



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

PERICARDIO BOVINO TRATADO CON GLUTARALDEHÍDO, ÁCIDO
GLUTÁMICO Y LIOFILIZADO EN LA REPARACIÓN DE DEFECTOS
DE LA PARED TORACO-ABDOMINAL EN PERROS: PRUEBAS DE
RESISTENCIA Y EVALUACIÓN FUNCIONAL

T E S I S
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
P R E S E N T A:
DIANA PÉREZ COVARRUBIAS

Tutora

MC. Avelina Sotres Vega

Comité tutorial

Dr. Rogelio Jasso Victoria

Dr. J. Alfredo Santibáñez Salgado



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.

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

NOMBRE: Ortiz, J. J.
CONACRUBIA

FECHA: 13 febrero 2006

FIRMA: [Firma manuscrita]

Esta tesis se realizó en el Departamento de Investigación en Cirugía Experimental del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias con la asesoría de:

Dr. Miguel Gaxiola Gaxiola

Dr. Jaime Villalba Caloca

Dr. J. Raúl Olmos Zúñiga

Dr. Patricio Santillán Doherty

Y en el Laboratorio de Mecánica de Sólidos del Instituto de Materiales de la Universidad Nacional Autónoma de México con el apoyo y asesoría de:

Dr. Guillermo Pulos Cárdenas

DEDICATORIAS

A mi querido esposo

Alfredo,

Gracias por ser la parte más importante de mi vida y hacerme feliz.

A mis padres

Arturo y Esther,

Una vez más, por todo el amor que me han dado.

A mi hermano

Arturo,

Por estar siempre conmigo en los momentos difíciles.

AGRADECIMIENTOS

A mis tutores por el apoyo brindado para la elaboración de éste trabajo.

Al Dr. Miguel Gaxiola por su gran ayuda para la realización de las pruebas histopatológicas en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. INER.

Al Dr. Guillermo Pulos Cárdenas por permitirme trabajar en su laboratorio del Instituto de Investigaciones en Materiales. UNAM.

A todas las personas que de alguna manera contribuyeron en la elaboración de éste trabajo.

A todos mis amigos que son muy importantes para mi.

INDICE

RESUMEN	VIII
I INTRODUCCIÓN	1
II REVISIÓN DE LITERATURA	2
CARACTERÍSTICAS DEL PERICARDIO BOVINO	6
Histología	6
Ultraestructura	7
ANATOMÍA DEL TÓRAX DEL PERRO	7
Músculos de la pared torácica	7
Irrigación	10
Inervación	11
ANATOMÍA DEL ABDOMEN DEL PERRO	11
Músculos de la pared abdominal	11
Irrigación	13
Inervación	14
III JUSTIFICACIÓN	15
IV HIPÓTESIS	15
V OBJETIVOS	16
VI MATERIAL Y MÉTODOS	17
ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	17
Criterios de inclusión	17
Criterios de exclusión	17
Criterios de eliminación	17
OBTENCIÓN DEL PERICARDIO BOVINO	18
Liofilización del pericardio bovino	20
Preparación del pericardio bovino con glutaraldehído	20
GRUPOS DE ESTUDIO	23

ANESTESIA	23
TÉCNICA QUIRÚRGICA	26
EVALUACIÓN	32
Clínica	32
Radiológica	32
Macroscópica	33
Microscópica	33
VII RESULTADOS	39
Control microbiológico del pericardio bovino	39
Hallazgos Clínicos	39
Hallazgos radiológicos	41
Hallazgos macroscópicos	41
Hallazgos microscópicos	41
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	44
VIII DISCUSIÓN	49
IX CONCLUSIONES	52
X LITERATURA CITADA	54
XI APÉNDICE	60
Propiedades Mecánicas de los materiales	60

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Pericardio bovino recién desmontado del bastidor	19
Figura 2. Lavado del pericardio bovino tratado con glutaraldehído y ácido glutámico	19
Figura 3. Pericardio bovino colocado en el matr�az previa congelación y liofilización	21
Figura 4. Pericardio bovino en proceso de liofilización	21
Figura 5. Pericardio bovino liofilizado empaquetado y esterilizado	21
Figura 6. Muestra de pericardio bovino para realizar pruebas de tensión uniaxial	22
Figura 7. Animal de experimentación colocado sobre mesa quirúrgica	25
Figura 8. Disección de la pared abdominal	28
Figura 9. Reparación parcial del defecto	28
Figura 10. Reparación total del defecto	29
Figura 11. Cierre de piel con puntos separados	29
Figura 12. Incisión en piel a la altura del 5� espacio intercostal	30
Figura 13. Disección de los músculos	30
Figura 14. Resección de las costillas 5, 6 y 7	31
Figura 15. Cierre del defecto	31
Figura 16. Radiografía latero-lateral izquierda derecha	34
Figura 17. Determinación de las adherencias	35
Figura 18. Procuración del injerto al término del estudio	35
Figura 19. Medición del espesor de la muestra mediante el micrómetro Mitutoyo	38
Figura 20. Colocación de las muestras de pericardio bovino en las mordazas	38
Figura 21. Microfotografía de Pericardio Bovino y fibras de colágena normales	43
Figura 22. Microfotografía de pulmón. Izq: tinción HE, Der: Tricrómica Mas�n	43

PERICARDIO BOVINO TRATADO CON GLUTARALDEHIDO, ÁCIDO GLUTÁMICO Y LIOFILIZADO EN LA REPARACIÓN DE DEFECTOS DE LA PARED TÓRACO-ABDOMINAL EN PERROS: PRUEBAS DE RESISTENCIA Y EVALUACIÓN FUNCIONAL

Con el fin de encontrar una bioprótesis económica, fácil transporte y almacenaje de utilidad para reparar defectos de las paredes torácica y abdominal, se emplearon 24 perros con un peso entre 15 y 18kg, a los que se evaluó la utilidad del pericardio tratado con glutaraldehído, ácido glutámico y liofilizado en la reparación de defectos de la pared toracoabdominal; los animales se dividieron en cuatro grupos de estudio en todos (n=6), Grupo I Plastía de abdomen reparado con bioprótesis de (PBTG) 0.5% liofilizado. Grupo II Plastía de tórax reparado con bioprótesis de (PBTG) 0.5% liofilizado, Grupo III Plastía de abdomen reparado con bioprótesis (PBTG) al 0.5% lavado con ácido glutámico y liofilizado. Grupo IV Plastía de tórax reparado con (PBTG) al 0.5% lavado con ácido glutámico y liofilizado. El estudio fue 4 semanas realizando evaluaciones periódicas. Al finalizar el estudio se examinó macroscópicamente la formación de adherencias, presencia de seroma y fibrosis. Microscópicamente la cicatrización de la bioprótesis, inflamación, presencia de rechazo, calcificación y el estado de ambos tejidos. **Resultados.** Todos los animales sobrevivieron al procedimiento, solo uno no completó el periodo por dehiscencia de y rechazo a la prótesis. Al evaluar las adherencias y evaluación macroscópica, se analizaron los resultados entre grupo y se compararon mediante la prueba Student-Newman-Keuls ($P < 0.05$). El 71% de éstas fueron grado 3 y el 29% grado 2. **Conclusión.** Se concluye que la elaboración de bioprótesis de pericardio bovino tratado con glutaraldehído y liofilizadas, permiten la preservación del pericardio para reparar defectos de la pared torácica y abdominal que permiten una mejor cicatrización y menor reacción. Es un material económico, fácil de preparar, almacenar y transportar.

I.- INTRODUCCIÓN

Introducción

En la actualidad, existen diversos métodos para llevar a cabo el cierre de los defectos de las paredes abdominal y torácica, pero el método ideal, es aquel que se realiza a través de la aproximación de los tejidos propios del paciente (1-7) y en ocasiones mediante la rotación de grandes injertos pediculados del músculo dorsal ancho y fascia, situaciones en las que se requiere de una disección amplia; sin embargo, existen situaciones clínicas diversas en las que dicha reconstrucción puede verse afectada por la falta de tejido sano que en un momento dado impide el acercamiento de los bordes de la herida (1-7). En éstos casos el cirujano, se ha dado a la búsqueda de diversas técnicas reconstructivas, y materiales que le permitan reemplazar el tejido o bien la falta de éste mediante diferentes materiales protésicos (1-14).

El uso de los materiales protésicos surgió de la necesidad de reemplazar quirúrgicamente la falta de un órgano o sección de éste, por otro órgano, ya sea natural o artificial, dando origen a las prótesis mecánicas y las bioprótesis. Las prótesis mecánicas en su mayoría son de materiales duros y resistentes como el acero, oro, platino, porcelana y las de tipo sintético a base de plástico, vidrio, carbono y polímeros; las cuales en ambas circunstancias, llegan a ser costosas y difíciles de conseguir e incluso de adaptar a los diferentes organismos; y las bioprótesis o biomateriales, los cuales son de origen natural y se conocen tres tipos: injertos autólogos, homólogos y heterólogos (13).

El injerto autólogo o autógeno es el que se toma del cuerpo del propio paciente; el injerto homólogo o isogénico consiste en implantar tejido del cuerpo de otro miembro de la misma especie y finalmente, el injerto heterólogo o xenogénico es aquel que se obtiene de una especie diferente al paciente (13).

