

14
2EJ



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS

**REACTIVIDAD TISULAR A LA
RESINA EPÓXICA POLIAMIDA 9XM
100 EN TEJIDO NERVIOSO DE RATA
WISTAR**

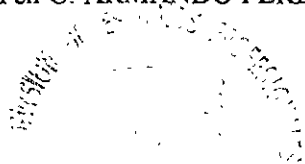
T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G A
P R E S E N T A:
MONTSERRAT AYCARDO TINAJERO

L



DIRECTOR DE TESIS: DR. LUIS DELGADO REYES
ASESOR DE TESIS: M en C. ARMANDO PÉREZ TORRES

1999



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

69729



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

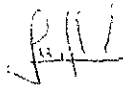
Reactividad tisular a la resina epoxica poliamida 9 XM100 en tejido nervioso
de rata Wistar

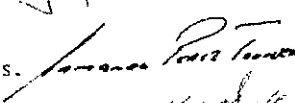
realizado por Arcardo Tinajero Montserrat.

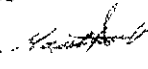
con número de cuenta 8811762-1 , pasante de la carrera de Biología.

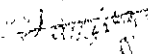
Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

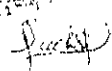
Atentamente

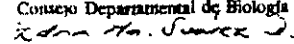
Director de Tesis Dr. Luis Delgado Reyes. 

Propietario M en C. Armando Perez Torres. 

Propietario Dra. Marcela Esperanza Aguilar Morales. 

Suplente M en C. José Ramírez Lezama. 

Suplente Biol. Larisa Adriana Chavez Soriano. 

Consejo Departamental de Biología

Dra. EDNA MARTA SUÁREZ DÍAZ

AGRADECIMIENTOS

A DIOS: Gracias por extender tus brazos y por dejarme comprender el verdadero significado de la tenacidad; pero ante todo por mantenerme viva.

A mis padres (Ade y Jesús): Les agradezco el apoyo que he recibido durante toda mi vida y sobre todo por saber confiar en mí.

A mis abuelos (Petri † y Samuel †): A ustedes con cariño y por estar siempre conmigo.

A mi hermano Alfredo: Por los buenos y malos momentos que juntos hemos pasado y lo que nos falta

A Edgar Omar ("enanito"): Por hacerme entender que la vida es crecimiento y un largo viaje.

A Verónica Samantha ("capullito"): No se necesitan palabras para expresar tu profundo cariño, gracias por llenar mi vida con tu inagotable afecto.

A mi maestro y amigo Dr. Armando Pérez: Por su incansable paciencia, apoyo y consejos; y por enseñarme a ser mejor cada día.

A mi amigo Dr. Luis Delgado: Por sus grandes enseñanzas y por su confianza brindada para realizar este trabajo.

A la Dra. Marcela Aguilar: Gracias por enseñarme a no dudar de mis convicciones y por su apoyo brindado durante la carrera.

Al Dr. José Lezama y Larisa: Por su apoyo y dedicación para la finalización de este trabajo.

A Dr. Ismael Herrera y a Memo: Por la confianza brindada y por su calidad humana brindada.

A I.Q. Ricardo Estrada: Por ser con la persona que se puede pensar en voz alta.

A mis amigos:

Luis Octavio: Por los buenos momentos que hemos compartido.

Alberto Cano: Por tus consejos y por nuestra indeleble amistad.

Ma. Elena Mejía: Por el apoyo que he recibido de ti no tiene comparación, por apoyarme siempre en mis decisiones, gracias por ser una verdadera amiga.

Dolores ("Lola"), Rosy, Raquel y Fernando: Les agradezco sus enseñanzas de química y las leyes de la vida y sobre todo su incalculable amistad.

Dra. Vergara y Mónica: Por su confianza y los buenos momentos que pasamos.

Dr. Jorge Pavón, Claudia, Sotero, Adriana, Alain, Ivan, Mauricio y José Luis: Gracias por compartir conmigo la culminación de esta faceta y por ser unos amigos especiales.

Aquiles, Claudia, Adriana, Ubaldo, Hugo, Ixel, Daniel, Omar, y Pedro:
Por su grandiosa amistad y por lo buenos momentos que
pasamos en la facultad.

A los Doctores del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital "Juárez
de México: Judith Contreras, Rafael Peña Vera, Martha
Tena, Estela Uscanga y Zaragoza, por su colaboración.

A mis compañeros y amigos del Servicio de Urología del Hospital "Juárez
de México": Dr. Alberto Bazan (con respeto y cariño), Dr.
Leonel, Nicolas, Valenzo, Arellano, Palomares, Parra,
Belisario, Mijangos, y la Dra. Gaona, por su gran sentido
de compañerismo.

A mis compañeros del Servicio de Neurocirugía del Hospital "Juárez de
México": Dr. Abarím. Rebollar, Morgado, Vladimir, y todos,
con todo mi agradecimiento

A mis compañeros del Servicio de Ginecoobstetricia del Hospital "Juárez
de México": Dr. Cuahutemoc Vaca, Oliver Reyes, Reyes.
Por su amistad y apoyo.

A mis profesores de la Facultad de Ciencias: Por mi formación, a todos
gracias.

A mi Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de
Ciencias: Por ser parte de mí.

Reactividad tisular a la resina epóxica poliamida 9XM 100 en tejido nervioso de rata Wistar

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
ANTECEDENTES	4
Cap.1. Materiales biológicos	4
1.1 Hueso.....	4
1.2 Pegamento de fibrina	5
1.3 Hidroxiapatita	6
Cap. 2. Materiales no biológicos	7
2.1. Cerámicas	7
2.1.1. Yeso de París	7
2.1.2. Sílica y Alúmina	7
2.1.3. Cerámica	8
2.2. Metales.....	8
2.3. Plásticos o acrílicos	8
2.3.1 Acrílicos	8
2.3.2. Plástico de Selverstone	10
2.3.3. Cianocrilatos	11
2.3.4. Resina Epóxica.....	14
2.3.5 Otros materiales poliméricos.....	16
Cap. 3. Combinaciones de materiales biológicos y no biológicos. 18	
3.1. Materiales no biológicos	18
3.2. Materiales biológicos	18

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
5. OBJETIVOS	21
5.1. Objetivo general	21
5.2. Objetivo específico	21
6. HIPÓTESIS	21
7. MATERIAL Y MÉTODO	22
Animales:	22
Obtención de las muestras:	22
Interpretación histológica:	22
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
9. CONCLUSIÓN	53
APÉNDICE I	54
APÉNDICE II	54
APÉNDICE III	54
APÉNDICE IV	55
10. BIBLIOGRAFÍA	56

La llave del éxito depende sólo de lo que podemos hacer de la mejor manera posible.

M. Longfellow



RESUMEN

MASI-EPCXI (la cual contiene carbonato de calcio, resina epóxica poliamida 9XM100, se emplea con resultados satisfactorios en craneoplastía y sellado de fístulas de LCE. En el presente trabajo se aplicó esta resina al tejido nervioso cerebral de rata albino Wistar, conociendo la reactividad tisular a este material polimérico.

Se estudiaron 15 ratas hembras albino Wistar adultas, dividiéndose en 5 lotes de 3 animales cada uno. Previa anestesia con pentobarbital sódico intraperitoneal (PSI), se realizó un trepano en ambas regiones fronto-parietales, agregando una gota de resina epóxica poliamida 9XM100 en el lóbulo fronto-parietal izquierdo (tratada); el control fue el lóbulo fronto-parietal derecho, en el que sólo se realizó el trepano. El estudio histológico del cerebro obtenido 1, 2, 4, 8 y 10 semanas, después de la trepanación y de la aplicación de la resina. Para ello las ratas se anestesiaron con PSI y se hizo una perfusión intracardiaca con formaldehído al 10% amortiguado; una vez obtenidos los cerebros, estos se fijaron durante 24 hrs más por inmersión en el mismo fijador; luego se procesaron para hacer cortes en parafina y tinción con H-E. La interpretación histopatológica fue de acuerdo a la escala ASTM (38).

Al final de las dos primeras semanas ambos lóbulos fronto-parietales (tratado y control) mostraron el mismo aspecto histopatológico, caracterizado por un infiltrado gliótico. De la cuarta a la décima semana se mantuvo la respuesta tisular en el lóbulo fronto-parietal tratado, probablemente por la actividad de astrocitos y microglia que provocó el material polimérico, y como consecuencia la activación de citoquinas reclutaron a células circulantes sanguíneas: eosinófilas, polimorfonucleares, linfocitos, células plasmáticas y macrófagos. Lo anterior esta de acuerdo, además, con la presencia de células gigantes multinucleadas en los últimas semanas evaluadas y con la persistencia de la gliosis.



En el lóbulo fronto-parietal derecho, la gliosis observada en la primera y segunda semana, disminuyó importantemente al final del estudio.



INTRODUCCION

A pesar del empleo extendido de los plásticos epóxicos en la medicina, su biocompatibilidad no ha sido establecida.

Algunos autores opinan que estos materiales producen cierta respuesta tisular (sensibilidad tisular) mientras que otros los consideran con alto grado de biocompatibilidad.

Recientemente se ha diseñado un nuevo material polimérico denominado MASI-EPOXI, constituido por carbonato de calcio y resina epóxica poliamida 9XM 100. Por su bajo costo, maleabilidad, dureza, fácil manejo, resistencia a las infecciones y por no interferir con los estudios de resonancia magnética nuclear y tomografía axial, MASI-EPOXI se emplea con resultado satisfactorio en la craneoplastía y para sellar fistulas de Líquido Cerebro Espinal (LCE).

El presente trabajo se pretende dar a conocer la reactividad del tejido nervioso de la rata albino Wistar a la resina epóxica poliamida 9XM 100 durante un periodo de 1 a 10 semanas.

Durante las dos primeras semanas el lóbulo fronto-parietal (tratado y control) se caracterizó por un infiltrado gliótico, en el lóbulo fronto-parietal tratado de la cuarta a la décima semana se caracterizó por una reacción células de astrocitos y microglia (gliosis) y con el reclutamiento de células sanguíneas y además con la presencia de células gigantes multinucleadas en las últimas semanas de la trepanación; en el lóbulo fronto-parietal control la gliosis disminuyó importantemente.

Consideramos que la resina epóxica poliamida 9XM 100 es la responsable del efecto y daño al tejido nervioso cerebral.



ANTECEDENTES

1. Materiales biológicos

El uso de materiales biológicos para injertos data desde el período neolítico, cuando el hombre utilizaba lo que le ofrecía la naturaleza como el coco, la corteza de árbol, el cuerno de animal y la calabaza, entre otros materiales, incluidos los metales.

1.1 Hueso

Van Meekren fue el primero en informar del empleo de injertos óseos para craneoplastías; realizó xenoinjertos con hueso de caninos para colocarlos en el cráneo humano. Von Walther llevó a cabo un trasplante de hueso autogénico en el humano. Ollier estableció la importancia del trasplante perióstico de hueso. Macewen, padre de la neurocirugía, utilizó fragmentos de hueso craneal después de haberlos tratado con bicloruro de mercurio, y realizó un trasplante alogénico en el humano (27). Seydel trasplantó un autoinjerto de tibia en un defecto craneal. Las craneoplastías autogénicas se realizaron por Keen, utilizando escápula y esternón; Mauclairé utilizó ilion; Kappins y Brown recomendaron utilizar costilla; Meanwhile y Auxhaule fundamentaron como poder trasplantar periostio y mencionan que con esto se produce una invasión de tejido conectivo y proliferación de osteoblastos, los cuales originarán el nuevo hueso (27).

