



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE
LA SALUD ANIMAL

ESTUDIO COMPARATIVO DEL USO DE ELECTROCAUTERIO MONOPOLAR VERSUS
BISTURÍ ARMÓNICO EN LA DISECCIÓN DEL NERVIIO FRÉNICO DEL PERRO.

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:
ANA GABRIELA MENDOZA LÓPEZ

TUTOR: RAFAÉL HERNÁNDEZ GONZÁLEZ.
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

COMITÉ TUTOR:
RAÚL OLMOS ZÚÑIGA. PROGRAMA DE MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL.
SARA DEL CARMEN CABALLERO CHACÓN. FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTÉCNIA.

MÉXICO D.F

JUNIO 2014.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA.

AGRADECIMIENTOS.

RESUMEN.

Introducción. Durante la toracoscopia los instrumentos de corte y hemostasia como el electrocauterio monopolar (EM) y el bisturí armónico (BA), pueden ocasionar daño a las estructuras vecinas al órgano seccionado y una de estas es el nervio frénico (NF). No existen reportes de los daños que ocasionan estos instrumentos sobre los tejidos adyacentes y sobre el NF durante la toracoscopia.

Objetivo. Evaluar el grado de lesión histológica del NF y de los tejidos adyacentes después de realizar cortes en el pericardio a una distancia de 2, 1.5, 1 y 0.5 cm del NF con un EM o BA mediante toracoscopia en perros.

Materiales y métodos. En 10 perros mestizos se realizaron cortes al pericardio por toracoscopia derecha a 2, 1.5, 1 y 0.5 cm del NF utilizando los 2 instrumentos: Grupo I (n=5). EM y Grupo II (n=5): BA. 24 horas después de la cirugía se realizó evaluación clínica, macroscópica e histológica de los sitios de corte y del NF. El NF izquierdo se utilizo como control.

Resultados. Los animales tratados con el EM mostraron mayor grado de quemadura, contracción pericardica, inflamación y hematomas macroscópicos de los tejidos circundantes que el BA, así como mayor inflamación histológica ($p < 0.05$ ANDEVA, Dunnett, Tukey) sin importar la distancia del corte. En ningún grupo se observó lesión del NF.

Conclusión. El EM causa mayor daño en los tejidos periféricos que el BA; pero el corte a 0.5 cm del NF con cualquiera de los instrumentos es seguro y no daña la estructura nerviosa.

Palabras clave. Toracoscopia, electrocauterio monopolar (EM), bisturí armónico (BA), nervio frénico (NF), daño histológico.

ABSTRACT.

Introduction. Monopolar electrocautery (ME) and harmonic scalpel (HS) are common tools for soft tissue dissection and cut during thoracoscopic surgery. However, their use can produce injury on the neighboring structures and one of these is phrenic nerve (PN). Nevertheless; there are no reports about of damage caused by these instruments on adjacent tissues and the PN during thoracoscopy.

Objective. To assess the degree of macroscopic and histological injury NF and adjacent tissues after perform cuts on the pericardium at a distance of 2, 1.5, 1 and 0.5 cm of NF with a ME or HS by thoracoscopy in dogs.

Material and methods. In 10 mongrel dogs right thoracoscopy was performed and pericardium was cut at 2, 1.5, 1 and 0.5 cm of PN using the 2 instruments: Group I (n = 5). ME and Group II (n = 5): HS. Animals were evaluated clinically. At the end of study (24 hours after surgery) macroscopical and histological assessment of the cut sites and PN were done. The left PN was used as control.

Results. Those animals treated with ME showed greater burn, pericardial contraction, inflammation and macroscopic hematomas on the surrounding tissue than those of HS, also caused more histological inflammation ($p < 0.05$ ANOVA, Dunnett, Tukey) regardless of the distance of the incision. None of the 2 cutting instruments causes PN injury.

Conclusion. The ME causes greater damage in the peripheral tissues than HS; however the incision at 0.5 cm of PN with any instrument is safe and does not damage the nervous structure.

Keywords. Thoracoscopy, monopolar electrocautery (ME), harmonic scalpel (HS), phrenic nerve (PN), histological damage.

Contenido

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	IV
ABSTRACT.....	V
1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Cirugía de tórax.....	1
1.1.1 Toracotomía.....	1
1.1.2 Esternotomía.....	1
1.1.3 Cirugía videoasistida de tórax o toracoscopia.....	2
1.2 Instrumentos de corte y hemostasia.....	3
1.2.1. Hemostasia.....	3
1.2.2. Electrocoagulación.....	4
1.2.2.1 Electrocauterio monopolar.....	4
1.2.2.2 Electrocauterio bipolar.....	5
1.2.3. Bisturí armónico o ultrasónico.....	5
1.3 Sistema Nervioso Periférico.....	6
1.3.1 Morfología de los nervios periféricos.....	7
1.4 Características del nervio frénico y diafragma.....	10
1.4.1 El nervio frénico.....	10
1.4.2 El diafragma.....	11
2 HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS.....	13
2.1 Hipótesis de trabajo.....	13
2.2 Justificación.....	13
2.3 Objetivo general.....	13
2.4 Objetivos específicos.....	13
3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
3.1 Diseño del estudio.....	15
3.2 Animales de experimentación.....	15
3.2.1 Criterios de inclusión.....	16
3.2.2 Criterios de exclusión.....	16
3.2.3 Criterios de eliminación.....	16

3.2.4 Criterios de determinación del punto final.	16
3.3 Grupos de estudio.	17
3.4 Procedimiento quirúrgico.	17
3.4.1 Anestesia.	17
3.4.2 Técnica quirúrgica.	17
3.5 Evaluación.	20
3.5.1 Evaluación clínica.	20
3.5.2 Evaluación macroscópica.	21
3.5.3 Evaluación histológica.	21
3.6 Análisis estadístico.	22
4 RESULTADOS.	23
4.1 Hallazgos clínicos.	23
4.2 Hallazgos macroscópicos.	23
4.3.1 Hallazgos histológicos en tejido periférico	26
4.3.2 Hallazgos histológicos en tejido nervioso.	31
5 DISCUSIÓN.	38
6 CONCLUSIONES.	43
7 BIBLIOGRAFIA.	44

Lista de figuras.

Figura 1.....	8
Figura 2.....	19
Figura 3.....	20
Figura 4.....	21
Figura 5.....	21
Figura 6.....	24
Figura 7.....	25
Figura 8.....	26
Figura 9.....	27
Figura 10.....	28
Figura 11.....	29
Figura 12.....	30
Figura 13.....	31
Figura 14.....	32
Figura 15.....	33
Figura 16.....	34
Figura 17.....	35
Figura 18.....	36
Figura 19.....	37

1 INTRODUCCION.

1.1 Cirugía de tórax.

La cirugía torácica es la especialidad quirúrgica dedicada al diagnóstico y tratamiento de los procesos que afectan al tórax, tanto de la pared como de su contenido (corazón, pleura, pulmón, mediastino, árbol traqueobronquial, esófago y diafragma). Los principios básicos de la cirugía son anestesia, asepsia, y hemostasia (1).

La cirugía torácica tiene varios tipos de abordaje los cuales pueden realizarse de manera abierta o cerrada. Los abordajes para cirugía abierta son la toracotomía y la esternotomía; mientras que para la cerrada es la toracoscopía (2).

1.1.1 Toracotomía.

La toracotomía es una vía de acceso que se práctica desde el siglo XIX y es un procedimiento quirúrgico que se realiza de manera regular en el quirófano ya que permite tener acceso a un hemitórax con el propósito de poder visualizar el pulmón derecho o izquierdo, esófago, tráquea, aorta, corazón y diafragma, dependiendo del lado del tórax incidido.

Las indicaciones para realizar éste procedimiento son para confirmar un diagnóstico de enfermedad pulmonar, reparar el corazón, vasos sanguíneos, así como para el tratamiento de trastornos de tráquea y esófago o complicaciones causadas por enfisema. Sin embargo una de sus desventajas es que los pacientes sometidos a esta vía de acceso, refieren mucho dolor (3).

1.1.2 Esternotomía.

La esternotomía es la apertura de la cavidad torácica, a través del esternón con el fin de exponer el mediastino y ambas cavidades pleurales para la intervención de corazón, grandes vasos, remover neoplasias y realizar procedimientos simultáneos en ambos pulmones (4). Esta vía de acceso tiene como ventaja la de

producir menor dolor postoperatorio (3) pero tiene la desventaja de que predispone a la presencia de infecciones (osteomielitis y mediastinitis) que aunque tiene una incidencia del 1-5% de los casos, es una complicación grave que aumenta los costos postoperatorios y provoca una mortalidad alta (entre 15 y 50%) (3,4).

1.1.3 Cirugía videoasistida de tórax o toracoscopia.

La toracoscopia, es un procedimiento que permite la visualización endoscópica del espacio pleural, para el examen o tratamiento de las afecciones de la cavidad y de los tejidos y órganos que se encuentran dentro de ella. Es una técnica en la que se utilizan pequeñas incisiones para la introducción de instrumental convencional que auxilian en el proceder endoscópico (5).

La toracoscopia fue descrita por primera vez en 1910 en Estocolmo por Jacobeus quién expuso sus hallazgos endoscópicos de 2 casos de pleuritis tuberculosa y durante los siguientes 40 años su uso fue orientado casi exclusivamente al tratamiento de las lesiones tuberculosas pulmonares cavitadas. Posteriormente a finales de la década de los setenta en Alemania, Francia así como España se retomo el interés por esta y a mediados de los años ochenta se empezaron a diseñar instrumentos que además de permitir la toma de biopsias, permitían realizar intervenciones sobre las estructuras intratorácicas. A finales de los años ochenta, se comenzaron a desarrollar las videocámaras adaptables a los endoscopios y surgió la cirugía torácica asistida o apoyada por video (videotoracoscopia) conocida en inglés como VATS (video-assisted thoracic surgery) (6).

En 1992 aparecen varias publicaciones en Estados Unidos de Norteamérica y en Europa sobre el uso de la videotoracoscopia como un proceder terapéutico. En la actualidad con el desarrollo de las engrapadoras e instrumentos de corte, son varias las indicaciones de la cirugía videoasistida, que van desde el tratamiento del neumotórax, enfisema pulmonar hasta la extirpación de tumores mediastinales y lesiones de la glándula tímica entre otras.

La toracoscopia cuenta con muchas ventajas que la hacen una técnica de elección frente a la cirugía abierta, entre sus ventajas se encuentran; menor estadía hospitalaria, reducción del tiempo quirúrgico, mejor resultado estético, menor dolor postquirúrgico e incorporación rápida a la vida social y laboral (7).

1.2 Instrumentos de corte y hemostasia.

1.2.1. Hemostasia.

La hemostasia es un mecanismo de defensa que protege al organismo de las pérdidas sanguíneas que se producen tras una lesión vascular. Clásicamente se ha dividido en hemostasia natural, física y química.

En la hemostasia natural, participan fundamentalmente las plaquetas a través de los procesos de adhesión, reclutamiento, activación y agregación para formar el tapón hemostático plaquetar inicial, y continuar con la formación del coágulo (hemostasia secundaria) (8).

La hemostasia es un proceso importante en todo tipo de cirugía, sin embargo, en la cirugía de mínima invasión ha cobrado mayor importancia debido a que la sangre proveniente de los tejidos puede disminuir la visibilidad y la precisión del procedimiento quirúrgico (9). Durante la cirugía, la hemostasia, puede realizarse por métodos físicos (ligaduras, clips) o mediante la aplicación de algún tipo de energía. Los sistemas de hemostasia por energía eléctrica actúan de dos formas: mediante la producción de calor o por vibración ultrasónica, las cuales provocan una interacción entre la energía y el tejido. En ambos se produce una elevación de la temperatura interna del tejido, la cual da lugar a la contracción de la pared de los vasos, la reducción del tejido circundante y la formación de un coágulo proteico intraluminal que da origen a la hemostasia (10).

En la clínica se ha popularizado el uso de diversos equipos para la producción de hemostasia con energía; dentro de estos sobresalen los electrocoaguladores, bisturíes armónicos, rayos laser entre otros.

1.2.2. Electrocoagulación.

La hemostasia por electrocoagulación se fundamenta en la propiedad que tienen determinadas formas de corrientes eléctricas que al entrar en contacto con los tejidos, generan calor que produce deshidratación y coagulación proteica, lo cual promueve el cerrado los vasos sangrantes (11).

Así mismo la electrocoagulación también puede provocar un efecto electrolítico (lisis celular) o farádico (estimulación de células nerviosas y musculares) (12). Para realizar la electrocoagulación se utiliza un electrobisturí, que es un instrumento que transforma la corriente eléctrica alterna estándar de 60Hz en una corriente alterna de alta frecuencia por encima de 200 kHz. (13), la cual produce un efecto térmico que se utiliza para cortar o coagular el tejido. Sin embargo; cuando la corriente de alta frecuencia se transmite con ondas continuas produce un efecto de corte debido a que eleva rápidamente la temperatura del tejido y ocasiona la ruptura explosiva de las células (10).

La electrocoagulación puede llevarse a cabo mediante dos sistemas de aplicación: monopolar y bipolar.

1.2.2.1 Electrocauterio monopolar.

El electrocauterio monopolar (EM), es un instrumento que permite realizar 4 funciones diferentes como disecar, fulgurar, coagular y reseca los tejidos (14).

En este sistema de electrocoagulación se establece un circuito entre el electrodo activo (lápiz) aplicado en el área que hay que disecar y un electrodo neutro (tierra) colocado en el cuerpo del paciente en donde la corriente eléctrica atraviesa el cuerpo formando un arco eléctrico que produce un fuerte calentamiento que da lugar al corte y la coagulación sin lesión (12). El calor generado en el área de aplicación depende de la intensidad de la corriente, conductividad del tejido, forma del electrodo y el tiempo de aplicación. Con este equipo la coagulación se produce porque al aplicar una corriente de alta intensidad, el tejido se calienta lentamente haciendo que el líquido exterior e interior de las células se evapore sin destruir las paredes, el tejido se deshidrata y se cierra térmicamente logrando detener la hemorragia. Mientras que para el corte, el líquido de las células del tejido se

calienta rápidamente de manera endógena rompiendo la membrana de las mismas debido a la presión que genera el vapor producido por el calor, esto da lugar al corte del tejido y la siguiente constricción de los vasos superficiales (12).

