres grupos de ratas comparados.
- Los hallazgos histológicos demuestran una adecuada y correcta cicatrización gástrica al realizar el cierre de la gastrotomía con los nuevos derivados de n-butil-CA.
- Las dos nuevas colas sintéticas utilizadas en este estudio (Histoacryl Flex[®] e Histoacryl DK[®]) no presentan citotoxicidad que contraindique su uso en esta nueva indicación.
- La unión del tejido gástrico fue estable en todos los grupos sin evidenciarse complicaciones clínicas ni dehiscencias de sutura.

CAPÍTULO VIII.- CONCLUSIONES

- La presencia de adherencias perianastomóticas no difiere entre los grupos de sutura manual e Histoacryl Flex[®], sin embargo son algo más extensas en el grupo Histoacryl DK[®].
- Por lo tanto, existen diferencias significativas en cuanto a la incidencia y extensión de adherencias cuando se compara entre el grupo Histoacryl DK[®] y el grupo de sutura manual.

**IX. DIVULGACION / IMPORTANCIA
CIENTIFICA Y APLICABILIDAD CLINICA.**

1.- DIVULGACION / IMPORTANCIA CIENTIFICA Y APLICABILIDAD CLINICA.

1.1.-DIVULGACION .

Desde la gestación de este estudio hasta la fecha se ha ido difundiendo en varias ocasiones. En primera instancia con la idea y propuesta para conseguir la financiación que permitiera llevarlo a termino. En segundo lugar con los cambios y mejoras para la aceptación de los comités de ética de la “Fundació Institut d’Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol” y después de la “Direcció General del Medi Ambient del Departament del Medi Ambient i de l’Habitatge de la Generalitat de Catalunya”. Una vez realizada la prueba piloto de presiones y con sus resultados se presentó el proyecto como un trabajo de tesina logrando una excelente puntuación.

Ahora, además de ser el trabajo para conseguir el grado de Doctor, también se ha trabajado en la redacción de un artículo para una revista de cirugía general experimental. El título del artículo es: “*Suture-less gastric closure using two types of flexible cyanoacrylate adhesives*”.

1.2.-IMPORTANCIA CIENTIFICA Y APLICABILIDAD CLINICA .

A lo largo de la historia se ha buscado la solución más adecuada para cerrar una herida (traumática o quirúrgica) de forma que cause la menor reacción inflamatoria y consiga una cicatriz lo más estética posible. Durante décadas se ha forjado la imagen del cirujano como la de un «profesional o artesano que cose», que usa suturas para cerrar las heridas. Pero todas las suturas, ya sean absorbibles o no, añaden un nuevo microtrauma, y con él, una variable reacción tisular; no obstante, en la actualidad las heridas también pueden ser tratadas mediante adhesivos tisulares sintéticos o pegamentos. El desarrollo de este nuevo método de tratamiento es importante en la medida en que puede ofrecer ventajas a los pacientes, aumentando su calidad de vida. La introducción de los adhesivos en cirugía ha sido recibida con un gran entusiasmo inicial, ya que parece que pueden conseguir una resistencia de tensión equivalente a la

CAPÍTULO IX.- DIVULGACION/IMPORTANCIA CIENTIFICA

de cualquier sutura, con mejor aspecto estético de la cicatriz final y una tasa de infección menor. Si estos hechos se terminan confirmando, si los adhesivos demuestran ser una mejor solución (con mayor eficacia y menor daño), la imagen tradicional del cirujano unido a una sutura podría modificarse en un futuro no muy lejano, o incluso desaparecer.

Este proyecto se ha desarrollado gracias al protocolo de trabajo realizado por la Dra. Natàlia Guàrdia, donde fue ella quien realizó el primer estudio sobre la viabilidad y el uso de adhesivos sintéticos como único material de unión en intestino grueso en ratas. Gracias a su protocolo de investigación, su experiencia adquirida, y el uso de material quirúrgico heredado se ha podido materializar el presente estudio experimental. Esta vez, utilizando el estómago como diana de estudio, y usando dos tipos nuevos de cianocrilatos.

Actualmente, se ha iniciado otro estudio en la misma línea. Se realiza una gastrotomía de 6 cm en cerdos y luego se realiza un cierre gástrico con adhesivos sintéticos únicamente.

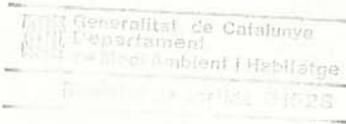
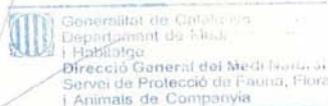
Este nuevo estudio con animales de mayor tamaño es un gran paso que se ha podido realizar gracias a los buenos resultados de los dos estudio iniciales que se han realizado con ratas. Se espera que en el futuro se siga la investigación de esta aplicación. Por ejemplo, con estudios similares con mayor N en ratas o ya con animales más grandes; realizándose secciones y anastomosis completas en lugar de colotomías o gastrotomías, probando el funcionamiento del cianocrilato en otros tipos de uniones intestinales como gastroenterostomias o coledocoyeyunostomias.

A la larga, y queda claro que después de muchos otros estudios, si el resultado sigue siendo igual de bueno hay la esperanza de demostrar que se puede aplicar en humanos los adhesivos de cianocrilatos como único material de unión en los tejidos. Y puede llegar un día que esto se haga de forma habitual y con total seguridad, de la misma forma en que se utilizan los adhesivos sintéticos con base de cianocrilato en el resto de aplicaciones médicas diarias.