También se realizaron xenoinjertos por Rehn, quien utilizó cuerno de buey; Henschen utilizó cuerno de búfalo; Babcook sugirió utilizar la escápula de oveja cocinado (sopa de hueso) (27).

1.2 Pegamento de fibrina

El pegamento de fibrina, se empezó a utilizar para restaurar fugas de líquidos cerebro espinal (LCE). Las propiedades de este material biológico son:



- a) Adherencia a los tejidos circundantes
- b) Sella los pequeños sitios y rellena huecos u otros defectos
- c) Induce la fibrosis por los componentes que posee, que al mezclarlos forman el mencionado pegamento y son:

1.- Fibrinógeno humano 80 mg/ml y 100 k IV/ml aprotéinico

2.- Trombina de bovino 500 US (NIH) unidades/ml y CaCl_2 40

mol/ml.

Se experimentó con ratas Wistar con un peso de 400 a 450 g, en las cuales se realizó una incisión en la piel y se expusieron los huesos nasales y el hueso frontoparietal. Los huesos nasales por ser delgados fueron removidos hasta exponer la mucosa nasal, en donde fue colocado el pegamento de fibrina. Los resultados fueron: no hubo reducción significativa en cuanto al goteo y no hubo muerte de animales (35).

1.3 Hidroxiapatita

La hidroxiapatita (HA) puede ser extraída del exoesqueleto del coral *Goniopora* (CHAG).

Además de ser densa y pura como la cerámica (su fórmula química es $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)(\text{OH}_2)$), que es la durapatita), es osteoconductiva, no produce reacciones inflamatorias u otras respuestas del cuerpo y es fácilmente maleable y biocompatible. Se utiliza para rellenar hueso y tiene una gran efectividad para dicho propósito (11, 20, 39), reparando defectos craneales en combinación con injertos de hueso (ílion y costilla).

Chang y colaboradores (11) descubrieron que la HA es un implante estable y se puede utilizar en la cirugía maxilofacial para corregir la atrofia de la cresta



alveolar. Sin embargo, Kent y colaboradores (11) combinaron la HA con hueso autógeno pero no restauró la atrofia de la cresta alveolar porque se presentó reabsorción del material.

Los implantes de HA porosa fueron realizados por la transformación del CaCO_3 del exoesqueleto del coral marino del género *Porites*. Este material fue colocado a un costado del hueso viable, cuyo crecimiento osteogénico empieza a aparecer alrededor de las tres semanas. Además, el CaCO_3 es completamente degradado, debido al proceso de fagocitosis (proceso mediado por los osteoclastos) por lo que su uso en la clínica es limitado (11).

Maxian y colaboradores (citado en 14) demostraron que el cubrimiento de HA es biocompatible para los implantes metálicos. Los resultados obtenidos fueron que se presentó una diferenciación de células óseas, las cuales eran capaces de elaborar matriz extracelular en la interfase con los metales; con microscopía electrónica se observó la formación de fibras de colágena, lo que podría representar los primeros eventos para la formación de hueso sobre la superficie metálica.

2. Materiales no biológicos

Para el manejo de los aneurismas intracraneos se han intentado diferentes tratamientos como el empleo de soluciones hipertónicas y drogas hipotensivas, para reducir el riesgo de hipertensión intracraneal, resangrado del aneurisma y tratamiento quirúrgico "clipando" o ligando al aneurisma. Sin embargo, debido a la configuración en algunos de estos, a veces no es posible lo anterior, por lo que se han desarrollado otras estrategias con base en materiales no biológicos con lo que se pretende envolver a los aneurismas, para evitar su ruptura.



2.1. Cerámicas

2.1.1. Yeso de París

Es un material compuesto por hemihidrato de calcio. Charles E.R. y colaboradores (29) lo utilizaron para la sustitución de hueso humano. Peltier (citado en 29), lo empleó para rellenar fracturas óseas en perros, gatos y humanos; los resultados que obtuvieron fueron que dicho material se reabsorbía y que esto coincidía con la velocidad a la que crecía el hueso de la fractura. La absorción del material y la subsecuente regeneración del hueso que crecía rápidamente, ocurría en semanas o meses, lo que indicaba buena reacción del tejido óseo.

Beeson (citado en 29), utilizó el yeso de París en el seno frontal de seis perros y concluye que dicho material promueve la osteogénesis siempre y cuando hiciera contacto con el hueso viable, además de dar resultados cosméticos excelentes.

2.1.2. Sílica y Alúmina

Panjian Li y colaboradores (26), investigaron el como hidratar sílica, basándose en que ésta puede formar apatita, de manera similar a la alúmina. Estos materiales son implantados en el hueso *in vivo* porque son cerámica-vidrio (BCG). El óxido de aluminio o alúmina (Al_2O_3) se ha usado para unir hueso directamente y es considerada como una cerámica bioinerte. La cerámica de alúmina se utilizaba para prótesis ortopédicas. Ahora la sílica pura y alúmina se sintetizan con el método del sol gel a altas temperaturas; los resultados obtenidos para la inducción de apatita ocurrió con la sílica gel por la abundancia de hidroxilos (OH) (26).



2.1.3. Cerámica

Durante los años 60 Smith (citado en 8) realizó las primeras investigaciones con cerámica - epoxy (material poroso), para poder unir hueso y proveer un crecimiento óseo. Los resultados que obtuvo fueron satisfactorios porque no hubo reabsorción y rechazo al material poroso.

2.2. Metales

Los implantes metálicos denominados "Rondels" (discos redondos) eran fabricados con oro y plata que correspondían a la medida y forma del defecto craneal a tratar. Su uso se remonta al período neolítico.

Con el advenimiento de la era moderna se empezaron a realizar aleaciones de titanio, oro, aluminio, cromo, tantalio y acero inoxidable para poder cubrir los defectos craneales (27).

El titanio, junto con sus aleaciones, es utilizado en la cirugía reconstructiva, en los implantes dentales y ortopédicos, por ser biocompatibles con el tejido óseo (26).

2.3. Plásticos o acrílicos

2.3.1 Acrílicos

El plástico acrílico posee moléculas metil-éster (monómero) y ciertas características de polimerización, debido a las largas cadenas de carbono con sus dobles enlaces.

La resina acrílica 2, metil-metacrilato se utilizó por primera vez en la industria (citado en 31). Posteriormente, se aplicó a niños y adultos para realizarles craneoplastias ya que su costo era bajo y de fácil manejo, aunque la desventaja era su alta polimerización (citado en 31).



Zanders y Kleinsschmidt (citado en 31), utilizaron el metil-metacrilato (Lucita) para hacer craneoplastías en conejos, demostrando la biocompatibilidad del material y una adecuada restauración craneal (31).

Los investigadores británicos, Oliver y Blaine (citados en 31) reportaron el uso del plástico acrílico dejándolo endurecer *in situ*, con resultados satisfactorios.

Woringer y colaboradores (citado en 31) demostraron que la Lucita en su fase líquida (monómero), además de ser estéril, inhibe el crecimiento de bacterias coliformes, *Streptococcus sp.* y *Staphylococcus sp.*; posee, además, una gran capacidad de polimerización. Este monómero líquido es mezclado con un polímero en polvo y se toma una masa viscosa, la cual puede estirarse, es delgada, plegable y maleable. Se colocaba en un molde y contramolde y se comprimía con un tornillo de presión a una temperatura de aproximadamente 70° C durante una hora, para tener una polimerización homogénea; una vez enfriado el plato o la placa es difícil su rompimiento. La desventaja que presentaba este método, basado en el principio de impresión, es que necesitaba dos etapas de procedimiento, y esto era un inconveniente para los cirujanos (31).

Blaine (citado en 31), utilizó metil-metacrilato en animales de laboratorio y encontró una mínima reacción fibrosa. Dodge y Craig (citados en 31), experimentaron con perros y los resultados que obtuvieron fueron similares a los de Blaine. También Woringer utilizó plástico acrílico y tantalio y los resultados que obtuvo fueron similares a los de Dodge y Craig (citado en 31).

De 1953 a 1957, se realizaron en Estocolmo 51 craneoplastías de las cuales 46 fueron seguidas porque se injertaron platos acrílicos y se observó que sólo un caso presentó infección e inflamación, provocada por la película de polietileno, lo que requirió la remoción del injerto. Por estos resultados alentadores, se extendió el uso del acrílico a fracturas y reparaciones de defectos causados por la pérdida de hueso asociada a procedimientos quirúrgicos (31).



Estos resultados fueron confirmados en un estudio más amplio que incluía 491 craneoplastías realizadas por cirujanos militares en Vietnam, quienes notaron que el acrílico era un material muy adecuado por las siguientes propiedades:

- a) Propiedades biológicas: no es reactivo, no reabsorbible, no es carcinogénico, es estable y durable.
- b) Propiedades físicas: ligero y fuerte (para resistir el trauma), baja conductividad térmica y eléctrica, no presenta polimerización y es maleable.
- c) Propiedades quirúrgicas: es económico, fácil de esterelizar y oblitera al espacio epidural.

En esta serie de pacientes, sólo uno falleció por meningitis tres meses después de la craneoplastía (2).

2.3.2. Plástico de Selverstone

Es un copolímero de cloruro de polivinil-polivinilideno y resina epoxy-poliamida (19); es un plástico adherente que se ha empleado en el reforzamiento de aneurismas, para evitar su rompimiento, previniendo que el saco se adhiera a la adventicia, lo que provocaría una hemorragia.

James Poppen y colaboradores (citado en 33) trataron 13 aneurismas con este material. La técnica que utilizaron consistía en agregar trombina y se dejaba transcurrir un minuto, posteriormente se agregaban gotas de peróxido de hidrogeno al 3% las cuales se diluían en agua con el copolímero de cloruro de polivinil-polivinilideno; éste secaba en cuestión de segundos, adhiriéndose al saco, y se reforzaba con la resina epóxica poliamida, la cual se colocaba alrededor del aneurisma; después de un tiempo (45 segundos) se llevaba a cabo el proceso de polimerización. Los resultados obtenidos fueron: de los 13 pacientes con



aneurismas tratados con el material plástico, 12 evolucionaron satisfactoriamente sin que se presentara trombosis y rechazo del material.

Uno de los pacientes presentó trombosis, debido a problemas relacionados con la edad (58 años). Por lo tanto, ningún paciente falleció por la aplicación del biomaterial.

Lester A. y colaboradores (19) estudiaron 58 aneurismas intracraneales que envolvieron con músculo y gasa para prevenir lesiones y después los cubrieron con el material plástico de Selverstone. Los resultados obtenidos fueron: 2 pacientes desarrollaron meningitis aséptica, el LCE mostró una marcada pleocitosis, un incremento en las proteínas y glucosa baja; 4 pacientes fallecieron. Los restantes 52 fueron seguidos por un período de 37 meses y otros 15 fueron seguidos por más de 4 años. Los pacientes no presentaron hemorragia subaracnoidea, sólo un pequeño déficit neurológico.