Al igual que todos los equipos, el EM tiene sus ventajas y desventajas. Dentro de las ventajas que posee se encuentran; la rapidez y precisión para producir hemostasia, capacidad para evitar propagación de gérmenes, su bajo costo y la facilidad de manejo. En cuanto a las desventajas se encuentran; la disminución de la visibilidad debido al humo generado al calentar el tejido, la producción de necrosis a los tejidos vecinos y la existencia de un alto riesgo de producir quemaduras en el paciente (15,16).

1.2.2.2 Electrocauterio bipolar.

Este instrumento, al igual que el EM funciona con energía eléctrica y es utilizado tanto en microcirugía como en neurocirugía pero únicamente puede realizar coagulación.

El electrocauterio bipolar, trabaja con un electrodo activo de dos polos o pinzas, teniendo contacto los 2 polos con el campo operativo, a diferencia del EM, la electrocoagulación bipolar no requiere de un electrodo neutral para la salida de energía, debido a que la energía eléctrica que se conduce hacia la punta de la pinza, después de ponerse en contacto con el tejido y producir un efecto térmico que lo coagula, sale por la otra punta de la pinza cerrando el circuito (13).

1.2.3. Bisturí armónico o ultrasónico.

El bisturí armónico (BA) es un instrumento que corta y coagula tejidos mediante el uso de vibración ultrasónica. Este equipo está constituido por un generador, una pieza manual y una hoja cortante o coagulante. El generador es un microprocesador que recibe la energía eléctrica o de alta frecuencia y envía a la pieza manual energía en forma de pulsos.

La pieza manual es la encargada de transformar la energía de alta frecuencia en mecánica, a través de unas cerámicas piezo-eléctricas que están incluidas entre

dos cilindros de metal, las cuales producen vibraciones ultrasónicas que pasan a la pieza cortante y dependiendo de su intensidad van a producir corte, disección o hemostasia en los tejidos (17,18).

La energía pulsante proporcionada por el generador produce vibración del transductor en una frecuencia de 55,5 kHz. El movimiento mecánico causa la transferencia de energía a los tejidos provocando la ruptura de puentes de hidrógeno lo que resulta en la desnaturalización de proteínas formando un coágulo (19,20).

Las ventajas de trabajar con el BA son la reducción del riesgo de quemadura al paciente o al cirujano debido a que no hay paso de corriente eléctrica a través del tejido, también incrementa la seguridad del paciente cuando el cirujano trabaja cerca de un catéter central o de un marcapasos (20). Además, la relativamente baja temperatura del BA (de 50 a 100°C) disminuye el daño térmico al tejido adyacente (21). Sin embargo, algunos autores mencionan que tiene como desventaja la producción de vapor que provoca reducción de la visibilidad y una mayor lentitud para coagular, aunque otros describen lo contrario (10). Por otro lado es importante mencionar que aunque en la literatura se ha reportado que ambos equipos son seguros, todavía no se ha descrito el efecto que produce la energía emitida por estos sobre los nervios periféricos de gran calibre que se localizan a los alrededores de los tejidos intervenidos y los que se localizan dentro de la cavidad torácica.

1.3 Sistema Nervioso Periférico.

La función del sistema nervioso, consiste en controlar y regular las funciones del organismo, para esto, el sistema nervioso periférico (SNP), sirve como una conexión entre el sistema nervioso central (SNC) y el resto de los órganos del cuerpo conectándolos entre si para enviar señales nerviosas del SNC hacia los órganos y viceversa.

El SNP se compone por las fibras nerviosas que entran y salen del SNC. Las neuronas que llevan la información desde la periferia hacia el SNC se denominan neuronas aferentes o sensitivas y están asociadas a un receptor sensorial. Las

que llevan información desde el SNC a algún órgano efector, músculo o glándula, se denominan eferentes o motoras (22).

1.3.1 Morfología de los nervios periféricos.

El SNP está formado por un conjunto de nervios de diferente grosor y longitud, que tienen la función de recoger los estímulos desde la periferia y de transportar hacia ella la respuesta motora, secretora o vegetativa que se origine. La mayoría de los nervios son mixtos y están formados por fibras de naturaleza sensitiva y motora. Los nervios desde su origen se dirigen a la estructura anatómica que van a inervar y en su trayecto se dividen, al igual que hacen los vasos sanguíneos, en múltiples ramas colaterales antes de dar sus ramas terminales. A lo largo de su recorrido, los nervios frecuentemente se anastomosan entre sí. En las anastomosis nerviosas, las fibras nerviosas están yuxtapuestas y paralelas en paquetes, pero nunca se produce una fusión de las fibras, ya que éstas mantienen siempre su individualidad. Por lo general los nervios se asocian íntimamente con una red vascular, dado que la conducción nerviosa es un proceso que consume energía, por lo cual obliga a que los nervios periféricos estén irrigados en todos sus compartimientos, incluyendo una extensa red capilar endoneural en la que el sistema nervioso simpático desempeña un importante papel como regulador del grado de perfusión necesario (23).

El tejido conectivo que rodea a los nervios periféricos en toda su extensión está formado por el epineuro, el perineuro y el endoneuro (Figura 1). El endoneuro rodea a los axones de forma individual, éstos se agrupan en fascículos, cada uno de ellos envuelto por el perineuro, y por último el conjunto de fascículos que agrupan a la totalidad de los axones presentes en ese nervio se hallan envueltos por el epineuro (24,25).

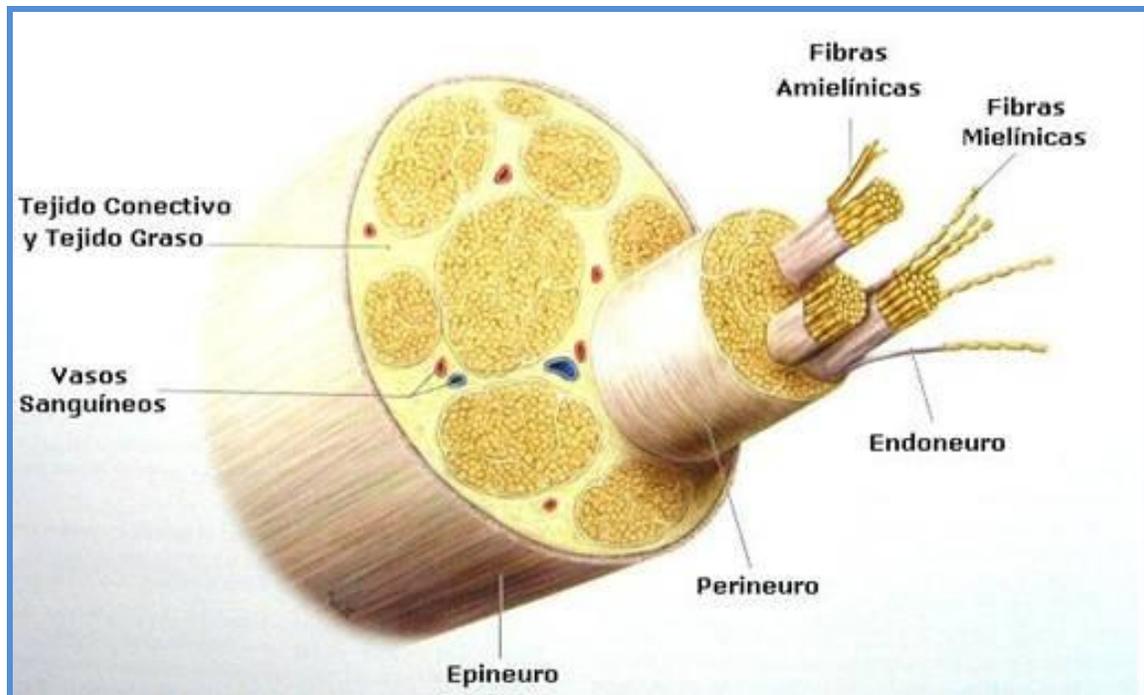


Figura 1: Morfología de Nervio Periférico. (Imagen adaptada de Texto y Atlas de Anatomía Prometheus, volumen 3). (25)

1.3.1.1 Fascículos.

Los fascículos son una agrupación de axones, los cuales son la prolongación citoplasmática de las neuronas que permiten proyectar señales eléctricas y neuroquímicas desde el cuerpo o soma de la neurona hasta los puntos lejanos donde se encuentra el extremo distal del axón. El axón contiene en su interior el axoplasma y está limitado por una membrana denominada axolema. En el sistema nervioso periférico, el axón se halla envuelto por la célula de Schwann y, en la fibra mielinizada, por un manguito de mielina que esta misma célula produce. Este conjunto está envuelto por una membrana basal denominada neurolema y luego por otra vaina más externa, el endoneuro. Los nervios son la expresión macroscópica del conjunto de los axones que inervan las diferentes partes del cuerpo y, al seccionar un nervio se puede comprobar que los axones están organizados en grupos denominados fascículos. Se ha analizado la proporción de los axones y del tejido conectivo que hay en un nervio y se ha encontrado en un corte transversal que el área fascicular total puede variar entre el 25 y el 75% del

total del área del nervio. El número y el tamaño de los fascículos pueden variar a lo largo del trayecto de un nervio por la disposición plexual de los axones (24,26).

1.3.1.2 Epineuro

El epineuro es el tejido que rodea y agrupa todos los fascículos y que se condensa sobre la superficie externa del nervio. Su origen es mesodérmico, y su naturaleza, areolar. El espesor del epineuro es diferente en cada nervio y en los distintos puntos a lo largo de un mismo nervio. El epineuro ocupa entre el 30 y el 75% del área total. El epineuro está formado principalmente por fibras de colágeno, fibras elásticas, tejido adiposo, algunos fibroblastos, mastocitos, vasos sanguíneos y por delgadas fibras nerviosas que inervan los vasos (24-26).

1.3.1.3 Perineuro.

El perineuro es la cubierta que envuelve de forma individual cada uno de los fascículos y está formado por un conjunto de láminas celulares y fibras de colágeno interpuestas entre dichas láminas. Cada lámina está formada por un solo plano de células unidas entre sí (24-26). Entre las láminas de las células perineurales se encuentran los espacios perineurales, ocupados por sustancia amorfa fundamental, fibras de colágeno y escasos fibroblastos.

La función del perineuro es mantener una presión intrafascicular y garantizar un efecto barrera. El perineuro transmite presión al endoneuro, que a su vez transmite una presión intracelular dentro del axón (24-26).

1.3.1.4 Endoneuro.

El endoneuro es una delicada lámina tubular que rodea directamente las células de Schwann y que contribuye a mantener el medio interno en que se encuentran estas células y los axones. El endoneuro que rodea tanto los axones mielinizados como los axones no mielinizados está formado por dos láminas diferentes: una externa con fibras de colágeno agrupadas en una dirección longitudinal, y otra interna donde las fibras de colágeno tienen una dirección desorganizada (23).

En el endoneuro, al colágeno también se le puede encontrar invaginado por la membrana basal, con lo que se observa una doble membrana alrededor de la fibra, o bien se le puede encontrar englobado por las membranas de las células de Schwann (24).

El endoneuro, junto con el epineuro y el perineuro, contribuye a resistir la elongación de un axón sometido a tensión. Esta situación se ve facilitada por el trayecto ondulado de los axones (23).

1.3.1.5 Vascularización.

Los nervios periféricos tienen dos sistemas vasculares independientes que se anastomosan entre sí. Hay un sistema vascular extrínseco y otro sistema intrínseco. El primero está formado por arterias, arteriolas y vénulas que se encuentran en el epineuro, y el segundo está formado por el conjunto de capilares longitudinales que se encuentran dentro de los fascículos y en relación con el endoneuro. La anastomosis entre ambos sistemas vasculares está formada por vasos que se encuentran en el epineuro y perineuro, y gracias a ellos los nervios pueden resistir ante los estados de isquemia (23,27).

1.4 Características del nervio frénico y diafragma

1.4.1 El nervio frénico.

El nervio frénico (NF), es el nervio motor del diafragma y está formado por la unión de dos o tres raíces que se dirigen oblicuamente hacia abajo y atrás sobre la cara superficial del músculo escaleno. Las raíces proceden del quinto, sexto y séptimo nervio cervical, las principales raíces provienen de las ramas ventrales del sexto y séptimo nervios cervicales. La raíz derivada del quinto nervio es pequeña e inconstante. La raíz que procede del séptimo cervical llega por vía del plexo braquial al músculo escaleno a unos 2 centímetros delante de la primera costilla, posteriormente pasa por el ángulo de divergencia de las arterias cervical inferior así como humeral y finalmente llega a la cavidad torácica. El NF derecho se establece de forma paralela a la vena cava anterior, cruza el pericardio y continúa a lo largo de la vena cava posterior hasta el diafragma. Mientras que el izquierdo

se localiza por debajo del nervio vago izquierdo y cruza todo el mediastino hasta llegar al centro tendinoso del diafragma (28).

1.4.2 El diafragma.

El diafragma solo existe en los mamíferos. Es una plancha músculo-tendinosa que se proyecta en la cavidad torácica como una cúpula convexa, separa esta cavidad de la cavidad abdominal. Su cara craneal se proyecta al tórax y forma la cúpula diafragmática.

La superficie torácica del diafragma está cubierta por la fascia endotorácica y por la pleura, y se encuentra ligada al corazón y a los pulmones por membranas serosas; mientras que la cara abdominal se encuentra cubierta por la fascia transversa y el peritoneo, y se encuentra en contacto con el hígado, al que está unido por ligamentos de sostén. Dorsalmente el diafragma se encuentra fijado a la columna lumbar por fuertes pilares musculares (29). Por el plano medio de éste músculo atraviesa dorsalmente la aorta, cava y esófago. El diafragma está inervado por el NF que proviene de las ramas ventrales de los nervios cervicales caudales y su función es la de permitir la inspiración y espiración, así como el mantenimiento de la presión negativa de la cavidad pleural, la cual alcanza su máximo durante la inspiración por lo que cualquier lesión durante la cirugía de alguno de estos podría ocasionar una parálisis diafragmática y problemas con la ventilación (28,30).