X. ANEXOS.

1.- ANEXOS.

1.1.- RESOLUCION FAVORABLE DEL DEPARTAMENTO DEL MEDIOAMBIENTE.

 <p>Generalitat de Catalunya Departament de Medi Ambient i Habitatge Direcció General del Medi Natural</p>	 <p>Generalitat de Catalunya Departament de Medi Ambient i Habitatge Direcció General del Medi Natural</p>
<p>Fundació Institut d'Investigacions en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol Centre d'experimentació animal (CEA) Carretera el Canyet s/n 08916 Badalona (Barcelona)</p>	<p>015412 30.09.2010 09:38</p>
<p>Assumpte: notificació resolucions experimentació animal.</p>	
<p>Rebudes les sol·licituds per a l'autorització expressa d'animals en procediments d'experimentació corresponents al vostre centre, us trameto les resolucions corresponents als procediments informats a la reunió de la Comissió d'Experimentació Animal de data 21 de setembre de 2010.</p>	
<p>Les resolucions favorables tindran un període de validesa de dos anys a comptar des de la data de resolució, i sempre i quan no existeixi cap modificació en el procediment, d'acord amb el que estableix l'article 32 del Decret 214/97.</p>	
<p>Així mateix, us informem que la sol·licitud de pròrroga de la validesa d'aquestes notificacions s'haurà de dur a terme abans de l'expiració d'aquesta data.</p>	
<p>El Cap del Servei de Fauna, Flora i Animals de Companyia</p>	 <p>Generalitat de Catalunya Departament de Medi Ambient i Habitatge Direcció General del Medi Natural i Servei de Protecció de Fauna, Flora i Animals de Companyia</p>
<p>Jordi Ruiz Olmo</p>	
<p>Barcelona, 23 de setembre de 2010</p>	
<p>Dr. Roux, 80 08017 Barcelona Tel. 93 567 42 00 Fax 93 280 29 94</p>	



Generalitat de Catalunya
Departament de Medi Ambient i Habitatge
Direcció General del Medi Natural

RESOLUCIÓ

Assumpte: autorització de procediment d'experimentació núm. **5335**

Identificació de l'expedient

Resolució per a la realització de procediments d'experimentació sol·licitat pel centre **Hospital Universitari Germans Trias i Pujol**, a l'empara del Decret 214/1997, de 30 de juliol, pel qual es regula la utilització d'animals per a experimentació i per a altres finalitats científiques.

Antecedents

1. El centre va presentar sol·licitud d'autorització expressa per a l'execució del procediment d'experimentació que es relaciona tot seguit, atès que en principi es troba inclòs en algun dels supòsits establerts a l'article 34 del Decret 214/1997:

“Estudi experimental de viabilitat de les anastomosis intestinals amb adhesiu sintètic (cianocrilat)”

2. La Comissió d'Experimentació Animal, en la reunió feta el **21.09.2010** va informar **Favorablement** la realització d'aquest procediment d'experimentació.

Fonaments de dret

1. El Decret 214/1997, de 30 de juliol, pel qual es regula la utilització d'animals per a experimentació i per a altres finalitats científiques, estableix que per a la realització de procediments d'experimentació que es troben inclosos en algun dels supòsits establerts al seu article 34, es requereix autorització expressa.
2. L'article 36 de l'esmentat Decret estableix que la Comissió d'Experimentació Animal emetrà un informe sobre la realització dels procediments que requereixen autorització expressa, que tindrà caràcter vinculant.
3. D'acord amb la llei 30/1992, de règim jurídic de les administracions públiques i del procediment administratiu comú, emeto la present

Resolució

Per tant, resolc:

Doctor Roux, 80
08017 Barcelona
Telèfon: 93 567 42 00
Fax: 93 280 33 20



Generalitat de Catalunya
Departament de Medi Ambient i Habitatge
Direcció General del Medi Natural

1. Informar **Favorablement** la sol·licitud d'autorització expressa del procediment d'experimentació que es relaciona a continuació, al qual se l'ha assignat el número d'ordre que segueix:

Títol: "Estudi experimental de viabilitat de les anastomosis intestinals amb adhesiu sintètic (cianocrilat)"

Núm. ordre DMAH: 5335

2. S' autoritza la realització d'aquest procediment d'experimentació fins la data: **22.09.2012**

Contra aquesta resolució que no exhaureix la via administrativa, es pot interposar recurs d'alçada davant la directora general del Medi Natural en el termini d'un mes, a comptar de l'endemà de la notificació d'aquesta resolució, segons el que estableix l'article 114 de la Llei 30/1992, de 26 de novembre, de règim jurídic de les administracions públiques i del procediment administratiu comú.

Barcelona, 22 de setembre de 2010

El cap del Servei de Protecció de Fauna,
Flora i Animals de Companyia

Jordi Ruiz Olmo



Generalitat de Catalunya
Departament de Medi Ambient
i Habitatge
Direcció General del Medi Natural
Servei de Protecció de Fauna, Flora
i Animals de Companyia

Doctor Roux, 80
08017 Barcelona
Telèfon: 93 567 42 00
Fax: 93 280 33 20

1.2.-INDICE DE TABLAS.