Concluyeron que el reforzamiento con músculo y gasa musilaginosa, junto con el plástico, da resultados satisfactorios ya que previene la ruptura del aneurisma (19).

2.3.3. Cianocrilatos

El ADHESIVO-EDH es una mezcla de 6 partes de monómero Eastman-910, metil-2-cianocrilato, con una pequeña cantidad de polisocianato (Desmodur T) y 6 partes de nitrilo (Hycar No. 1041) en una solución de nitrometano; al combinarse estos elementos se forma un material viscoso, espeso y maleable, que antes de aplicársele al paciente se debe de sumergir en una solución acuosa de Zephiran durante 24 horas (36).

El farmacéutico Yoshitomi ocupó el material plástico en 4 pacientes que presentaban aneurisma intracraneal. Una vez envuelto el aneurisma con el Adhesivo-EDH se formó una película fuerte con un espesor de 0.4 mm. Los



resultados que obtuvo fueron satisfactorios ya que no presentaron rechazo u otras complicaciones; el Adhesivo-EDH se encontraba fuertemente adherido a la pared del vaso (citado en 36).

Honda, Sugar, Tsuchiya (citado en 41), también evaluaron el material Adhesivo-EDH para el cubrimiento de aneurismas de la arteria cerebral media y otros vasos, notando que el material no era tóxico.

El monómero Eastman-910 fue utilizado y aplicado sobre arterias de perros como la femoral, axilar, carótida común y arterias que miden de 3 a 5 mm de diámetro. Los resultados fueron decepcionantes ya que ocurrieron trombosis, necrosis, fragmentación de tejido elástico y aquellos animales que no presentaban lo anterior, demostraron estenosis, evidenciado por el remplazo del tejido muscular y fibroso denso por el monómero junto con una extensa fibrosis perivascular, provocando dilatación distal y afectando el árbol vascular (30). También se utilizó para sellar fistulas por las que salía LCE y para cubrir aneurismas intracraneales. Los resultados no fueron favorables debido a la severidad del daño, ocasionando, incluso, la muerte (30).

Posteriormente se implantó en 47 conejos, 11 gatos, 14 perros y 11 monos. Se valoró los espacios subdural y subaracnoideo cerebrales, la cisterna magna y el espacio subdural de la médula espinal. Los resultados demostraron que en el área cubierta por el material se formó una densa capa fibrosa, con células gigantes multinucleadas, infiltración celular, muerte neuronal y gliosis de 1 a 2 mm de profundidad. Clínicamente, los animales mostraban daño neurológico cerebral y debilidad en los miembros posteriores por un probable efecto neurotóxico (39).

Trupp y Rinne (citado en 40), utilizaron este mismo adhesivo para realizar arteriotomías en carótidas de 50 conejos, observando que los animales desarrollaron aneurismas. Las investigaciones de Weissberg y Goetz (citado en



40), mostraron que dicho monómero colocado sobre carótidas de perros provocaban necrosis y dilataciones arteriales.

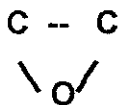
Lehman y Hayes (citado en 18) utilizaron el metil, etil, 2-cianocrilato, n-propil, n-octil e isobutil cianocrilatos para observar la reactividad tisular en perros y monos rhesus de ambos sexos. A los perros se les realizaron trépanos y se les colocó el metil-2-cianocrilato, etil, n-propil, n-octil sobre la corteza cerebral. Los perros fueron sacrificados a intervalos de 2, 4, 6, 8 y 12 semanas. Los animales tratados con isobutil fueron sacrificados a las 1, 2, 4, 6, 8, 12, 30 y 36 semanas. Los resultados obtenidos fueron que los perros sufrieron deficiencias neurológicas, formación de un absceso por *Micrococcus sp.*, el cual se extendió al espacio extradural. Con el metil-2-cianocrilato los animales fallecieron semanas después. Durante la necropsia se observó que el cianocrilato formó una capa debajo de la duramadre; reemplazando al hueso con los adhesivos metil y etil se observó vascularización en la superficie cortical. En el grupo de los monos rhesus, el quiasma óptico se trató con unas gotas de cianocrilato y a las 2, 4, 6, 8 y 12 semanas no hubo evidencias de hematomas; sin embargo, a los 7 días después de haber cubierto al quiasma óptico, algunos monos murieron (18). Por lo anterior, los investigadores concluyen que todos los adhesivos utilizados son capaces de inducir la formación de membranas fibrosas constituidas por el adhesivo y por la corteza cerebral, además de demostrar una marcada toxicidad.

Yashon D.7 y colaboradores (41) ocuparon adhesivo cianocrilato por no ser viscoso y por cubrir completamente al aneurisma intracraneal; los resultados que obtuvieron fueron decepcionantes porque presentaron erosión en las paredes vasculares y proliferación de tejido fibroso. Carton y Messer (citado en 40), reportaron el uso del monómero metil-2-cianocrilato, junto con el empleo de clips para el manejo de aneurismas intracraneales (41). Sachs y colaboradores (citado en 41), reportaron que al cubrir a los aneurismas intracraneales con el adhesivo presentaron ruptura y los pacientes fallecieron al tercer día.



2.3.4. Resina Epóxica

Los epóxicos (éteres) son compuestos que contienen el anillo epóxido u oxirano de tres átomos:



En general, contienen átomos de hidrógeno, fenoles, alcoholes, tioles, aminas primarias y secundarias, ácidos carboxílicos, lo que les confiere propiedades excepcionales como: elevada reactividad, termoresistencia, conductibilidad, estabilidad dimensional, resistencia a las altas temperaturas, flexibilidad, maleabilidad para procesarse bajo una variedad de condiciones y fuerte adhesión al vidrio, metales, fibras, etc. Por poseer el anillo epoxy reaccionan con una gran variedad de sustratos adquiriendo mayor versatilidad (5, 24, 28).

Casi todas las resinas epóxicas comerciales se hacen a partir del bisfenol A (obtenido a partir del fenol y la acetona), y la epiclohidrina (producida a partir del alcohol alílico) (6).

Se utilizan principalmente en recubrimientos de latas, tambores, superficies de acabado, de aparatos y como adhesivo.

En México sus usos principales son:

- Recubrimientos anticorrosivos 28%
- Ésteres epóxicos 27%
- Recubrimientos sanitarios 20%
- Otras aplicaciones 10%
- Encapsulados eléctricos 8%
- Aglutinantes para fibra de vidrio 7%



Estas resinas se hacen principalmente a partir de los anhídros maléico y ftálmico con propilenglicol y uniones cruzadas con estireno. Su uso como refuerzo en la fibra de vidrio han reemplazado a materiales muy diversos como: termoplásticos de alta resistencia, madera, acero al carbón, vidrio y acrílico, lámina, cemento, yeso, etc. La industria de la construcción ocupa el 30% de estas resinas, el mercado marino 18%, artículos moldeados 15% y la transportación 8% (6).

En 1920 y principios de 1930 Schlack y Farben (citado en 26), fueron los primeros en aplicar las resinas epóxicas en la industria. Castan (citado en 28) en Suiza, utilizó la resina epóxica para uso dental pero fracasó.

Sung H.W. y colaboradores (37) realizaron un estudio cuyo objetivo fue estudiar las propiedades físicas de una arteria torácica interna de porcino fijada con un compuesto epoxy y compararlas con los controles que fueron arterias frescas y fijadas con glutaraldehído.

Tanto las fijadas con epoxy como con glutaraldehído mostraron un incremento significativo en el índice de fijación y en la temperatura de desnaturalización. Además, la resistencia de las arterias porcinas contra la degradación por colagenasa *in vitro* se incremento significativamente después del entrecruzamiento del compuesto epoxy de glutaraldehído. La reducción de la fuerza tensil de las arterias fijadas con epoxy y después de la degradación de colagenasa bacteriana fue más intensa que en las fijadas con glutaraldehído.

En general, con el incremento del pH, la temperatura o de la concentración del fijador y de las temperaturas de desnaturalización estuvieron incrementados en las arterias de porcino fijadas con epoxy. Los resultados obtenidos en este estudio pueden ser utilizados para optimizar el proceso de fijación en el desarrollo de injertos vasculares biológicos de diámetro utilizando un compuesto epoxy (37).



Otro tipo de usos de las resinas epóxicas son: fabricación de instrumentos de uso quirúrgico, dientes artificiales, catéteres, agujas, cánulas, suturas, aplicaciones ortopédicas, marcapasos, tubo de rayos X, termómetros, barómetros, etc. (42).

Delgado - Reyes (7), diseñó un material compuesto por CaCO_3 y resinas epóxicas, denominado Masi-Epoxi, para realizar craneoplastias. Es inerte y biocompatible, ofrece al paciente un aspecto cosmético favorable, es fuerte y protector, fácil de usar, es durable y estable por largo tiempo. Es maleable, resistente a las infecciones, no interfiere con la resonancia magnética y la tomografía axial y presenta una densidad semejante a la del hueso. Se utiliza en defectos de piso craneal, en fístulas de LCE, las cuales evolucionan sin recidiva. Sus propiedades mecánicas similares a las del hueso, justifican la amplia utilización de Masi-Epoxi como sustituto de hueso, no únicamente en la cirugía craneofacial y cirugía plástica, sino también en la cirugía maxilofacial y ortopédica.

2.3.5 Otros materiales poliméricos

POLIURETANO, VELCRO y DACRÓN ONDULADO: Kaplan S.S. y colaboradores (16, 17) trabajaron con poliuretano, velcro y dacrón ondulado en cultivos *in vitro* de neutrófilos, para conocer el efecto que presentaban estos materiales sobre dichas células productoras de superóxidos (O_2). Los resultados obtenidos fueron que los neutrófilos permanecieron adheridos al material y se comprobó que no sufrieron ninguna alteración.

Posteriormente, Zimmerli (citado en 16) estudió las interacciones entre el biomaterial y los neutrófilos donde demostró que la presencia de cuerpos extraños no fagocitables (teflón) *in vitro* induce en los neutrófilos un defecto que después de 14 días se manifiesta con una fagocitosis pobre, baja actividad bactericida y disminución del contenido de los gránulos específicos.



CEMENTO DE VIDRIO - IONÓMERO: (ionos bone cement, Fa. Iones, Medizinische Produkte Comb y Co. KG: D-8031 Seefeld, Germany). Este material es obtenido por la reacción del vidrio con el ácido policarboxílico. Jan Helmes y Göetz Geyer (citado en 12) lo ocuparon en pacientes con destrucción dural y reportaron que provee estabilidad mecánica, es tolerado por el tejido y se adhiere al hueso; igualmente demostraron que es una material idóneo para sellar fugas de LCE y promover la osteogénesis.