Con base a lo anterior y tomando en cuenta que en la actualidad la toracoscopia es comúnmente utilizada para el diagnóstico y tratamiento de ciertas patologías torácicas, no está exenta de provocar daño a las estructuras adyacentes (principalmente nervios) con el instrumental y equipo utilizado para su realización. Algunos de estos equipos de hemostasia son los bisturíes principalmente el electrocauterio y el armónico, para los cuales existen muchos estudios sobre su utilidad y efectos que provocan en otras cavidades y tejidos, pero no existen reportes de sus efectos colaterales sobre los nervios torácicos y diafragma. Es por

lo que en éste trabajo se propone estudiar el efecto que provoca la utilización del EM y BA sobre el NF y diafragma durante una toracoscopia en perros.

2 HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS.

2.1 Hipótesis de trabajo.

El uso del bisturí armónico durante la realización de 4 cortes al pericardio por toracoscopia, produce menor daño histológico del nervio frénico y tejidos de los alrededores que el electrocauterio monopolar.

2.2 Justificación.

Durante las cirugías de tórax por toracoscopia existe el riesgo de lesión del NF por el uso de instrumentos de corte y hemostasia, así como por la falta de espacio y el calor generado por éstos instrumentos. La lesión de este nervio puede ocasionar parálisis diafragmática uni o bilateral; sin embargo en la literatura revisada no existen reportes acerca de las características de los daños provocados por el bisturí armónico o el electrocauterio monopolar sobre el nervio frénico durante la cirugía videoasistida de tórax, por lo que este trabajo propone evaluar el daño histológico que sufre el NF y tejidos circundantes después de realizar una incisión a diferentes niveles en el pericardio en un modelo experimental canino.

2.3 Objetivo general.

Determinar el grado de lesión histológica del nervio frénico después de realizar cortes en el pericardio a una distancia de 2, 1.5, 1 y 0.5 cm del nervio frénico con un electrocauterio monopolar o bisturí armónico mediante toracoscopia en perros.

2.4 Objetivos específicos.

- Evaluar el grado de inflamación microscópico que sufren el nervio frénico a las 24 hrs posteriores a la realización de los cortes de pericardio a diferentes distancias del nervio por toracoscopia en un modelo experimental canino.

- Valorar el grado de edema microscópico que sufren el nervio frénico a las 24 hrs posteriores a la realización de los cortes de pericardio a diferentes distancias del nervio por toracoscopia en un modelo experimental canino.
- Determinar el grado de hemorragia microscópico que sufren el nervio frénico a las 24 hrs posteriores a la realización de los cortes de pericardio a diferentes distancias del nervio por toracoscopia en un modelo experimental canino.
- Valorar el grado de necrosis microscópico que sufren el nervio frénico a las 24 hrs posteriores a la realización de los cortes de pericardio a diferentes distancias del nervio por toracoscopia en un modelo experimental canino.

3 MATERIALES Y MÉTODOS.

Esta investigación fue financiada por el Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMN-SZ), con la participación de los investigadores y técnicos del Departamento de Investigación en Cirugía Experimental y del Departamento de Investigación Experimental y Bioterio (DIEB) así como con la colaboración de investigadores y técnicos del Departamento de Cirugía Experimental del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismaél Cosío Villegas” (INER-ICV)

El departamento de Cirugía Experimental proporcionó los quirófanos, equipos de anestesia inhalada, monitores, microscopios y el instrumental necesario para la realización de los procedimientos quirúrgicos, tratamientos y seguimiento postoperatorios de los animales.

También intervinieron en este estudio, personal del Departamento de morfología del (INER-ICV) quienes procesaron las muestras de los tejidos sometidos a estudio.

3.1 Diseño del estudio.

Se llevó a cabo un estudio experimental, prospectivo y longitudinal.

3.2 Animales de experimentación.

Se utilizaron 10 perros mestizos adultos mayores de un año, sin importar sexo, con un peso promedio de 15 a 20 kg, clínicamente sanos obtenidos del DIEB del INCMN-SZ. Todos los perros fueron mantenidos y manejados de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (31); los lineamientos éticos y técnicas de bienestar para la experimentación con animales establecidos en la Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio; los principios para la utilización y cuidado de animales vertebrados usados para la investigación

experimental y entrenamientos desarrollados por el Interagency Research Animal Committe y el reglamento del INCMN-SZ (32).

Los animales se alojaron en jaulas individuales, las cuales tenían un espacio de 2.23m² por 61cm de altura, comedero y bebedero individual localizados en la puerta frontal, a una distancia del suelo de 30cm en los que se suministró agua y alimento *ad libitum*. Los alojamientos eran lavados diariamente con agua y se sanitizaba periódicamente con detergentes y desinfectantes. Todas las jaulas contaban con supervisión de un MVZ certificado en ciencia de los animales de laboratorio por el Comité de Certificación del Consejo Nacional de Educación de la Medicina Veterinaria y Zootecnia (CONEVET) (31,32).

3.2.1 Criterios de inclusión.

Se incluyeron perros clínicamente sanos, sin antecedentes de alguna enfermedad respiratoria desde su llegada al bioterio del INCMN-SZ y antes de que se les realizara la cirugía. Los animales, debían tener una condición corporal de 5/9 en la escala de puntos de Laflamme (33,34).

3.2.2 Criterios de exclusión.

Los animales con datos clínicamente patológicos a su llegada al INCMN-SZ y previos al procedimiento quirúrgico, con antecedentes de alguna cirugía de tórax o que no cumplieran con la condición corporal descrita, fueron excluidos del estudio.

3.2.3 Criterios de eliminación.

Todo animal que presentó signos clínicos de cualquier patología que no fuera provocada por el procedimiento quirúrgico, fue eliminado.

3.2.4 Criterios de determinación del punto final.

Todo animal que mostró dolor excesivo provocado por la cirugía de acuerdo con una escala modificada de la descrita por el “Interagency Research Animal Committe” y no cedió al uso de analgésicos, fue sometido a eutanasia. (34)

3.3 Grupos de estudio.

Los animales fueron divididos en 2 grupos de estudio a los cuales se le realizó disección del nervio frénico derecho.

Grupo I (n=5): Disección del nervio frénico derecho utilizando un electrocauterio monopolar (SSE2-K Valley Lab Force FX, VALLEY Lab Inc.. Boulder CO, USA).

Grupo II (n=5): Disección del nervio frénico derecho utilizando un bisturí armónico. (Ethicon Endo- Surgery, Inc, Cincinnati, Ohio, USA).

3.4 Procedimiento quirúrgico.

3.4.1 Anestesia.

La anestesia en todos los grupos de estudio se indujo con acepromacina a dosis de 0.025-0.05 mg/Kg (Calmivet, Vetoquinol S.A. México D.F.) y 6mg de propofol (Recofol, PISA, Guadalajara, México) vía intravenosa (IV), posteriormente fueron intubados con una sonda orotraqueal (Baxter, California, USA) y la anestesia se mantuvo con Isoflurano al 1.5%, utilizando para su ventilación un volumen corriente de 10 ml/kg de peso, frecuencia respiratoria de 15 respiraciones por minuto y una fracción inspirada de oxígeno del 98.5% . Durante el procedimiento quirúrgico los signos vitales (frecuencia cardíaca, respiratoria y saturación de oxígeno) se vigilaron con un monitor (Omega General Electric Tipo F-LM1MN-03) (5).

3.4.2 Técnica quirúrgica.

Después de realizar la preparación quirúrgica y bajo anestesia general, el animal se colocó en decúbito lateral izquierdo; se delimitó la zona quirúrgica con campos quirúrgicos estériles de tela (con límite craneal en la región de la escapula y caudal en la doceava costilla) (Figura 2) . Acto seguido con un bisturí, se realizó una incisión de aproximadamente 1cm sobre la piel a nivel del 8^o espacio intercostal

derecho, a continuación, con una pinza Kelly mediante disección roma se fueron disecando el músculo oblicuo abdominal externo, músculo serrato ventral e intercostal hasta llegar a la pleura, la cual fue perforada con un trocar de 12mm (Thoracoport, Auto Suture) y a través de éste se introdujo un toracoscopio de 0° (Olympus A5254). Posterior a esto, utilizando la misma técnica para insertar el toracoscopio, se colocaron 2 trocares de 11.5mm, uno en el 5° espacio intercostal en la región ventral del animal y el otro en el 6° espacio intercostal en la región dorsal. Inmediatamente guiados por la imagen de video, se introdujo una pinza de anillos en el trocar colocado en la región dorsal y se tomó el lóbulo craneal del pulmón derecho para desplazarlo y tener acceso al pericardio y al nervio frénico derecho. Una vez visualizado el nervio, se trazaron 4 líneas imaginarias paralelas al mismo a 2 cm, 1.5 cm, 1 cm y 0.5 cm de distancia y en cada una de estas líneas se realizó una incisión longitudinal de 2 cm con cada instrumento (Figura 3). Concluido esto, se continuó con el cierre convencional de las incisiones del 5° y 6° espacio intercostal utilizando puntos simples. En la incisión del octavo espacio intercostal, se colocó una jareta y sonda endopleural que se conectó a un sello de agua (Pleur-evac A800I-06, Genzyme Biosurgery) para restablecer la presión negativa de la cavidad. Colocado éste, el pulmón se insufló a su máxima capacidad y la sonda se extrajo durante la inspiración y se cerró la jareta

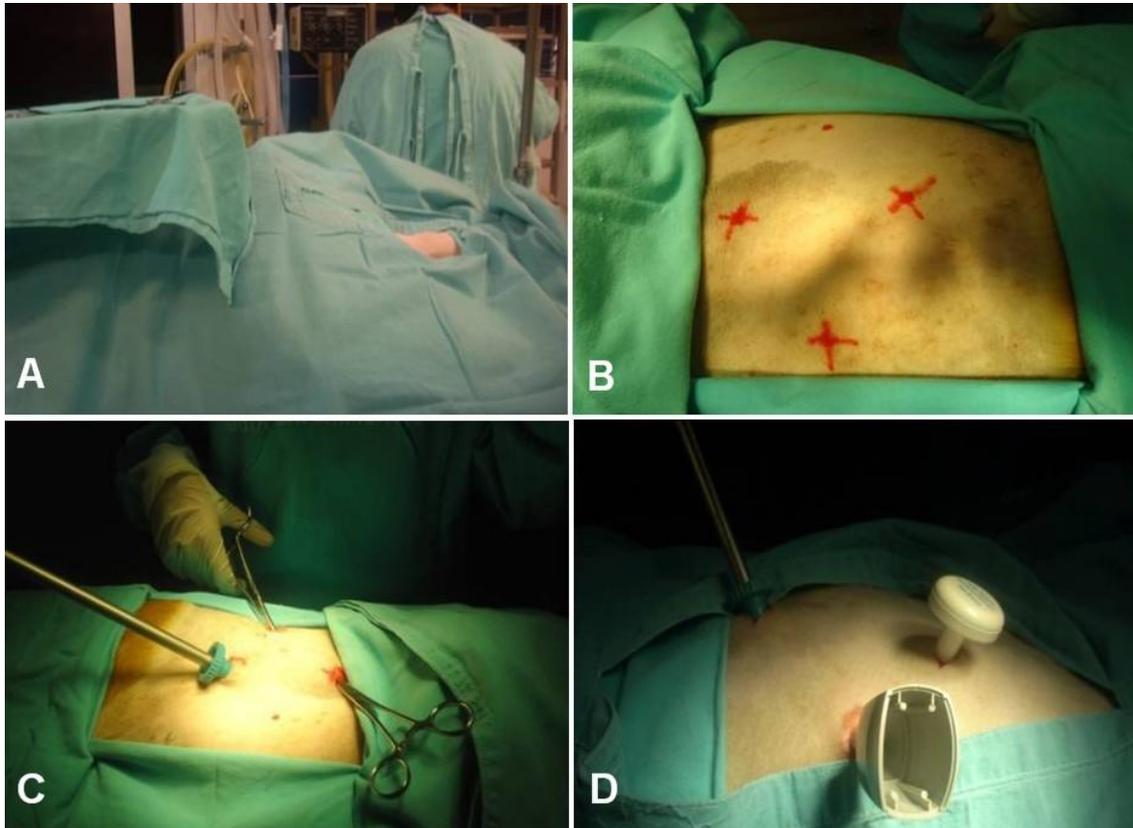


Figura 2: A) Preparación del sujeto experimental con campos quirúrgicos. B) Delimitación de puntos a incidir. C) Colocación de puerto para cámara de video. D) Inserción de trocares trabajo.

Durante la cirugía y al final de esta se administró clorhidrato de tramadol (Tradol, Grünenthal de México, D.F., México), a dosis de 4mg/Kg por vía intravenosa como analgésico, el cual se continuo administrando cada 12hrs por vía intramuscular; así mismo, al finalizar la cirugía se administró enrofloxacina (Baytril, Bayer, Leverkusen, Germany) a dosis de 5mg/Kg por vía intramuscular cada 24 hrs para evitar posibles infecciones.

