



11211

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



PETRÓLEOS MEXICANOS
HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD

**USO DE MATRIZ DE COLÁGENA
PARA LA REDUCCIÓN DE ADHERENCIAS TENDINOSAS
EN EL TENDÓN DE AQUILES EN RATAS**

TESIS DE POSTGRADO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO ESPECIALISTA EN
CIRUGÍA PLÁSTICA Y RECONSTRUCTIVA

PRESENTA:
DR. GERARDO FERNÁNDEZ SOBRINO

ASESOR DE TESIS:
DR. J. EDUARDO GUTIÉRREZ SALGADO

MÉXICO D. F.

2005.

m347945



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central

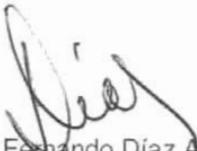


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

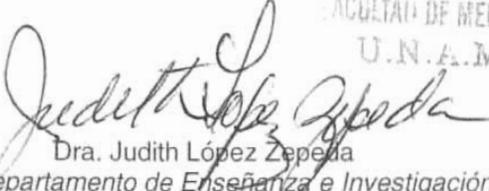
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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.


Dr. Carlos Fernando Díaz Aranda
Director
HCSAE


SUBDIVISION DE ESPECIALIZACION
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U.N.A.M.


Dra. Judith López Zepeda
Jefe Departamento de Enseñanza e Investigación
HCSAE


Dr. Francisco Javier Carrera Gómez
Jefe Servicio de Cirugía Plástica y Reconstructiva
Profesor Titular de Curso de Postgrado
HCSAE


Dr. Jorge Eduardo Gutiérrez Salgado
Asesor de Tesis e Investigador responsable
Servicio de Cirugía Plástica y Reconstructiva
Profesor Adjunto Titular de Curso de Postgrado
HCSAE



Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: GERARDO FERNANDEZ
SOBRINO

FECHA: SEPT 20, 05

FIRMA: 

Para escribir solo hay que tener algo que decir.

Camilo José Cela

A mi madre, por su apoyo incondicional para llegar a cumplir un
sueño.

A Juan, Nico, San y Ro, por sus risas que me hacen creer en un
sueño.

A los amigos, maestros y profesores, por ayudarme a construir un
sueño.

Y a mi padre, donde quiera que se encuentre viendo culminar un
sueño.

El porvenir es un lugar cómodo para colocar los sueños.

Anatole France

El futuro pertenece a quienes creen en la belleza de sus sueños.

Eleanor Roosevelt

Me interesa el futuro porque es el sitio donde voy a pasar el resto
de mi vida.

Woody Allen

INDICE.

• RESUMEN	2
• MARCO TEÓRICO	3
• JUSTIFICACIÓN	11
• PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
• HIPÓTESIS	13
• OBJETIVO GENERAL	14
• OBJETIVOS ESPECIFICOS	15
• MATERIAL Y METODOS	16
• RESULTADOS	26
• DISCUSIÓN	35
• CONCLUSIONES	39
• AGRADECIMIENTOS	40
• BIBLIOGRAFIA	41

RESUMEN:

La formación de adherencias peritendinosas es la complicación más importante de la lesión de tendones flexores. Durante décadas se ha buscado la forma para reducir la formación de adherencias, lo cual se ha conseguido de forma parcial y aun sin un criterio unificado. En este estudio se utilizó matriz de copolímeros de colágena bovino biodegradable, la cual se ha utilizado en otras áreas para reducir la formación de tejido fibroso. Se realizó un estudio experimental en el tendón de Aquiles de ratas, agrupando un total de 20 animales, se seccionó el tendón y se reparó con técnica de Kessler modificada. Una de las extremidades fue utilizada como control sin realizar ningún otro procedimiento, mientras que en la otra se cubrió el tendón reparado con matriz de copolímeros de colágena. Se evaluó el resultado a las seis semanas de forma microscópica y macroscópica, observando reducción en la formación de adherencias en el grupo en que se utilizó la matriz. Como resultado se concluyó que el uso de matriz de copolímeros de colágena en la rata disminuye la formación de adherencias peritendinosas.

MARCO TEÓRICO:

La restauración de la función normal de la mano posterior a una lesión de tendones flexores requiere no solo de la continuidad de las fibras tendinosas, ya que es indispensable el deslizamiento del tendón sobre estructuras adyacentes. Como otros tejidos, el tendón lesionado se recupera mediante el depósito de tejido de cicatrización a nivel de la lesión, la formación inicial de este tejido provee de una continuidad de las fibras tendinosas al nivel en que se encuentren seccionadas. Sin embargo, la proliferación de este tejido de cicatrización puede y suele sobrepasar los límites tendinosos, abarcando tejido circundante, lo cual no es deseable ya que impide el deslizamiento tendinoso normal afectando de forma crítica la funcionalidad de los tendones reparados. A diferencia de la reparación de otros tejidos músculo esqueléticos, en los que el fallo se puede producir por falta de cicatrización, la reparación de un tendón lacerado puede fracasar por un exceso de dicho tejido de cicatrización, que se traduce en adherencias, las cuales reducen la movilidad, producen contractura y la subsecuente alteración funcional¹. La mayoría de las investigaciones en el área de la reparación tendinosa se ha enfocado a los aspectos mecánicos, que incluyen las técnicas de sutura y los diversos protocolos de rehabilitación, los cuales han demostrado su efectividad y no existe duda que esto ha mejorado los resultados. Sin embargo la formación de

adherencias aun es una complicación frecuente y poco predecible. En las últimas décadas el conocimiento de la biología molecular del crecimiento y de la reparación de tejidos blandos ha incrementado. De forma tal que podemos conocer, aunque aun de forma parcial, de que manera se regulan los genes, como estos genes se expresan y se sintetizan proteínas, y como estas ultimas contribuyen a los cambios macroscópicos y biomecánicos. Este tipo de conocimientos para reducir la formación de adherencias, ha sido aplicado ya en diversos modelos experimentales².

El conocimiento de la biología de la cicatrización tendinosa provee una base para comprender el proceso por medio del cual un tendón cicatriza después de una lesión. Este proceso de reparaciones caracteriza por tener tres fases secuenciales: inflamatoria, fibroblastica y de remodelación³. Durante la primera etapa o inflamatoria las células de tejidos circundantes migran hacia la lesión, las cuales fagocitan el tejido necrótico y forman un coagulo. En la fase fibroblastica, los fibroblastos proliferan en el lugar de la lesión, sintetizando colágena y otros componentes de la matriz extracelular. Finalmente en la última etapa, de remodelación, las fibras de colágena sintetizadas se organizan de forma longitudinal sobre el eje del tendón reparado. El proceso de cicatrización tendinosa se ha dividido en mecanismos intrínsecos y extrínsecos. Los mecanismos intrínsecos son mediados por fibroblastos y células inflamatorias a nivel del tendón

y epitenon, que migran hacia la lesión. Mientras que los mecanismos extrínsecos involucran las células (fibroblastos y células inflamatorias) de la vaina tendinosa y de la periferia que invaden el sitio de la lesión⁴. Sin embargo las diferencias de estos mecanismos van más allá del origen de las células, ya que el mecanismo extrínseco se presenta de forma activa en estadios más tempranos en la secuencia de la cicatrización, mientras que la vía intrínseca es más tardío⁵.