<i>Tabla 1. Clasificación de los adhesivos tisulares.</i>	<i>Página. 37</i>
<i>Tabla 2. Ejemplos de aplicaciones médicas y quirúrgicas.</i>	<i>Pág. 48</i>
<i>Tabla 3. Propiedades de los cianoacrilatos.</i>	<i>Pág. 56</i>
<i>Tabla 4. Resultado de la prueba piloto de presiones.</i>	<i>Pág. 82</i>
<i>Tabla 5. Tabla de plan de trabajo.</i>	<i>Pág. 125</i>
<i>Tabla 6. Protocolo de supervisión.</i>	<i>Pág.128</i>
<i>Tabla 7. Pesos (gr.). Valores crudos.</i>	<i>Pág. 136</i>
<i>Tabla 8. Pesos (gr.) durante el período postoperatorio.</i>	<i>Pág. 137</i>
<i>Tabla 9. Incidencia, extensión y consistencia de las adhesiones.</i>	<i>Pág. 138</i>
<i>Tabla 10. Valoración histológica.</i>	<i>Pág. 146</i>
<i>Tabla 11. Tabla de valores de Leucocitos, PCR y plaquetas.</i>	<i>Pág. 149</i>

1.3.-INDICE DE IMAGENES.

<i>Imagen 1A y 1B. Dibujos embriológicos del intestino primitivo.</i>	<i>Página. 12</i>
<i>Imagen 2A. Corte transversal del embrión humano de 7 semanas.</i>	<i>Pág. 14</i>
<i>Imagen 2B. Corte transversal del embrión de cerdo.</i>	<i>Pág. 15</i>
<i>Imagen 3. Histoacryl® :Cianoacrilato.</i>	<i>Pág. 38</i>
<i>Imagen 4. Harry Coover, descubridor de los cianoacrilatos.</i>	<i>Pág. 39</i>
<i>Imagen 5. Estructura general de los cianoacrilatos.</i>	<i>Pág. 41</i>
<i>Imagen 6. Reacción de polimerización y subproductos de degradación.</i>	<i>Pág. 42</i>
<i>Imagen 7. Fórmula química del cianoacrilato.</i>	<i>Pág. 43</i>
<i>Imagen 8. Mecanismo de toxicidad del cianoacrilato.</i>	<i>Pág. 45</i>
<i>Imagen 9. Glubran II® dispositivo laparoscópico.</i>	<i>Pág. 54</i>
<i>Imagen 10. Histoacryl®.</i>	<i>Pág. 54</i>
<i>Imagen 11. Dermabond®.</i>	<i>Pág. 55</i>
<i>Imagen 12. Ifabond®.</i>	<i>Pág. 56</i>
<i>Imagen 13A. Sala de quirófano del Estabulario.</i>	<i>Pág.57</i>
<i>Imagen 13B. Rata Wistar.</i>	<i>Pág.58</i>
<i>Imagen 14A, 14B y 14C. Rata Wistar.</i>	<i>Pág. 59</i>
<i>Imagen 15. Visión ventral de la cavidad abdominal.</i>	<i>Pág. 60</i>
<i>Imagen 16. Visión ventral del tracto gastrointestinal.</i>	<i>Pág. 61</i>
<i>Imagen 17. Corte histológico del estómago de la rata.</i>	<i>Pág.62</i>
<i>Imagen 18. Cierre duodenal y esofágico.</i>	<i>Pág. 78</i>
<i>Imagen 19. Preparación para la realización del estudio de presiones.</i>	<i>Pág. 79</i>
<i>Imagen 20 A y B. Introducción de Suero fisiológico en el estómago ocluido.</i>	<i>Pág. 80</i>
<i>Imagen 21. Presiones que tolera el estómago de la rata control.</i>	<i>Pág. 81</i>
<i>Imagen 22. Introducción de suero fisiológico en el estómago una vez cerrada la gastrotomía con HF.</i>	<i>Pág. 83</i>
<i>Imagen 23. Presión mínima de fuga de la sutura manual en la rata 3.</i>	<i>Pág. 84</i>
<i>Imagen 24. Presión mínima de fuga del HF en la rata 5.</i>	<i>Pág. 84</i>
<i>Imagen 25. Rata wistar.</i>	<i>Pág. 87</i>
<i>Imagen 26. Racks de ratas.</i>	<i>Pág. 88</i>
<i>Imagen 27. Dieta a base de pienso.</i>	<i>Pág. 88</i>
<i>Imagen 28A. Estabulario del Centro de Experimentación Animal.</i>	<i>Pág. 91</i>
<i>Imagen 28B. Ubicación del Estabulario del CEA.</i>	<i>Pág. 92</i>