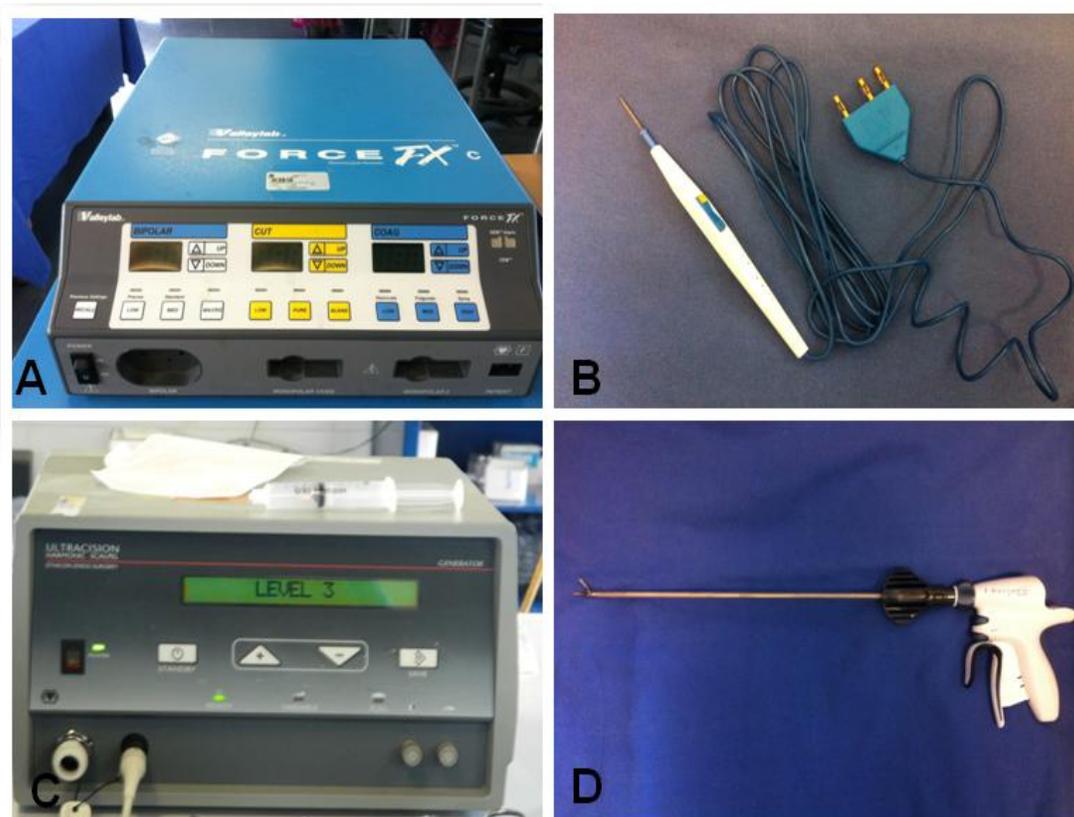


Figura 3: A) Electrocauterio monopolar (SSE2-K Valley Lab Force FX, VALLEY Lab Inc., Boulder CO, USA). B) Pieza de mano EM. C) Bisturí armónico. (Ethicon Endo- Surgery, Inc, Cincinnati, Ohio, USA). D) Pieza de mano BA.

3.5 Evaluación.

El estudio tuvo una duración de 24 horas y se llevó a cabo evaluación clínica de los animales y al final del estudio valoración macroscópica de la cavidad y nervio frénico, así como histológica del pericardio y nervio.

3.5.1 Evaluación clínica.

Una vez que los animales fueron extubados y se recuperaron de la anestesia, se colocaron dentro de sus jaulas en condiciones habituales de bioterio y clínicamente se les valoró la presencia de disnea, coloración de mucosas, frecuencia respiratoria, ruidos respiratorios y frecuencia cardiaca. La evaluación clínica, se realizó desde el postoperatorio inmediato y a las 24 horas postcirugía.

3.5.2 Evaluación macroscópica.

Al concluir el tiempo de estudio los animales fueron sometidos a eutanasia con una sobredosis de pentobarbital sódico a dosis de 60mg/Kg (Anestesal, Pfizer S.A. de C.V. Guadalajara, México) conforme a la NOM-062-ZOO-1999 y se procedió a la evaluación de la cavidad torácica y el estado del nervio (31). Se evaluó la presencia de derrame pleural, inflamación del pericardio y nervio frénico, adherencias, hemorragia, fibrina, edema, así como quemaduras y necrosis sobre el pericardio y nervio. Concluida la evaluación, se procedió a extraer el fragmento del pericardio y nervio frénico, los cuales se enviaron para estudio histopatológico. (Figura 5). También se obtuvieron muestras de los mismos tejidos del hemitórax izquierdo

3.5.3 Evaluación histológica.

Para el estudio histológico, inmediatamente después de la obtención de la muestra, el tejido se sumergió durante 24 horas en una solución de formol amortiguado al 10% (Figura 5) y se procesó para su inclusión en bloques de parafina, se realizaron cortes de 4 micras y tinciones con hematoxilina-eosina para valorar el estado general del tejido; mientras que la mielinización e integridad se evaluó con Luxol fast blue. (Figura 17).



Figura 5: A) Muestra de NF, tomada inmediatamente después de concluir el estudio y B) Fijación del NF en formol al 10%

La evaluación histológica del tejido mediante microscopía de luz se realizó en toda la circunferencia y longitud del nervio frénico utilizando una escala semicuantitativa, descrita por Veiga (35) en la cual a cada parámetro evaluado se le asignó un grado de acuerdo a la intensidad de los cambios histopatológicos (grado 1: ausente 0-10%, grado 2: leve 11-25%, grado 3: moderado 26-50% y grado 4: severo 51-100%).

3.6 Análisis estadístico.

En ambos grupos, se evaluó el grado de hemorragia, edema, inflamación y necrosis producida en el nervio frénico y tejido periférico, se llevó a cabo mediante análisis de varianza (ANDEVA).

4 RESULTADOS.

Todos los animales sobrevivieron al procedimiento quirúrgico y al tiempo de estudio establecido.

4.1 Hallazgos clínicos.

Clínicamente el 100% de los animales mostraron una evolución clínica satisfactoria. A la revisión de la herida quirúrgica en ningún animal se presentó sangrado postoperatorio, ni dehiscencia y en ambos grupos ésta se mostró inflamada.

4.2 Hallazgos macroscópicos.

Inmediatamente después de realizar todos los cortes con ambos tipos de bisturíes y al final estudio, los animales del grupo I mostraron una quemadura e inflamación más severa en los sitios de corte a diferencia de los animales operados con el armónico (grupo II) (Figura 6).

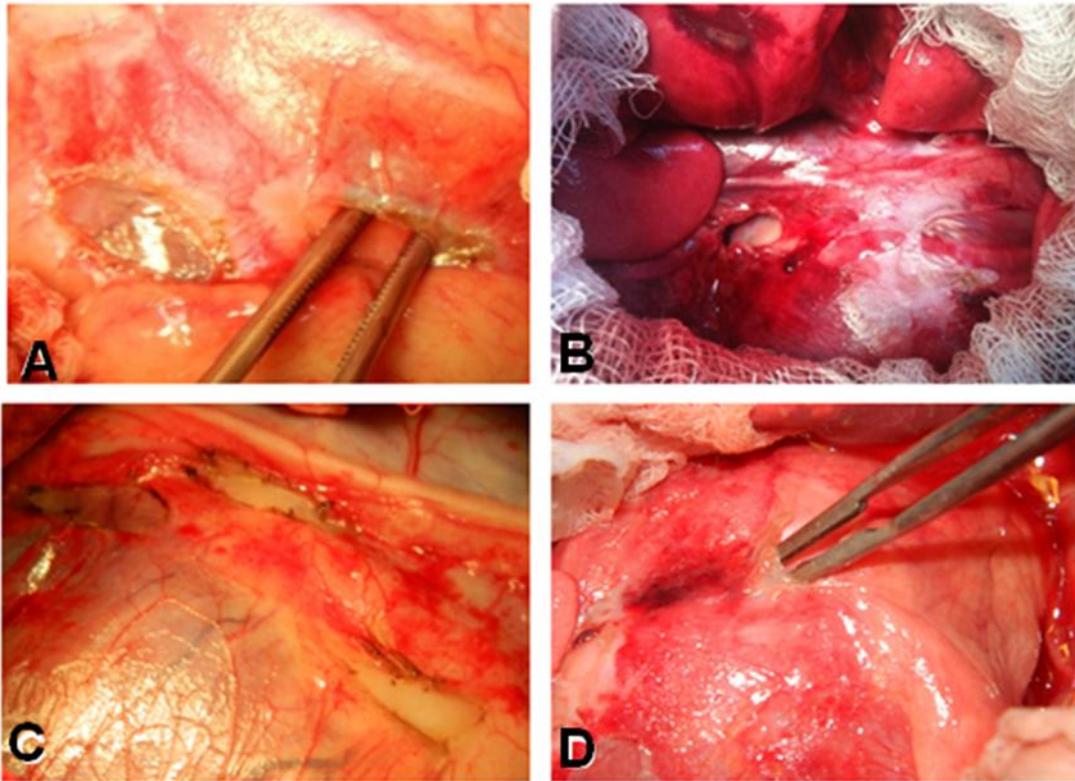


Figura 6 : A) Pericardio inmediatamente después del corte con EM, B) Pericardio 24 hrs posteriores al corte con EM, C) Pericardio inmediatamente después del corte con BA, D) Pericardio 24 hrs posteriores al corte con BA.

Al concluir el estudio ningún animal presentó infección en la herida quirúrgica; sin embargo en ambos grupos se observó la presencia de líquido pericardico en el hemitórax operado (Figura 7A) y presencia de depósitos de fibrina (Figura 7B) sobre el pulmón derecho, además en todos los perros se observaron zonas hemorrágicas cercanas a los cortes realizados en pericardio y el sitio en el que se realizó la sección del pericardio se observó contraído. (Figura 7B).

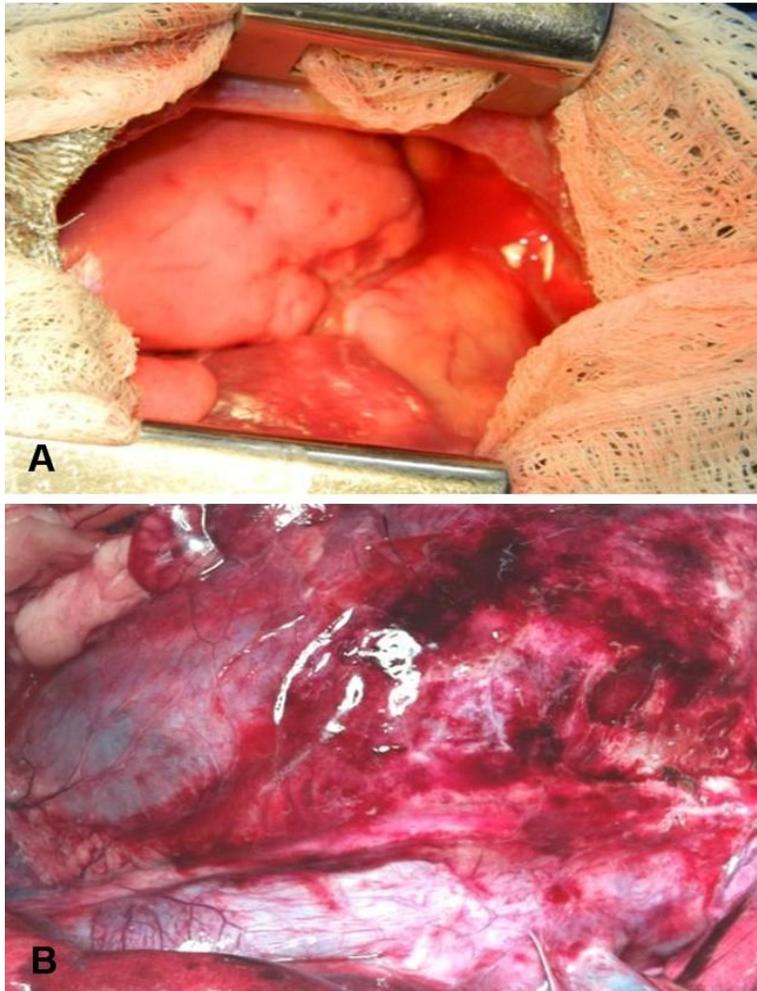


Figura 7: Fin de estudio

A) Presencia de líquido pericárdico en la cavidad torácica de un animal del grupo II y B) Hematomas en tejido periférico de un animal del grupo I.

4.3 Hallazgos histológicos.

4.3.1 Hallazgos histológicos en tejido periférico

Hallazgos histológicos en tejido periférico con corte a 2 cm del nervio.

(Figura 18)

En el grupo I en el corte realizado a 2cm del nervio frénico, en el tejido periférico (epineuro) se observó hemorragia leve en 3 casos (60%) y ausente en 2 (40%). También se presentó edema leve en 2 casos (40%), moderado en 2 (40%) y ausente en 1 (20%). En 4 casos se presentó inflamación neutrofilica, de los cuales 1 (20%) fue leve y 3 (60%) moderada. Se encontró necrosis leve en 2 casos (40%) moderada en 1 (20%) y severo en otro caso (20%) (Figura 8).

Los animales del grupo II mostraron en el tejido periférico (epineuro) hemorragia leve en 3 casos (60%), moderado en 1 (20%) y ausente en otro (20%) . Se presentó edema ausente en 1 caso (20%), leve en 2 casos (40%) y moderado en 2 animales (40%). Se encontraron 3 casos de inflamación neutrofilica moderada, 1 de forma leve y otro no presentó (ausente 20%). Así mismo, se encontraron 2 casos (40%) de necrosis leve, 1 caso (20%) de forma moderada , 1 caso (20%) de necrosis severa y ausente en 1 caso (20%) (Figura 8).

Al comparar entre grupos y dentro de cada grupo no se observó diferencia estadística (Hemorragia; $p = 0.88$, Edema; $p = 0.87$, Inflamación; $p = 0.39$, Necrosis; 0.08 (ANDEVA)

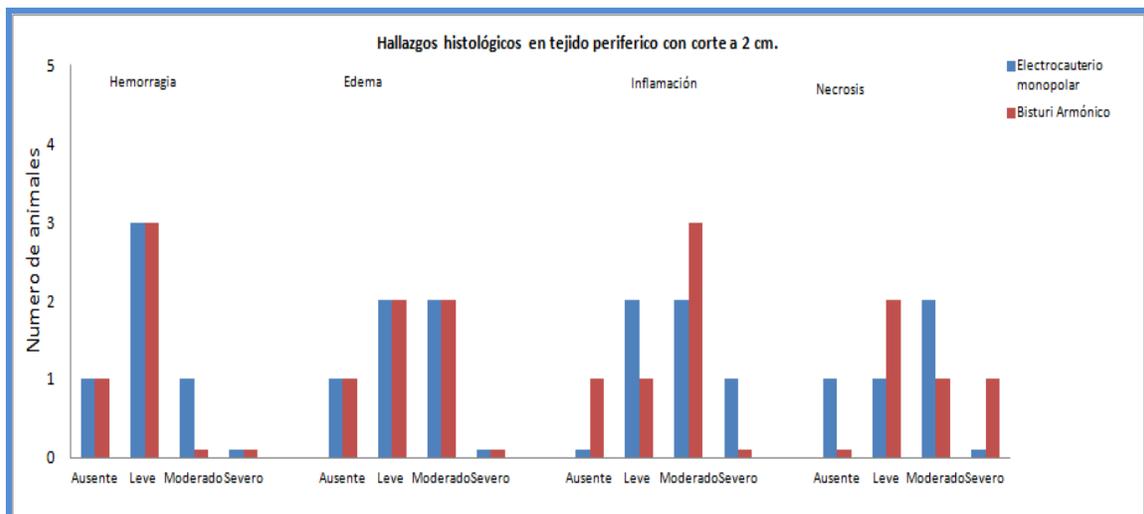


Figura 8. Cambios histológicos de ambos grupos encontrados en el tejido periférico al realizar el corte a 2 cm del nervio.