Varios estudios han demostrado que la vaina sinovial desarrolla una respuesta inflamatoria y proliferativa mayor comparada con la desarrollada en el tendón y endotenon. De tal forma que al predominar el mecanismo extrínseco de la cicatrización tendinosa produce un incremento en el contenido de colágena en el sitio de la lesión así como una reducción de la organización de las fibras de colágena⁶. Se cree que la predominancia de los mecanismos extrínsecos son los causantes de las adherencias peritendinosas, de forma que al modular estos mecanismos, suprimiendo la vía extrínseca se podría disminuir las adherencias.

Se ha descrito que estas zonas tendinosas presentan diferente expresión de la colágena, desencadenado por el lactato y el factor transformante de crecimiento β (FTC- β), mediadores de la cicatrización y estimuladores en la producción de tejido cicatrizal^{7,8}. Existen tres isoformas del FTC- β en los mamíferos conocidas como $\beta 1$, $\beta 2$ y $\beta 3$. Estos tres isotipo son homologas hasta en un 80% y son dimeros de

polipéptidos de 12-kDa. Las primeras dos poseen características profibroticas y se relacionan con el desarrollo de cicatrices, mientras que la isoforma $\beta 3$ se ha visto que posee un efecto antagónico, es decir que disminuye la formación de tejido cicatrizal⁹. Estos péptidos, junto con sus receptores, son producidos potencialmente por la mayoría de células activas en el tejido cicatrizal y son moduladores clave en este proceso. De estas isoformas del FTC- β , el FTC- $\beta 1$ y el FTC- $\beta 2$ tienen su expresión principalmente a nivel de la vaina tendinosa y en el epitenon, mientras que el FTC- $\beta 3$ se encuentra en tenocitos del endotenon. De aquí la formación de las adherencias tendinosas por expresión principalmente del FTC- $\beta 1$ y el FTC- $\beta 2$ a nivel de la vaina tendinosa, obteniendo como producto un tejido cicatrizal denso y la formación de adherencias⁷.

Las adherencias tendinosas se han clasificado según sus características generales en laxas y densas, siendo las primeras aquellas que pueden ser liberadas fácilmente mediante terapia física y que permiten mejorar la excursión tendinosa¹⁰. Para clarificar el mecanismo desencadenante que provoca estos diferentes tipos de adherencias, se estableció que el tejido cicatrizal que se forma en determinada región es dependiente de factores locales del tendón, ya sea que se localice en alguna región subcutánea por fuera de la vaina tendinosa o bien con involucro de esta última y con base ósea¹¹. Histológicamente pueden ser diferenciadas por la presencia de elementos fibrosos largos y gruesos

(adherencias laxas), o bien por un entrecruzamiento de los elementos fibrosos densos (adherencia densa).

Los enlaces cruzados de la colágena se conocen desde 1966, describiéndose posteriormente 9 tipos de estos enlaces cruzados intermoleculares reductibles que se relacionan con la fuerza mecánica y la estabilidad química de la colágena, diferenciando principalmente los encontrados en la piel denominado dihidroxilisorleucina (DHLNL) y en los tendones la hidroxilisorleucina (HLNL)¹². El ratio entre estos dos, conocido como ratio D/H, en cada tejido muestra patrones característicos dependiendo de la actividad en la formación de colágena y en relación así mismo con la madurez de la misma¹³. Este ratio se encuentra elevado en tejido fibroso y de granulación durante un periodo limitado de hasta 6 semanas, observando que en lesiones tendinosas con involucro de la vaina, esta elevación puede prolongarse hasta 24 semanas. Mostrando que las adherencias laxas son producto de una remodelación más rápida. En lo referente al tipo de colágena, el tendón normal contiene principalmente colágena tipo I organizada en fibras agrupadas en paralelo para formar grupos. Mientras que la colágena tipo III se encuentra normalmente en tejidos embrionarios o elásticos, produciéndose también en la respuesta reparadora secundaria a lesión tisular¹⁴.

De forma histórica en estudios experimentales se han utilizado diversos agentes farmacológicos y biológicos para disminuir aun más la formación de adherencias¹⁵.

En un intento de prevenir la formación de estas adherencias algunos investigadores comenzaron por utilizar esteroides locales en el momento de la cirugía, sin embargo los reportes son anecdóticos, ya que surgieron estudios que postularon que dichos esteroides provocaban efectos adversos inherentes en el proceso de cicatrización¹⁶. También se han utilizado otras sustancias como la aprotinina como inhibidor de proteínasa¹⁷, inhibidores de prostaglandinas⁴, antimetabolitos como el 5fluoracilo¹⁸, y últimamente el ácido hialurónico^{19, 20}, o incluso el líquido amniótico²¹, todos ellos con resultados parciales y logrando en su gran mayoría disminuir la calidad de las adherencias y no así su formación¹⁴.

Otra modalidad estudiada para la reducción de las adherencias tendinosas fue la interposición de diversos materiales, los cuales fungían como barrera mecánica para separar el tendón del tejido circunvecino. Estas barreras pueden ser biológicas o artificiales, como el paratenon, membrana amniótica, celofán, polietileno, laminas de silicón y esponjas de gelatina entre otras. El uso de estos materiales tiene resultados mixtos en la literatura, y según algunos autores, lejos de proveer un ambiente adecuado, lo que producen es una respuesta a cuerpo

extraño y suprime el proceso de revascularización al alterar la colágena a este nivel²².

Existen estudios previos en donde se colocó solución de colágena en la zona de reparación tendinosa, el mecanismo por el cual esta solución afectaba la formación de adherencias era mediante unión de la colágena a las moléculas inhibitoras de colagenasa, teniendo como efecto un incremento en la cantidad de colagenasa activa, que produce a su vez disminución del depósito de colágena producido por mecanismos extrínsecos, sin afectar la cicatrización tendinosa^{23, 24}. Sin embargo estos efectos en la disminución del tejido fibrotico se presentan durante la primera semana, debido a la dilución de la solución de colágena, pero posterior a este tiempo el depósito de material fibrotico continuaba²⁵, ya que el proceso de cicatrización tendinosa llega a su máximo en el término de seis semanas.

La matriz de copolímeros de colágena biodegradable acelular, se caracteriza ser una matriz porosa de fibras de colágena de tendón de bovino y con puentes cruzados, con porosidad controlada y degradable. Este tipo de implante ha sido utilizado en varios padecimientos de etiología diversa que tienen en común el buscar un menor respuesta inflamatoria y por ende disminuir el tejido de cicatrización. La presentación de este implante de colágena es variable, siendo

uno de ellos el NeuraWrap, una placa de colágena biodegradable que permanece durante la fase aguda de la cicatrización, y una vez terminada esta fase la placa se reabsorbe en su totalidad, y se caracteriza por una cara externa porosa que tiene una matriz tubular capaz de resistir compresión mecánica y evitar la formación de tejido de cicatrización, mientras que la capa interna semipermeable permite el intercambio de moléculas de bajo peso y evita la pérdida de factores de crecimiento, lo cual ha sido utilizado para evitar el desarrollo de tejido cicatrizal en nervios periféricos lesionados. Esta matriz de copolímeros de colágena es de origen bovino y se obtiene de los tendones flexores profundos, siendo un implante biodegradable y biocompatible, que se caracteriza por ser uno de los materiales que contiene colágena tipo I de la forma más pura^{26, 27}.