CAPÍTULO X.- ANEXOS

<i>Imagen 29. Sala de intervenciones del estabulario.</i>	<i>Pág. 93</i>
<i>Imagen 30. Espacio y material de quirófano.</i>	<i>Pág. 94</i>
<i>Imagen 31A. Histoacryl Flex[®].</i>	<i>Pág. 97</i>
<i>Imagen 31B. Modo de aplicación del Histoacryl Flex[®].</i>	<i>Pág. 97</i>
<i>Imagen 32A. Histoacryl DK[®].</i>	<i>Pág. 98</i>
<i>Imagen 32B. Preparación del dispositivo. Componente “ Softener “.</i>	<i>Pág. 98</i>
<i>Imagen 32C. Preparación del dispositivo. Componente “ Hardener “.</i>	<i>Pág. 98</i>
<i>Imagen 32D. Dispositivo de aplicación cargado con sendos componentes.</i>	<i>Pág. 99</i>
<i>Imagen 32E. Exposición gástrica.</i>	<i>Pág. 99</i>
<i>Imagen 32F. Protección gástrica con pantalla de plástico.</i>	<i>Pág. 100</i>
<i>Imagen 32G. Exposición y aplicación del Histoacryl DK[®] con pulverizador.</i>	<i>Pág. 100</i>
<i>Imagen 33. Tubo EDTA.</i>	<i>Pág. 103</i>
<i>Imagen 34. Tubo Ependorff.</i>	<i>Pág. 103</i>
<i>Imagen 35. Panel de la Centrifugadora.</i>	<i>Pág. 104</i>
<i>Imagen 36. Tambor interno de la centrifugadora.</i>	<i>Pág. 104</i>
<i>Imagen 37. Proceso de centrifugación y aspiración del plasma sobrenadante.</i>	<i>Pág. 105</i>
<i>Imagen 38. Preparación para la intervención quirúrgica.</i>	<i>Pág. 106</i>
<i>Imagen 39. Momento de la inducción.</i>	<i>Pág. 107</i>
<i>Imagen 40. Rata en posición supina y sistema de mantenimiento anestésico.</i>	<i>Pág. 108</i>
<i>Imagen 41A. Realización de laparotomía media de 4 cm de longitud.</i>	<i>Pág. 109</i>
<i>Imagen 41B. Exposición del campo quirúrgico.</i>	<i>Pág. 109</i>
<i>Imagen 42. Extracción basal sanguínea de la vena cava.</i>	<i>Pág. 110</i>
<i>Imagen 43. Preparación de la zona para la gastrotomía.</i>	<i>Pág. 111</i>
<i>Imagen 44. Gastrotomía de 1 cm.</i>	<i>Pág. 111</i>
<i>Imagen 45. Sutura manual de la Gastrotomía de 1 cm.</i>	<i>Pág. 112</i>
<i>Imagen 46. Puntos discontinuos de Seda 5/0.</i>	<i>Pág. 113</i>
<i>Imagen 47A. Colocación de puntos de prolene de 6/0 para la aposición de los bordes.</i>	<i>Pág. 114</i>
<i>Imagen 47B. Aplicación del Histoacryl Flex[®].</i>	<i>Pág. 114</i>
<i>Imagen 48. Retirada de los puntos de prolene de 6/0.</i>	<i>Pág. 115</i>
<i>Imagen 49A. Aplicación del Histoacryl DK[®].</i>	<i>Pág. 116</i>

<i>Imagen 49B. Retirada de los puntos de prolene de 6/0.</i>	<i>Pág. 116</i>
<i>Imagen 50A. H2K aplicado con un protector de plástico para protección de los tejidos.</i>	<i>Pág. 117</i>
<i>Imagen 50B. Retirada de protector, se mide y se comprueba la longitud de la gastrotomía.</i>	<i>Pág. 117</i>
<i>Imagen 51. Cierre de laparotomía de las ratas.</i>	<i>Pág. 118</i>
<i>Imagen 52. Extracción de sangre periférica.</i>	<i>Pág. 119</i>
<i>Imagen 53. Valoración de adherencias.</i>	<i>Pág. 120</i>
<i>Imagen 54. Distintas partes del estómago después de la exéresis del órgano.</i>	<i>Pág. 121</i>
<i>Imagen 55. Distintas muestras quirúrgicas que serán estudiadas.</i>	<i>Pág. 122</i>
<i>Imagen 56. Distintas muestras quirúrgicas que serán estudiadas.</i>	<i>Pág. 129</i>
<i>Imagen 57-A1. Pared gástrica con signos de inflamación aguda en el grupo de sutura manual. (40x).</i>	<i>Pág. 141</i>
<i>Imagen 57-A2. Pared gástrica con signos de inflamación aguda en el grupo de HF.(20x).</i>	<i>Pág. 142</i>
<i>Imagen 57-A3. Pared gástrica con signos de inflamación aguda en el grupo de H2K. (20x).</i>	<i>Pág. 142</i>
<i>Imagen 58-B1. Mucosa y submucosa gástrica con signos de inflamación crónica en el grupo de sutura manual. (20x).</i>	<i>Pág. 143</i>
<i>Imagen 58-B2. Mucosa y submucosa gástrica con signos de inflamación crónica en el grupo de HF. (20x).</i>	<i>Pág. 143</i>
<i>Imagen 58-B3. Mucosa y submucosa gástrica con signos de inflamación crónica en el grupo de H2K. (20x).</i>	<i>Pág. 144</i>
<i>Imagen 59-C1. Reacción gigante celular en el grupo de sutura manual. (10x).</i>	<i>Pág. 144</i>
<i>Imagen 59-C2. Reacción gigante celular en el grupo de HF (20x).</i>	<i>Pág. 145</i>
<i>Imagen 59-C3. Reacción gigante celular en el grupo de H2K (20x).</i>	<i>Pág. 145</i>
<i>Imagen 60. 3 métodos diferentes de cierre para la gastronomía.</i>	<i>Pág. 156</i>