Hallazgos histológicos en tejido periférico con Corte a 1.5 cm del nervio. (Figura 18)

En el grupo I en el corte realizado a 1.5 cm del nervio frénico, se presentó en tejido periférico (epineuro) hemorragia moderada en 4 casos (80%) y ausente en 1 (20%). Así mismo, se observó edema leve en 2 casos (40%), en 1 animal (20%) se presentó edema moderado, en 1 severo (20%) y en otro resultado ser ausente (20%). En cuanto a inflamación 1 caso fue ausente (20%) y se mostró inflamación neutrofílica en 4 casos; 1 (20%) de manera leve y 3 (60%) de forma moderada. En 2 casos (40%) se observó necrosis leve, 2 casos (40%) moderada y en otro no se presentó (ausente 20%) (Figura 9).

Los animales del grupo II mostraron en tejido periférico (epineuro) hemorragia leve en 4 casos (80%) y ausente en 1 (20%). Edema leve en 2 casos (40%), moderado en 1 caso (20%) y en 2 casos no se presentó edema (ausente 40%). Así mismo, se presentaron 2 casos (40%) con inflamación neutrofílica leve y 3 casos (60%) con inflamación neutrofílica moderada. En cuanto a necrosis, se presentaron 2 casos (40%) con inflamación leve, 1 caso (20%) moderada, 1 caso (20%) severa y en 1 no se presentó (ausente 20%) (Figura 9).

Al realizar la comparación entre grupos y dentro de cada grupo no se observó diferencia estadística (Hemorragia; $p=0.20$, Edema; $p=0.56$, Inflamación; $p=0.12$, Necrosis; 0.193 ANDEVA)

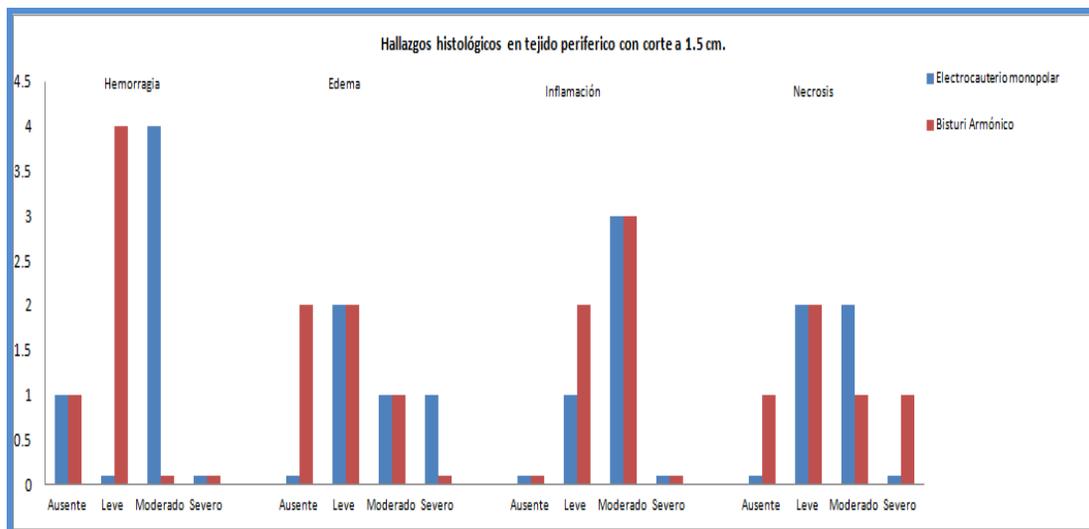


Figura 9. Cambios histológicos de ambos grupos encontrados en tejido periférico al realizar el corte a 1.5 cm del nervio.

Hallazgos histológicos en tejido periférico con Corte a 1 cm del nervio.

(figura 19)

En el grupo I en el corte realizado a 1 cm del nervio frénico; en el tejido periférico (epineuro) se observó hemorragia y edema en 2 casos (40%) de forma leve, en 2 casos (40%) de forma moderada y uno no presentó (ausente 20%). Se encontraron 3 casos (60%) de inflamación neutrofilica leve y 2 casos no presentaron inflamación (ausente 40%); en cuanto a necrosis se observó 1 caso (20%) leve, 1 caso (20%) severo y en 3 casos fue ausente (60%). (Figura 10).

En el grupo II los animales mostraron en el epineuro 1 caso (20%) de hemorragia leve, 2 casos (40%) de hemorragia moderada y los otros 2 no presentaron (ausente 40%). En cuanto a edema se encontraron 2 casos (40%) leves, 2 (40%) moderados y en 1 no se observó edema (ausente 20%). También se encontró inflamación neutrofilica moderada en 3 casos (60%), 1 caso (20%) leve y 1 caso no presentó inflamación (ausente 20%). Hubo necrosis moderada en 2 casos (40%) casos, severa en 2 casos (40%) y en 1 caso no se observó necrosis (ausente 20%) (Figura 10).

Al comparar entre grupos y dentro de cada grupo no se observó diferencia estadísticamente significativa (Hemorragia; $p=0.81$, Edema; $p=0.87$, Inflamación; $p=0.08$, Necrosis; 0.06 ANDEVA).

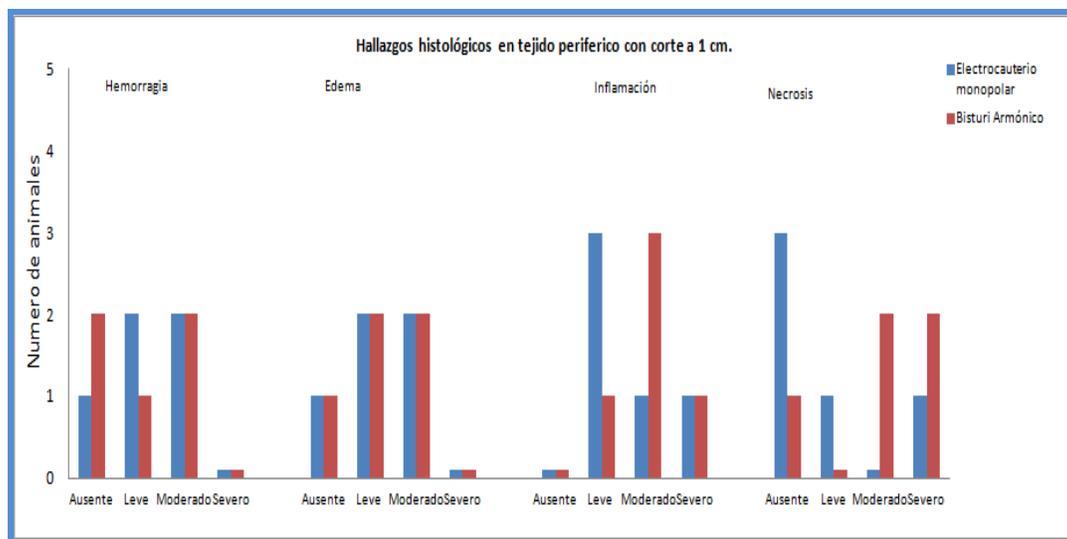


Figura 10. Cambios histológicos de ambos grupos encontrados en tejido periférico al realizar el corte a 1 cm del nervio.

**Hallazgos histológicos en tejido periférico con corte a 0.5 cm del nervio.
(figura 19)**

En el grupo I un perro (20%) desarrolló hemorragia leve, 2 casos (40%) moderada, 1 caso (20%) severa en el tejido periférico (epineuro) y en 1 caso no se observó hemorragia (ausente 20%). Además se observó edema en 3 perros de los cuales 1 (20%) fue leve, 1 (20%) moderado y 1 (20%) severo. También se encontró inflamación neutrofílica moderada en 1 caso (20%), severa en otro (20%) y 3 no presentaron inflamación (ausente 60%); 2 animales (40%) mostraron necrosis leve, 2 severa (40%) y en 1 no se observó (ausente 20%) . (Figura 11).

En el grupo II, en el tejido periférico (epineuro) se observó que 2 animales (40%) presentaron hemorragia leve, 1 (20%) severa y en 2 casos no se observó (ausente 40%); en 3 casos (60%) edema moderado, en 1 (20%) severo y 1 fue ausente (20%). En ningún caso se encontró inflamación y se observaron 2 casos (40%) de necrosis leve, 1 caso (20%) severa y 2 casos no presentaron necrosis (40%). (Figura 11).

Al comparar entre grupos y dentro de cada grupo, no se observó diferencia estadísticamente significativa (Hemorragia; $p=0.47$, Edema; $p=0.28$, Necrosis; 0.22) a excepción de la presencia de inflamación; $p=0.003$, la cual resultó ser mayor en el grupo I. (ANDEVA).

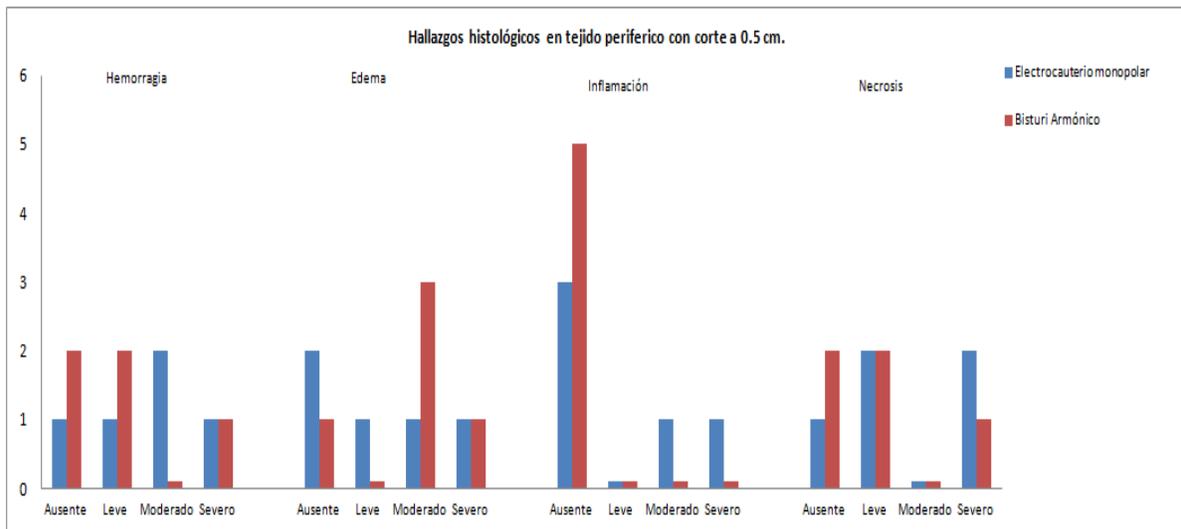


Figura 11. Cambios histológicos de ambos grupos encontrados en tejido periférico al realizar el corte a 0.5 cm del nervio.

Al comparar las diferentes distancias de corte se observó que los animales del grupo I desarrollaron mayor inflamación cuando el corte se llevó a cabo a 2.0 cm del nervio que los perros del grupo II cuando el corte se realizó a 0.5 cm del nervio ($p= 0.027$ ANDEVA, $p= 0.006$ Tukey) y cuando no se realizó ningún corte ($p= 0.027$ ANDEVA, $p= 0.049$ Dunnett.) (Figura 12).

Es importante mencionar que en todos los casos en los que se presentó inflamación, esta se manifestó por la presencia de linfocitos y neutrófilos.

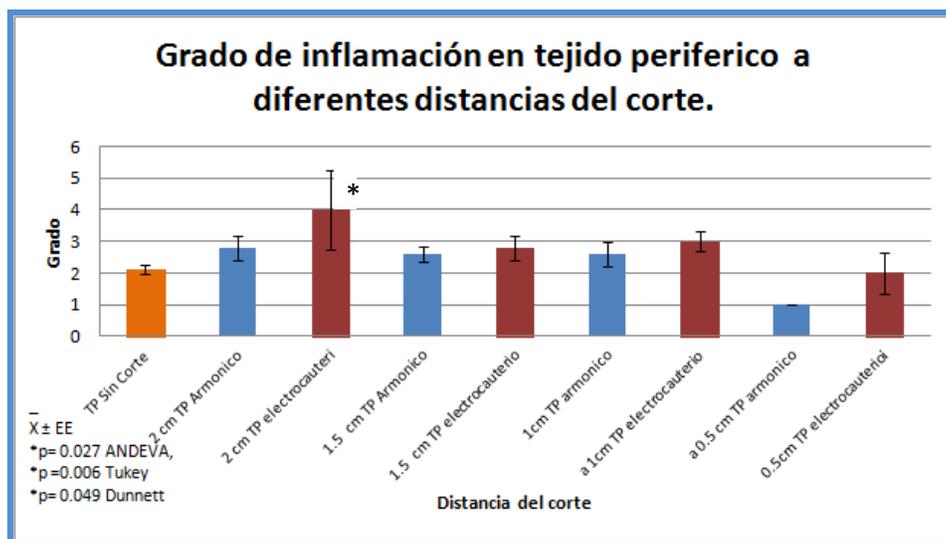


Figura 12 . Grado de inflamación en tejido periférico a diferentes distancias del corte realizado con electrocauterio monopolar o bisturí armónico.

4.3.2 Hallazgos histológicos en tejido nervioso.

Hallazgos histológicos en tejido nervioso con corte a 2 cm del nervio.

(figura 18)

En el grupo I, el NF de todos (100%) los animales se encontró de apariencia normal sin hemorragia, edema, inflamación o necrosis. (figura 13). Mientras que en el grupo II solo 1 perro 1 (20%) mostró hemorragia leve en el NF. (Figura 13)

Al comparar entre grupos y dentro de cada grupo, no se observó diferencia estadísticamente significativa (Hemorragia; $p=0.56$, Edema; $p=0.56$, Inflamación; $p=0.39$, Necrosis; 0.23 ANDEVA).