JUSTIFICACIÓN:

La reparación tendinosa es un procedimiento indispensable en aquellos casos en que existe sección tendinosa, para así recobrar una función tendinosa adecuada; sin embargo, estos procedimientos tienen morbilidad asociada siendo la formación de adherencias tendinosas la principal complicación que se puede presentar.

En base en estudios anteriores y usos en otras áreas, la matriz de copolimeros de colágena de origen bovino disminuye la formación de tejido fibroso, por lo que se utilizo de forma experimental para valorar su efecto sobre la formación de adherencias tendinosas.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Para mantener una función adecuada de los tendones, estos deben de moverse y desplazarse sobre el tejido vecino, sobre huesos y articulaciones, por debajo de la piel. Cualquier daño óseo, de tejidos blandos o del propio tendón, ya sea por laceración, sección o infección, puede resultar en la formación de una cicatriz y la formación de adherencias. Estas adherencias es la complicación más frecuente tras cualquier cirugía tendinosa que tiene como finalidad restaurar la movilidad digital preservando el deslizamiento de los mismos. La formación de adherencias peritendinosas en el sitio de la reparación es una de las adversidades que evita lograr dicho propósito. Se ha estudiado el tipo y estructura de colágena presente durante la cicatrización tendinosa, para determinar la influencia de este en la formación de adherencias. De esta forma se propone el uso de matriz de copolímeros de colágena biodegradable bovino como una opción para disminuir las adherencias tendinosas.

HIPOTESIS:

Si la matriz de copolímeros de colágena de bovino biodegradable acelular disminuye la formación de adherencias tendinosas, debido a que otorga una base de colágena con mayor estabilidad y disminuye los mecanismos extrínsecos de la reparación tendinosa, entonces permitirá un adecuado deslizamiento tendinoso y recuperación tendinosa funcional.

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la utilidad de la matriz de copolímeros de colágena de origen bovino para disminuir la formación de adherencias peritendinosas en la reparación del tendón de Aquiles.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- Aplicar matriz de copolímeros de colágena bovino en el tendón de Aquiles de la rata reparado, previamente seccionado.
- Observar los cambios en los tendones reparados y su tejido adyacente de forma macroscópica y microscópica mediante biopsia.
- Comparar la evolución de los tendones reparados cubiertos con matriz de copolímeros de colágena bovino y los reparados de forma convencional sin ninguna sustancia agregada
- Determinar los beneficios de la matriz de copolímeros de colágena bovino en la formación de adherencias peritendinosas

MATERIAL Y METODOS:

TIPO DE ESTUDIOS;

Estudio experimental, observacional, prospectivo, transversal.

TAMAÑO DE LA MUESTRA;

Se calculo un tamaño de muestra de 20 animales para el grupo control y estudio, con un nivel de significancia (1-alfa) de 0.95 y un poder de prueba (1-beta) del 80%.

DEFINICION DE POBLACION OBJETIVO;

20 ratas Wistar adultas con peso entre 400 y 550 g.

- *Criterios Inclusión;*

Ratas Wistar adulta macho de 400 a 550 g, sanos, sin historia de algún procedimiento quirúrgico.

- *Criterios no Inclusión;*

Ratas Winstar adulta macho con peso menor a 400g o mayor a 550g, hembras, con antecedentes de procedimientos quirúrgicos o alguna enfermedad.

- *Criterios Exclusión;*

Fallecimiento del animal durante el estudio.

DEFINICION DE VARIABLES;

Valorar la presencia de adherencias peritendinosas posterior a la reparación tendinosa, así como las características anatomopatológicas de estas en caso de presentarse y el resultado funcional tendinoso.

- *Variable Independiente:*

Lesión tendinosa con sección completa del tendón de Aquiles reparado.

- *Variables Dependiente:*

Presencia de adherencias peritendinosas macroscópicas: tejido adherencial del tendón reparado a tejidos adyacentes

Presencia de adherencias peritendinosas microscópicas: tejido fibrotico peritendinoso con depósito de fibras de colágena organizadas de forma variable y estable.

TECNICAS Y PROCEDIMIENTOS;

Se utilizaron un total de 20 ratas Winstar adulta macho. Todos los procedimientos se realizaron en el bioterio del Hospital Central Sur de Alta Especialidad PEMEX, previa autorización del comité de ética e investigación y apegado a las guías de uso y cuidado de animales de laboratorio.

El estudio se realizo en el tendón de Aquiles de las patas traseras de las ratas²⁸, teniendo en cada animal una extremidad como control y otra con uso de matriz de copolimeros de colágena, como resultado se estudiaron 40 tendones, 20 por grupo, en los cuales se realizo estudio histológico y valoración macroscópica, esta división se debe a que la valoración macroscópica de las adherencias produce ruptura de las mismas e imposibilidad para su posterior valoración microscópica.

Los animales fueron anestesiados utilizando pentobarbital por vía intraperitoneal a dosis de 50 mg/kg. Todos los procedimientos se realizaron bajo condiciones

estériles y con ayuda de magnificación con lupas. Así mismo se aplicó cefuroxima, a una dosis de 30 mg/kg, intramuscular como profiláctico antes de la cirugía.

Las patas traseras fueron rasuradas y preparadas con técnica estéril de forma convencional. Se realizó incisión longitudinal de 3 cm en la región media de las patas traseras lateral al tendón de Aquiles, con disección hasta a la fascia, la cual se incidió de forma longitudinal para de esta forma exponer el tendón de Aquiles, una vez diseccionado este último y separado de los tendones plantares de la rata, se seccionó con bisturí de forma completa a una distancia de 1 cm de su inserción ósea distal (Fig. 1). Una vez seccionado, se afrontaron los cabos de dicho tendón con nylon 6-0 con técnica de Kessler modificada (Fig. 2)^{29,30}.

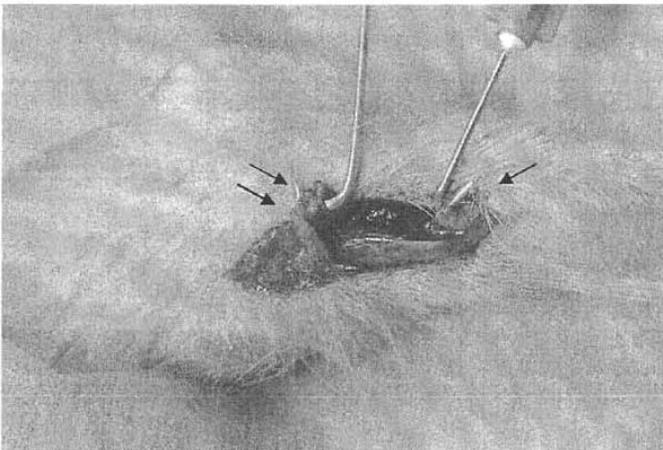


Fig. 1. Sección completa del tendón de Aquiles, separando tanto el extremo proximal (*flecha doble*) como el distal (*flecha sencilla*).