XI.REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1.-REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Starck, M. Shaping up: how vertebrates adjust their morphology to changing environmental conditions. *Animal Biol.*, 53:245-57, 2003.
2. McLin, V. A.; Henning S. J. & Jamrich M. The role of the visceral mesoderm in the development of the gastrointestinal tract. *Gastroenterology*, 136:2074-91, 2009.
3. Gilbert, S. *Biología del Desarrollo*. 7ª ed. Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana, 2005. p.546.
4. Wells, J. M. & Melton, D. A. Vertebrate endoderm development. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 15:393-410, 1999.
5. Noden, D. & Lahunta, A. *Embriología de los animales domésticos*. España, Editorial Acribia, 1990. pp. 319-39.
6. Roa, I. & Meruane, M. Desarrollo del aparato digestivo. *Int. J. Morphol.*, 30(4):1285-1294, 2012.
7. Rovee DT, Miller CA. Epidermal role in the breaking strength of wounds. *Arch Surg* 1968; 96 (1): 43-52.
8. Levenson SM, Geever EF, Crowley LV, Oates JF 3rd, Berard CW, Rosen H. The healing of rat skin wounds. *Ann Surg* 1965; 161: 293-308.
9. Heiss WH. The use of synthetic polymeric materials as suture substitutes and their place in pediatric surgery. *Prog Pediatr Surg* 1970;1: 99-150.
10. Medina Chávez J.L. Eficacia del nitroprusiato de sodio sobre la cicatrización de las anastomosis intestinales. Tesis Doctoral. Noviembre 2001. Universidad de Colima.
11. Parodi F, Idrovo M. Anastomosis y suturas gastrointestinales. En: Sánchez J, director editor. Libro texto de Cirugía. Seclap; 2002.
12. Esposito C. L' utilisation d' une nouvelle colle chirurgicale en chirurgie laparoscopique: quels avantages?. *Le journal de Ceho-Chirurgie* 1997; 23: 66-68.
13. NasirKhan M U, Abir F, Longo W, Lozol R. Anastomotic disruption alter large bowel resection. *World Journal of gatsroenterology* 2006; 12(16): 1497-1504.
14. Braskén P. Healing of experimental colon anastomosis. *Eur J Surg Suppl.* 1991; (566):1-51.

CAPÍTULO XI.- BIBLIOGRAFIA

15. Martínez-Ramos J, Escrig J, Miralles JM, Rivadulla I, Daroca JM, Salvador Sanchís JL. Influence of surgeon specialization upon the results o colon cancer surgery. Usefulness of propensity scores. *Revista española de enfermedades digestivas* 2008; 100(7): 387-392.
16. Prystowsky JB, Bordage G, Feinglass JM. Patient outcomes for segmental colon resection according to surgeon's training, certification, and experience. *Surgery* 2002;132(4):663-70; discussion 670-2.
17. Bilimoria KY, Phillips JD, Rock CE, Hayman A, Prystowsky JB, Bentrem DJ. Effect of surgeon training, specialization, and experience on outcomes for cancer surgery: a systematic review of the literature. *Ann Surg Oncol.* 2009;16(7):1799-808.
18. Moreno Egea A. Adhesivos tisulares sintéticos: lo que un cirujano de hernias y pared abdominal debe saber. *Rev Hispanoam Hernia.* 2013; 1(3):117-127.
19. Moreno-Egea A. The use of glue in hernia surgery. Combined fixation technique in laparoscopic hernia repair. *Cir Esp.* 2012, doi:pii: S0009-739X(12)00263-1. 10.1016/j.ciresp.2012.05.024.
20. Moreno-Egea A. Is sutureless hernia repair a safe option for treating abdominal wall hernias? A prospective study with a synthetic tissue adhesive (n-hexyl-alpha-cyanoacrylate). *Cir Esp.* 2013;91:243–9.
21. Coover HW, Joyner FB, Sheareer NH, Wicner TH. Chemistry and performance of cyanoacrylate adhesive. *J Soc Plast Eng* 1959; 15: 413- 417.
22. Singer AJ, Thode HC. A review of the literature on octylcyanoacrylate tissue adhesive. *Am J Surg.* 2004;187:238–48.
23. Chow A, Marshall H, Zacharakis E, Paraskeva P, Purkayastha S. Use of tissue glue for surgical incision closure: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Am Coll Surg.* 2010;211:114–25.
24. Tajirian AL, Goldberg DJ. A review of sutures and other skin closure materials. *J Cosmet Laser Ther.* 2010;12:296–302.