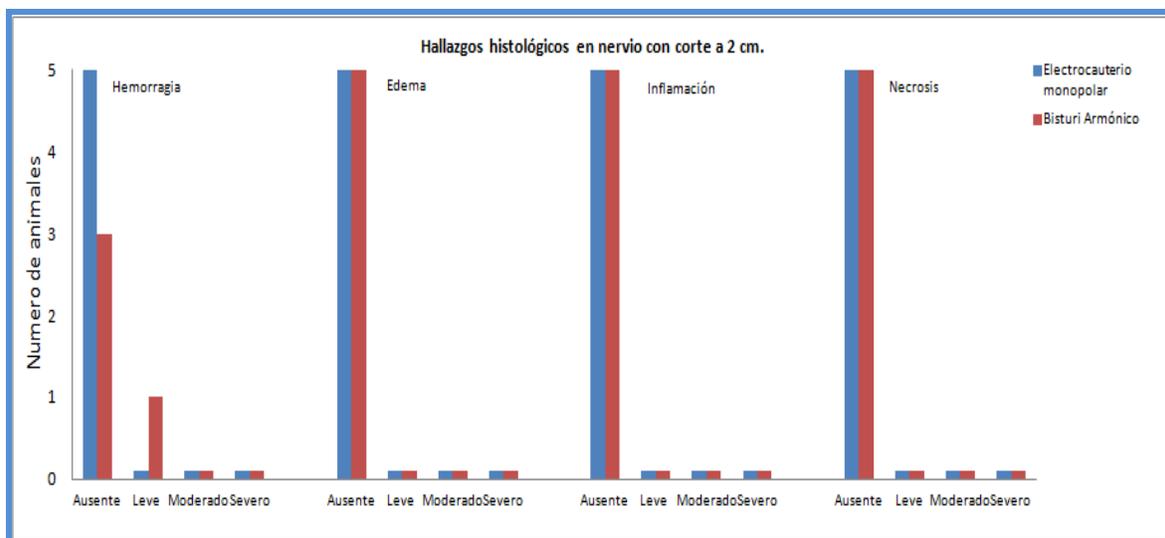


Figura 13. Cambios histológicos de ambos grupos encontrados en tejido nervioso al realizar el corte a 2 cm del nervio.

Hallazgos histológicos en tejido nervioso con corte a 1.5 cm del nervio.

(figura 18)

En el grupo I al realizar el corte a 1.5 cm, en el NF tampoco se presentó hemorragia, edema, inflamación o necrosis en el nervio; sin embargo 2 (40%) perros del grupo II presentaron hemorragia y edema leve, los otros 3 animales (60%) no mostraron ningún cambio (Figura 14)

Al comparar entre grupos y dentro de cada grupo, no se observó diferencia estadísticamente significativa (Hemorragia; $p=0.27$, Edema; $p=0.56$, Inflamación; $p=0.53$, Necrosis; $p=0.15$ ANDEVA).

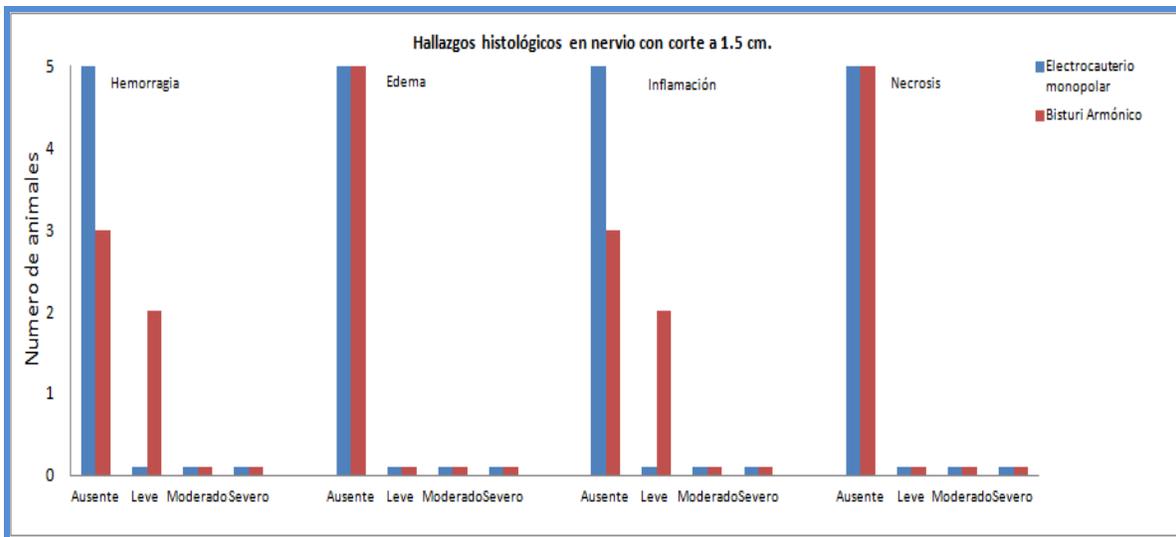


Figura 14 Cambios histológicos de ambos grupos encontrados en tejido nervioso al realizar el corte a 1.5 cm del nervio frénico.

Hallazgos histológicos en tejido nervioso con corte a 1 cm del nervio.

(figura 19)

Cuando el corte se realizó a 1 cm del nervio, en el grupo I se observó que 1 perro (20%) desarrollo hemorragia, inflamación y necrosis leve sobre el NF.

En el grupo II, 1 perro (20%) mostró hemorragia leve mientras que los otros 4 no presentaron hemorragia (ausente 80%) y 2 casos (40%) mostraron inflamación leve en el nervio, los otros animales se observaron normales. (Figura 15)

Al comparar entre grupos y dentro de cada grupo, no se observó diferencia estadísticamente significativa (Hemorragia; $p=0.92$, Edema; $p=0.56$, Inflamación; $p=0.86$, Necrosis; 0.34 ANDEVA).

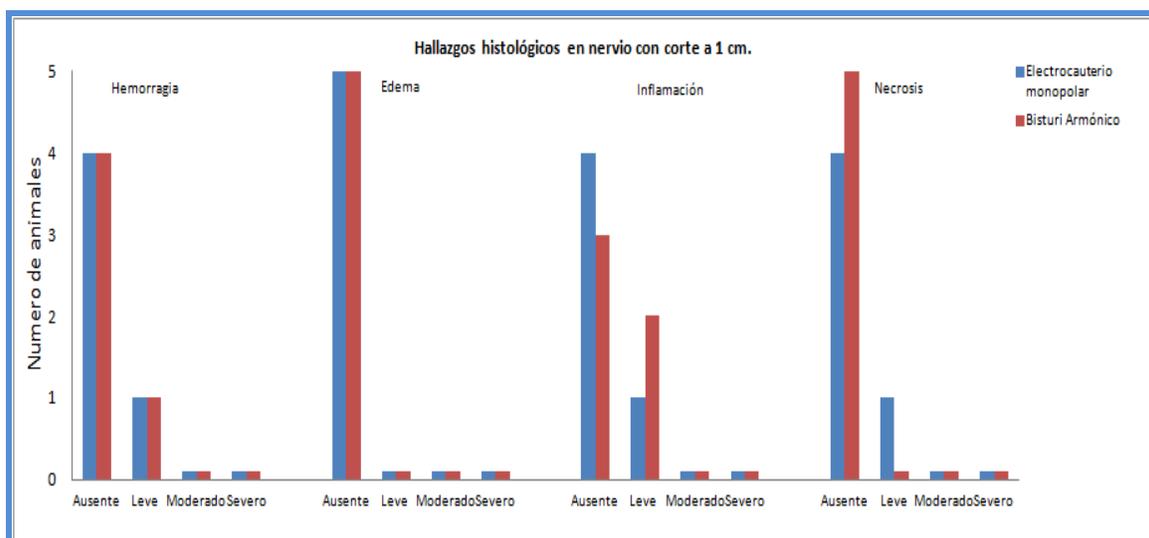


Figura 15. Cambios histológicos de ambos grupos en tejido nervioso al realizar el corte a 1 cm del nervio frénico.

Hallazgos histológicos en tejido nervioso con corte a 0.5 cm del nervio.

(figura 19)

En el grupo I todas (100%) las muestras se observaron sin cambios; sin embargo en el grupo II se presentaron 2 casos (40%) con hemorragia y edema leve, 1 caso (20%) con inflamación moderada, 1 caso (20%) con inflamación severa y solo 1 caso (20%) mostró necrosis severa, los casos restantes no tuvieron cambios histológicos. (Figura 16)

Al comparar entre grupos y dentro de cada grupo, no se observó diferencia estadísticamente significativa (Hemorragia; $p=0.24$, Edema; $p=0.24$, Inflamación; $p=0.19$, Necrosis; 0.50 ANDEVA).

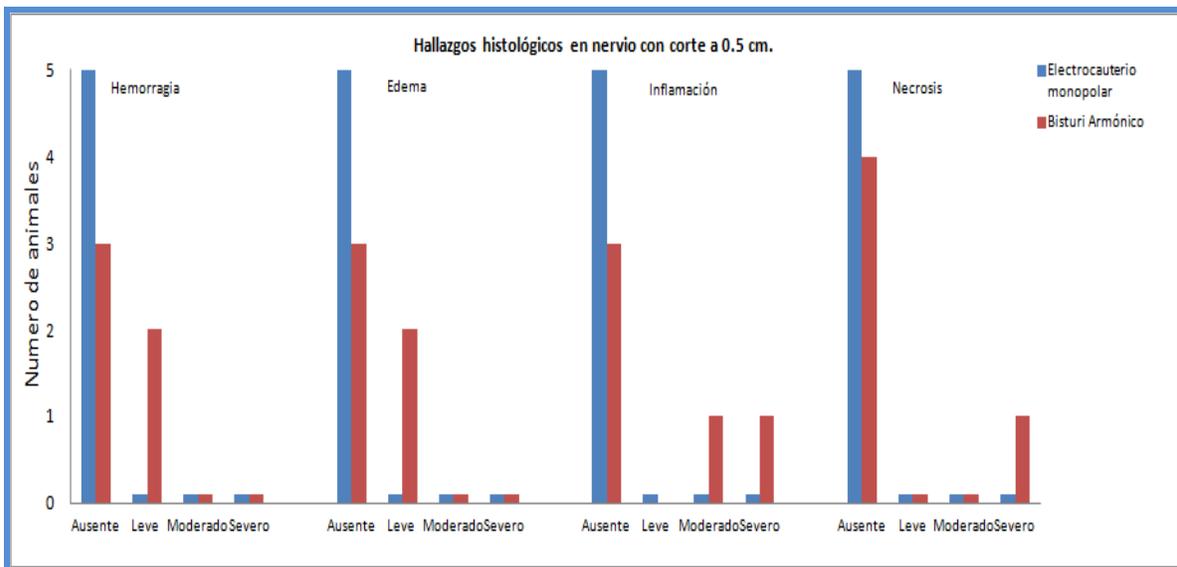


Figura 16. Cambios histológicos de ambos grupos encontrados en tejido nervioso al realizar el corte a 0.5 cm del nervio frénico.

Al observar las muestras teñidas con luxol fast blue en ambos grupos, ninguna muestra presentó cambios que puedan relacionarse con pérdida de la integridad de la mielina (Figura 17).

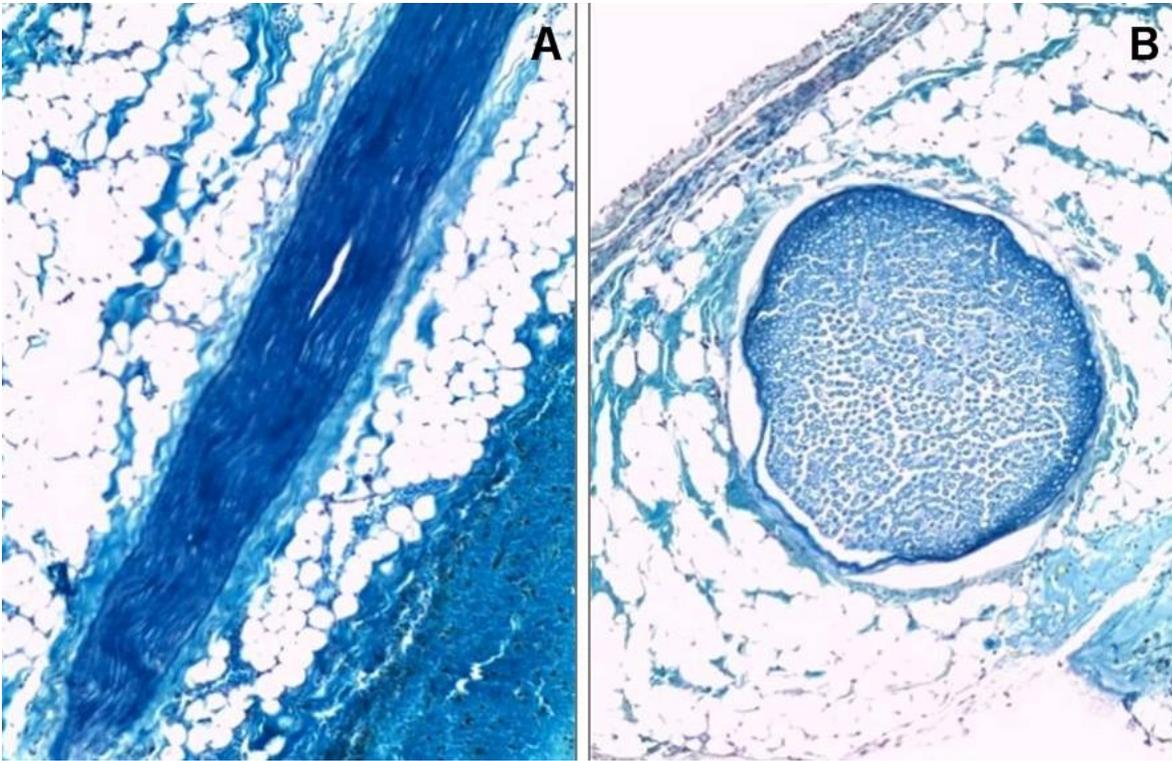


Figura 17: A) Corte longitudinal de NF de un perro post-tratamiento (B) Corte transversal de NF de perro post-tratamiento. (LFB,x4)