Los injertos autólogos se han utilizado principalmente en cirugía reconstructiva, desafortunadamente existe poca disponibilidad en el organismo, por lo cual se ha recurrido al uso

de prótesis mecánicas o bioprótesis; y por consiguiente, los injertos homólogos son los utilizados para el transplante de órganos y/o tejidos (13).

El injerto heterólogo o xenoimplante más utilizado y estudiado es el pericardio bovino tratado con glutaraldehído (PBTG), cuyo uso principal es para la elaboración de válvulas cardíacas, reconstrucción conductos vasculares y como parches (1-3,5,6,14-18).

II.- REVISIÓN DE LITERATURA

La reparación de los defectos de la pared torácica y abdominal que resultan de traumatismos, necrosis, tumores, hernias y causas diversas conducen a la necesidad de insertar una prótesis (2,4,5,7-10,12,14,19,20). La prótesis ideal deberá mantener su tensión, incorporarse a los tejidos subyacentes y no provocar adherencias a las vísceras (4,12,14,20).

Entre los materiales protésicos sintéticos y naturales que se han empleado, están las mallas de acero, nylon, poliéster (Mersilene) polipropileno (Marlex), dacrón (Silastic), polyglactina 910 (Vycril), polytetrafluoroetileno (Gore-tex), duramadre humana preservada (PHD), fascia lata en éstos dos últimos casos, debido a su tamaño las bioprótesis no son suficientes para la reconstrucción de las grandes eventraciones (1-3,6-8, 12,14,19-23). Cada una de éstas bioprótesis han demostrado ventajas y desventajas, e incluso Usher, demostró que la malla de polipropileno (Marlex) posee gran fuerza, pero induce a la formación de fístulas así como de adherencias en las vísceras (10). El Marlex y el Gore-tex son materiales muy empleados que poseen grandes ventajas. Otros materiales como el Silastic, provocan extrusión de la prótesis (4), situación que también presenta la PHD, la cual en fase experimental ha dado origen a la dehiscencia de la herida, llevando a la muerte (4), por lo que no son usados para este fin.

Además de los materiales protésicos sintéticos y naturales que se han utilizado, se han encontrado materiales como es el pericardio bovino, el cual tratado con glutaraldehído es un material inerte de origen biológico de alta resistencia y fácil de manejar; el cual ha sido ampliamente usado, experimental y clínicamente en animales y humanos por ejemplo, para la construcción de válvulas cardíacas, conductos vasculares y en menor frecuencia en la reparación de defectos

de prótesis mecánicas o bioprótesis; y por consiguiente, los injertos homólogos son los utilizados para el transplante de órganos y/o tejidos (13).

El injerto heterólogo o xenoimplante más utilizado y estudiado es el pericardio bovino tratado con glutaraldehído (PBTG), cuyo uso principal es para la elaboración de válvulas cardíacas, reconstrucción conductos vasculares y como parches (1-3,5,6,14-18).

II.- REVISIÓN DE LITERATURA

La reparación de los defectos de la pared torácica y abdominal que resultan de traumatismos, necrosis, tumores, hernias y causas diversas conducen a la necesidad de insertar una prótesis (2,4,5,7-10,12,14,19,20). La prótesis ideal deberá mantener su tensión, incorporarse a los tejidos subyacentes y no provocar adherencias a las vísceras (4,12,14,20).

Entre los materiales protésicos sintéticos y naturales que se han empleado, están las mallas de acero, nylon, poliéster (Mersilene) polipropileno (Marlex), dacrón (Silastic), polyglactina 910 (Vycril), polytetrafluoroetileno (Gore-tex), duramadre humana preservada (PHD), fascia lata en éstos dos últimos casos, debido a su tamaño las bioprótesis no son suficientes para la reconstrucción de las grandes eventraciones (1-3,6-8, 12,14,19-23). Cada una de éstas bioprótesis han demostrado ventajas y desventajas, e incluso Usher, demostró que la malla de polipropileno (Marlex) posee gran fuerza, pero induce a la formación de fístulas así como de adherencias en las vísceras (10). El Marlex y el Gore-tex son materiales muy empleados que poseen grandes ventajas. Otros materiales como el Silastic, provocan extrusión de la prótesis (4), situación que también presenta la PHD, la cual en fase experimental ha dado origen a la dehiscencia de la herida, llevando a la muerte (4), por lo que no son usados para este fin.

Además de los materiales protésicos sintéticos y naturales que se han utilizado, se han encontrado materiales como es el pericardio bovino, el cual tratado con glutaraldehído es un material inerte de origen biológico de alta resistencia y fácil de manejar; el cual ha sido ampliamente usado, experimental y clínicamente en animales y humanos por ejemplo, para la construcción de válvulas cardíacas, conductos vasculares y en menor frecuencia en la reparación de defectos

herniarios de la pared abdominal (1-6,9,10,14,19-21,24) cirugía reconstructiva (25,26), cirugía pediátrica (26), en la reparación de defectos herniarios diafragmáticos en el ámbito experimental (8,12,27), reconstrucción del esternón (7) así como para la corrección de defectos congénitos cardiacos como: ampliación de la cámara de salida del ventrículo derecho y para el cierre de las comunicaciones interauricular (CIA) e interventricular (CIV) (28), y en resecciones pulmonares no anatómicas (29-32), así como en reparaciones del septo nasal (33,34).

El glutaraldehído es un aldehído bifuncional de cinco carbonos el cual se conoce como el agente reactivo más comúnmente aceptado de uniones cruzadas. Reacciona con el grupo ϵ -amino de los residuos de lysyl en las proteínas (colágena), el cual induce la formación de uniones cruzadas entre las cadenas y estabiliza al tejido contra la degradación química y enzimática, dependiendo de la cantidad de uniones cruzadas. Desafortunadamente el mecanismo exacto de su acción es muy complejo y solo parcialmente entendido. (35).

El éxito del glutaraldehído como un esterilizante y fijador, se debe a su capacidad mixta de ser hidrofóbico e hidrofílico a la vez, lo que le permite a la molécula penetrar de forma rápida el medio acuoso y las membranas celulares (35).

La fijación del pericardio bovino en glutaraldehído se realiza con la intención de mejorar las propiedades mecánicas e inmunológicas de éste, reducir su trombogenicidad, controlar su degradación debido a que aumenta su resistencia. (3,5,6,12,13,15,17,18,35-42).

El procedimiento para preservar el pericardio bovino (PB) lo introdujo Ionescu (18) en la década de los 60, el cual consiste en fijar el tejido en una solución de glutaraldehído al 0.5%, con la finalidad de cambiar su estructura molecular de manera permanente, mediante la creación de uniones cruzadas entre los grupos aldehído y amino, lo que permite aumentar la estabilidad del tejido lo que facilita su manejo quirúrgico, mejorando significativamente la tolerancia, mecánica, y durabilidad como bioprótesis; ya que se cree reduce, mas no elimina la antigenicidad de los tejidos heterólogos, además de controlar la degradación de las proteínas (17,18,23,34,37-43), y permite su almacenamiento por largos períodos. Sin embargo, debe siempre considerarse que los productos tratados de ésta forma deben ser lavados antes de su uso con el fin de remover los

residuos de aldehídos (18). Así también, se ha observado que el pericardio tratado con glutaraldehído exhibe propiedades mecánicas alteradas como es un incremento aparente de su elongación, cuando se compara con pericardio al que no se le dio tratamiento alguno (35). Sin embargo, se ha reportado que el uso del glutaraldehído en las válvulas cardíacas fabricadas a partir de pericardio, es el responsable del proceso de calcificación o mineralización patológica, ya que provoca disfunción y limita su durabilidad (18,44).

El proceso de mineralización empieza en los restos de glutaraldehído que se acumula en las células del tejido fijado y que ha sido desnaturalizados (45,46) el cual también ocurre en tejidos, dientes y huesos, donde la enzima fosfatasa alcalina juega un papel importante, debido a que se asocia con la matriz de las vesículas involucradas en la formación de núcleos minerales en el hueso (45,46). En el caso de las válvulas cardíacas elaboradas con pericardio bovino, se cree que el proceso de mineralización que ocurre por interacción de factores del huésped que compromete la edad del sujeto implantado, el tipo de material (42,46).

Con objeto de controlar o mitigar la calcificación en el tejido biológico fijado con glutaraldehído, los cuales consisten en retrasar o interrumpir uno o más pasos en el proceso de calcificación (19), actualmente se han investigado muchos procesos como medios para detoxificar o neutralizar los efectos tóxicos del glutaraldehído en los tejidos procesados. El ácido glutámico, favorece el crecimiento celular endotelial (35,47-49), lo cual se ha demostrado en trabajos donde se busca prevenir la calcificación en válvulas de cerdo y pared aórtica implantada subcutáneamente en ratas (49). El ácido glutámico reacciona con los aldehídos para formar acetatos y ésteres, y el pH ácido favorece la despolimerización del glutaraldehído y la subsecuente extracción del exceso de aldehídos libres, disminuye la citotoxicidad en los tejidos y la calcificación de los mismos, dando como resultado una mejora en la biocompatibilidad lo cual favorece la re-endotelización de la bioprótesis. (41,48-51)

El método de liofilización, significa deshidratar o secado en frío. Se alcanza mediante la congelación de la sustancia húmeda, provocando que el hielo sublime directamente al vapor exponiéndolo a una presión parcial baja de vapor de agua. El sistema de colección es enfriado a

una temperatura aproximada de 20° C, más fría que la temperatura del pericardio o producto a liofilizar, generalmente de -50 a -80° C. Posteriormente el sistema de colección, se evacua usando una bomba de vacío, proceso que continua hasta que todas las matrices congeladas aparecen secas por completo (52).