25. Leggat PA, Smith DR, Kedjarune U. Surgical applications of cyanoacrylate adhesives: a review of toxicity. *ANZ J Surg.* 2007;77:209–13.
26. Toriumi DM, Raslan WF, Friedman M, Tardy ME. Histotoxicity of cyanoacrylate tissue adhesives. A comparative study. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1990;116:546–50.
27. Osmond MH, Quinn JV, Sutcliffe T, Jarmuske M, Klassen TP. A randomized, clinical trial comparing butylcyanoacrylate with octylcyanoacrylate in the management of selected pediatric facial lacerations. *Acad Emerg Med.* 1999; 6:171–7.
28. Trott AT. Cyanoacrylate tissue adhesives: An advance in wound care. *JAMA.* 1997;277:1559–60.
29. Zempsky WT, Grem C, Nichols J. Prospective comparison of short-term outcomes of simple facial lacerations closed with steri-strips or Dermabond. *Acad Emerg Med.* 2001;8:438–9.
30. Guerra Bretaña RM, Pérez Álvarez M, Roque González R. Efectividad del adhesivo tisular Tisuacryl en el cierre de heridas cutáneas. *Rev Cub Med Gen Int.* 2005;21:1–2.
31. Leonard F, Kulkarni RK, Brandes G, Nelson J, Cameron JJ. Synthesis and degradation of poly (alkyl cyanoacrylates). *J Appl Polymer Sci.* 1966; 10:259–72.
32. Mobley SR, Hilinski J, Toriumi DM. Surgical tissue adhesives. *Facial Plast Surg Clin N Am.* 2002;10:147–54.
33. Quinn J, Wells G, Sutcliffe T. A randomized trial comparing octylcyanoacrylate tissue adhesive and sutures in the management of lacerations. *JAMA.* 1997;277:1527–30.

34. Coulthard P, Esposito M, Worthington HV, van der Elst M, van Waes OJ, Darcey J. Tissue adhesives for closure of surgical incisions. *Cochrane Database Syst Rev*.2010:CD004287. <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD004287.pub3>.
35. Makary MA, Pronovost PJ, Weiss ES, Millman EA, Chang D, Baker SP, et al. Sharpless surgery: A prospective study of the feasibility of performing operations using non-sharp techniques in an urban, University-based surgical practice. *World J Surg*. 2006;30:1224–9.
36. Maw J, Quinn J. Cyanoacrylate Tissue Adhesives. *Am J Cosmetic Surg* 1997 ; 14(4): 413-6.
37. Maw JL, Kartush JM, Bouchard K, Raphael Y. Octylcyanoacrylate: A new medical-grade adhesive for otologic surgery. *Am J Otol*. 2000;21:310–4.
38. Papatheofanis FJ. Prothrombotic cytotoxicity of cyanoacrylate tissue adhesive. *J Surg Res* 1989; 47 (4): 309-12.
39. Ciapetti G, Stea S, Cenni E, Sudanese A, Marraro D, Toni A et al. Cytotoxicity testing cyanoacrylates using direct contact assay on cell cultures. *Biomaterials* 1994; 15 (1): 63-67.
40. Henderson AM, Stephenson M. 3-Methoxy-butyl-cyanoacrylate: evaluation of biocompatibility and bioresorption. *Biomaterials* 1992; 13(15): 1077-84.
41. Matsumoto T. Carcinogenesis and cyanoacrylate adhesives. *JAMA* 1967; 202 (11): 1057-62.
42. Quinn JV, Osmond MH, Yurack JA, Moir PJ. N-2-butylcyanoacrylate: risk of bacterial contamination with an appraisal of its antimicrobial effects. *J Emerg Med* 1995; 13 (4): 581-5.
43. Amiel GE, Sukhotnik I, Kawar B, Silpovich L. Use of N-butyl-2-cyanoacrylate in elective surgical incisions. Longterm outcomes. *J Am Coll Surg*. 1999;189:21–5.

44. Quinn JV, Drzewiecki A, Li MM, Stiell IG, Sutcliffe T, Elmslie TJ et al. A randomized controlled trial comparing a tissue adhesive with suturing in the repair of pediatric facial lacerations. *Ann Emerg Med* 1993; 22 (7): 1130-5.
45. Maw JL, Quinn JV, Wells GA, Ducic Y, Odell PF, Lamothe A et al. A prospective comparison of octylcyanoacrylate tissue adhesive and suture for the closure of head and neck incisions. *J Otolaryngol* 1997; 26 (1): 26-30.
46. Toriumi DM, O'Grady K, Desai D, Bagal A. Use of Octyl-2- Cyanoacrylate for skin closure in facial plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 1998; 102 (6): 2209–19.
47. Tejera A, Zayas OP, Alvarez R, Esteriz N. Uso de la sutura química para el cierre de heridas quirúrgicas. *Medisan* 2002; 6 (2): 90–4.
48. 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.
49. Weerda H, Weisner G. Cyano-Acrylat-Kleber in der trachealchirurgie. (Eine tierexperimentale studie). *Laryngol Rhinol Otol (Stuttg)* 1975; 54 (2): 119-23.
50. Cañizares MA, Carral JM. Empleo del alquilcianoacrilatos en suturas quirúrgicas. *Rev Cub Med Mil* 2001; 30 (1): 15-20.
51. Erdik O, Isitmangil T, Toker A, Cermik H, Ozturk Y. A new graft: cyanoacrylate covered trachea. *Eur Respir J* 2003; 22 (Suppl. 45): 507s.
52. Cerezal Garrido; L.J. Valoración histopatológica de la aplicación de sustancias sellantes en lesiones traqueales. Estudio experimental en ratas. Tesis doctoral. Enero 2009. Valladolid.
53. Hirata T, Ogawa E, Takenaka K, Uwokawa R, Fujisawa I. Endobronchial closure of postoperative bronchopleural fistula using vascular occluding coils and n-butyl-2-cyanoacrylate. *Ann Thorac Surg* 2002; 74 (6): 2174-6.
54. Vaquero C, González-Perea J, Rodríguez-Toves LA, Diago MV, Verrier A. La rata como animal de experimentación. En: *Manual de Microcirugía Experimental en la rata*. 1a edición. Valladolid: Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Valladolid; 1988. p.21-49.