Fig. 2. Reparación de tendón de Aquiles seccionado, con nylon 6-0 con técnica de Kessler modificada

Posteriormente en el grupo control se realizó cierre de la herida cutánea afrontando la fascia con Vycril 5-0 en súrgete continuo. En la pata contralateral se realizó mismo procedimiento, con la diferencia que posterior a la reparación tendinosa, esta zona se cubrió con un fragmento de matriz de copolímeros de colágena bovino biodegradable acelular de aproximadamente 1 cm^2 , el cual previamente se hidrato con solución salina durante 10 minutos (Fig. 3), rodeando así el segmento de tendón reparado (Fig. 4). La elección de la pata en cada grupo fue de forma aleatoria.

Después de la cirugía los animales se colocaron de nuevo en su jaula de forma separada cada uno, sin uso de férula o cobertura de las patas traseras. Sin ningún otro cuidado especial (Fig. 5).

USO DE MATRIZ DE COLÁGENA PARA LA REDUCCIÓN DE ADHERENCIAS
TENDINOSAS EN EL TENDÓN DE AQUILES EN RATAS.

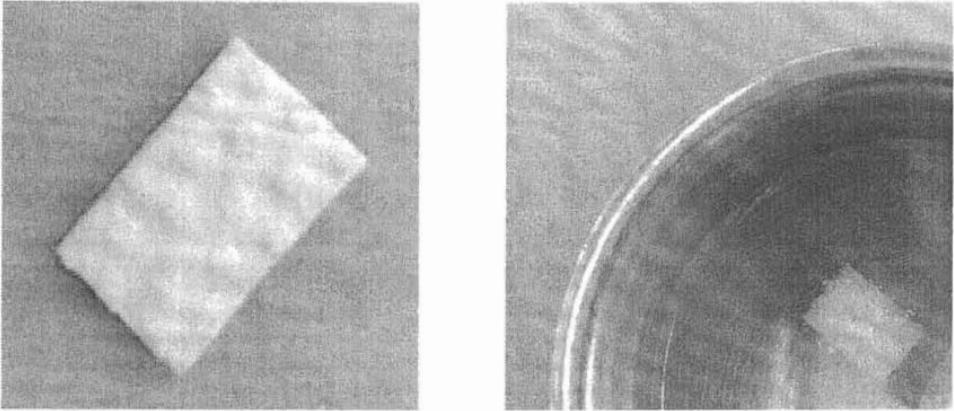


Fig. 3. Segmento de matriz de copolimeros de colágena donde se observa la porosidad externa (*izq.*) el cual se hidrata en solución fisiológica por 10 minutos (*der.*).

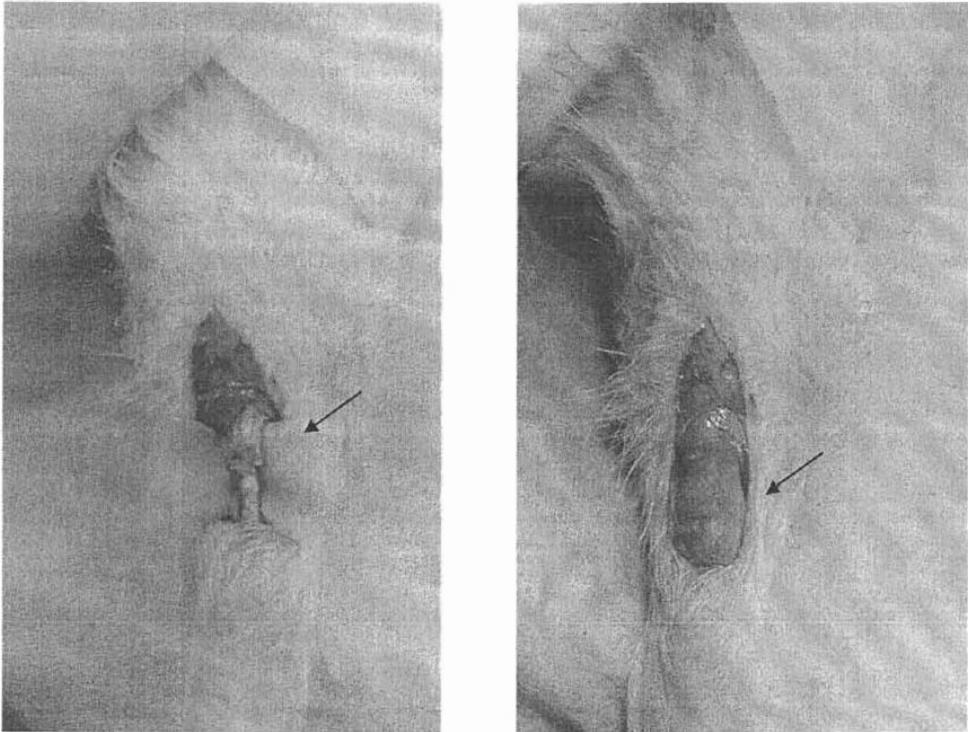


Fig. 4. Colocación de porción de matriz de copolimeros de colágena. Superior: Aplicación de matriz por debajo de tendón reparado (*flecha*). Inferior: Matriz rodeando y cubriendo el tendón reparado (*flecha*).

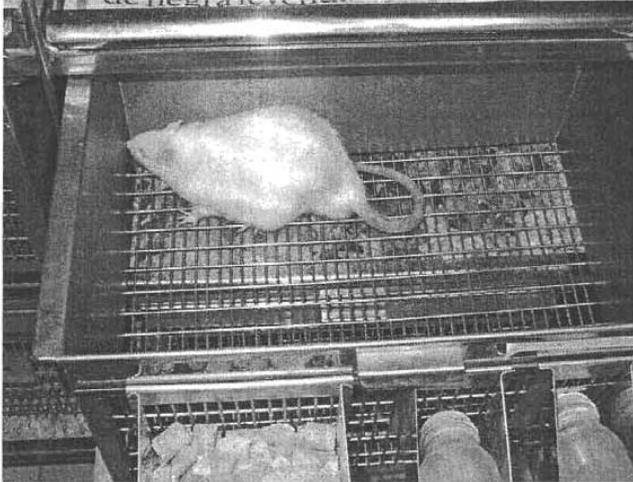


Fig. 5. Manejo aislado de cada animal sin uso de férula o algún tipo de inmovilización.