Franks (52) demostró que la liofilización disminuye ciertos componentes volátiles o solubles al agua a través de la bomba de sublimación, así como Maizato et. al. (18), encontró menor cantidad de residuos de glutaraldehído en las muestras de pericardio sometidas a liofilización después de haber sido fijadas con glutaraldehído, por lo cual, la menor cantidad de glutaraldehído disminuye su citotoxicidad. Aunado a lo anterior, no altera las propiedades mecánicas del pericardio y facilita su almacenamiento y transporte (3,18,52).

El proceso de liofilización es un método que permite la viabilidad de los tejidos, vacunas y en éste caso del pericardio bovino, mediante el cual existe la posibilidad de secar o deshidratar un compuesto o tejido previamente congelado, su aplicación es de gran utilidad para la preservación a largo plazo, ya que confiere estabilidad a los materiales de origen biológico (53). Así mismo, permite evitar la desnaturalización provocada por el calentamiento del producto, ya que lo mantiene congelado mientras lo seca; siendo ésta una ventaja muy importante sobre la fase de líquido al seco. Además el proceso de liofilización permite que el pericardio bovino pueda ser esterilizado y empaquetado inmediatamente después de liofilizarlo, reduciendo así las posibilidades de contaminación (54). Lo que permite transportar la bioprótesis con facilidad y de manera segura la bioprótesis, desde el sitio de preparación hasta el lugar donde se va a utilizar y además reducir el tiempo quirúrgico ya que así no sería necesario realizar el lavado del pericardio bovino para eliminar los residuos del glutaraldehído. En caso de no liofilizar el pericardio, éste tendría que ser transportado en un frasco color ámbar protegido de la luz para que no pierda sus características de preservación y existiría el riesgo de romper el frasco y en un momento dado de inhalar los vapores del glutaraldehído, provocando problemas alérgicos en mucosas y piel, lo que provoca dermatitis, conjuntivitis y asma; además de efectos adversos como colitis y diarrea (55).

CARACTERÍSTICAS DEL PERICARDIO BOVINO

El pericardio es un saco seroso, fibroso, grueso, translúcido de dos capas, compuesto por una hoja fibrosa externa la cual se relaciona con el esternón, los grandes vasos y el diafragma; la cual está cubierta por una lámina serosa de células cuboidales y una membrana serosa interna..

El pericardio fibroso y su membrana serosa en conjunto forman al pericardio parietal (56,57). La membrana serosa se refleja en la superficie epicárdica del corazón, para formar al pericardio visceral, siendo identificado como epicardio (56,57).

La cavidad pericárdica se localiza entre las dos capas (visceral y parietal) del pericardio seroso y bajo condiciones normales contiene de 15 a 50 ml de líquido claro, el cual es un ultrafiltrado del plasma sanguíneo.

Dorsalmente el pericardio se une con la adventicia de los grandes vasos del corazón, extendiéndose dorsalmente más distal que el tejido cardíaco.

Ventralmente, el pericardio continúa más allá del borde del corazón como ligamento esternopericárdico, un haz de tejido elástico que se extiende entre el ápice del pericardio y el diafragma (56,57).

Histología

El constituyente mayor del pericardio parietal es tejido fibroso, cuyo principal componente son fibras compactas de colágena, dispuestas en tres capas orientadas en ángulos iguales entre sí; las cuales, tienen la apariencia de un acordeón. Las fibras de elastina también forman al pericardio, aunque son menos numerosas, no forman fibras densas y tienden a estar orientadas en ángulo recto con respecto a las fibras de colágena adyacentes. La predominancia de colágena y su configuración anatómica son muy importantes para las propiedades viscoelásticas del pericardio (56-58).

Ultra estructura

Las microfotografías con microscopía electrónica muestran que el pericardio es una estructura altamente organizada, con microvellosidades y cilios para la producción y absorción de líquido y facilitar el movimiento entre sí de las superficies de serosa (56-58).

La capa fibrosa del pericardio, mantiene la presión de grandes cantidades de líquido en la cavidad. Si se acumulan grandes cantidades de fluido, éste líquido interfiere con la capacidad del corazón para expandirse durante la diástole (tamponada cardiaca) (56).

ANATOMÍA DEL TÓRAX DEL PERRO.

El cuerpo del perro se compone de tres segmentos: tórax, abdomen y pelvis. Cada segmento contiene a una cavidad. En el caso de la cavidad torácica internamente se encuentra el diafragma. Y el tórax está formado por las costillas y el esternón.

El perro doméstico posee 13 pares de costillas, de las cuales 9 son esternales y se articulan con el esternón, motivo por el cual reciben dicho nombre, y las últimas cuatro costillas que no están en contacto con el esternón (59-61). El cartílago esternal de las costillas 10,11 y 12, junto con el cartílago de la costilla anterior, forman el arco costal a cada lado del perro. Al último par de costillas, se les denomina costillas flotantes debido a que poseen una terminación libre.

Músculos que conforman la superficie lateral de la pared torácica son:

Músculo escaleno se encuentra ventral respecto al origen del serrato ventral; se inserta en las primeras costillas 1,3 y 4, así como desde las costillas 6-9 a los procesos transversos de las vértebras cervicales y se divide en varios fascículos. (59-61).

Músculo dorsal ancho, es un músculo grande de forma triangular que se encuentra caudal a la escápula, donde cubre la mayor parte de la pared torácica dorsal y parte de la lateral. Tiene su origen en la fascia toracolumbar desde los procesos espinosos de las vértebras lumbares y de las siete u ocho últimas torácicas; inserción muscular de las dos o tres últimas costillas. Se inserta en la tuberosidad del músculo redondo mayor del húmero y tendón del redondo mayor. Se encuentra inervado por el nervio toracodorsal.

Músculo serrato ventral, es un músculo voluminoso en forma de abanico de gran extensión y que comprende el cuello y el tronco.

Músculo serrato dorsal nace en una amplia fascia a partir del rafé tendinoso del cuello en los procesos espinosos de las vértebras torácicas y se inserta en las extremidades proximales de las costillas; consta de dos porciones, el serrato dorsal craneal y el serrato caudal (61).

Músculo serrato dorsal craneal, descansa sobre la superficie dorsal de la parte craneal del tórax, y nace en una amplia fascia de la fascia toracolumbar. Corre en dirección caudoventral, se inserta por diversas digitaciones en las superficies craneolaterales de las costillas y eleva a éstas durante la inspiración (61).

Músculo serrato dorsal caudal es más pequeño, se encuentra sobre la superficie dorsal de la parte caudal del tórax y consta de diversas hojas musculares que nacen en una fascia a partir de la fascia toracolumbar, se dirigen craneoventralmente y se insertan en los bordes caudales de las tres últimas costillas. Este músculo dirige en sentido caudal las tres últimas costillas durante la espiración (59-61).

Los músculos intercostales externos se localizan a cada lado de la pared torácica. Sus fibras discurren caudoventralmente desde el borde caudal de una costilla al borde craneal de la siguiente. Su borde ventral se encuentra cerca de la unión condrocostal. Estos músculos actúan en la respiración movilizand las costillas y su efecto global depende de la situación de la caja torácica.

Los músculos intercostales internos se diferencian fácilmente de los externos ya que sus fibras corren en dirección craneoventral desde el borde craneal de una costilla al borde caudal de la que está enfrente. En situación medial a la mayor parte de los músculos intercostales internos se encuentra la pleura, que se fija a los mismos y a las costillas por intermedio de la fascia endotorácica. Los músculos intercostales internos se extienden por el espacio intercostal en su totalidad y funcionan de manera similar a los externos, juntando las costillas (59-61)

El músculo recto torácico, es una pequeña hoja de cuatro lados, situado a la altura del cuarto cartílago costal, es la continuación craneal del recto abdominal; se dirige hacia la primera costilla con un recorrido oblicuo por la aponeurosis del músculo recto abdominal.

El diafragma es un tabique o septo músculo-tendinoso que separa las cavidades torácica y abdominal, y por mediación de la cúpula diafragmática se proyecta cranealmente al interior de la caja torácica; es un músculo inspiratorio. La porción muscular del diafragma puede dividirse en tres partes según sus inserciones: lumbar, costal y esternal. La parte lumbar se fija a los cuerpos de la tercera y cuarta vértebras lumbares, la parte costal del diafragma tiene su origen en las caras mediales de la octava a la decimotercera costillas y se entrelaza con el músculo transverso del abdomen; y la parte esternal nace en la cara dorsal del esternón, craneal al cartílago xifoides. En la parte medial del diafragma se localiza el hiato aórtico, el cual, como su nombre la indica, permite el paso de la arteria aórtica, conducto torácico y vena ácigos; también aloja al hiato esofágico, el cual se encuentra ligeramente desviado a la izquierda en el área muscular que se dirige al centro tendinoso y es el agujero para el paso del esófago y ramas correspondientes al nervio vago (59-61).