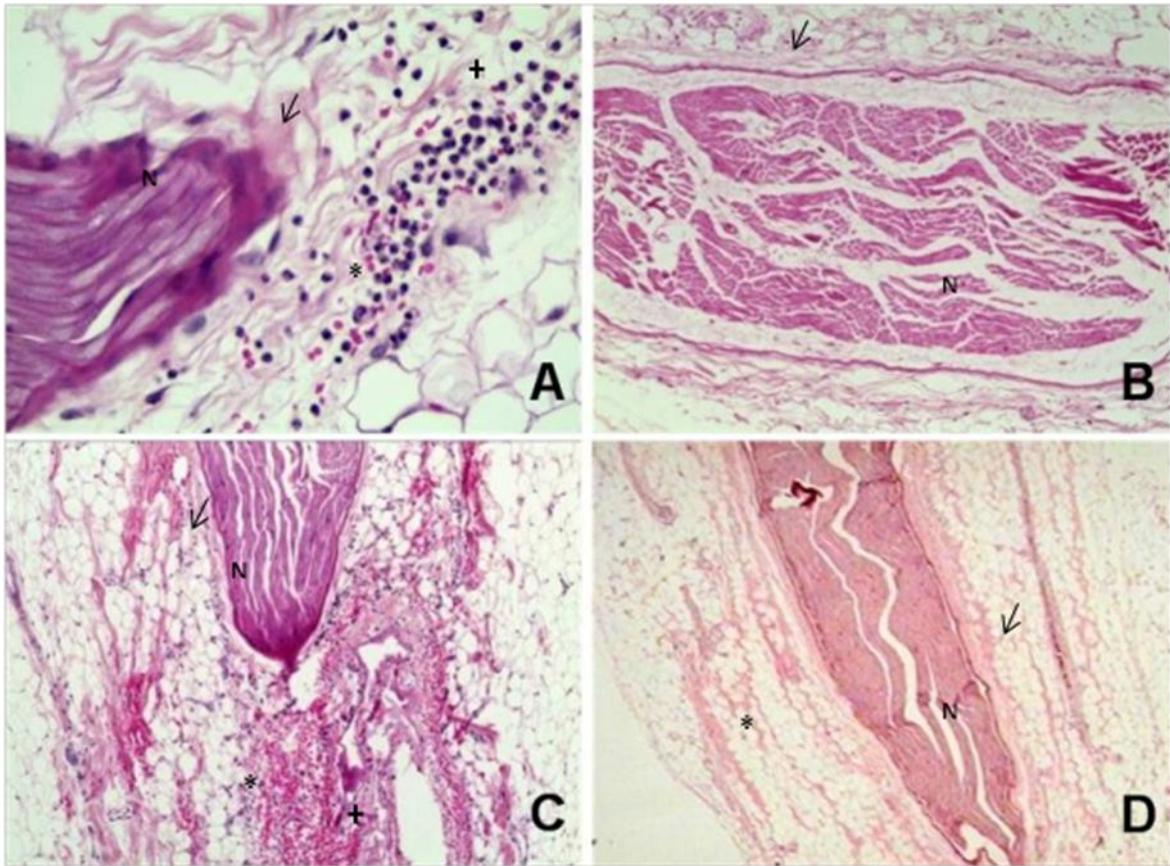


Figura 18: A) Corte a 2cm del NF(N) obtenido de una muestra de un animal del grupo I en donde se observa hemorragia (*) leve, edema (flecha) e inflamación moderado en tejido periférico manifestada por la presencia de PMN(+) (H&E,x10). B) Corte a 2cm del NF obtenido de una muestra de un perro del grupo II en el cual se puede observar edema e inflamación leve en tejido periférico con presencia de PMN (H&E,x10). C) Corte a 1.5cm del NF de una muestra de un perro del grupo I en donde se observa edema leve, hemorragia e inflamación severa con gran cantidad de PMN en tejido periférico (H&E,x4). D) Corte a 1.5cm de distancia del NF obtenido de un perro del grupo II en el cual se observa edema y hemorragia leve en tejido periférico (H&E,x4) . En ningún caso se observa daño en el NF.

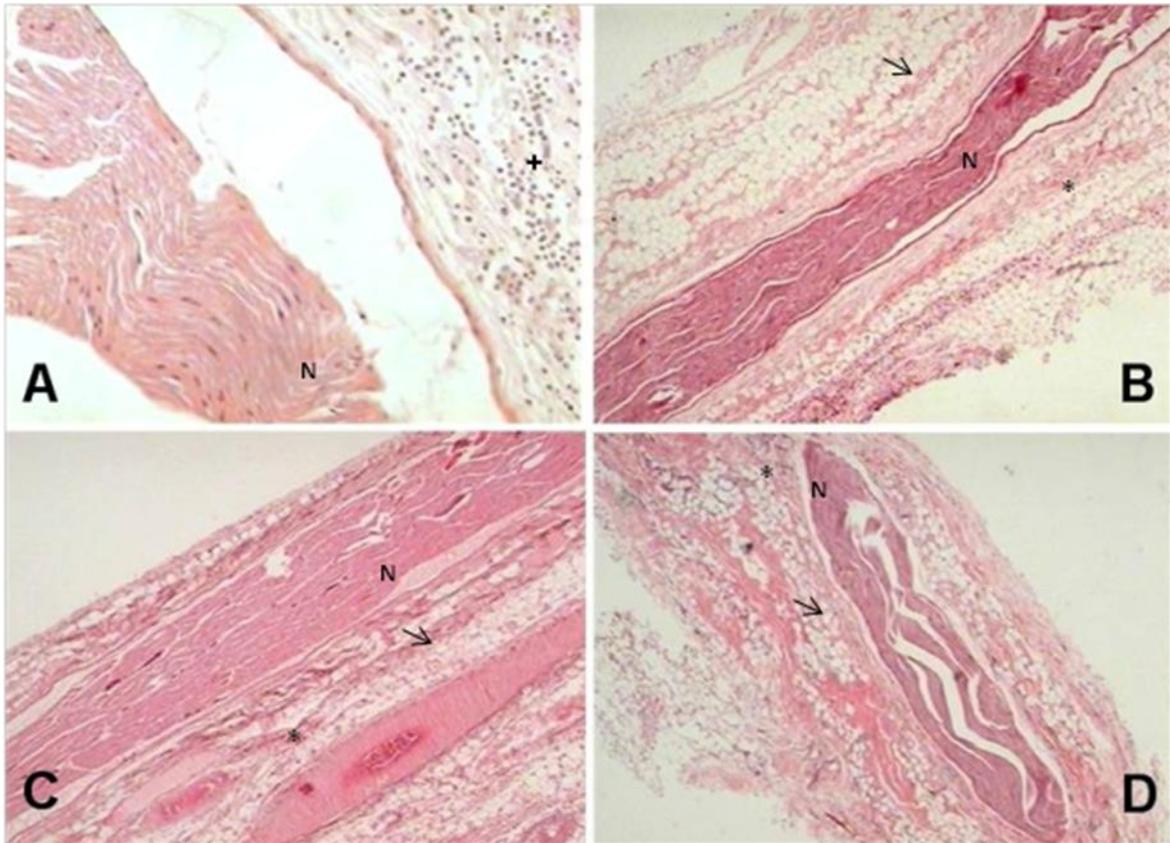


Figura 19: Corte a 1cm del NF (**N**) obtenido de una muestra de un animal del grupo I en donde se observa una reacción inflamatoria moderada en tejido periférico presentada por PMN(+) (H&E,x10). B)Corte a 1 cm del NF de un perro del grupo II el cual presenta edema (**flecha**) moderado, hemorragia (*) e inflamación leve en tejido periférico con presencia de algunos PMN (H&E,x4). C) Corte a 0.5cm del NF obtenido de una muestra de tejido de un animal del grupo I en donde se observa hemorragia leve y edema severo (H&E,x4) D)Corte a 0.5cm de distancia del NF de un perro del grupo II que presenta edema severo y hemorragia moderada (H&E,x4) . En ningún caso se presenta lesión en NF.

5 DISCUSIÓN.

En la actualidad, la cirugía video asistida ha tenido un desarrollo importante para el tratamiento de distintas afecciones, debido a que tiene muchas ventajas en comparación con la cirugía abierta ya que disminuye la estancia hospitalaria del paciente y facilita su incorporación rápida a la vida social y laboral, reduce el tiempo quirúrgico, proporciona mejores resultados estéticos y provoca menor dolor postquirúrgico (7); sin embargo el uso del EM y el BA como instrumentos para corte y disección pueden ocasionar daño a los tejidos adyacentes debido al calor generado durante su utilización. (36)

El EM es un instrumento que transforma la energía eléctrica en calor y con esto produce el corte y la coagulación de los tejidos y alcanza temperaturas entre los 150°C a los 400°C al aplicar una corriente de alta intensidad; mientras que el BA corta y coagula tejidos mediante el uso de vibración ultrasónica que oscila a una frecuencia de 55khz y alcanza una temperatura que puede llegar a los 100°C, desnaturalizando las proteínas al romper los enlaces de hidrógeno. (19)

Por su posición anatómica dentro de la cavidad torácica el NF al realizar una toracoscopia es susceptible de sufrir lesiones durante el corte y la coagulación con estos instrumentos; sin embargo, en la literatura no se ha reportado el daño y cambios histológicos que puede provocar el uso del EM o BA durante la cirugía videoasistida de tórax; por lo que en este trabajo se evaluaron los cambios histológicos que sufre el NF y tejidos de sus alrededores después de realizar una incisión al pericardio con EM o BA en un modelo experimental canino.

El objetivo de este trabajo fue determinar el grado de lesión histológica del NF después de realizar cortes en el pericardio a una distancia de 2, 1.5, 1 y 0.5 cm del nervio con un electrocauterio monopolar o bisturí armónico mediante toracoscopia en perros.

Macroscópicamente el mayor grado de quemadura y contracción pericardica observada en los animales del grupo de EM fue debido a que al realizar el corte,

este instrumento alcanza temperaturas superiores a los 100°C lo cual ocasionó muerte celular por coagulación protoplasmática e isquemia prolongada secundaria a coagulación intravascular (37), deshidratación del tejido, adherencia del tejido al electrodo y carbonización (38) y coincide con lo descrito por Meccariello (39) quien al estudiar las lesiones producidas por calor con diferentes bisturíes térmicos, observó que el electrocauterio monopolar produce aproximadamente 26% más daño que el BA y 45% más que el láser de CO₂. Además, en estos animales se observó mayor contracción pericardica probablemente porque temperaturas entre 55-62 °C provocan la contracción de las fibras de colágena por ruptura de los enlaces interpeptídicos que hace que la molécula de colágena se acorte hasta un tercio de su longitud. (40)

Por otro lado en ningún animal se presentó infección debido a que el tiempo de estudio fue muy corto y no dio tiempo a que las bacterias se incubaran, además de que se les aplicaron antibióticos de manera postquirúrgica. Sin embargo, podría presentarse una infección severa si el estudio tuviera una duración mayor.

La presencia de líquido pericárdico en el hemitorax operado fue ocasionado porque la ventana que se formó en el pericardio al realizar las diferentes incisiones cercanas al NF permitió la salida de éste; sin embargo este hallazgo no se presentó como una complicación de la cirugía como lo describen Molnar *et al* que mencionan que una complicación de la toracoscopia es la presencia de drenajes serosos o secreción serosa. (41)

La presencia de depósitos de fibrina en ambos grupos, fue provocado durante la hemostasia que se origina al producirse la lesión, las plaquetas se activan y liberan fibronectina, trombospondina, esfingosina y el factor de von Willebrand, los cuales a su vez ocasionan la agregación plaquetaria, así como la formación de una matriz de fibrina que se deposita en la herida y que funciona como una matriz provisional para estabilizar el sitio de la herida. (42) (43)

La presencia de hematomas (macroscópica) y hemorragia (microscópica) de los tejidos periféricos fue mayor en el grupo en el que se utilizó el EM debido a que este al ponerse en contacto con el tejido, produce mayor dispersión térmica que el BA y con esto abarca más extensión de tejido, afecta más vasos sanguíneos y

coincide con lo descrito por Lee (44) quien estudio el daño producido por el BA en el nervio laríngeo recurrente al realizar cirugías de cuello en un modelo experimental canino. Nuestros hallazgos también coinciden con lo descrito por Zarebczan (45) quien al realizar cirugías de tiroides en humanos con BA y tijeras bipolares, observó que el BA produce más hematomas cuando se lleva a cabo tiroidectomias.

El edema microscópico observado en ambos grupos fue ocasionado porque durante las quemaduras se presenta daño de los capilares, lo cual promueve la liberación de agua, electrolitos y proteínas del territorio vascular (46) y coincide con lo descrito por Diamantis (47) quien comparó el efecto de cuatro diferentes equipos de coagulación (Electrocauterio monopolar, electrocauterio bipolar, tijeras bipolares y bisturí armónico) y observó que el instrumento que causa mayor daño térmico es el EM.

La inflamación macroscópica y microscópica presentada en los tejidos periféricos (pericardio, grasa pericardica y perineural) de ambos grupos, posiblemente fue ocasionada porque esta es una respuesta a la agresión provocada por la incisión que se produjo en el tejido pericardico y tiene como fin reparar el tejido dañado. Esta reacción fue más intensa en el grupo I debido a que el EM causa una mayor agresión al alcanzar temperaturas superiores que el BA. Nuestro estudio coincide con lo descrito por Canal *et al* (36) quienes al realizar incisiones en piel de conejo con el bisturí convencional y el EM observaron mayor inflamación cuando utilizaron el EM. Nuestros hallazgos también concuerdan con lo reportado por Diamantis (47) quien después de realizar incisiones en vasos gástricos de pequeño calibre con EM y BA, observó que las muestras de tejido en donde se utilizó EM, presentaban mayor inflamación y necrosis. Sin embargo, su estudio se extendió al día 3 postquirúrgico, en el cuál a diferencia de nuestro estudio de 24 horas, se pueden observar mayores cambios relacionados con el curso que sigue el proceso de inflamación y reparación.