Durante las seis semanas siguientes a la cirugía se vigilo la evolución de los animales, para detectar alguna complicación y para valorar si en alguno de los casos de afectaba su movilidad o condicionaba su desenvolvimiento normal. Al termino de 6 semanas de realizo su valoración final, con el sacrificio de los animales. Se realizo la valoración macroscópica utilizando la escala predeterminada de Tang³¹, evaluando la extensión de la adherencia, densidad y el movimiento del tendón reparado. Mientras tanto el examen histológico se realizo con la escala correspondiente de Tang³¹, en estos casos para no interferir con el tejido peritendinoso, se realizo biopsia excisional incluyendo la piel adyacente al tendón, fijándolo y preparándolo con hematoxilina-eosina para su valoración microscópica, en la cual se observo la continuidad del tendón reparado, las

condiciones del epitenon, las adherencias peritendinosas y el ordenamiento de las fibras de colágena intratendinoso, así como otros hallazgos.

ANÁLISIS DE RESULTADOS;

Para realizar el análisis de los resultados de ambos grupos, estos se sometieron tanto a valoración macroscópica como microscópica (según lo estipulado anteriormente) y esto se realizó en base a la clasificación o escala de Tang³¹ para valorar adherencias tendinosas. En base a sus características macroscópicas (Tabla 1), en donde se valoró la cantidad de adherencias y la calidad de las mismas para finalmente darle un grado, y en las cualidades microscópicas de las mismas (Tabla 2) en donde se valoró de forma similar la cantidad y calidad, para otorgarle un grado de adherencias.

Aplicando como prueba estadística Xi cuadrada, con valor significativo de $p < 0.005$. Análisis que se llevó a cabo mediante el programa estadístico Primer, versión 3.0, Mc Graw-Hill.

USO DE MATRIZ DE COLÁGENA PARA LA REDUCCIÓN DE ADHERENCIAS
TENDINOSAS EN EL TENDÓN DE AQUILES EN RATAS.

Puntuación	Característica
	<i>Cantidad</i>
0	No adherencias
1	<5 mm
2	5-10 mm
3	>10 mm
	<i>Calidad</i>
0	No adherencias
1	Elásticas y móviles
2	Movilidad disminuida
3	Densas, rígidas e inmóviles
	<i>Grado</i>
0	Ausente
1-2	Leve
3-4	Moderado
5-6	Severo

Tabla 1. Valoración macroscópica de adherencias (Escala Tang)³¹.

USO DE MATRIZ DE COLÁGENA PARA LA REDUCCIÓN DE ADHERENCIAS
TENDINOSAS EN EL TENDÓN DE AQUILES EN RATAS.

Puntuación	Característica
	<i>Cantidad</i>
0	No adherencias aparentes
1	Algunos filamentos aislados
2	Gran número de filamentos
3	Filamentos incontables
	<i>Calidad</i>
0	No adherencias aparentes
1	Regular, alargados, finos filamentos
2	Irregulares, mixtos, pequeños filamentos
3	Denso, no filamentos
	<i>Grado</i>
0	No adherencias
1-2	Leve
3-4	Moderado
5-6	Severo

Tabla 2. Valoración microscópica de adherencias (Escala Tang) ³¹.

RESULTADOS:

Todos los animales sobrevivieron al procedimiento, con una evolución adecuada y sin ninguna complicación. El desenvolvimiento y movilidad fueron normales, sin alteración de la marcha durante las seis semanas en que estuvieron bajo observación y en recuperación. Al término de este tiempo, se sacrificaron todos los animales y se valoraron los tendones en estudio tanto el grupo control como experimental, de forma microscópica y macroscópica.

En el examen histopatológico tras ser fijados y teñidos con hematoxilina y eosina se valoro en base a la escala de Tang para estadificar el grado de adherencias según el tejido fibrotico adherencial vecino del tendón en estudio. Se observo que el grupo control presentaba en diferente grado tejido de fibrosis en la periferia del tendón, caracterizado por fibras de colágena que en general se encontraban bien organizada y de grosor variable, sin existir en ningún caso la ausencia de este tejido fibrotico (Fig. 6). Se observaron 5 casos en los que el tejido circundante al tendón era escaso, y hasta en 8 animales en que se presentaba una fibrosis con gran acumulo de colágena, incluso con organización similar a la que se presenta en tejido que loide en un caso.

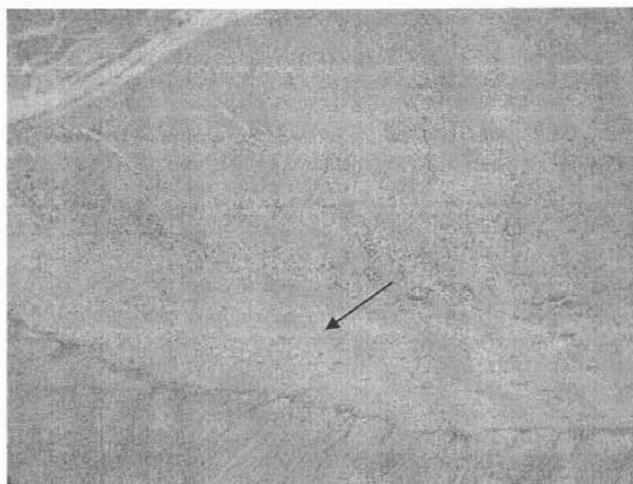
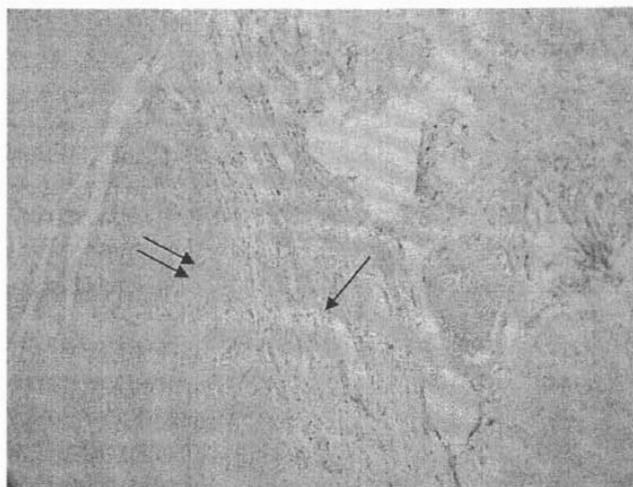


Fig. 6. Cortes histológicos de grupo control, hematoxilina y eosina. Superior: área tendinosa (*flecha doble*) delimitada rodeada por tejido fibroso (*flecha sencilla*). Inferior: área de unión tendinosa (*arriba*) y muscular (*abajo*), infiltrada por zona de necrosis caracterizada por fibras de colágena bien organizada (*flecha*).

En el grupo en el que se aplicó la matriz de copolímeros de colágena acelular bovino, el tendón se encontraba cubierto en diferentes grados por un tejido de granulación tipo cuerpo extraño con células gigantes multinucleadas, no organizado con residuos en cantidad variable de la matriz de copolímeros de colágena de forma desorganizada (Fig. 7). Sin desarrollar adherencias en 5 casos, y en ningún animal se desarrollaron adherencias severas.