CAPÍTULO XI.- BIBLIOGRAFIA

55. Martínez Parente J. La rata de laboratorio y el bioterio de la unidad sur del Cinvestav. *Avance y Perspectiva* 2004; 23 (3): 43-5.
56. Vladimir Komárek. En: *The Laboratory Rat*. 1a edición. Elsevier; 2000. p. 253-283.
57. Greene EC. En: *Anatomy of the rat*. 1a edición. New York, USA: Hafner Publishing Company; 1963.p.89.
58. Martín-Lacave I. Cortes Gástricos (Estómago, rata, HE). En: *Atlas práctico de histología*. 2a edición. Madrid: Ediciones Díaz de Santos; 2005. p.14.
59. Tiwari A., Cheng KS, Salacinski H., Hamilton G. Seifalian AM. Improving the patency of vascular bypass grafts: the role of suture material and surgical techniques on reducing anastomotic compliance match. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2003;25:287.
60. Sheridan CB, Zyromski, N., Mattar S. How to always do a safe anastomosis. *Contemp Surg* 2008;64(2):68.
61. Oh SJ, Choi WB, Song J, Hyung WJ, Choi SH, Noh SH; Yonsei Gastric Cancer Clinic. Complications requiring reoperation after gastrectomy for gastric cancer: 17 years experience in a single institute. *J Gastrointest Surg* 2009;13(2):239.
62. Lo HC, Wu SC, Huang HC, Yeh CC, Huang JC, Hsieh CH. Laparoscopic simple closure alone is adequate for low risk patients with perforated peptic ulcer. *World J Surg* 2011;35(8):1873.
63. Azadani A, Jonsson H, Park PO, Bergström M. A randomized trial comparing rates of abdominal contamination and postoperative infection among natural orifice transluminal endoscopic surgery, laparoscopic surgery, and open surgery in pigs. *Gastrointest Endosc* 2012;75(4):849.
64. Narula VK, Happel LC, Volt K, Bergman S, Roland JC, Dettorre R, Renton DB, Reavis KM, Needleman BJ, Mikami DJ, et al. Transgastric endoscopic peritoneoscopy does not require decontamination of the stomach in humans. *Surg Endosc* 2009;23:1331.
65. Vakalopoulos KA, Daams F, Wu Z et al. Tissue adhesives in gastrointestinal anastomosis: a systematic review. *J Surg Res* 2013;180(2):290.

66. Landegren T, Risling M, Persson JK, Sondén A. Cyanoacrylate in nerve repair: transient cytotoxic effect. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2010;39(7):705.
67. Lemaire D, Mongeau J, Dorion D. Microvascular Anastomosis using Histoacryl Glue and an Intravascular Soluble Stent. *J. Otolaryng* 2000;29:199.
68. Pratt GF, Rozen WM, Westwood A, Hancock A, Chubb D, Ashton MW, Whitaker IS. Technology-assisted and sutureless microvascular anastomoses: evidence for current techniques. *Microsurgery* 2012;32(1):68.
69. Lumsden AB, Heyman ER; Closure Medical Surgical Sealant Study Group. Prospective randomized study evaluating an absorbable cyanoacrylate for use in vascular reconstructions. *J Vasc Surg* 2006;44(5):1002.
70. Piñeros-Fernández A, Rodeheaver PF, Rodeheaver GT. Octyl 2-cyanoacrylate for repair of peripheral nerve. *Ann Plast Surg* 2005;55(2):188.
71. Paral J, Subrt Z, Lochman P, Klein L, Hadzi-Nikolov D, Turek Z, Vejbera M. Suture-free anastomosis of the colon. Experimental comparison of two cyanoacrylate adhesives. *J Gastrointest Surg* 2011;15(3):451.
72. Bae KB, Kim SH, Jung SJ, Hong KH. Cyanoacrylate for colonic anastomosis; is it safe? *Int J Colorectal Dis* 2010;25(5):601.
73. Ozmen MM, Ozlap N, Zulfikagoru B, Abbasoglu L, Kacar A, Seckin S, Koc M. Hystoacryl blue versus sutured left colonic anastomosis: experimental study. *ANZ J Surg* 2004;74: 1107.
74. Weiss M, Haj M. Gastrointestinal anastomosis with histoacryl glue in rats. *J Invest Surg* 2001;14:13.
75. Yurtçu M, Arbag H, Çağlayan O, Abasiyanik A, Oz M. The effect of cyanoacrylate in esophagocutaneous leakages occurring after esophageal anastomosis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2009;73(7):1053.
76. Bianchi Cardona A, Hidalgo Grau LA, Feliu Canaleta J, Espin Alvarez F, Suñol Sala J. Postoperative cervical anastomotic fistula treated with a biologic glue. *Eur J Surg Oncol* 2005;31(10):1222.