Las pleuras son membranas serosas que cubren los pulmones, revisten las paredes del tórax, cubren a los pulmones, forman sacos derecho e izquierdo que envuelven las cavidades pleurales. Cada una consta de paredes visceral y parietal, dependiendo de su localización. La pleura pulmonar o visceral se fija firmemente a la superficie de los pulmones.

La pleura parietal se halla adherida a la pared torácica por medio de la fascia endotorácica. Forma la pared de la cavidad pleural y dividirse en costal, diafragmática y mediastínica (59).

La pleura costal une la superficie interna de las paredes laterales de la cavidad torácica; cubre la superficie medial de las costillas y sus músculos, intercostales y transversos torácicos.

La pleura diafragmática cubre la superficie craneal del diafragma. Las pleuras mediastínicas cubren los lados de la partición o división entre las dos cavidades pleurales.

La membrana pleural consta de una delgada capa de células mesoteliales con fibras elásticas y músculo laxo, unido a una delgada capa de tejido conectivo (fascia endotorácica). La capa de tejido conectivo soporta la capa mesotelial y se une a las estructuras que le rodean (59)

Irrigación e inervación del tórax.

En cada espacio intercostal existe una arteria y un nervio del mismo nombre, el cual se divide en una rama dorsal y otra ventral. Las ramas dorsales terminan en los músculos epiaxiales y en las vértebras, mientras que las ramas ventrales descienden por el borde caudal en los espacios intercostales. Las ramas arteriales ventral y dorsal derivan de las arterias intercostales dorsales. Las tres primeras arterias intercostales dorsales proceden de la arteria vertebral y las nueve restantes de la aorta. Las ramas de las arterias y venas intercostales dorsales tienen ramas cutáneas laterales que perforan los músculos intercostales para irrigar parte de la piel y glándulas mamarias torácicas (59,60).

Las ramas nerviosas dorsales y ventrales derivan del nervio espinal a su salida de los forámenes intervertebrales. Las ramas ventrales de los 12 primeros nervios torácicos espinales son los nervios intercostales, que emiten ramas cutáneas ventrales y laterales y se ramifican en dirección medial con respecto a los nervios que se dirigen hacia los músculos.

Existen hileras dorsales y laterales de ramas cutáneas laterales de los nervios, arterias y venas intercostales nacen entre las costillas e inervan e irrigan al músculo cutáneo, el tejido subcutáneo y la piel. Los nervios de la hilera dorsal surgen de las ramas dorsales de los nervios torácicos; una hilera de ramas cutáneas ventrales emerge a través del origen del músculo pectoral profundo después de penetrar los extremos ventrales de los espacios intercostales. Estos vasos son ramas

perforantes de la arteria y vena torácicas internas; los nervios son ramas terminales de los nervios intercostales.

La arteria epigástrica craneal es una rama terminal de la torácica interna que nace del tórax en el ángulo que forma el arco costal y el esternón. Discurre caudalmente sobre la superficie profunda del recto del abdomen y da origen a la epigástrica craneal superficial que perfora el músculo y se dirige caudalmente sobre su superficie; irriga la piel que cubre el recto abdominal y las glándulas mamarias torácicas caudales y abdominales craneales. Los vasos epigástricos craneales continúan su trayecto sobre la cara profunda del recto del abdomen y la mayor parte de sus ramas terminan en éste músculo (59,60).

Inervación

La inervación del diafragma está dada por el nervio frénico, el cual posee tres raíces que son parte de los nervios espinales de la región cervical y que a nivel aurículoventricular, pasa dorsalmente por la base del corazón. El nervio frénico derecho alcanza el diafragma a través del pliegue seroso de la vena cava y el izquierdo por una hendidura del mediastino (59).

ANATOMÍA DEL ABDOMEN DEL PERRO

Músculos de la pared abdominal.

Los músculos abdominales de superficial a profundo son: oblicuo abdominal externo, oblicuo abdominal interno, recto abdominal, transverso del abdomen.

Los músculos de la pared abdominal están divididos en partes según su origen; costal en relación con las costillas, esternal en relación con el esternón, lumbar con la fascia toracolumbar y finalmente la parte inguinal en relación con el ligamento de mismo nombre. Con excepción del músculo recto del abdomen, la inserción del resto de los músculos del abdomen se realiza con un tendón abdominal en la línea alba. El músculo oblicuo abdominal interno también termina en el

arco costal con un tendón costal, y el oblicuo externo finaliza en el pubis con un pilar lateral. Antes de su inserción, los músculos abdominales, junto con sus aponeurosis, forman la vaina del músculo recto abdominal. Las aponeurosis de las láminas externas forman redes o mallas, en posición ventral o paramedial, que se fijan con las intersecciones tendinosas del recto abdominal. En la línea ventral y media, y como resultado del cruce y acoplamiento de las fibras tendinosas, se constituye la línea alba; la cual comienza en el mesoesternón como un punto de fijación de las aponeurosis de los músculos abdominales, rodeando en su parte más ancha al anillo umbilical y finaliza estrechándose en la parte craneal de la sínfisis pélvica (59,60).

El músculo oblicuo abdominal externo cubre la mitad ventral de la pared torácica lateral y la parte lateral de la pared abdominal. La porción costal nace en las últimas costillas y la lumbar en la última costilla y en la fascia toracolumbar, la cual se continua con el Crus medial y Crus lateral y delimitan al anillo inguinal externo. Las fibras de este músculo se dirigen caudoventralmente, y en la parte ventral de la pared abdominal forman una amplia fascia que se inserta sobre la línea alba y el tendón prepúbico (59-61).

El músculo oblicuo abdominal interno nace en la fascia toracolumbar, caudal a la última costilla, junto con la porción lumbar del oblicuo abdominal externo, en la tuberosidad coxal y en la parte contigua al ligamento inguinal. Sus fibras se dirigen craneoventralmente y se insertan por una amplia aponeurosis en el arco costal, en el recto del abdomen y sobre la línea alba y el tendón prepúbico, en común con el oblicuo abdominal externo, con el cual se fusiona para formar la vaina externa del recto del abdomen.

El músculo transverso del abdomen se encuentra profundamente respecto al oblicuo abdominal interno y recto del abdomen. Sus fibras corren transversalmente. Este músculo nace en el dorso en las superficies mediales de las cuatro o cinco últimas costillas y en los procesos transversos de todas las vértebras lumbares por medio de la fascia toracolumbar. Su aponeurosis se inserta en la línea alba después de cruzar la cara profunda del recto del abdomen. A excepción de su parte más caudal la vaina interna del recto abdominal es formada por la aponeurosis del transverso del abdomen. La parte más caudal se une a la vaina externa y se fusiona con la línea alba y tendón prepúbico (59,60).

El recto del abdomen se origina en la primera costilla y estenebras de la 1ª y 4ª costilla, se extiende desde el pubis al esternón y flexiona la porción toracolumbar de la columna vertebral. En la región umbilical, la lámina externa de la vaina del recto abdominal está formada por las aponeurosis fusionadas de los músculos oblicuos. La lámina interna está formada por la aponeurosis del transverso de abdomen.

La vaina del músculo recto del abdomen, la disposición de los tendones aponeuróticos de los músculos del flanco cercanos al recto abdominal, varía de acuerdo con la especie. En la disposición básica, los tendones de los dos músculos oblicuos forman una capa sobre la superficie externa (ventral) del recto, mientras que el transverso se une con la superficie interna; ambas capas surgen con la línea alba para completar el cierre (59-61)

La musculatura intrínseca del flanco comprende tres capas (hojas) gruesas sobrepuestas una con otra, las cuales contrastan de acuerdo con la orientación de sus fibras. Cada una se continua ventralmente mediante un tendón aponeurótico que llega a su inserción principal dentro de un cordón fibroso, (llamado la línea alba o línea media), la cual corre en la línea media ventral desde el cartílago xifoides hasta el final craneal de la sínfisis del pubis.

En dirección caudoventral, inmediatamente craneal a la eminencia iliopúbica y lateral a la línea mediana, la aponeurosis del oblicuo abdominal externo se separa en dos partes, que pronto se vuelven a unir para formar el anillo inguinal superficial, abertura externa de una vía natural sumamente corta en la pared abdominal denominada canal inguinal. Cuando se abre la cavidad del abdomen se identifican el anillo profundo y los límites del canal. Una prolongación en fondo de saco del peritoneo protruye en el canal inguinal hasta ocupar una posición subcutánea fuera de la pared corporal. Se trata de la túnica vaginal en el macho y del proceso vaginal en la hembra (59-61)

Irrigación de la pared abdominal.

Las arterias que riegan la parte superficial de la pared abdominal son ramas de las epigástricas superficiales. La arteria epigástrica craneal superficial nace de la epigástrica craneal (59).

En el tejido subcutáneo de la pared abdominal ventral se identifican las glándulas mamarias abdominales e inguinales los vasos y nervios destinados a las mismas. En la hembra se observan los vasos epigástricos craneales superficiales en el tejido subcutáneo cercano a la papila abdominal craneal.

La pared abdominal recibe su aporte vascular fundamentalmente de cuatro vasos, la arteria abdominal craneal (craneodorsal), arteria epigástrica craneal (craneo ventral) y arteria circunfleja iliaca profunda (caudodorsal).

Inervación de la pared abdominal.