La presencia de neutrófilos en los animales de los 2 grupos que mostraron inflamación, se debió a que después de que se produjo la hemostasia, hubo una liberación de aminas vasoactivas y gránulos ricos en histamina de los mastocitos,

los cuales ocasionaron que los vasos circundantes se permeabilizaran y permitieran el movimiento de neutrófilos de la vasculatura al sitio de la lesión para que iniciaran con la fagocitosis para eliminar los cuerpos extraños, bacterias y tejido dañado (42,48,49).

Histológicamente la presencia de linfocitos fue debida a que durante el proceso de cicatrización migran a la herida después de los polimorfonucleares y macrófagos, produciendo linfocinas y factores de crecimiento que estimulan a los fibroblastos para la producción de colágena. Estos hallazgos coinciden con lo descrito por Barbul (50) Agaiby (51) y Tsirogianni (52) quienes mencionan que los linfocitos T favorecen el depósito de colágena y la cicatrización.

Con respecto a los cambios mostrados por el NF, cuando se realizaron los cortes a diferentes niveles, se observó que ambos instrumentos de corte provocan hemorragia e inflamación leve mientras más cerca al sitio de corte se encuentre el nervio; sin embargo no provocan perdida de la mielina a las 24 horas. Nuestros hallazgos no coinciden con lo observado Lee (44) y Jiang (21) quienes realizaron cortes a 1,2 y 3 mm de distancia del nervio laríngeo recurrente para observar el daño provocado por el BA y observó que este solo produce daño cuando el corte se lleva a cabo a 1 mm de distancia del nervio y este se caracteriza por ocasionar inflamación y perdida axonal, así como de la mielina. Lo anterior podría estar relacionado con el tiempo de exposición al calor generado por el BA y al tiempo postquirurgico en el que fueron tomadas las muestras ya que en sus estudios, además de comparar las diferentes distancias de la lesion , también realizan una comparación con el tiempo de exposición al instrumento de corte. Tampoco coinciden con lo reportado por Harold quien al comparar el efecto del uso de la energía ultrasónica y la térmica bipolar en arterias porcinas de diferentes tamaños, observó que la energía térmica provoca mayor daño que la ultrasónica (53) y afirma que el sellado térmico de los vasos tiene muy poca propagación de la lesión térmica, lo cual no coincide con nuestros resultados en los que la lesión térmica está relacionada con la cercanía del corte. Tampoco coinciden con lo descrito por Carlander quien observó que el realizar cortes a 1 mm del nervio ciático con el EM

provoca mayor daño que el BA (54). Lo observado en este trabajo tampoco se relaciona con lo descrito por Owaki quien menciona que en la cirugía de cuello el uso de BA a una distancia de 3mm del nervio laríngeo recurrente por menos de 10 segundos en el nivel 3, es seguro (55).

6 CONCLUSIONES.

El EM provoca mayor grado de quemadura, contracción pericardica, inflamación y hematomas macroscópicos en los sitios de corte en comparación con el BA.

EL BA es un instrumento que ocasiona menor inflamación, hemorragia, edema y necrosis histológica de los tejidos periféricos que el EM.

Tanto el EM como el BA causan leves cambios macroscópicos y microscópicos en el NF sin importar la distancia a la que se lleve a cabo el corte. Además ninguno de los instrumentos provoca daños en la mielina del nervio.

A pesar de que los datos estadísticos no respaldan la diferencia entre el funcionamiento del EM y el BA, con base en los hallazgos descritos en este trabajo se puede afirmar que el primero origina mayor daño en los tejidos periféricos que el BA; sin embargo el corte a 0.5 cm del NF con cualquiera de los instrumentos es seguro y no daña su estructura.

7 BIBLIOGRAFIA.

1. Diccionario Mosby de Medicina, enfermería y ciencias de la salud. 6a ed. Barcelona: Elsevier; 2003. Cirugía Torácica: 155
2. Ortiz CA, Gutiérrez E, Gómez J, *et al.* Situación actual de la cirugía video-toracoscópica. Rev Colomb Cir. 2013; 28(3):212-222.
3. Mederos ON, Barrera JC, Jimenez R, *et al.* Incisiones torácicas. [Monografía en internet]. Peru, Lima; 2013 [acceso 19 de noviembre de 2013]. Disponible en: http://www.sld.cu/galerias/pdf/uvs/cirured/supercurso_de_incisiones_toracicas.pdf
4. Rodríguez JE y Moroto LC. La cirugía convencional sigue siendo la mejor opción en el tratamiento quirúrgico de la valvulopatía aórtica. Argumentos en contra. 2000; 53 (4): 483-489.
5. Olmos JR, Jasso R, Sotro A, *et al.* Evaluación de la utilidad del pericardio bovino en resecciones pulmonares no anatómicas en perros. Revista de investigación clínica. 2002; 54 (4): 334-341.
6. Rodríguez F. La toracoscopia hoy: indicaciones y procedimiento. Arch Bronconeumol. 2004; 40 (6) 49-54.
7. Fuentes E, Díaz JM, Huerta JC. Videotoracoscopia: Nuestra experiencia. Rev Cubana Cir. 2001; 40(2): 134-143.
8. Paramo JA, Panizo E, Pegenante C, *et al.* Coagulación 2009: una visión moderna de la hemostasia. Rev. Med. Univ. Navarra. 2009; 53 (1): 19-23.
9. Person B, Vivas DA, Ruiz D, *et al.* Comparison of four energy-based vascular sealing and cutting instruments: A porcine model. Surg. Endosc. 2008; 22(2): 534-538.
10. Balagué C. Hemostasia y tecnología. Energía. Desarrollo de las nuevas tecnologías. Cir. Esp; 2009 85 (1): 15-22.
11. Maxi GA y Tobar LA. Diseño y construcción de un electrocauterio experimental para cirugías superficiales en animales. [Tesis doctoral] Ecuador; 2011. Universidad politécnica salesiana de Ecuador.
12. Höchtel M y Pöcksteiner P. Cirugía con electrobisturí de alta frecuencia: Efectos, riesgos y minimización de peligros. Sempermed. 2004; 8 (5): 1-4

13. Garcia B, Rodriguez J, Casado R, *et al.* Electrocirugía y dispositivos electrónicos cardiacos implantables (marcapasos y desfibriladores). *Actas-dermosifiliográficas*. 2013;104 (2): 128-132.
14. Marcovicz, Chrostek CA y Amarel JF. Surgical laparoscopic energy and lateral thermal damage: the proceedings of the society of minimal invasive therapy. 1994; 4 (1): 333-334
15. Cervantes CR, Zetina C, Serrano E, *et al.* Incisión cutánea: Bisturí vs electrocauterio. Estudio experimental en ratas. *Rev Med Hosp Gen Mex*. 2002; 65 (1): 11-14.
16. Llamas I, Wolfschoon A y Rodriguez RE. Reporte de caso: Incendio de un tubo endotraqueal durante traqueostomía. *Rev colomb anestesiología*. 2007; 35 (1): 75-77.
17. Nazar J. Amigdalectomía: Nueva tecnología confrontada con la cirugía tradicional *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello*. 2004;64(1):252-261.
18. Lee SJ y Park KH. Ultrasonic energy in endoscopic surgery. *Yonsei Med J*. 1999; 40 (6):545-549
19. Mijares A, Suárez CM, Pérez CA, *et al.* Uso del bisturí armónico en la cirugía tiroidea. *Revista Venezolana de oncología*. 2006; 18 (4):693-696.
20. Paredes J, Borges M, y Coulson A. Early impressions of the harmonic scalpel. *J Anesthes*. 1996;85 (4):947-948
21. Jiang H, Shen H, Jiang D, *et al.* Evaluating the safety of the Harmonic Scalpel around the recurrent laryngeal nerve. *Anz J Surg*. 2010; 80 (11): 822-826.
22. Caballero SC y Muñeton V. Organización del sistema nervioso y principios sobre su funcionamiento. En Caballero CSC y Villa GA, editores. *Fisiología veterinaria e introducción a los procesos productivos: FMVZ UNAM*, 1a ed. México D.F; 2010.80-82.
23. Reina MA, López A, Villanueva MC, *et al.* Morfología de los nervios periféricos, de sus cubiertas y de su vascularización. *Rev. Esp. Anestesiología. Reanim*. 2000; 47 (10):464-475.

24. Junqueira LC y Carneiro J. Tejido nervioso. En Junqueira LC y Carneiro J. Histología Básica. 4a ed. Barcelona, España: Masson; 1999. 143-177.
25. Schünke M, Schulte E and Schumacher U. Prometheus. Texto y Atlas de Anatomía. Tomo 3. 2a ed. Panamericana; 2011.
26. Banks WJ. Cap.12: Tejido Nervioso. En Banks WJ. Histología Veterinaria Aplicada. México D.F: El Manual Moderno; 1986. 265-290.
27. Sisson S and Grossman JD. Neurología. En Sisson and Grossman. Anatomía de los animales domésticos. Barcelona España: Salvat Editores; 1972. 758-846.
28. Horst E. Anatomía de los animales domésticos: texto y atlas en color. Vol. 1. Medica Panamericana; 2012.
29. Delgado J, y Laurini M. Lesiones traumáticas del diafragma. Monografía del posgrado de cirugía general. 2001.
30. Bello KA. Parálisis diafragmática en postoperatorio de cirugía cardíaca: Manejo ventilatorio. Umbral científico. 2003;2:75-78
31. Estados Unidos Mexicanos. AFÍA. Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Diario Oficial de la Federación 22 de agosto de 2001.
32. National Institutes of Health U.S.A. Guía Para el Cuidado y Uso de Los Animales de Laboratorio. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health U.S.A. Edición Mexicana Auspiciada por la Academia Nacional de Medicina. México, D.F. 2002.
33. Lafamme DP. Development and validation of a body condition score. Canine practice. 1997; 22 (1): 10-15.
34. Baldwin K, Bartges J, Buffington T *et al.* Guías para la Evaluación Nutricional de perros y gatos de la Asociación Americana Hospitalaria de Animales (AAHA). J Am Anim Hosp Assoc 2010.46 (4):285-297.
35. Veiga A, Rendal M, Matheu G, Andi6n C. S6nchez J, Segura R *et al.* Cambios histopatol6gicos en arterias humanas sometidas a procesos de isquemia fr6a y criopreservaci6n. Angiologia. 2004;56(2):97-105.

36. Canal-Andrade P, Rodríguez-Perales, López-Chavira A, et al. Valoración histológica del daño tisular ocasionado por diferentes medios de corte en piel de conejo. *Rev Sanid Milit Mex.* 2007; 61(3): 162-169.
37. Pesantez M. Estrategia para disminuir la morbilidad y mortalidad, mediante implementación y uso de guías práctico-clínicas para la atención de urgencias y emergencias en especialidades. [Tesis] Loja, Ecuador: Universidad Nacional de Loja; 2011.
38. Subgerencia de evaluación tecnológica. "Evaluación tecnológica en salud." *Boletín tecnológico del Perú.* 2006; 16: 1-8.
39. Mannelli G, Meccariello G, Deganello A, et al. Impact of low-thermal-injury devices on margin status in laryngeal cancer. An experimental ex vivo study. *Oral Oncol.* 2014; 50 (1): 32-39.
40. Tanzi EL y Alters TS. Resuperficialización cutánea: láseres, ablativos, exfoliaciones químicas y dermoabrasión. En Wolf, Goldsmith Katz et al. *Dermatología en medicina general.* México D.F.: Panamericana; 2009. 2364-2371.
41. Molnar TF, Benko I, Szanto Z, et al. Complications after ultrasonic lung parenchyma biopsy: a strong note for caution. *Surg Endosc.* 2008; 22 (3): 679-682.
42. Goldberg SR and Diegelman RF. Wound Healing Primer. *Crit. Care Nurs Clin N Am.* 2012; 24 (2): 165-178.
43. Cho J and Mosher DF. Role of fibronectin assembly in platelet thrombus formation. *J Thromb Haemost.* 2006; 4(7): 1461-1469.
44. Lee KE, Jee HG, Kim HY, et al. Development of a canine model for recurrent laryngeal injury by harmonic scalpel. *Lab anim Res.* 2012; 28 (4): 223-228.
45. Zarebczan B, Mohanty D and Chen H. A comparison of the LigaSure and Harmonic scalpel in thyroid surgery: A single institution review. *Ligasure and scalpel in thyroid surgery.* *Ann Surg Oncol.* 2011; 18(1): 214-218.

46. Gallardo R, Ruiz JG, Torres RM, *et al.* Estado actual del manejo urgente de las quemaduras (I). Fisiopatología y valoración de la quemadura. *Emergencias*. 2000; 13 (5) :122-129
47. Diamantis T, Kantos M, Arvelakis A, *et al.* Comparison of Monopolar electrocoagulation, bipolar electrocoagulation, ultracision and ligasure. *Surg.Today*. 2006; 36 (10): 908-913.
48. Martin P and Leibovich SJ. Inflammatory cells during wound repair, the good, the bad and the ugly. *Trends in Cell Biology*. 2005;15(11): 599-607.
49. Roberts AB, McCune BK, and Sporn MB. TGF-beta:regulation of extracellular matrix. *Kidney Int*.1992; 41(3): 557-559.
50. Barbul A, Breslin RJ, Woodyard JP, *et al.* The effect of *in vivo* T helper and T suppressor lymphocyte depletion on wound healing. *Ann. Surg*. 1989; 209 (4):479-483.
51. Agaiby AD and Dyson M. Immuno-inflammatory cell dynamics during cutaneous wound healing. *J. Anat*. 1999;195 (4): 531-542.
52. Tsirogianni AK, Moutsopoulos NM, Moutsopoulos HM. Wound healing: Immunological aspects. *Injury.Int J. Care Injured*. 2006; 37(1): 5-12.
53. Harold KL, Pollinger H, Matthews BD, *et al.* Comparison of ultrasonic energy, bipolar thermal energy and vascular clips for the hemostasis of small, medium and large sized arteries. *Surg.Endosc*. 2003; 17(8): 1228-1230.
54. Carlander J, Johansson K, Lindstrom S, *et al.* Comparison of experimental nerv injury caused by ultrasonically activated scalpel and electrosurgery. *Br J Surg*. 2005; 92(6): 772-777.
55. Owaki T, Nakano S, Arimura K, *et al.* The ultrasonic coagulation and cutting system injuries nerve function. *Endoscopy*.2002; 34(7):575-579.