Bean T. A. (1), estudió los efectos de varias enzimas sobre polímeros metacrilatos (adhesivos dentales, Scotchbond y Scotchbond II, Heliomar y P-50) para pruebas de biodurabilidad y biocompatibilidad con cromatografía de capa fina (HPTLC). Los polímeros fueron incubados en preparaciones enzimáticas (lipasas, esterases y extracto enzimático de hígado de rata y de ratón) durante 72 horas, luego se utilizó cloroformo para extraer la fase acuosa y pasarlos a través de la HPTLC donde actuó como separador del producto final. Posteriormente se ocupó el mismo método sin cloroformo para poder hacer el análisis de la fase acuosa donde se utilizaron 5 materiales dentales: P-50, P-30, Scotchbond II, Silux y Silux plus. Se incubaron en estera no específica de hígado de porcino; cuando se pasaron a HPTLC no presentaron actividad enzimática. Estos experimentos aportaron evidencia de que la actividad enzimática endógena facilita el debilitamiento, por hidrólisis, del biomaterial polimerizado. Además, la mayoría de los polímeros utilizados en la clínica tienden a ser inertes y posteriormente tóxicos, probablemente por presentar un proceso de biodegradación ocasionado por la catálisis y por el rompimiento enzimático. Por lo tanto, la actividad enzimática endógena es importante no sólo desde la perspectiva de la biodurabilidad del material sino también para favorecer la formación de subproductos potencialmente tóxicos.



3. Combinaciones de materiales biológicos y no biológicos

3.1. Materiales no biológicos

Para envolver aneurismas de la arteria carótida y arteria femoral de conejos, Tsuchiya Goro y colaboradores (10) probaron los siguientes adhesivos sintéticos:

- Mezcla de Selverstone (polivinil polivinilideno, cloro epoxi poliamida y resina).
- Mezcla de Pudon (Silastic RTV.502).
- Aneuroplastin (metil-metacrilato).
- Biobond.
- Adhesivo-EDH (una mezcla de poliisocianato y nitrilo, caucho con una pequeña cantidad de monómero metil-2-cianocrilato en una solución de nitro-metano)

La propuesta era utilizar estos materiales en la clínica, sin embargo los resultados neurohistopatológicos demostraron que los diferentes materiales eran muy tóxicos, ya que se observó que producían reacciones inflamatorias y destrucción de las leptomeninges. Esto fue más notorio con el Biobond y con el metil-2-cianocrilato. Por ello, ninguno de los materiales fue recomendado para el reforzamiento de aneurismas intracraneales (10).

Kazuhiko y colaboradores (15) utilizaron el cemento acrílico mezclado con HA y con cada uno de los siguientes materiales: 4-metacriloxietil trimelitato anhidro (4-META), metilmetacrilato (MMA), tri-n-butil-borane (TBB), y demostraron que estas mezclas no afectan la capacidad osteogénica del hueso.

3.2. Materiales biológicos

Bonfield (3) y Brunel (citado en 3) diseñaron un material protésico al mezclar HA y polietileno, el cual emplearon para estudiar la toxicidad en embriones humanos y tejido pulmonar. El material no produjo datos de toxicidad y fue bien tolerado.



Charles E. y colaboradores (29), combinaron HA con yeso de París para realizar craneoplastías en gatos con defectos craneales. Se les colocó la mezcla de ambos biomateriales dentro del defecto craneal, localizado en el seno frontal. Los animales fueron sacrificados a las 1, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 10 y 12 semanas y se notó que no hubo reabsorción del material, conservándose la osteogénesis. Por lo anterior, dicha mezcla sería de utilidad en la realización de craneoplastías en humanos.



4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con base en los antecedentes mencionados, el empleo de biomateriales poliméricos en la clínica, en particular en craneoplastías, plantea complicados y diversos problemas como la alta incidencia de infecciones, reacciones a cuerpo extraño, formación de tejido fibroso, erosión al tejido circundante y hueso subyacente, toxicidad, glósis e inclusive llegando a provocar la muerte.

Así mismo, el tratamiento de aneurismas con biomateriales como la mezcla de Selverstone, mezcla de Pudén, Ad/here, Biobond, adhesivo-EDH, provocan rupturas y, en ocasiones, la muerte.

En el Hospital Juárez de México, S.Sa, se probó que la Masi-Epoxi, uno de cuyos componentes es resina epóxica y poliamida, es bien tolerada cuando se emplea en craneoplastías. Sin embargo, no conocemos los efectos de dichas sustancias al ponerse en contacto con el tejido nervioso cerebral.

Con la finalidad de emplear la mezcla de resina epóxica y poliamida en el reforzamiento de las paredes vasculares de aneurismas intracraneales, estudiaremos el efecto de este material sobre el tejido nervioso cerebral.



5. Hipótesis

Si las resinas epóxicas han sido utilizadas en craneoplastías y en la fabricación de marcapasos, sin desencadenar una respuesta tisular de rechazo, entonces la resina epóxica poliamida 9XM 100 podría inducir una respuesta similar cuando se aplique al tejido nervioso cerebral de rata.

6. Objetivos

6.1. Objetivo general

Caracterizar la reactividad tisular a la resina epóxica poliamida 9XM 100 en tejido nervioso de rata, en un período de 1 a 10 semanas.

6.2. Objetivo específico

Determinar y evaluar, utilizando la escala de la American Society for Testing and Materials (ASTM) (38), la respuesta tisular cerebral a la resina epóxica poliamida 9XM 100 aplicada en la parte medial del lóbulo fronto-parietal de la rata Wistar.



7. Material y Método

Animales:

En el presente trabajo se utilizaron 15 ratas hembras albino Wistar con un peso de 250 - 310 g, mantenidas en condiciones estándares de bioterio, es decir, 12 h de luz y 12 h de oscuridad, con alimentación a base de nutricubos (Purina) y agua *ad libitum*. Los animales se dividieron en 5 grupos de 3 animales cada uno.

Procedimiento para la aplicación de la resina epóxica:

Las ratas fueron anestesiadas con Pentobarbital sódico intraperitoneal (PSI) (0.12 mg/kg) e intervenidas quirúrgicamente en condiciones asépticas, realizándose una incisión en la región frontoparietal medial, disecando por planos los tejidos epicraneales hasta el periostio, separándolo de éste y exponiendo una área ósea de aproximadamente 15 mm².

Posteriormente, se realizó una trepanación con un perforador eléctrico con fresón redondo de 8 mm de diámetro en ambas regiones frontoparietales, hasta la duramadre, la cual se incidió con bisturí con hoja del número 11. En el trépano izquierdo se colocó una gota de la resina epóxica 9XM 100 combinada con poliamida (apéndice 1) y el lado derecho no fue tratado y representando el control. Se suturó en un solo plano con monofilamento de 4-0 (nylon).

Obtención de las muestras:

La obtención de las muestras se realizó a la 1ª semana (grupo 1), 2ª semana (grupo 2), 4ª semana (grupo 3), 8ª semana (grupo 4), 10ª semana (grupo 5) semanas, después de la aplicación de la resina, con el siguiente procedimiento:

1. Se anestesiaron las ratas con PSI 0.12 mg/kg.
2. Se colocaron las ratas en decúbito dorsal sobre la charola de disección y se realizó una toracotomía.



3. Para la perfusión intracardiaca, se les introdujo el punzocat rosa al ventriculo izquierdo y cortando el atrio derecho, inmediatamente se empezó a perfundir la solución salina, aproximadamente 250 ml (apéndice 2), a través de la venoclis, con una presión de perfusión generada a un metro de altura a goteo continuo. En un extremo de la llave de dos vías se inyectó una gota de heparina con una jeringa de insulina. Una vez desangradas, las ratas fueron perfundidas con 250 ml de formol amortiguado al 10% (apéndice 3) a la misma presión y goteo.
4. Para la obtención de los cerebros, a las ratas se les realizó una craneotomía, inmediatamente después de haber realizado la perfusión.
5. Posteriormente, los cerebros continuaron la fijación por inmersión en formol amortiguado al 10%. A las 24 h, los cerebros fueron cortados coronalmente por delante del sitio de trepanación y fueron procesados para realizar cortes en parafina de 6 μ de grosor y teñidas con Hematoxilina y Eosina (H-E).

Interpretación histológica:

Las preparaciones histológicas fueron observadas con el microscopio óptico y se evaluaron de acuerdo a la escala de la American Society For Testing and Materials (ASTM) (36) que consiste en:

1.- Observaciones histopatológicas.

Se compara la cantidad de reactividad al implante de prueba con un lugar adyacente a la resina considerando el grosor de la cicatriz, la presencia de células inflamatorias u otras, la presencia de partículas y cualquier otra indicación de interacciones del tejido y el material.

2.- Métodos para la evaluación de la respuesta de tejido.

Se utilizo un formato con los elementos celulares que son evaluados y el rango de anotación de 0 a 3, utilizando un aumento total de (470X), con los criterios mostrados a continuación (apéndice 4).



<i>No de elementos</i>	<i>Puntuación</i>
0	0
1 - 5	0.5
6 - 15	1
16 - 25	2
26 ó más	3

El grado de necrosis se determina utilizando el mismo rango de 0 a 3 como a continuación se muestra:

No presente	0
Mínima	0.5
Medía1	1
Moderada	2
Severa	3

3. - Reporte.

El reporte incluye la siguiente información:

- a) Todos los detalles de la caracterización del implante, fabricación, condicionamiento (incluyendo limpieza, manejo y técnicas de esterilización).
- b) Procedimientos para la implantación.
- c) Detalles de cualquier procedimiento especial (tales como una dieta única de alimentación no esencial para los animales de prueba).
- d) Las observaciones de cada control e implante de prueba así como también la apariencia de grosor en los alrededores del tejido en el cual los implantes fueron colocados.
- e) Las observaciones de cada una de las evaluaciones histopatológicas y la evaluación de los patólogos es importante para determinar la toxicidad del material de prueba.