Las ramas cutáneas laterales de los cinco últimos nervios torácicos no siguen la convexidad del arco costal sino que corren en dirección caudoventral e inervan la mayor parte de las porciones ventral y ventrolateral de la pared del abdomen. Las ramas cutáneas de los tres primeros nervios lumbares perforan la pared lateral del abdomen en su parte media y discurren en dirección caudoventral en forma de pequeños nervios. Inervan la piel de la región caudolateral de la pared abdominal y el músculo de la región de la articulación femorotibial.

La inervación de los cuatro músculos abdominales se realiza por los nervios intercostales, iliohipogástricos craneal y caudal, así como por el nervio ilioinguinal, que con sus ramas vm se dirigen hacia el área lateral y ventral del músculo transverso del abdomen y emergen cerca de la línea alba con sus ramas cutáneas y mamarias.

III.- JUSTIFICACIÓN

Actualmente, en la práctica de la cirugía, el médico veterinario se enfrenta a un sinnúmero de patologías y traumatismos diversos que afectan las paredes torácicas y/o abdominales de los animales, lo que en ocasiones conduce a la cirugía reconstructiva de tórax y abdomen. Dicha cirugía se prefiere corregir con la aproximación de los tejidos propios del paciente, pero cuando éstos son insuficientes, se recurre al uso de materiales de tipo sintético y biológico que llegan a provocar efectos indeseables en los organismos en que son implantados como las adherencias en diferentes órganos, fístulas e incluso hasta la extrusión de la prótesis implantada, además de que las bioprótesis llegan a ser difíciles de obtener y representan un costo muy elevado. Por tal motivo, se ha buscado en ocasiones desarrollar materiales con mejores características que reduzcan los efectos adversos en los organismos, como la antigenicidad, formación de trombos, citotoxicidad, la calcificación de los injertos, de alta resistencia y durabilidad al momento de implantarlo en el organismo y que además sea fácil de obtener, económico y que se transporte de un lugar a otro sin problemas de almacenamiento.

Por todo lo expuesto anteriormente, y después de una revisión exhaustiva de la literatura, en éste trabajo, se propone como bioprótesis para la corrección de defectos de la pared tóraco-abdominal el pericardio bovino tratado con glutaraldehído, ácido glutámico y liofilizado, ya que se ha demostrado que en conjunto, éstos métodos, reducen la antigenicidad, la formación de trombos, la calcificación del pericardio bovino tratado únicamente con glutaraldehído, además de que con el método de liofilización, se ha observado que disminuyen la cantidad de residuos de glutaraldehído, además hacer más accesible su transporte y almacenamiento.

IV.- HIPÓTESIS

El pericardio bovino tratado con glutaraldehído (PBTG) es una bioprótesis útil para la reparación de defectos anatómicos.

Las bioprótesis de Pericardio bovino (PBTG), la liofilización y el ácido glutámico podrían disminuir la calcificación de los injertos, aumentar la resistencia y la durabilidad del implante en

el organismo sin alterar las propiedades mecánicas (fuerza tensil y porcentaje de elongación) de las bioprótesis, facilitando su transporte.

Mediante estos procedimientos se obtendrá una bioprótesis para utilizarse como sustituto de los tejidos que se pierden cuando existen defectos de la pared toraco-abdominal y que le confieren a la bioprótesis una mayor resistencia y porcentaje de elongación.

V.- OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la utilidad del PBTG, ácido glutámico y liofilizado, así como su comportamiento macroscópico y microscópico producido en el cierre de defectos de la pared toraco-abdominal en perros; así como la resistencia y evaluación funcional del mismo.

Objetivo específico

Evaluar el comportamiento al momento de reparar los defectos de la pared abdominal y torácica en perros con pericardio bovino tratado con glutaraldehído al 0.5% liofilizado.

Evaluar el comportamiento al momento de reparar los defectos de la pared abdominal y torácica en perros con pericardio bovino tratado con glutaraldehído al 0.5%, lavado con ácido glutámico y liofilizado.

Determinar los cambios macroscópicos y microscópicos que se producen en el abdomen y tórax de perros después de la reparación de defectos con pericardio bovino tratado con glutaraldehído al 0.5% liofilizado.

Determinar los cambios macroscópicos y microscópicos que se producen en el abdomen y tórax de perros después de la reparación de defectos con pericardio bovino tratado con glutaraldehído al 0.5% lavado con ácido glutámico y liofilizado.

Evaluar el porcentaje de elongación en (mm) y fuerza tensil en MPa de las bioprótesis de PBTG al 0.5% no liofilizado y liofilizado.

Evaluar el porcentaje de elongación en (mm) y fuerza tensil en MPa de las bioprótesis de PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico liofilizadas y no liofilizadas.

VI.- MATERIAL Y MÉTODOS

Animales de experimentación.

Se utilizaron 24 perros mestizos de ambos sexos, en un rango de peso de 10 y 30kg, los cuales fueron obtenidos de los diferentes Centros de Control Canino de la Ciudad de México. Todos los animales fueron mantenidos en condiciones controladas de bioterio. Previamente bañados y desparasitados. Previo al procedimiento quirúrgico, fueron puestos en cuarentena, así como manejados de acuerdo con las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y con las guías norteamericana y canadiense para el cuidado de los animales de laboratorio.

Criterios de inclusión

Se incluyeron perros clínicamente sanos, sin antecedentes de cirugía abdominal ni torácica.

Criterios de exclusión

Los animales con datos clínicamente patológicos a su llegada al INER y previos al procedimiento quirúrgico o con antecedentes de cirugía abdominal y/o torácica.

Criterios de eliminación

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

Evaluar el porcentaje de elongación en (mm) y fuerza tensil en MPa de las bioprótesis de PBTG al 0.5% no liofilizado y liofilizado.

Evaluar el porcentaje de elongación en (mm) y fuerza tensil en MPa de las bioprótesis de PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico liofilizadas y no liofilizadas.

VI.- MATERIAL Y MÉTODOS

Animales de experimentación.

Se utilizaron 24 perros mestizos de ambos sexos, en un rango de peso de 10 y 30kg, los cuales fueron obtenidos de los diferentes Centros de Control Canino de la Ciudad de México. Todos los animales fueron mantenidos en condiciones controladas de bioterio. Previamente bañados y desparasitados. Previo al procedimiento quirúrgico, fueron puestos en cuarentena, así como manejados de acuerdo con las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y con las guías norteamericana y canadiense para el cuidado de los animales de laboratorio.

Criterios de inclusión

Se incluyeron perros clínicamente sanos, sin antecedentes de cirugía abdominal ni torácica.

Criterios de exclusión

Los animales con datos clínicamente patológicos a su llegada al INER y previos al procedimiento quirúrgico o con antecedentes de cirugía abdominal y/o torácica.

Criterios de eliminación

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

Obtención y preparación del pericardio bovino tratado con glutaraldehído (PBTG).

El pericardio se procuró a partir de bovinos jóvenes de edades entre los 6 y 18 meses, recién sacrificados para consumo humano. Inmediatamente después de su obtención al biomaterial se le realizó una limpieza burda y posteriormente se sumergió en solución salina isotónica (cloruro de sodio al 0.9%) para su transporte al laboratorio, en donde, a cada uno de los pericardios se le retiró el exceso de grasa y tejido conectivo, para lavarlos con solución de Hank a 4° C, donde permanecieron durante 6 hrs. para después montarlos en bastidores. Finalmente, fueron sumergidos durante 15 días en una solución de glutaraldehído a una concentración de 0.5% con pH de 7.4; transcurrido éste tiempo, los pericardios se desmontaron de los bastidores (Fig. 1) y continuaron sumergidos en la misma solución de glutaraldehído. Previa a su utilización, se tomó de manera aleatoria una muestra del pericardio para realizar cultivo microbiológico de control, el cual siempre resultó negativo a hongos y bacterias piógenas.

Preparación del pericardio bovino tratado con glutaraldehído (PBTG) y ácido glutámico.

Posterior a la preparación del PBTG y ácido glutámico y con el uso de un agitador, se eliminó el exceso de glutaraldehído mediante tres lavados seriados de 30 minutos cada uno, utilizando solución salina fisiológica al 0.9% y cambiando ésta cada quince minutos (Fig. 2). Posteriormente, el PBTG se lavó durante dos horas con una solución de ácido glutámico al 0.001% y almacenó en ésta solución durante 8 hrs a 4° C en forma previa a su utilización en la cirugía.



Fig. 1. Pericardio bovino recién desmontado del bastidor para continuar en solución de glutaraldehído

Fig. 2. Lavado del pericardio bovino tratado con glutaraldehído y en solución de ácido glutámico al 0.001%.



Preparación del PBTG y liofilizado

Liofilización

Liofilización significa deshidratar o secado en frío. Se alcanza mediante la congelación de la sustancia húmeda, provocando que el hielo sublima directamente al vapor exponiéndolo a una presión parcial baja de vapor de agua. El sistema de colección es enfriado a una temperatura más fría que la temperatura del pericardio o producto a liofilizar, generalmente a -50 a -80°C .

Posteriormente el sistema de colección, se evacua usando una bomba de vacío, proceso que continua hasta que todas las matrices congeladas aparecen secas por completo.