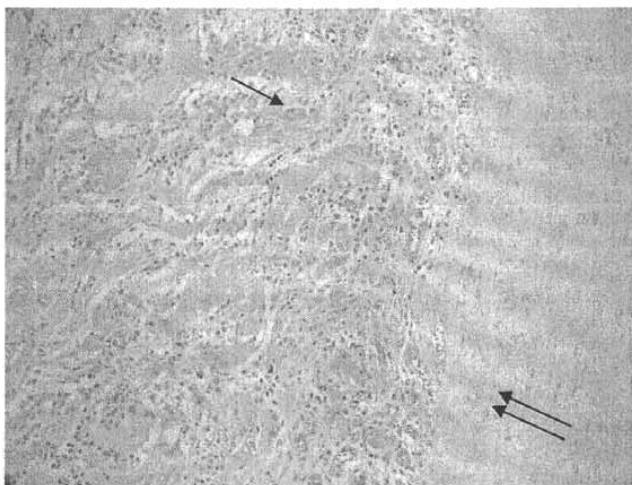


Fig. 7. Corte histológico de grupo con aplicación de matriz de copolímeros de colágena en donde se observa el tendón (*flecha doble*) rodeado de reacción granulomatosa tipo cuerpo extraño con algunas células gigantes multinucleadas (*flecha sencilla*) sin evidencia de tejido de fibrosis.

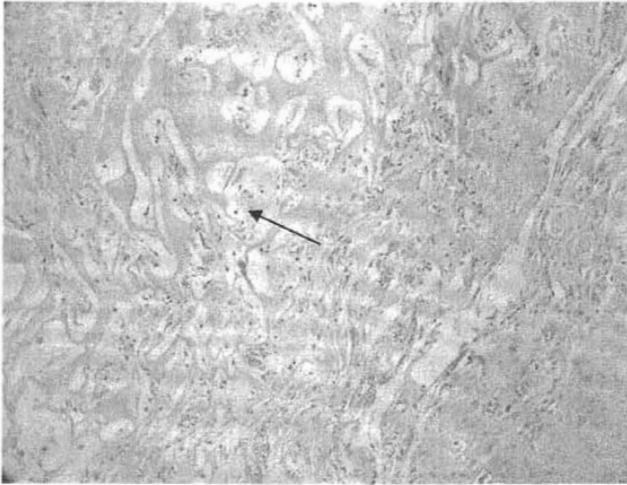


Fig. 7 (Cont.). Corte histológico de grupo con aplicación de matriz de copolimeros de colágena en donde se observa el tendón en el extremo inferior derecho, rodeado de reacción granulomatosa con abundante material no organizado correspondiente a la matriz de copolimeros de colágena (*flecha sencilla*).

Al comparar el grupo control con el grupo experimental, en lo que se refiere a la cantidad de las adherencias encontradas tras el análisis microscópico, se obtuvo χ^2 de 10.67 con p de 0.017 (Tabla 3), sin diferencia estadísticamente significativa, sin embargo la calidad de las mismas mostró χ^2 de 15.37 con p de 0.002 (Tabla 4), lo cual tiene significancia, con un grado de adherencias también menor en el grupo experimental con χ^2 de 14.22 y p de 0.003 (Tabla 5).

USO DE MATRIZ DE COLÁGENA PARA LA REDUCCIÓN DE ADHERENCIAS
TENDINOSAS EN EL TENDÓN DE AQUILES EN RATAS.

Cantidad adherencias	Grupo control n=20	Grupo experimental n=20
No adherencias aparentes (0)	0	5
Algunos filamentos aislados (1)	7	10
Gran número de filamentos (2)	9	5
Filamentos incontables (3)	4	0

Tabla 3. Cantidad de adherencias en la evaluación microscópica.
 $\chi^2=10.67$, $p=0.017$

Calidad adherencias	Grupo control n=20	Grupo experimental n=20
No adherencias aparentes (0)	0	9
Finos filamentos regulares (1)	6	5
Peq. filamentos irregulares (2)	8	6
Material denso, no filamentos (3)	6	0

Tabla 4. Calidad de adherencias en la evaluación microscópica.
 $\chi^2=15.37$, $p=0.002$

USO DE MATRIZ DE COLÁGENA PARA LA REDUCCIÓN DE ADHERENCIAS
TENDINOSAS EN EL TENDÓN DE AQUILES EN RATAS.

Grado adherencias	Grupo control n=20	Grupo experimental n=20
No adherencias	0	5
Leve	5	9
Moderado	7	6
Severo	8	0

Tabla 5. Grado de adherencias en la evaluación microscópica.
 $\chi^2=14.22$, $p=0.003$

Las características macroscópicas tanto del grupo experimental con matriz de copolímeros de colágena, como del grupo control fueron estadificadas según la escala de Tang descrita. En el grupo control las adherencias existentes en el tejido circundante al tendón reparado presentaban una mayor rigidez con grosor menor de 10 mm en todos los casos, lo cual dificultaba de forma importante la separación del tendón de Aquiles de los tendones plantares vecinos, formando en un caso un conglomerado que evitaba la disección de las diferentes estructuras (Fig. 8).



Fig. 8. Área de reparación tendinosa en el grupo control, a las 6 semanas, en donde se observa tendón de Aquiles reparado adherido firmemente a tendón plantar y resto de tejido circundante.

El grupo experimental, en los que se había aplicado la matriz de copolímeros de colágena, se observó la falta de reabsorción total de la matriz, que presentaba adherencias menores de 5 mm a los tejidos circundantes en todos los casos excepto en uno, sin embargo estas adherencias era totalmente laxas y fáciles de liberar, en ningún caso se encontraban adheridas de tal forma a los tendones plantares que imposibilitaran su disección o el daño de los mismos (Fig. 9).

Al comparar los grupos se determinó que en lo referente a la cantidad de adherencias macroscópicas existió una diferencia significativa con X_i de 11.74 y p de 0.003 (Tabla 6). Diferencia que fue aun mayor en lo referente a la calidad de dichas adherencias con X_i de 25.74 y p de 0.000 (Tabla 7), lo cual influyó en el grado de las mismas con X_i de 25.93 y p de 0.000 (Tabla 8).

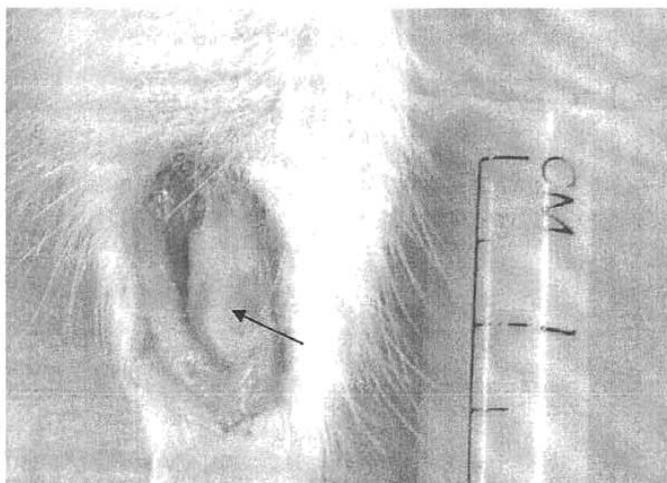


Fig. 9. Zona de tendón de Aquiles reparado y cubierto con matriz de copolímeros de colágena a las 6 semanas de su aplicación, en donde se observa persistencia de dicha matriz (*flecha sencilla*) sin evidencia de tejido fibrotico o adherencias a tendones o tejidos adyacentes.