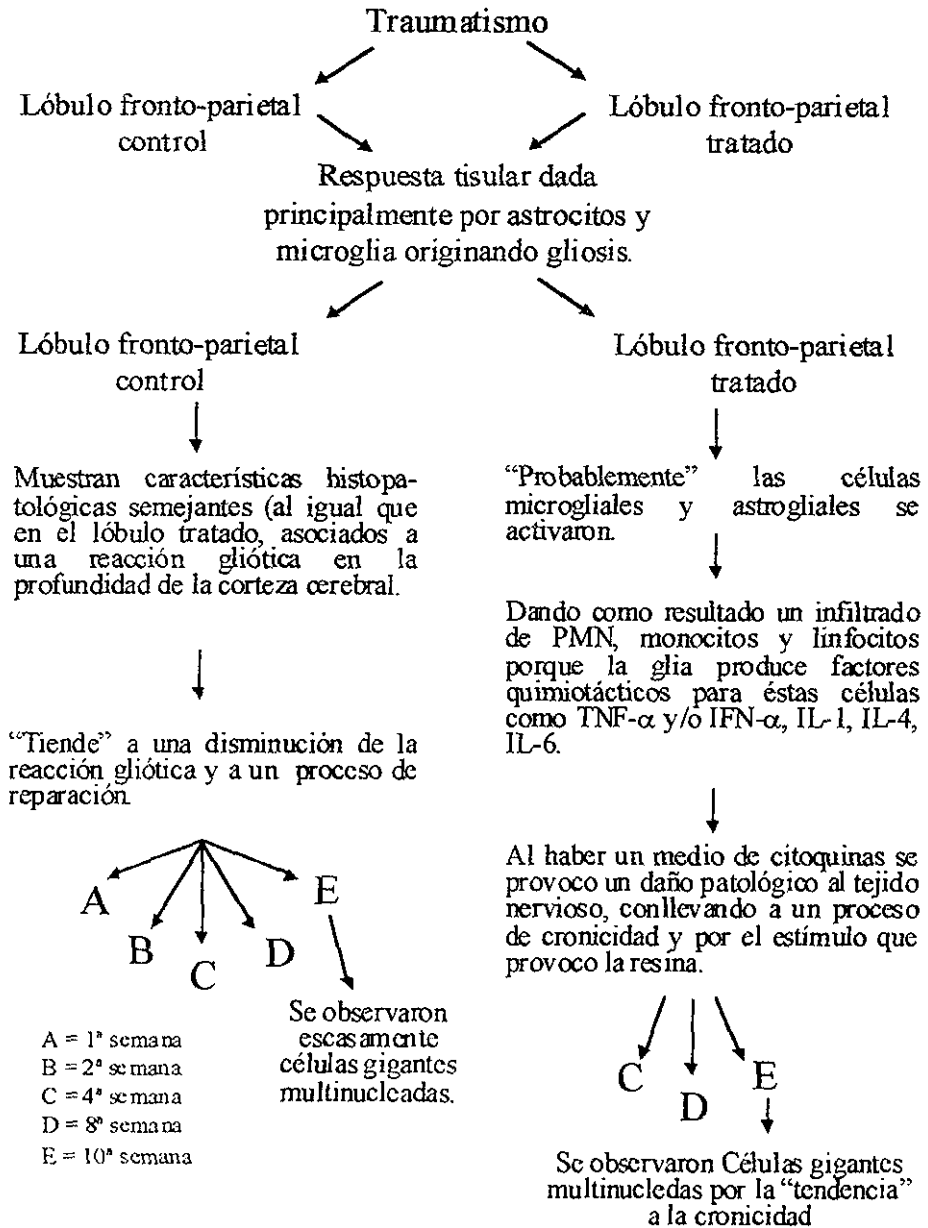
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente trabajo se evaluó la respuesta tisular a la resina epóxica poliamida 9XM 100 aplicada sobre la superficie externa del lóbulo fronto-parietal de la rata albino Wistar, por medio de la escala American Society for Testing and Materials (ASTM) (37), Dichos resultados se muestran en las Tablas No. 1 a la 10. Hasta ahora son se tienen informes de efecto de esa sustancia al ponerse en contacto con el tejido nervioso cerebral, aunque es utilizada en craneoplastías, como componente del material polimérico MASI-EPOXI, la cual contiene, además, carbonato de calcio.

Las ratas estuvieron clínicamente sanas, es decir, no presentaron ninguna alteración macroscópica sugestiva de reacción alérgica (eritema, exudación o vesiculación, etc.) o inflamatoria ni de rechazo al material y al parecer tampoco rechazo durante el tiempo que permanece la resina epóxica poliamídica sobre el tejido nervioso.

Como se sabe, el SNC se ha considerado como un sitio inmunológicamente privilegiado porque:

1. Carece del sistema linfático.
2. Presenta una barrera hematocefálica cuya función es impedir la entrada de grandes proteínas como los antígenos y evita la entrada de leucocitos hacia el SNC(4,9,13,21,22, 25).
3. Hay baja expresión de las moléculas del MHC (Complejo mayor de histocompatibilidad) clase I y II.
4. Los astrocitos producen una sustancia llamada "Factor de Crecimiento Transformante $-\beta$ (TGT- β)"; es una citocina polipeptídica que es un potente inhibidor de las funciones de los macrófagos, astrocitos y microglía (citada en 21).





De acuerdo al esquema anterior, la respuesta tisular cerebral parece no ser específica, durante las dos primeras semanas ya que ambos lóbulos fronto-parietales (tratado y control) muestran las mismas características histopatológicas, caracterizados por una reacción gliótica en la profundidad de la corteza cerebral. (Figura 1 A y D y Figuras 2 A, y B).

Pero a partir de la cuarta y décima semana se observó una respuesta tisular que correspondía a una gliosis (astrogliosis y microgliosis) (citada en 21 y 23). Los astrocitos y la microglia, durante la lesión producida en el cerebro pudieran llegar a ser sobreactivados o bien bajaron su regulación llegando a hipertrofiarse o a proliferar estos dos tipos celulares (citado en 25), sobretodo en el lóbulo fronto-parietal tratado, además había pérdida cortical, acentuándose un infiltrado de células mononucleares, linfocitos, eosinófilos, células plasmáticas, macrófagos, restos de cuerpo extraño y celular gigantes multinucleadas en la última semana; por lo que se acentúa y se hace crónica, mientras que en el lóbulo fronto-parietal control “tiende” a la disminución de esta respuesta celular en la cual se observaron células inflamatorias como neutrófilos, eosinófilos, linfocitos, macrófagos y escasamente células gigantes multinucleadas se localizaron superficialmente (figuras 3 A – C, 4 A – C, 5 A –C) y a una “tendencia” a la reparación, en donde se va a intentar o lograr establecer la “Integridad anatómica, estructural y funcional del tejido”, lo cual tendría relación con la presencia de la gliosis que es un proceso de reparación y formación de cicatrices cuando ha ocurrido una lesión en el SNC (citado en 32); al igual que la microglia que es un complemento del SNC paralelo a los monocitos del sistema inmunológico, juega un papel importante después que el SNC ha sufrido un daño la cual esta se activa (ameboide) y va a ser la presentadora de antígeno y probablemente juega un papel en el reclutamiento de linfocitos en el SNC, produciendo citoquinas junto con los astrocitos como la IL-1, TNF- α , e IL-6 incrementan la permeabilidad de la barrera hematoencefálica e induciendo la gliosis (citado en 34); produciendo una respuesta



inflamatoria, resultando una cascada de interacciones: GM-CSF (Factor estimulante de colonias de macrófagos granulocíticos) y el M-CSF (Factor estimulante de colonias de macrófagos) producido por astrocitos promoviendo la expansión y diferenciación microglial (citado en 23)

La glia produce factores quimiotácticos para la célula sanguínea y los factores $TNF-\alpha$ y/o $IFN-\gamma$ ambas activan a los astrocitos pudiendo llegar a expresar MHC clase II y llegando a ser células presentadoras de antígeno por lo que se ve incrementado el proceso inflamatorio, lo cual tiene relación con la presencia de la gliosis y el infiltrado celular observado (citado en 23).

El $TGF-\beta$ es un factor quimiotáctico para los macrófagos y junto con la microglia secretan IL-1, la cual actúa como un factor de crecimiento astrogial (Citado en 34) y la IL-4 contribuyen a inducir microgliosis (citado en 21, 23), lo que indicaría que hubiera la presencia de radicales libres, complemento, aminas vasoactivas las cuales son capaces de ampliar la inflamación.

Por lo anteriormente mencionado, se presentó una inflamación del tipo crónico, probablemente por el estímulo de la resina ya que provocó la activación de las células microgliales y astrogiales induciendo así la migración de las células sanguíneas que en conjunto promovieron la inducción de citoquinas (tabla No. 11). Conllevando a un daño patológico en el tejido nervioso cerebral, al presentarse una sobreproducción de citoquinas, con solo intentar un proceso de sustitución. La presencia de células gigantes multinucleadas solamente predominaron en las últimas semanas en el lóbulo fronto-parietal tratado probablemente debido que existía un medio ambiente de citoquinas y una tendencia a la cronicidad, en la cual los macrófagos tuvieron que sufrir una maduración "especial" de ahí que este tipo celular se observen en esta última semana y en el lóbulo fronto-parietal control fueron muy escasas.



Mientras que en el lóbulo fronto-parietal control de la cuarta hasta la décima semana, los astrocitos y las aminas biogénicas proveen factores de supervivencia para las neuronas y para los oligodendrocitos se incluye el bFGF (factor de crecimiento fibroblástico), GDGF (factor de crecimiento glial) PDGF (Factor de crecimiento derivado plaquetario). En conjunto estos factores mantienen una homeostasis y también llevan a cabo un proceso de reparación del tejido nervioso. La molécula TGF- β , modifica la cicatriz y reduce la inflamación gliótica, también pinocita detritus y fagocita células apoptóticas, por lo que cuida que el tejido nervioso este limpio de iniciadores de la inflamación (citado en 21).

Pensamos que las siguientes consideraciones son importantes para ser tomadas en cuenta en otros diseños experimentales o ante la posibilidad de usar resina epóxica poliamida 9 XM 100 en el tratamiento de aneurismas experimentales o de humanos:

- 1.- Contar con alicuotas pequeñas de cada uno de los componentes de la resina epóxica 9 XM 100 (resina epóxica, poliamida, catalizador) para evitar que se puedan contaminar fácilmente al ser abiertos con frecuencia.
- 2.- Conocer el equipo que se empleará en realizar los trepanos.
- 3.- Realizar múltiples ensayos sobre la técnica de trepanación para garantizar la reproducibilidad de los procedimientos, sobre todo con relación a la profundidad de la trepanación ya que esto puede interferir en los resultados finales de los animales controles y tratados.
- 4.- Realizar los estudios de la respuesta tisular a la resina epóxica poliamida 9 XM 100 en otros órganos, por ejemplo los del sistema circulatorio en los que se podría tener una aplicación directa (aneurismas, anastomosis, etc.).
- 5.- Experimentar con cada uno de los compuestos que conforman a la resina epóxica poliamida 9 XM 100 para conocer su participación en la reactividad tisular.



- 6.- Incrementar el número de animales tratados por lote con el fin de hacer comparaciones intragrupo.
7. Esta resina epóxica poliamida 9 XM 100 pudiera tener un régimen clínico y preventivo ya que existen aneurismas intracraneales que no tienen base y cuello y con este material se envolverían para prevenir su ruptura.



Fig. 1 A. Microfotografía de cerebro de rata Wistar del lóbulo fronto-parietal izquierdo, tratado con la resina epóxica poliamina 9 XM 100 durante una semana. Obsérvese la reacción gliótica en la profundidad de la corteza cerebral (Flechas). H-E 40x

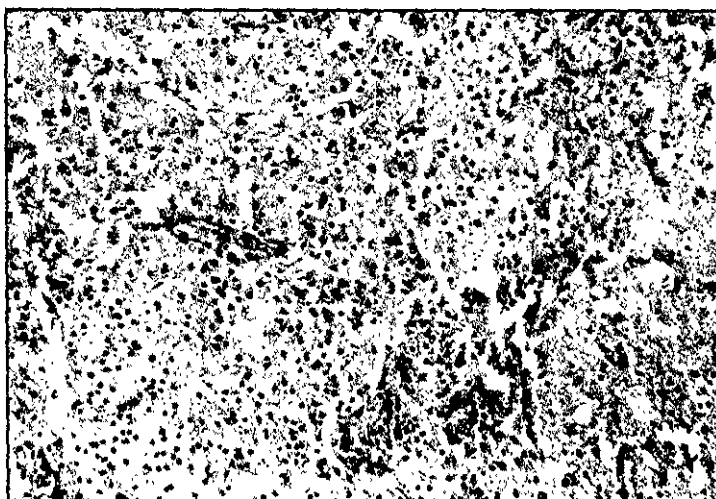


Fig. 1. B. Microfotografía a mayor aumento de un campo característico de la reacción gliótica observada a la primera semana de tratamiento con la resina epóxica poliamida 9 XM 100. H-E. 250 X.



Fig. 1 C. Microfotografía del lóbulo fronto-parietal derecho del cerebro de rata albina Wistar adulto sin tratamiento con la resina epóxica poliamida 9 XM 100, luego de una semana de la trepanación. Nótese que la reacción tisular es prácticamente indistinguible del lado contrario tratado. H-E. 40X.