La preparación del PBTG y liofilizado se realizó eliminando el exceso de glutaraldehído mediante tres lavados seriados de 30 minutos cada uno, utilizando solución salina fisiológica al 0.9% y cambiando ésta cada quince minutos. Posteriormente cada pericardio fue colocado dentro de un matraz de Erlenmeyer con la cara lisa adherida a la pared de dicho recipiente (Fig. 3). Acto seguido, el matraz se congeló a una temperatura de -70°C durante un período de 24hrs. Una vez congelado, el recipiente fue colocado en una liofilizadora (Labcono) bajo condiciones de vacío aproximadas a 10 micrones de Hg y una temperatura promedio de -55°C (Fig. 4) hasta que se logró por completo la deshidratación y por consiguiente la liofilización del PBTG. Finalmente el PBTG, se colocó en un empaque especial para su esterilización con gas (Fig. 5).

Las ventajas de la liofilización, es que el pericardio no requiere de refrigeración para mantenerse en óptimas condiciones, de modo que puede ser empaquetado y almacenado a temperatura ambiente previa esterilización del mismo.



Fig. 3. Pericardio bovino colocado en el matr az con la cara lisa hacia la pared del frasco, previo a su congelación y liofilización.

Fig. 4. Se puede observar el pericardio en proceso de liofilización.



Fig. 5. Pericardio bovino liofilizado, empaquetado y esterilizado con gas.

Obtención de las probetas de PBTG

Para la obtención de las probetas de PBTG, en el Laboratorio de Mecánica de Sólidos del Instituto de Investigación en Materiales de la UNAM, se diseñó un suaje (dispositivo de corte) tipo corbata con dimensiones de trabajo de 20mm de longitud, 5mm de ancho y de 0.4 a 0.5mm de espesor a partir de una sección de membrana de pericardio bovino; que se cortó en una máquina MTS-Minibionics, un controlador MTS-407 (National Instruments) manipulado por el software LabVIEW (Laboratory Virtual Instruments Engineering Works) (Fig. 6).

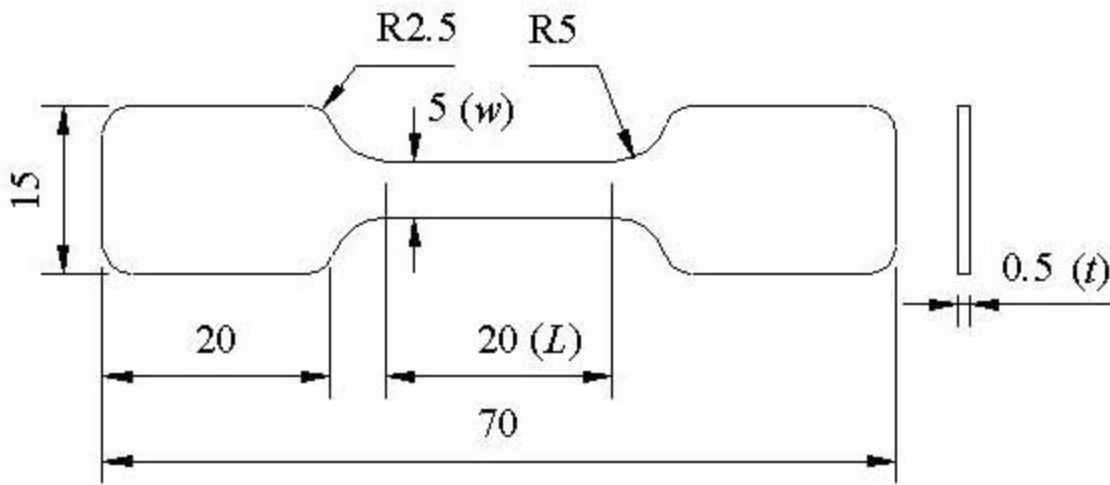


Fig. 6. Muestra de pericardio bovino para realizar pruebas de tensión uniaxial.

Grupos de estudio

Los animales fueron divididos en 4 grupos de estudio, de acuerdo con el procedimiento quirúrgico.

Grupo 1 (n=6): Plastía de abdomen, PBTG al 0.5% liofilizado.

Grupo 2 (n=6): Plastía de tórax, PBTG al 0.5% liofilizado.

Grupo 3 (n=6): Plastía de abdomen, PBTG al 0.5%, lavado con ácido glutámico y liofilizado.

Grupo 4 (n=6): Plastía de tórax, PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico y liofilizado

Técnica Anestésica

Los animales previo al procedimiento quirúrgico fueron puestos en ayuno para sólidos y líquidos. La anestesia para todos los grupos de estudio fue: parasimpaticolítico (sulfato de atropina al 0.044mg/kg SC), posteriormente se indujo anestesia mediante el uso hidrocloreuro de xilacina (Rompun, Bayer), a dosis de 0.1mg/kg y anestesiado con Propofol (Recofol, Pisa) a dosis de 6mg/kg peso vía intravenosa (IV); e inmediatamente intubados con sonda orotraqueal y conectados a un ventilador (Harvard Apparatus); finalmente la anestesia fue mantenida con isofluorano al 1.5% (NCM Anestesia Machine) con una FIO₂ de 1, un volumen corriente de 15ml/kg y una frecuencia respiratoria de 20/min., y como terapia analgésica prequirúrgica tartarato de butorfanol (Torbugesic Fort Dodge) a dosis de 0.1 mg/kg de peso (Fig. 7).

Una vez anestesiado, el perro fue colocado sobre la mesa quirúrgica en posición decúbito lateral derecha, y se procedió a la tricotomía y lavado con jabón quirúrgico de la zona abdominal; posteriormente se colocó sobre la mesa quirúrgica y se realizó la antisepsia de la zona con yodo povidona (Dermodine).

Previo a la cirugía, las bioprótesis de pericardio bovino, se les realizó con solución de NaCl al 0.9% tres lavados seriados de 10 minutos cada uno con el fin de retirar los excesos de glutaraldehído y/o ácido glutámico, dependiendo de la bioprótesis que se fuera a implantar en el

momento. Posterior al lavado del pericardio bovino, se tomó muestra de éste para control de cultivo microbiológico.



Fig. 7. Animal de experimentación colocado sobre la mesa quirúrgica en posición decúbito, conectado al ventilador y equipo de anestesia del laboratorio de Investigación Quirúrgica del INER.

Técnica Quirúrgica

Plastía de abdomen

En el grupo I se creó un defecto abdominal para ser reparado con una bioprótesis de PBTG al 0.5% liofilizado y grupo III se creó un defecto abdominal para ser reparado con una bioprótesis de PBTG al 0.5%, lavado con ácido glutámico y liofilizado; el defecto abdominal se realizó con límite craneal en la apófisis xifoides del esternón y límite caudal la cicatriz umbilical, llevando a cabo la disección de los tejidos por planos, a partir de la piel, tejido subcutáneo, fascia superficial, fascia recta anterior, músculo recto abdominal, fascia recta posterior y peritoneo de aproximadamente 8 x 8cm pudiendo ser variable de acuerdo con el peso y tamaño del animal (Fig. 8). Acto seguido, se procedió a la reparación del defecto utilizando una bioprótesis de PBTG al 0.5% de acuerdo con el grupo de estudio, la cual fue suturada a los bordes del defecto creado con polidioxanona (PDS 2-0) con puntos separados (Fig. 9). Finalmente se llevó a cabo el cierre del tejido celular subcutáneo y la piel con polidioxanona (PDS de 2-0), con puntos separados. En todos los casos la piel fue cerrada sobre el parche y no se dejó drenaje (Fig. 10).

Plastía de tórax

En el grupo II se creó un defecto torácico para ser reparado con una bioprótesis de PBTG al 0.5% liofilizado; en el grupo IV se creó un defecto torácico para ser reparado con una bioprótesis de PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico y liofilizado. El animal fue colocado en decúbito lateral derecho. Se realizó una toracotomía lateral izquierda abarcando aproximadamente del 5° al 7° espacio intercostal. La piel se incidió con bisturí (Fig. 11), inmediatamente se retrajo el músculo latissimus dorsi, así como la porción inferior del músculo trapecio. Se localizó el 5° espacio intercostal (Fig. 12), y se procedió a realizar cuidadosamente la incisión del músculo intercostal y la pleura entre el 5° y 6° espacio intercostal, finalmente se resecaron las costillas 5ª, 6ª y 7ª para crear un defecto en la pared torácica de aproximadamente 6 x 6 cm (Fig. 13). Se colocó la bioprótesis de PBTG al 0.5% para cerrar el defecto, de acuerdo con el grupo de

estudio, suturándose con polidioxanona (PDS 2-0) con puntos separados (Fig. 14). Después de la reconstrucción del tórax, se introdujo un tubo, por contra-abertura, para colocar un sello de agua y así recuperar la presión negativa del tórax del perro.



Fig. 8. Diseción de la pared abdominal previo a la creación del defecto para colocar bioprótesis de pericardio.

Fig. 9. Se puede observar la reparación del defecto mediante la colocación de la bioprótesis suturada con PDS 2-0 y puntos separados.





Fig. 10. Se puede observar la reparación total del defecto creado

Fig. 11. Cierre de la piel con puntos separados.





Fig. 12. Animal colocado en decúbito lateral derecho. Se realizó incisión en piel a la altura del 5° espacio intercostal.