CAPÍTULO XI.- BIBLIOGRAFIA

77. Lukish J, Marmon L, Burns C. Nonoperative closure of persistent gastrocutaneous fistulas in children with 2-octylcyanoacrylate. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2010;20(6):565.
78. Directiva 2003/65/CE del Parlamento Europeo y del Consejo del 22 de Julio de 2003 por la que se modifica la Directiva 86/609/CEE del consejo relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembro respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. (D.O.U.E., L 230, de 16-9-2003).
79. Real Decreto 1201/2005, de 10 de Octubre, sobre la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. (B.O.E., nº 252, de 21-10-2005).
80. Ley 32/2007, de 7 de Noviembre ,para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio. (B.O.E., nº 268, de 8-11-2007).
81. Vaquero C, González-Perea J, Rodríguez-Toves LA, Diago MV, Verrier A. Material de microcirugía. En: *Manual de Microcirugía Experimental en la rata*. 1a edición. Valladolid: Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Valladolid; 1988. p.51-75.
82. Vaquero C. Técnica quirúrgica. En: *Conceptos básicos en Medicina y Cirugía Experimental*. 1a edición. Valladolid: Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Valladolid; 1998. p. 65-90.
83. Heiss WH. The use of synthetic polymeric materials as suture substitutes and their place in pediatric surgery. *Prog Pediatr Surg* 1970;1: 99-150.
84. Ehrlich HP, Tarver H, Hunt TK. Effects of vitamin A and glucocorticoids upon inflammation and collagen synthesis. *Ann Surg* 1973;177:222.
85. Nursal TZ, Anarat R, Bircan S, Yildirim S, Tarim A, Haberal M. The effect of tissue adhesive, octyl-cyanocrylate, on the healing of experimental high-risk and normal colonic anastomosis. *Am J Surg*;187:28.
86. Matsumoto MT, Hardaway RM 3rd, Pani KC, Leonard F. Closure of gastrointestinal perforations with cyanocrylate tissue adhesive. *Arch Surg* 1967;64:184.

87. Ersoy OF, Ozkan N, Celik A, Kayaoglu HA, Cakir E. Effect of cyanoacrylate on closure of gastric perforation: a comparative study in a rat model. *Minim Invasive Ther Allied Technol* 2009;18: 225.
88. Phillips RJ, Powley TL. Plasticity of vagal afferents at the site of an incision in the wall of the stomach. *Auton Neurosci* 2005;123:44.
89. Baenett P, Jarman FC, Goodge J, Silk G, Aickin R. Randomised trial of Histoacryl blue tissue adhesive glue versus suturing in the repair of paediatric lacerations. *J Paediatr Child Health*. 1998 Dec;34(6):548-50.
90. Vakalopoulos KA, Kroese L, Wu Z et al. Mechanical Strength and rheological properties of tissue adhesives with regard to colorrectal anastomosis. An Ex vivo study. *Ann Surg* 2015; 261:323-331.
91. Rousou JA. Use of fibrin sealants in cardiovascular surgery: a systematic review. *J Card Surg*. 2013;28:238–247.
92. Shiono M. Surgery for acute aortic dissection using gelatin-resorcin-formalin glue: perspective from 10 years of follow-up at a single center. *J Artif Organs*. 2008;11:19–23.
93. Spotnitz WD. Fibrin sealant: past, present, and future: a brief review. *World J Surg*. 2010;34:632–634.
94. Ryou M, Thompson CC. Tissue adhesives: a review. *Tech Gastrointest Endosc*. 2006;8:33–37.
95. De Goede B, Klitsie PJ, van Kempen BJ, et al. Meta-analysis of glue versus sutured mesh fixation for Lichtenstein inguinal hernia repair. *Br J Surg*. 2013;100:735–742.
96. Kingham TP, Pachter HL. Colonic anastomotic leak: risk factors, diagnosis, and treatment. *J Am Coll Surg*. 2009;208:269–278.

CAPÍTULO XI.- BIBLIOGRAFIA

97. Wu Z, Boersema SA, Kroes L et al. Reducing colorectal anastomotic leakage with tissue adhesive in experimental inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2015; 21:1038-1046.
98. Wu Z, Vakalopoulos K, Boersema GA, et al. The prevention of colorectal anastomotic leakage with tissue adhesives in a contaminated environment is associated with the presence of anti-inflammatory macrophages. *Int J Colorectal Dis.* 2014;29:1507–1516.
99. Wu Z, Vakalopoulos KA, Kroese LF, et al. Reducing anastomotic leakage by reinforcement of colorectal anastomosis with cyanoacrylate glue. *Eur Surg Res.* 2013;50:255–261
100. Wu Z, Boersema GSA, Vakalopoulos KA, et al. Critical analysis of cyanoacrylate in intestinal and colorectal anastomosis. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater.* 2014;102:635–642.
101. Yurtcu M, Arbag H, Toy H, Eryilmaz MA, Caglayan O, Abasiyanik A. The healing effects of tissue glues and healing agent locally applied on esophageal anastomoses. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2010;74:43.
102. Nguyen NT, Nguyen CT, Stevens CM, Steward E, Paya M. The efficacy of fibrin sealant in prevention of anastomotic leak after laparoscopic gastric bypass. *J Surg Res* 2004;122:218.
103. Ensari CO, Genc V, Cakmak A, Erkek B, Karayalcin K. Effects of N-butyl-2-cyanoacrylate on high-level jejunojejunostomy. *Eur Surg Res* 2010;44:13.
104. 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;25:177.