USO DE MATRIZ DE COLÁGENA PARA LA REDUCCIÓN DE ADHERENCIAS
TENDINOSAS EN EL TENDÓN DE AQUILES EN RATAS.

Cantidad adherencias	Grupo control n=20	Grupo experimental n=20
No adherencias (0)	0	3
Menor 5 mm (1)	10	16
5 a 10 mm (2)	10	1
Mayor de 10 mm (3)	0	0

Tabla 6. Cantidad de adherencias en la evaluación macroscópica.
 $\chi^2=11.74$, $p=0.003$

Calidad adherencias	Grupo control n=20	Grupo experimental n=20
No adherencias (0)	0	0
Elásticas y móviles (1)	2	18
Movilidad disminuida (2)	15	2
Densas, rígidas e inmóviles (3)	3	0

Tabla 7. Calidad de adherencias en la evaluación macroscópica.
 $\chi^2=25.74$, $p=0.000$

USO DE MATRIZ DE COLÁGENA PARA LA REDUCCIÓN DE ADHERENCIAS
TENDINOSAS EN EL TENDÓN DE AQUILES EN RATAS.

Grado adherencias	Grupo control n=20	Grupo experimental n=20
No adherencias	0	0
Leve	1	17
Moderado	18	3
Severo	1	0

Tabla 7. Grado de adherencias en la evaluación macroscópica.
 $\chi^2=25.93$, $p=0.000$

DISCUSIÓN:

La formación de adherencias peritendinosas es la complicación mas frecuente después de una reparación tendinosa. Se han descrito diversos agentes para la reducción de esta complicación pero aun no existe algún tratamiento unificado^{32, 33}.

Se ha mostrado con anterioridad la diferencia en el tipo de colágena que existe en las adherencias peritendinosas, en donde a menor radio entre la colágena III y I mayor es la densidad de las adherencias¹⁴. Esto puede estar dado por el predominio de mecanismos extrínsecos en las etapas de la cicatrización tendinosa. La modificación en la intensidad de dichos mecanismos extrínsecos se ha tratado de lograr mediante la aplicación de solución de colágena la cual se une a los inhibidores de la colágena liberados por el tendón lesionado, lo que provee de colagenasa activa suficiente para el control en la formación de tejido fibroso cicatrizal²⁵. Sin embargo esta solución mostró que el efecto sobre la formación de adherencias era primordialmente en la primera semana después de la lesión, sin presentar efectos adversos en la cicatrización tendinosa o en la maduración de la cicatriz. Después de este tiempo la formación de adherencias podría reactivarse

por continuar los mecanismos tanto intrínsecos como extrínsecos de la cicatrización tendinosa.

Con la aplicación de la matriz de copolímeros de colágena biodegradable acelular, se logra una mayor permanencia de la colágena ya que su velocidad de absorción es menor a la solución de colágena, la velocidad con la que ocurre esta absorción se prolonga a varias semanas, por lo que otorga el tiempo necesario para culminar la cicatrización tendinosa.

La matriz de copolímeros de colágena de origen bovino se ha utilizado en otras áreas para reducir el tejido fibroso y favorecer una cicatrización nerviosa sin la aparición de neuromas, o bien en quemaduras para obtener una cicatrización más controlada y de características laxas con menor fibrosis.

La aplicación de la matriz de copolímeros de colágena cubriendo el tendón reparado produce una reacción granulomatosa tipo cuerpo extraño en diferentes grados, sin embargo la fibrosis se reduce de forma importante al realizar la comparación con el grupo control, en el que el tejido de fibrosis también fue variable, pero estaba presente en todos los casos. Al aplicar estos datos a la clasificación de adherencias descrita por Tang, muestra una diferencia entre los grupo. Sin embargo se debe mencionar que la escala no valora la formación de un

tejido granulomatoso o diferente al depósito de fibras de colágena. Además que la absorción total de la matriz de copolímeros de colágena no se obtiene en el periodo de seis semanas, ya que además del tejido granulomatoso, en algunos casos se observó gran cantidad de dicha matriz, que se corroboró durante la evaluación macroscópica.

Al observar el tipo de adherencias o reacción en el tendón reparado de forma macroscópica, se corroboró que el grupo control presenta una fibrosis importante, con adherencias a tejido periférico, de densidad variable lo cual ocurre por el predominio de los mecanismos extrínsecos de cicatrización así como un radio bajo en la concentración de colágena III/I. Esto contrasta con lo observado en el grupo en que se colocó la matriz de copolímeros de colágena, donde a pesar de encontrar restos de la matriz de copolímeros de colágena, las adherencias entre esta matriz cubriendo al tendón reparado y el tejido circundante era mínimo, con características totalmente laxas, fáciles de liberar y que no impiden el deslizamiento del tendón reparado.

La fuerza ténsil no fue objetivo de este estudio, sin embargo tras conocer el metabolismo y características de la cicatrización tendinosa normal, sería imperativo valorar la continuidad tendinosa y la cicatrización del mismo en un periodo mayor, ya que en el periodo de 6 semanas en promedio se logra la

cicatrización tendinosa, pero esta puede modificarse y ampliarse hasta 24 semanas. De forma que al prolongar el tiempo de observación, también podría lograrse la absorción completa de la matriz de copolímeros de colágena, valorando así el cambio del tejido de granulación a cuerpo extraño por un material que podría sustituirlo, y este podría ser tejido fibrotico en menor o mayor medida, lo cual debe compararse con el grupo control.

CONCLUSIONES:

El uso de matriz de copolímeros de colágena bovino biodegradable disminuye el grado de adherencias peritendinosas de forma significativa tanto de forma microscópica como macroscópica, aun con absorción parcial de dicho material, sin embargo seria necesario su estudio en un periodo mayor, para lograr su absorción completa y poder determinar que tipo de tejido es el que sustituye a la reacción granulomatosa tipo cuerpo extraño presente en todos los casos.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

AGRADECIMIENTOS:

Un agradecimiento especial:

- A la Dra. Teresita Silva Díaz, *Adscrito del Servicio de Cirugía Plástica y Reconstructiva*, por su apoyo para realización de este proyecto.
- Al Dr. Luis Eduardo Cárdenas Lailson y Dra. Blanca Eugenia Duffy Verdura por el apoyo en lo referente al análisis estadístico.
- Al personal del bioterio del HCSAE por el apoyo brindado para la realización de los procedimientos y cuidados de los animales, principalmente al Dr. Francisco Vicente Guzmán González, *Jefe Servicio de Bioterio*, al igual que al Dr. Francisco Licon Malanco, a Edgar García Romero y a Carlos Rocha Pérez del *Servicio de Bioterio*.
- Al personal de anatomía patológica del HCSAE por el apoyo para procesar las biopsias y su interpretación, en especial al Dr. Pedro Mario Pasquel García Velarde, *Adscrito del Servicio* y al Dr. Gonzalo Valdés Duarte, *Residente de Anatomía Patológica* por las fotografías realizadas.
- Al Sr. Francisco García, *Gerente de Comercial Enterprise*, por la donación de la matriz de colágena (NeuraWrap).