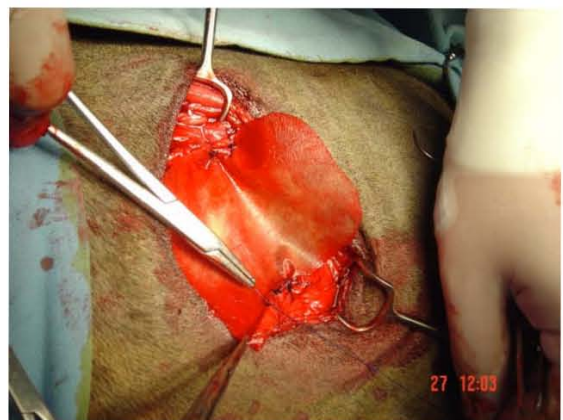
Fig. 13. Nótese la disección de los músculos; se pueden observar las costillas y músculos intercostales.





Fig. 14. Resección de las costillas 5,6 y 7 para la creación de un defecto de aproximadamente 6 x 6cm.

Fig. 15. Obsérvese el cierre del defecto mediante la colocación de la bioprótesis de pericardio bovino suturada con PDS 2-0.



Cuidados Postoperatorios.

Concluida la reparación de la pared abdominal y torácica con el PBTG, de acuerdo con el grupo de estudio, todos los animales recibieron terapia analgésica con tartarato de butorfanol (Torbugesic Fort Dodge) a dosis de 0.1 mg/kg de peso, antibióticos (penicilina G 800, 000 UI vía IM y estreptomicina (1g/24hr vía IM) durante una semana.

Evaluación Clínica

El período de evaluación posterior a la cirugía fue de 4 semanas, en el cual los animales fueron evaluados radiográficamente cada tercer día durante la primera semana y cada 7 días a partir de la segunda semana hasta concluir el tiempo de estudio.

La evaluación clínica consistió en realizar la observación del animal dentro de su jaula a fin de determinar el estado de ánimo, posteriormente toma de temperatura corporal, valoración de la coloración de mucosa oral, auscultación con estetoscopio de la cavidad abdominal o torácica para evaluar frecuencia respiratoria y cardíaca. Así como la presencia de sangrado y/o inflamación de la herida quirúrgica.

Evaluación Radiológica

Se tomaron placas de rayos X en las proyecciones ventro-dorsal y lateral para ambos casos; con la finalidad de evaluar en tórax la presencia de pneumotórax en caso de una mala colocación del implante en la pared torácica y en abdomen la ausencia de eventración. Los estudios radiográficos se realizaron antes y después de la cirugía, la primera semana cada tercer día y a partir de la segunda una cada semana hasta que concluyó el tiempo de estudio (Fig. 16).

Evaluación Macroscópica

Al término de las 4 semanas posquirúrgicas, los animales fueron sometidos a eutanasia con sobredosis de pentobarbital sódico (anestésico). Macroscópicamente se evaluó la cicatrización de las áreas quirúrgicas, se revisó cuidadosamente el sitio de implantación de la bioprótesis de PBTG y mediante observación directa, se evaluó el estado de la bioprótesis, su integración a los tejidos y tipo de cicatrización. Se determinó la cantidad de adherencias mediante una escala subjetiva: (0= sin adherencias, 1= adherencias mínimas locales de fácil desprendimiento, 2= adherencia completa de fácil despegamiento y 3= adherencia completa con adherencias firmes) (Fig. 17).

Se disecó el parche de PB para evaluar la presencia de dehiscencia, fibrosis, lisis o infección (Fig. 18).

Evaluación Microscópica

Concluida la evaluación macroscópica, se tomaron muestras de todas las bioprótesis de PB utilizados para realizar una evaluación microscópica, éstas fueron fijadas en formaldehído al 10% para ser incluidas en parafina, y realizar cortes de 4 μ y teñirlas con hematoxilina-eosina y tricrómica de Masson. En el laboratorio de histopatología del INER se evaluó la reacción inflamatoria, vasos de neoformación, dehiscencia o rechazo del injerto y presencia de calcio y colágena.



Fig. 16. Radiografía latero-lateral izquierda derecha del perro 6 del grupo III, en la que se observa región abdominal umbilical con formación de seroma.

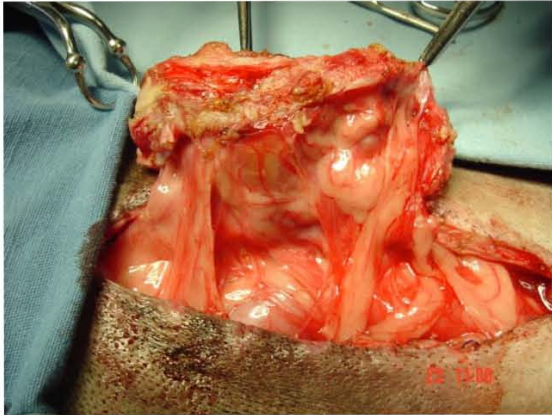


Fig. 17. Determinación de las adherencias.

Fig. 18. Procuración del injerto de pericardio bovino al término del estudio para valoración macroscópica del estado de la bioprótesis.



Pruebas de Resistencia

Determinación de las pruebas mecánicas y resistencia del PBTG

La caracterización mecánica del pericardio bovino es un factor importante para determinar la vida útil de ésta bioprótesis, el esfuerzo al que es sometido al implantarse en el organismo, así como determinar a través de dichos ensayos que tipo de pericardio soporta un mayor esfuerzo a fin de implantar aquella bioprótesis que presente mejores características de resistencia.

Para verificar el comportamiento del PB con diferentes tratamientos:

Se utilizaron 40 probetas de pericardio bovino para realizar pruebas de tensión uniaxial, para realizar pruebas de resistencia y evaluación funcional a todos los 4 grupos de estudio.

Grupo 1 (n=10): PBTG al 0.5% no liofilizado.

Grupo 2 (n=10): PBTG al 0.5% liofilizado

Grupo 3 (n=10): PBTG al 0.5%, lavado con ácido glutámico liofilizado

Grupo 4 (n=10): PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico no liofilizado

MÉTODO DE PRUEBA.

Para determinar las propiedades elásticas de esta bioprótesis, las pruebas se realizaron inmersas en solución salina (NaCl al 0.9%), con el objeto de que el PB conserve sus propiedades mecánicas.

Se midió el espesor de cada muestra, mediante mediciones seriadas a 5 puntos diferentes a lo largo de la probeta a fin de obtener el resultado en mm, usando un micrómetro digital de la marca Mitutoyo, el cual posee una precisión de $\pm 3\mu\text{m}$; a partir de éstos datos se estimó el área en mm^2 de la probeta, posteriormente se colocaron de manera independiente las muestras en las mordazas de la máquina las cuales sujetan a las probetas en cada uno de sus extremos; acto seguido se colocó el recipiente el cual contiene la solución salina al 0.9%, medio en el que se realizaron las pruebas de tensión uniaxial. La máquina MTS de manera simultánea y grafica el esfuerzo en

Mega Pascales (MPa) al cual es sometido el tejido. La información obtenida se empleará para calcular las curvas de esfuerzo vs. desplazamiento



Fig. 19. Medición del espesor de la muestra mediante el uso de micrómetro digital Mitutoyo.

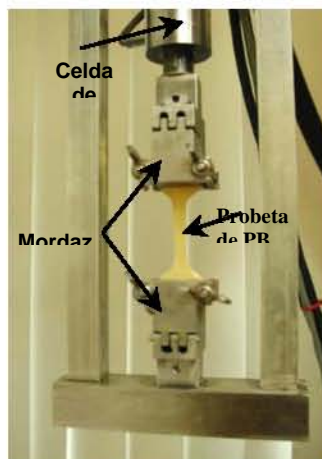


Fig. 20. Colocación de las muestras de PB en las mordazas de la máquina.

VII.- RESULTADOS

Control microbiológico del pericardio bovino

Los cultivos microbiológicos realizados al pericardio bovino al término de los 15 días de preservación en glutaraldehído, después de su liofilización y antes de ser colocadas como bioprótesis de la pared abdominal o torácica, siempre resultaron negativos. Los cultivos realizados a la solución de preservación también fueron negativos.

Hallazgos Clínicos

Se realizaron un total de 12 cirugías de reconstrucción de pared abdominal y 12 de reconstrucción de pared torácica, utilizando pericardio bovino con los tratamientos anteriormente descritos.

Todos los animales (100%) sobrevivieron al procedimiento quirúrgico y solo uno no completó el periodo de estudio debido a que presentó dehiscencia total y rechazo a la bioprótesis con infección severa de la herida quirúrgica.

Todos los animales (100%) durante todo el tiempo de estudio, permanecieron de buen ánimo, presentaron constantes fisiológicas normales. En el 95.8% de los casos, tuvieron buena cicatrización de la herida quirúrgica y solo el 4.16% presentó dehiscencia de puntos.

Con respecto a la evaluación de las adherencias, al momento de realizar la evaluación macroscópica, se realizaron los resultados entre grupo y fueron comparados a partir de la prueba Student-Newman-Keuls (SNK).

En el cuadro 1 se muestran los grupos estudiados, en donde se presentó el 71% de adherencias grado tres (adherencia completa y firme), mientras que el 29% fue de tipo 2 (adherencia completa de fácil despegamiento) ($P < 0.05$), no observándose adherencias tipo 0 (sin adherencias) y 1 (adherencias mínimas).