Fig. 1. D. Microfotografía a mayor aumento de la zona con gliosis de la figura 1 C. comparece con la figura 1 B. y nótese que la respuesta del tejido nervioso es idéntica entre tratado y no tratado. H-E. 250 X



Fig. 2 A. *Microfotografía del lóbulo fronto-parietal izquierdo del cerebro de rata Wistar adulto a la segunda semana de tratamiento con la resina epóxica poliamida 9 XM 100. Las imágenes prácticamente son normal, incluso en la zona adyacente al trepano (Flecha). H-E. 200X.*

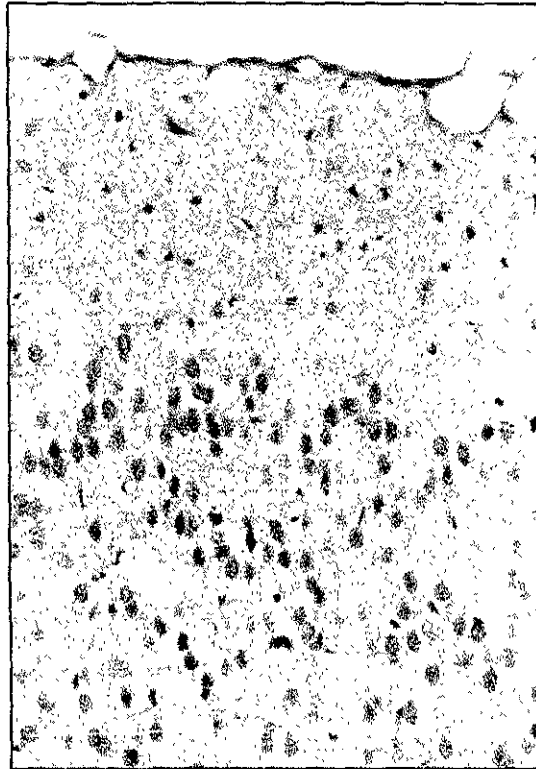


Fig. 2. B. Microfotografía del lóbulo fronto-parietal derecho del cerebro de rata Wistar adulto sin tratamiento con la resina epóxica poliamida 9 XM 100, después de dos semanas de haber realizado la trepanación, la imagen es prácticamente normal. H-E. 200X.

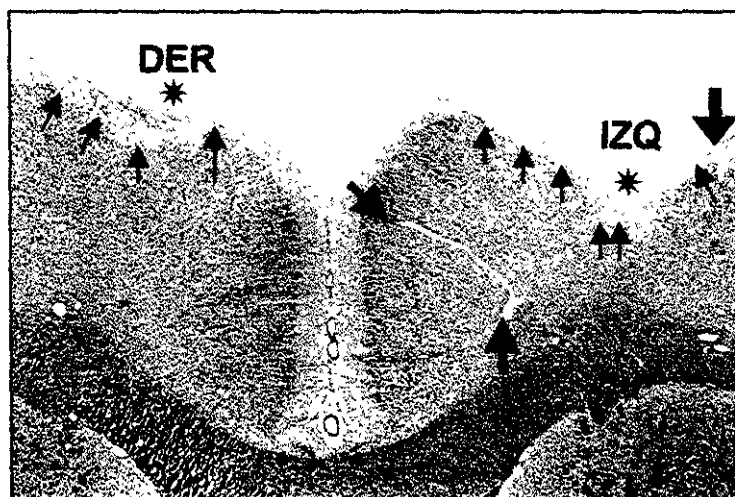


Fig. 3 A. Microfotografía en la que se incluyen los lóbulos fronto-parietal izquierdo y derecho del cerebro de rata albino Wistar adulto con y sin resina epóxica poliamida 9XM 100, respectivamente. La imagen corresponde a las cuatro semanas de iniciado el experimento. Aunque en ambos sitios hay cambios tisulares; el lado derecho (flecha) muestra una aparente reparación o menor pérdida tisular que el lado izquierdo, donde además hay una mayor dilatación vascular, como pérdida cortical (flechas), y respuesta inflamatoria de las meninges (*). H-E. 32X

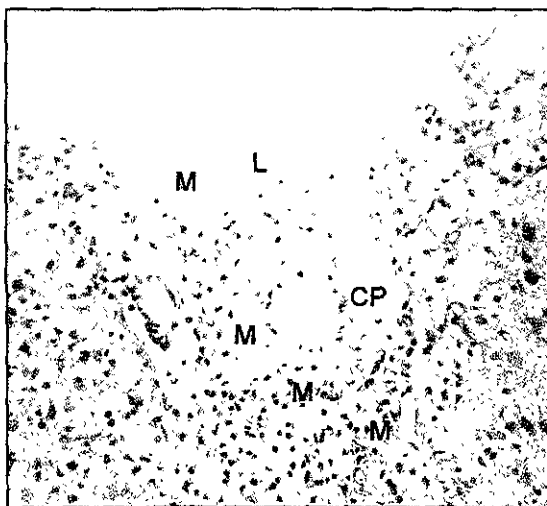


Fig. 3. B. Microfotografía a mayor aumento de la figura 3 A del lóbulo fronto-parietal izquierdo tratado con la resina epóxica poliámida 9XM 100, mostrando un intenso infiltrado de linfocitos (L), células plasmáticas (CP) y macrófagos (M); otros leucocitos menos frecuentes fueron los eosinófilos y polimorfonucleares., así como restos del material polimérico y una notable pérdida cortical. H-E. 200x



Fig. 3. C. Microfotografía a mayor aumento de la figura 3 A del lóbulo fronto-parietal derecho sin tratamiento con la resina epóxica poliámida 9XM 100, haciendo notar que el infiltrado celular inflamatorio: neutrófilos, eosinófilos (E), linfocitos (L) y macrófagos (M) se encuentran localizados únicamente en las meninges. El tejido nervioso cerebral se observa más íntegro o más conservado que el lado tratado. H-E. 200x

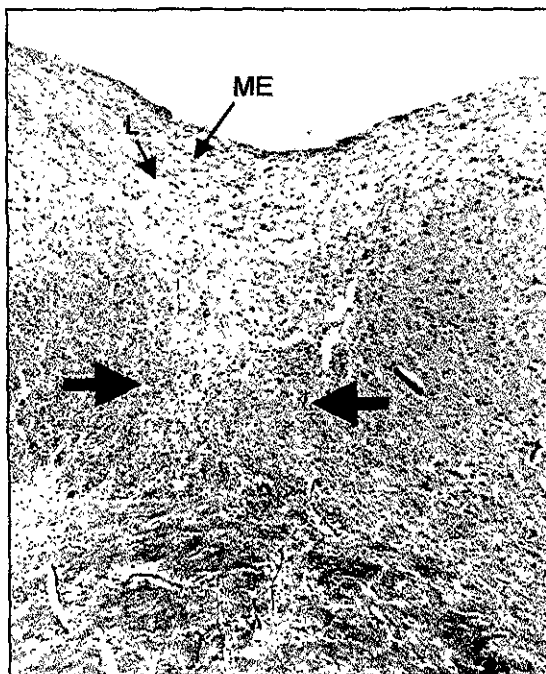


Fig. 4 A. Microfotografía del lóbulo fronto-parietal izquierdo del cerebro de rata albino Wistar adulto tratado con la resina epóxica poliamida 9XM 100. La imagen corresponde a la octava semana de iniciado el experimento, y muestra la intensa reactividad celular caracterizada por un infiltrado mononuclear (macrófagos espumosos -ME- y linfocitos -L- principalmente) - ver figura detalle en 4B -, pérdida de tejido nervioso y gliosis (flechas). H-E. 80X

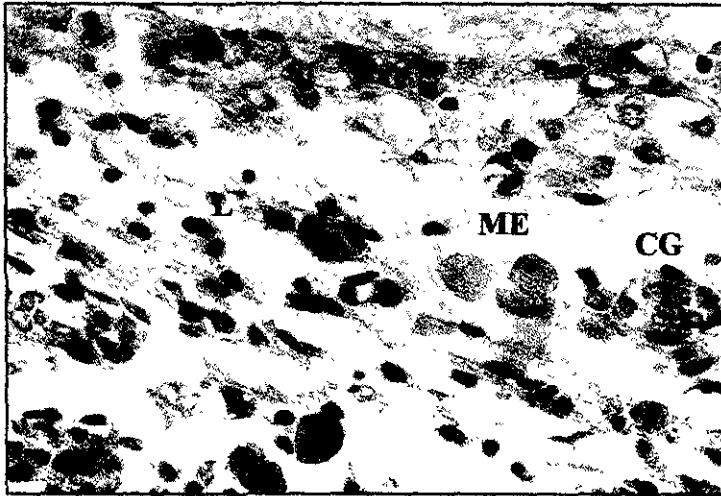


Fig. 4. B. Microfotografía a mayor aumento de la figura 4 A observándose la intensidad del infiltrado celular mononuclear, células gigantes (CG), linfocitos (L) y macrófagos espumosos (ME). H-E. 800x

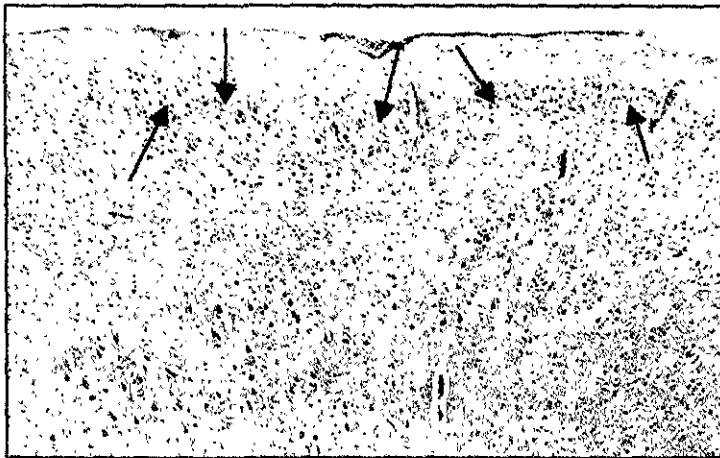


Fig. 4.C. Microfotografía del lóbulo fronto-parietal derecho del cerebro de la rata albino Wistar adulto sin tratamiento con la resina epóxica poliamida 9 XM 100, en la que se observa una moderada reactividad mononuclear (flechas) haciendo notar que el tejido nervioso se observa casi normal. H-E. 80X.

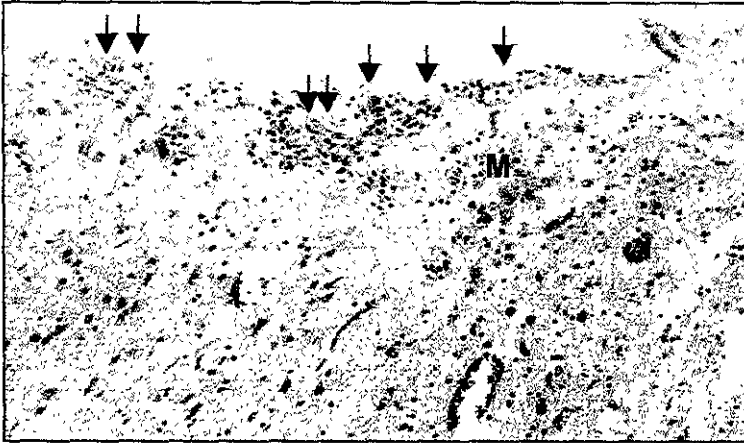


Fig. 5.A. Microfotografía del lóbulo fronto-parietal izquierdo del cerebro de rata albino Wistar adulto, a diez semanas de haber realizado el tratamiento con la resina epóxica poliamida 9 XM 100 obsérvese que los macrofagos (M), el infiltrado celular mononuclear se encuentra confinado a las meninges (flechas) y que la reacción gliótica disminuye pero permanece. H-E. 250X.