BIBLIOGRAFIA:

1. Azari KK, Meals RA, *Flexor tenolysis*. Hand Clin, 2005. 21: p.211-7.
2. Beredjikian PK, *Biologic aspects of flexor tendon laceration and repair*. J Bone Joint Surg, 2003. 85(3): p. 539-50.
3. Gelberman RH, Vandeberg JS, Manske PR, Akeson WH, *The early stages of flexor tendon healing: a morphologic study of the first fourteen days*. J Hand Surg Am, 1985. 10: p. 776-84
4. Amiel D, Ishizue K, Billings E, et al, *Hyaluronan in flexor tendon repair*. J Hand Surg, 1989. 14(5): p. 837-43.
5. Khan U, Occleston NL, Khaw PT, McGrouther DA, *Differences in proliferative rate and collagen lattice contraction between endotenon and synovial fibroblasts*. J Hand Surg Am, 1998. 23: p. 266-73.
6. Khan U, Edwards JC, McGrouther DA, *Patterns of cellular activation after tendon surgery*. J Hand Surg Br, 1996. 21: p. 813-20.
7. Yalamanchi N, Klein MB, Pham HM, et al, *Flexor tendon wound healing in vitro: Lactate up-regulation of TGF-B expression and functional activity*. Plas Recon Surg, 2004. 113(2): p. 625-32.
8. Duffy FJ, Seiler JG, Gelberman RH, et al, *Growth factors and canine flexor tendon healing: Initial studies in uninjured and repair models*. J Hand Surg, 1995. 20: p. 645.

9. Klein MB, Yalamanchi N, Pham H, et al, *Flexor tendon wound healing in vitro: The effects of TGF-B on tendon cell proliferation and collagen production.* J Hand Surg, 2002. 27: p. 615.
10. Weeks PM, Wray RC, *Management of acute hand injuries.* St Louis, CV Mosby, 1973. p. 74-85.
11. Umeda H, Ishii S, Minami M, et al, *Studies on the adhesion of the digital flexor tendon. Part 3: Tendon healing and adhesion releasing process from its surrounding tissues.* J Jpn Orthop Assoc, 1976. 50: p. 391-400.
12. Mechanic G, Tanzer ML, *Biochemistry of collagen crosslinking, isolation of a new crosslink, hydroxylysinorleucine, and its reduced precursor, dihydroxynorleucine, from bovine tendon.* Biochem Biophys Res Commun, 1970. 41: p. 1597-604.
13. Kuboki Y, Kobayashi D, Yuguchi M, et al, *Characteristic changes of reducible collagen cross-links to the hard tissue pattern in turkey tendon upon calcification.* J Hard Tissue Biol, 1994. 3: p. 21-8.
14. Kazuyuki M, S.I., Kazou I, *Biochemical analysis of collagen in adhesive tissues formed after digital flexor tendon injuries.* J Orthop Sci, 2002. 7: p. 665-71.
15. Ngo M, P.H., Longaker MT, *Differential expression of transforming growth factor-b receptors in a rabbit zone II flexor tendon wound healing model.* Plas Recons Surg, 2001. 108(5): p. 1260-7.
16. James J, *The use of cortisone in tenolysis.* J Bone Joint Surg, 1959. 41: p. 209.

17. Komurcu M, A.O., Basbozkurt M, *Reduction of restrictive adhesions by local aprotinin application and primary sheath repair in surgically traumatized flexor tendons of the rabbit.* J Hand Surg, 1997. 22(5): p. 826-32.
18. Moran SL, R.C., Orlando GS, *Effects of 5-fluorouracil on flexor tendon repair.* J Hand Surg, 2000. 25(2): p. 242-51.
19. Thomas SC, J.L., Hungerford DS, *Hyaluronic acid and its effect on postoperative adhesions in the rabbit flexor tendon, preliminary look.* Clin Orthop, 1986. 206: p. 281-9.
20. Kulick MI, Brazlow R, Smith S, et al, *Injectable ibuprofen: Preliminary evaluation of its ability to decrease peritendinous adhesions.* Ann Plast Surg, 1984. 13: p. 459.
21. Güzin YÖ, B.S., Mesut Ö, *Effects of human amniotic fluid on peritendinous adhesion formation and tendon healing after flexor tendon surgery in rabbits.* J Hand Surg, 2001. 26A(2): p. 332-9.
22. Bora FW, Lane JM, Prockop DJ, *Inhibitors of collagen biosynthesis as a means of controlling scar formation in tendon injury.* J Bone Joint Surg, 1972. 54: p. 1501.
23. Porat S, Rousso M, Shoshan S, *Improvement of gliding function of flexor tendons by topically applied enriched collagen solution.* J Bone Joint Surg, 1980. 62(2): p. 208-13

24. Porat s, Nyska M, Sofer B, Shoshan S, *Increased collagenolytic activity in severed and sutured tendons following topical application of exogenous collagen in chickens.* J Orthop Res, 1985. 3(1): p. 43-8.
25. Nyska M, Porat S, Nyska A, Rousso M, Shoshan S, *Decreased adhesion formation in flexor tendons by topical application of enriched collagen solution a histological study.* Arch Orthop Trauma Surg, 1987. 106(3): p. 192-4.
26. NeuroWrap Instructions for Use, Integra LifeSciences Corporation; 2004.
27. Archibald SJ, Krarup ST , Madison RD, *A collagen-based nerve guide conduit for peripheral nerve repair: an electrophysiological study of nerve regeneration in rodents and nonhuman primates.* J. Comp. Neurol. 1991, 307: 1-12.
28. Zhang F, Liu H, Stile F, et al, *Effect of vascular endothelial growth factor on rat achilles tendon healing.* Plas Reconstr Surg, 2003. 112: p. 1613-19.
29. Aspenberg P, Virchenko O, *Platelet concentrate injection improves Achilles tendon repair in rats.* Acta Orthop Scan, 2004. 75(1): p. 93-99.
30. Orhan Z, Ozturan K, Guevn A, *The effect of extracorporeal shock waves on a rat model of injury to tendo Achilles.* J Bone Joint Surg (Br), 2004. 86B: p. 613-18.
31. Tang JB, S.D., Zhag QG, *Biochemical and histologic evaluation of tendon sheath management.* J Hand Surg, 1996. 21A: p. 900-8.

32. Menderes A, Mola F, Tayfur V, et al, *Prevention of peritendinous adhesions following flexor tendon injury with Seprafilm*. Ann Plast Surg, 2004. 53: p. 560-64.
33. Matthews P, R.H., *Factors in the adherence of flexor tendon after repair: an experimental study in the rabbit*. J Bone Joint Surg Br, 1976. 58(2): p. 230-6.

Sólo cerrando las puertas detrás de uno se abren ventanas hacia el porvenir.

Françoise Sagan