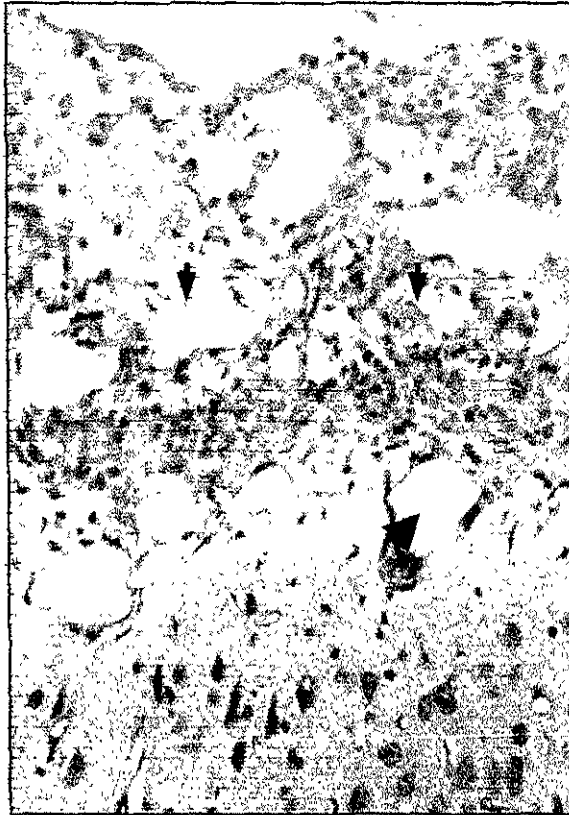


Fig. 5 B. Microfotografía del lóbulo fronto-parietal izquierdo del cerebro de rata albino Wistar adulto a diez semanas semana de haber realizado el tratamiento con la resina epóxica poliamida 9 XM 100. Obsérvese que el infiltrado celular es del tipo mononuclear, se encuentra confinado en las meninges (Flechas) y permanece una discreta reacción gliótica (Cabeza de flecha). H-E. 200X.

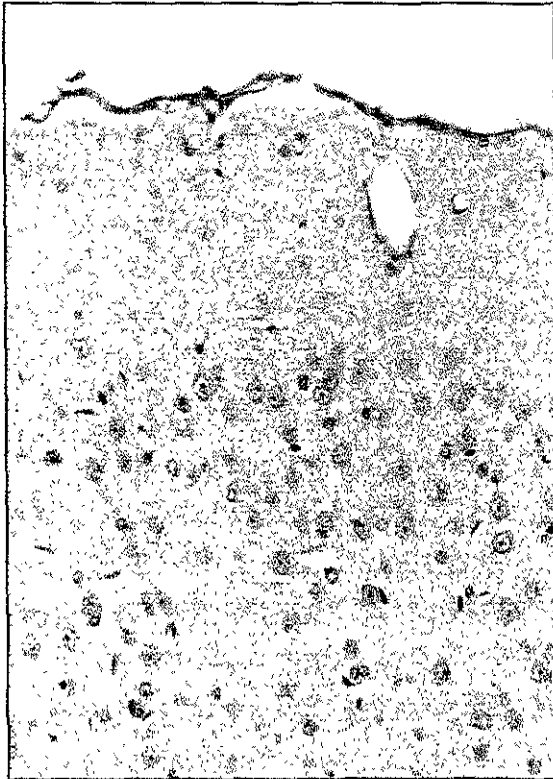


Fig. 5. C. Microfotografía del lóbulo fronto-parietal derecho del cerebro de rata albino. Wistar adulto sin tratamiento con la resina epóxica poliamida 9 XM 100, después de diez semanas de la trepanación. Nótese que el infiltrado celular mononuclear es nulo comparado con el lado contrario (tratado). H-E. 200X.



Tabla No 1. Formato sugerido para evaluación y anotación de rangos, de la primera semana del grupo experimental.

Número de Animal						
Duración del Implante (semanas)		Primera semana (grupo experimental)				
Descripción de la muestra						
Engrosamiento de la Respuesta						
Número - Histopatológico						
Rango		0	0.5	1	2	3
Necrosis						
Degeneración						
Inflamación						
	Leucocitos Polimorfonucleares					
	Linfocitos					
	Eosinófilos					
	Células Plasmáticas					
	Macrófagos					
Fibrosis						
Células Gigantes						
Adherencia al cuerpo Extraño						
Infiltración Grasa						
Tamaño del área implicada en mm.						
Escala de Toxicidad Histopatológica						



Tabla No 2. Formato sugerido para evaluación y anotación de rangos, de la primera semana del grupo control

Número de Animal						
Duración del Implante (semanas)		Primera semana (grupo Control)				
Descripción de la muestra						
Engrosamiento de la Respuesta						
Número - Histopatológico						
Rango		0	0.5	1	2	3
Necrosis						
Degeneración						
Inflamación						
	Leucocitos Polimorfonucleares					
	Linfocitos					
	Eosinófilos					
	Células Plasmáticas					
	Macrófagos					
Fibrosis						
Células Gigantes						
Adherencia al cuerpo Extraño						
Infiltración Grasa						
Tamaño del área implicada en mm.						
Escala de Toxicidad Histopatológica						



Tabla No 3. Formato sugerido para evaluación y anotación de rangos, de la segunda semana del grupo experimental

Número de Animal						
Duración del Implante (semanas)		Segunda semana (grupo experimental)				
Descripción de la muestra						
Engrosamiento de la Respuesta						
Número - Histopatológico						
Rango		0	0.5	1	2	3
Necrosis						
Degeneración						
Inflamación						
	Leucocitos Polimorfonucleares					
	Linfocitos					
	Eosinófilos					
	Células Plasmáticas					
	Macrófagos					
Fibrosis						
Células Gigantes						
Adherencia al cuerpo Extraño						
Infiltración Grasa						
Tamaño del área implicada en mm.						
Escala de Toxicidad Histopatológica						



Tabla No 4. Formato sugerido para evaluación y anotación de rangos, de la segunda semana del grupo control

Número de Animal					
Duración del Implante (semanas)		Segunda semana (grupo Control)			
Descripción de la muestra					
Engrosamiento de la Respuesta					
Número - Histopatológico					
Rango	0	0.5	1	2	3
Necrosis					
Degeneración					
Inflamación					
	Leucocitos				
	Polimorfonucleares				
	Linfocitos				
	Eosinófilos				
	Células Plasmáticas				
	Macrófagos				
Fibrosis					
Células Gigantes					
Adherencia al cuerpo Extraño					
Infiltración Grasa					
Tamaño del área implicada en mm.					
Escala de Toxicidad Histopatológica					



Tabla No 5. Formato sugerido para evaluación y anotación de rangos, de la cuarta semana del grupo experimental

Número de Animal						
Duración del Implante (semanas)		Cuarta Semana (grupo experimental)				
Descripción de la muestra						
Engrosamiento de la Respuesta						
Número - Histopatológico						
Rango		0	0.5	1	2	3
Necrosis						
Degeneración						
Inflamación						
	Leucocitos Polimorfonucleares					
	Linfocitos					
	Eosinófilos					
	Células Plasmáticas					
	Macrófagos					
Fibrosis						
Células Gigantes						
Adherencia al cuerpo Extraño						
Infiltración Grasa						
Tamaño del área implicada en mm.						
Escala de Toxicidad Histopatológica						



Tabla No 6. Formato sugerido para evaluación y anotación de rangos, de la cuarta semana del grupo control

Número de Animal						
Duración del Implante (semanas)		Cuarta Semana (Grupo Control)				
Descripción de la muestra						
Engrosamiento de la Respuesta						
Número – Histopatológico						
Rango		0	0.5	1	2	3
Necrosis						
Degeneración						
Inflamación						
	Leucocitos Polimorfonucleares					
	Linfocitos					
	Eosinófilos					
	Células Plasmáticas					
	Macrófagos					
Fibrosis						
Células Gigantes						
Adherencia al cuerpo Extraño						
Infiltración Grasa						
Tamaño del área implicada en mm.						
Escala de Toxicidad Histopatológica						



Tabla No 7. Formato sugerido para evaluación y anotación de rangos, de la Octava semana del grupo experimental

Número de Animal					
Duración del Implante (semanas)			Octava semana (grupo experimental)		
Descripción de la muestra					
Engrosamiento de la Respuesta					
Número – Histopatológico					
Rango	0	0.5	1	2	3
Necrosis					
Degeneración					
Inflamación					
	Leucocitos				
	Polimorfonucleares				
	Linfocitos				
	Eosinófilos				
	Células Plasmáticas				
	Macrófagos				
Fibrosis					
Células Gigantes					
Adherencia al cuerpo Extraño					
Infiltración Grasa					
Tamaño del área implicada en mm.					
Escala de Toxicidad Histopatológica					



Tabla No 8. Formato sugerido para evaluación y anotación de rangos, de la Octava semana del grupo control

Número de Animal						
Duración del Implante (semanas)		Octava semana (grupo control)				
Descripción de la muestra						
Engrosamiento de la Respuesta						
Número - Histopatológico						
Rango		0	0.5	1	2	3
Necrosis						
Degeneración						
Inflamación						
	Leucocitos Polimorfonucleares					
	Linfocitos					
	Eosinófilos					
	Células Plasmáticas					
	Macrófagos					
Fibrosis						
Células Gigantes						
Adherencia al cuerpo Extraño						
Infiltración Grasa						
Tamaño del área implicada en mm.						
Escala de Toxicidad Histopatológica						



Tabla No 9. Formato sugerido para evaluación y anotación de rangos, de la décima semana del grupo experimental

Número de Animal					
Duración del Implante (semanas)			Décima semana (grupo experimental)		
Descripción de la muestra					
Engrosamiento de la Respuesta					
Número – Histopatológico					
Rango	0	0.5	1	2	3
Necrosis					
Degeneración					
Inflamación					
	Leucocitos Polimorfonucleares				
	Linfocitos				
	Eosinófilos				
	Células Plasmáticas				
	Macrófagos				
Fibrosis					
Células Gigantes					
Adherencia al cuerpo Extraño					
Infiltración Grasa					
Tamaño del área implicada en mm.					
Escala de Toxicidad Histopatológica					



Tabla No 10. Formato sugerido para evaluación y anotación de rangos, de la décima semana del grupo control

Número de Animal						
Duración del Implante (semanas)		Décima semana (grupo control)				
Descripción de la muestra						
Engrosamiento de la Respuesta						
Número - Histopatológico						
Rango		0	0.5	1	2	3
Necrosis						
Degeneración						
Inflamación						
	Leucocitos Polimorfonucleares					
	Linfocitos					
	Eosinófilos					
	Células Plasmáticas					
	Macrófagos					
Fibrosis						
Células Gigantes						
Adherencia al cuerpo Extraño						
Infiltración Grasa						
Tamaño del área implicada en mm.						
Escala de Toxicidad Histopatológica						



Tabla No. 11. Factores quimiotácticos que participaron en el proceso inflamatorio.

Factor (F)	Origen
TGF- β (Factor de crecimiento transformante) **	Astrocitos y microglia
BFGF (Factor de crecimiento fibroblástico)	Astrocitos y microglia
GDGF (Factor de crecimiento glial)	Astrocitos y microglia
PDGF (Factor de crecimiento derivado plaquetario)	Astrocitos y microglia
IL-1	Microglia
IL-6	Microglia y Astrocitos
TNF - α	Glia y macrófagos
IFN - γ	Glia y macrófagos

** Factor quimiotáctico para neutrofilos.



9. CONCLUSIÓN

Con estos datos podemos concluir que el tejido nervioso cerebral de rata albino Wistar responde ante la aplicación de la resina epóxica poliamida 9XM 100, con una reacción celular de astrocitos y microglía, de acuerdo a la reacción gliótica observada, y con un reclutamiento de linfocitos, eosinófilos, polimorfonucleares y macrófagos al sitio de aplicación de la resina. Estos cambios celulares, incluyendo la formación de células gigantes multinucleadas sugieren un estado prolongado de activación de astrocitos y microglía manifestado por la producción y liberación de citoquinas en el sitio tratado.

Consideramos que la resina es la responsable de este efecto y el daño al tejido nervioso porque el lóbulo fronto-parietal no tratado también presentó una respuesta gliótica durante las dos primeras semanas, que gran parte se resolvió, manifestándose como una "tendencia" a la reparación del tejido nervioso cortical.



APÉNDICE I

RESINA EPÓXICA

Resina	1 ml.
Poliamida	0.5 ml.

APÉNDICE II

SOLUCION FISIOLÓGICA

Cloruro de sodio al 0.9% en agua

Inyectable BAXTER.

Cada 100 ml. Contiene:

NaCl	0.9 g
Agua inyectable	100 ml

APÉNDICE III

SOLUCIÓN FORMOL AMORTIGUADO NEUTRO AL 10%

Agua destilada	900 ml
Fosfato monobásico sódico	3.5 g
Fosfato dibásico	6.5 g
Formol	100 ml



APÉNDICE I V

FORMATO SUGERIDO PARA EVALUACIÓN Y ANOTACIÓN DE RANGOS

Número de Animal					
Duración del Implante (semanas)					
Descripción de la muestra					
Engrosamiento de la Respuesta					
Número - Histopatológico					
Rango	0	0.5	1	2	3
Necrosis					
Degeneración					
Inflamación					
	Leucocitos				
	Polimorfonucleares				
	Linfocitos				
	Eosinófilos				
	Células Plasmáticas				
	Macrófagos				
Fibrosis					
Células Gigantes					
Adherencia al cuerpo Extraño					
Infiltración Grasa					
Tamaño del área implicada en mm.					
Escala de Toxicidad Histopatológica					



10. Bibliografía

1. Bean T.A., Zhuang W.C., Tong P.Y., Erick J.D. and Yourtee . Effect of esterase on methacrylates and metacrylate polymers in an enzyme simulator for biodurability and biocompatibility testing. J. of Biomedical Materials Research, 1994; 28: 59-63.
2. Berkley L., Dillon Daniel y cols. Cranioplasty: A Review of 1030 cases of Penetrating Head Injury. Neurosurgery 1979; 4: 381-385.
3. Bonfield. W. Hydroxyapatite-Reinforced Polyethylene as an Analogous materials for Bone Replacement. Ann New York, 1985; 446: 173-177.
- 4.- Borgeson Michele, Tallent W. Michael, Keane W. Robert. Astrocyte modulation of central nervous system immune responses. Neuroimmune networks: Physiology and diseases. 1989, 51- 55.
5. Bruins Paul F. EPOXY RESIN TECHNOLOGY. Interscience Publishers, E.U.A., 1968.
6. Chow. Pangtay Susana. PETROQUIMICA Y SOCIEDAD. Fondo de Cultura Económica, México, 1987.
7. Delgado, R.L. and Guerrero C. F. MASI-EPOXI: A New Material for Cranial Reconstructive Surgery. Department of Neurosurgery, Juárez Hospital; 1986.
8. Ducheyne. Paul, PH. D. and Jonh M. Cuckler. Bioactive Ceramic Prosthetic Coating. Clinical Orthopedics and Related Research, 1992; 276: 102-114.
9. Frei Karl, Fontana Adriano. Immune regulatory funtions on astrocytes and microglial cells within the central nervous system. Neuroimmune networks: Physiology and Diseases, 1989. 127-136.



10. Goro Tsuchiya, Oscar Sugar, David Yashon and John Hubbard. Reactions of Rabbit Brain and peripheral Vessels to Plastics Used in Coating Arterial Aneurysms. *J. Neurosurgery*, 1968;28: 409-416.
11. Hajime Ohgushi, Motoaki Okumura, Takafumi Yoshikawa, Keisuke Inoue. Bone Formation process in porous calcium carbonate and hydroxyapatite. *J of Biomedical Materials Research*, 1992; 26: 885-895.
12. Jan Helmes and Goetz Geyer. Alloplastic Materials in Skull Base Reconstruction. *SURGERY OF CRANIAL BASE TUMORS*. Edit. Laligam N. Sekhar and Ivo P. Janecka. New York, 1993.
13. Hofman M. Florence. Cytokines in central nervous system disease. *Neuroimmune networks: Physiology and Diseases*, 1989. 67-71.
14. Inadome. T. , Hasashi K., Nakashima Y., Tsumura H., and Sugioka Y. Comparison of bone-implant interface shear strength of hydroxyapatite-coated and alumina-coated metal implants. *J. of Biomedical Materials Research*, 1995; 29: 19-24.
15. Kazuhiko Ishihara, Hiroki Araí and Nobbuo Nakabayashi. Adhesive bone cement containing hydroxyapatite particulate as bone compatible filler. *J. of Biomedical materials Research*, 1992, 26: 937-945.
16. Kaplan S.S., R.E. Basford, E. Mora, M.H. Jeong and R.L. Simmons. Biomaterial-induced alterations of neutrophil superoxide production. *J. of Biomedical Materials Research*, 1992, 26: 1039-1051.
17. Kaplan. S.S. , R.E. Basford, E. Mora, M.H. Jeong and R.L. Simmons. Mechanisms of biomaterial-induced superoxide release by neutrophils. *J. of Biomedical Materials research*, 1994, 28: 377-386.
18. Lehman Ralph A.W. and George J. Hayes. The toxicity of alkyl 2- cyanoacrylate tissue adhesives: Brain and blood vessels. *Surgery*; 1967, 61: 915-922.



19. Lester A. Mount and J. Lobo Antunes. Results of treatment of intracranial aneurysms by wrapping and coating. *J. Neurosurgery*; 1975, 42: 189-193.
20. Matukas Victor J., Jerald T. Clanton, Keith H. Langford and Patricia A. Aronin. Hydroxiapatite: an adjunct to cranial bone grafting. *J. Neurosurgery*; 1988, 69: 514-517.
- 21 Merrill E, Jean and Benveniste Etty N. Cytokines in inflammatory brain lesions: Helpful and harmful. *Glia*; 1996, 19(8): 331-338
- 22 Merrill E, Jean. Effect of lymphokines and monokines on glial cells in vitro and vivo. *Neuroimmune networks: Physiology and Diseases*, 1989. 89-97.
- 23 Merrill E, Jean and Miller Jonakait G. Interactions of the nervous and immune systems in development, normal brain homeostasis and diseases. *The FASEB Journal*, 1995 (9): 611-618.
24. Morrison and Boyd. QUÍMICA ORGÁNICA. Fondo Educativo Interamericano, México, 1976.
- 25 Otero C. Glen and Merrill E, Jean. Cytokines receptors on glial cells. *Glia* 1994; 11: 117-128.
26. Panjian Li, Chikara Ohtsuki and cols. The role of hydrated silica, titania, and alumina in inducing apatite on implants. *J. of Biomedical Materials Research*, 1994; 28: 7-15.
27. Prolo Donald J. and Sally A. Oklund. The use of Bone Grafts and Alloplastic Materials in Cranioplasty. *Clinical Orthopedics and Related Research*, 1991, 268: 270-277.
28. Potter, W.G. EPOXIDE RESINS. Plastics Institute. London. 1970.



29. Rawlings Charles E., Robert H. Wilkins and cols. Evaluation in cats of a new material for cranioplasty: a composite of plaster of Paris and hydroxyapatite. *J. Neurosurgery*; 1988, 69: 269-275.
30. Reuben Hoppenstein. Fusiform Dilation and Thrombosis of Arteries Following the Application of Methyl 2- Cyanocrylate (Eastman 910 Monomer). *J. Neurosurgery*; 1965, February: 556-564.
31. Rietz, Karl-Axel. The one-stage Method of Cranioplasty with Acrylic Plastic. *J. Neurosurgery*; 1957, May 6: 176-182.
32. Robbins, Stanley L.; Ramzi S. Cotran; Vinay Kwnay. *PATOLOGIA ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL*. 5ª. ed., Interamericana, México, 1995.
33. Bertram Selverstone,. Aneurysms at middle cerebral "trifurcation" Treatment with adherent plastics. *Neurosurgery*, 1962; May 31: 881-883.
34. Sivron Tomer and Schwartz Michael. Glial cell types, lineages and response to injury in rat and fish: Implications for regenerations. *Glia* 1995; (13): 157-165.
35. Shigeki Nishihira, Tomas V. McCaffrey, Rochester, MN. The use of Fibrin glue for the repair of experimental CSF Rhinorrhea. *Laryngoscope*; 1968: June; 625-627.
36. Sugar Oscar and Goro Tsuchya. Plastic Coating of Intracranial aneurysms with "EDH - Adhesive". *J. Neurosurgery*; 1964, 21: 114-117.
37. Sung HW, Hsu CS, Lee YS. Physical properties of a porcine internal thoracic artery fixed with an epoxy compound. *Biomaterials*, 1996; 24: 2357-2365.
38. Standard practice for Assessment of Compatibility of Biomaterials (Nonporous) for Surgical Implants with respect to Effect of Materials on Muscle and Bone. The American Society for Testing and Materials (ASTM), vol. 13.01 designation: F981-87.



-
39. Tencer A.F., Woodard P.L. and Swenson J. Mechanical and Bone Ingrowth Properties of a Polymer—Coated, Porous, Synthetic, Coraline Hydroxiapatite Bone-Graft Material. *Ann New York Acad.*; 1985, 446: 157-177.
40. Yashon D., J. A. Jane, Gordon J.L. , Hubbard and O. Sugar. Effects of Methyl-2 cyanocrilate Adhesives on the Somatic Vessels and the Central Nervous System of Animals. *J. Neurosurgery*, 1966; 24: 883-888.
41. Yashon D. Robert J. White, Belisario A. Arias and William E. Hegarty. Cyanocrilate encasement of intracranial aneurysms. *J. Neurosurgery*, 197 1; 34: 709-713.
42. <http://www.dgp.dct.mre.br/hs/hsc 90-i.htm>