Con respecto a la adherencia grado 3 (adherencia completa y firme) se observó que el 35%, 29%, 23% y 12% para los grupos 3, 2, 1 y 4 respectivamente, sin encontrar diferencias ($P > 0.5$) entre ellos.

En el caso de las adherencias grado 2 (adherencia completa de fácil despegamiento) no se observaron diferencias ($P>0.05$) entre los grupos, siendo éstas del 57% para el grupo IV (PBTG al 0.5%, ácido glutámico y liofilizado con plastía de tórax), 28% para el grupo I (PBTG al 0.5% liofilizado con plastía de abdomen), 14% para el grupo II (PBTG al 0.5%, liofilizado con plastía de tórax) y finalmente del 14% para el grupo III (PBTG al 0.5%, ácido glutámico y liofilizado con plastía de abdomen).

GRUPO Adherencia	I	II	III	IV	TOTAL	%
0	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-
2	2	1		4	7	29
3	4	5	6	2	17	71

Cuadro 1. Grupos de estudio en donde se observó la formación de adherencias

Grupo I (n=6): Plastía de abdomen, PBTG al 0.5% liofilizado: Todos presentaron fibrosis moderada. Solamente se presentó rechazo en un perro, en la cual la bioprótesis estaba totalmente libre, presentando eventración, así como infección de la herida quirúrgica, motivo por el cual se dio fin de estudio a los 20 días posquirúrgicos, encontrándose muy friable la bioprótesis de pericardio.

Grupo II (n=6): Plastía de tórax, PBTG al 0.5% liofilizado: Todos los perros desarrollaron fibrosis severa. No existió evidencia de infección, sin embargo, en un caso el pericardio se encontró friable.

Grupo III (n=6): Plastía de abdomen, PBTG al 0.5%, ácido glutámico y liofilizado: Solamente un perro (16.6%) presentó dehiscencia de la herida quirúrgica, ninguno mostró infección, sólo uno presentó rechazo y en dos casos, el pericardio estuvo friable.

Grupo IV (n=6): Plastia de tórax, PBTG al 0.5%, ácido glutámico y liofilizado: El 33% de los animales presentó dehiscencia, el 16.6% infección y el 33.33% bioprótesis friables.

Con respecto a la presencia o no de seroma, el 58% presentó seroma, mientras que el 42% no ($P>0.05$); la presencia de seroma fue de 35% para el grupo II, 28% para el grupo I, 21% para el grupo IV y finalmente 14% para el grupo III ($P>0.05$). (Cuadro 2)

SEROMA	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III	GRUPO IV	TOTAL
NO	4	5	2	3	14
SI	2	1	4	3	10
TOTAL	6	6	6	6	24

Cuadro 2. Grupos de estudio en donde se observó la formación de seroma

Hallazgos radiológicos

Radiológicamente, al observar las placas laterolateral y ventrodorsales, inmediatamente después del procedimiento quirúrgico ningún perro (0%) se observó cambio radiológico anormal, ni presentó eventración de vísceras.

En las placas realizadas posteriormente y durante todo el estudio, únicamente el (33%) de los perros del grupo I (PTB al 0.5% con plastía de abdomen) presentó evidencia de seroma en la placa radiográfica, el (66.6%) de los perros del grupo III (PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico y liofilizado) presentó evidencia de seroma en la placa radiográfica

Hallazgos microscópicos

Los estudios de histológicos se realizaron en el Laboratorio de Histopatología del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

Al realizar la evaluación microscópica de las bioprótesis de pericardio bovino, así como de los tejidos circundantes, las muestras de 4 (66.66%) animales del grupo III con plastía de abdomen con PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico y liofilizado, tomadas al final del procedimiento quirúrgico mostraron una apariencia normal con desarrollo de fibras de colágena en el sitio de la reparación del defecto creado. Los 2 perros restantes (33%) presentaron fibrosis abundante. El perro 1 de éste grupo en la tinción H y E, evidenció inflamación aguda, presencia de abundantes neutrófilos, y gran cantidad de tejido fibrótico. Así mismo, en la tinción de Masson, presentó abundantes fibras de colágena compactadas.

El grupo IV con plastía de tórax con PBTG al 0.5%, lavado con ácido glutámico liofilizado) los seis perros (100%) presentaron gran formación de tejido fibroso, reacción inflamatoria aguda, abundantes neutrófilos. En el caso del perro #1 de éste grupo, éste presentó gran cantidad de células fibroblásticas, hemorragia, así como abundantes neutrófilos con reacción inflamatoria severa y formación de células gigantes.

El perro 4 del grupo IV la muestra de pulmón, presentó reacción inflamatoria, pulmón hiperhemorrágico con pérdida de la estructura pulmonar, así como vía aérea colapsada.

El grupo I con plastía de abdomen y reparado con una bioprótesis de PBTG al 0.5% liofilizado, cuatro de los animales (66.66%) desarrollaron infiltrado inflamatorio leve, mientras que los dos animales restantes (33.33%) presentaron gran cantidad de tejido fibroso.

El grupo II con plastía de tórax y reparado con una bioprótesis de PBTG al 0.5% liofilizado, uno de los animales, el perro #5 de éste grupo presentó formación de tejido fibrótico sin inflamación, los animales dos, tres y cuatro presentaron inflamación mínima y los dos animales restantes (33.33%) presentaron pleura con hiperreactividad y hemorragia.

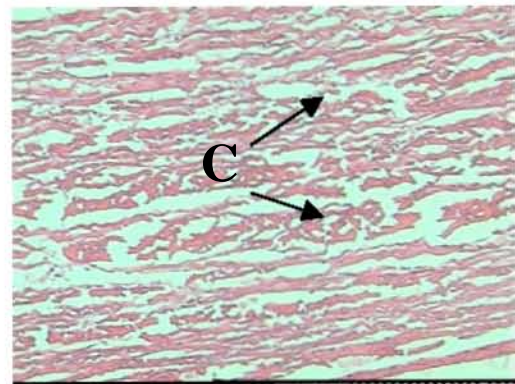


Fig. 21 Microfotografía de pericardio bovino con apariencia normal de las fibras de colágena ©. Izquierda: hematoxilina y eosina (H E) 10x. Derecha: hematoxilina y eosina (HE) 20x. Ambas del Grupo III (PBTG al 0.5%, lavado con ácido glutámico y liofilizado. (Perro #4).

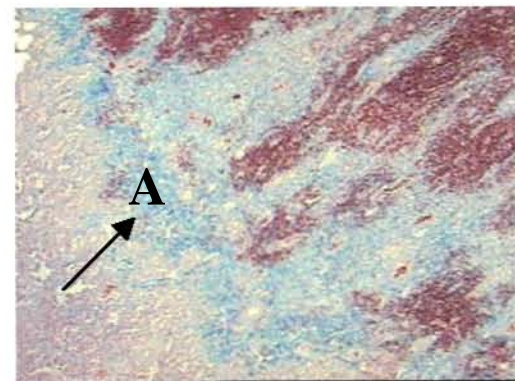
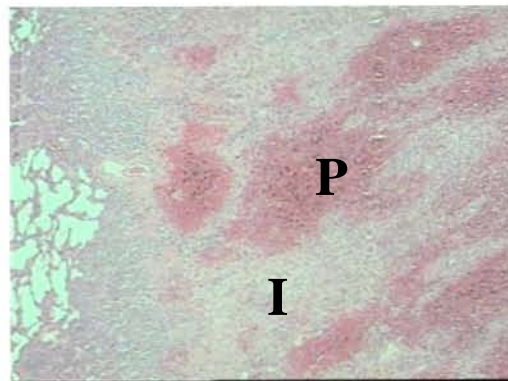


Fig. 22 Microfotografía de pulmón. Izquierda: hematoxilina y eosina (HE), nótese la presencia de inflamación (I), engrosamiento pleural (P) . Derecha: tricrómica de Masson con abundante colágena (A). Ambas del grupo IV (PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico y liofilizado. (Perro #3).

Resultados Estadísticos de las pruebas mecánicas.

En el cuadro 3 se muestran los promedios y error estándar de las variables esfuerzo, desplazamiento, módulo, deformación y elongación, de acuerdo con los grupos de estudio. Con respecto a esfuerzo se observó que los grupos I (PBTG al 0.5% no liofilizado) y II (PBTG al 0.5% liofilizado) fueron superiores a los grupos III (PBT al 0.5%, ácido glutámico no liofilizado) y IV (PBTG al 0.5%, ácido glutámico, liofilizado), siendo estos 57% menores.

Por su parte, el desplazamiento mostró que el grupo I (PBTG al 0.5% no liofilizado) presentó mayor desplazamiento (11.613mm), mientras que el grupo II (PBTG al 0.5% liofilizado) fue intermedio (9.3mm) y finalmente los grupos III (PBTG al 0.5%, ácido glutámico no liofilizado, presentó un desplazamiento (7.96mm) y el grupo IV (PBTG al 0.5%, ácido glutámico, liofilizado) un desplazamiento de (5.9mm). ($P < 0.05$)

En el caso del módulo, éste mostró que los grupos III (PBTG al 0.5%. Ácido glutámico no liofilizado) y IV (PBTG al 0.5%, ácido glutámico liofilizado) fueron 37% menores que los grupos I (PBTG al 0.5% no liofilizado) y II (PBTG al 0.5% liofilizado).

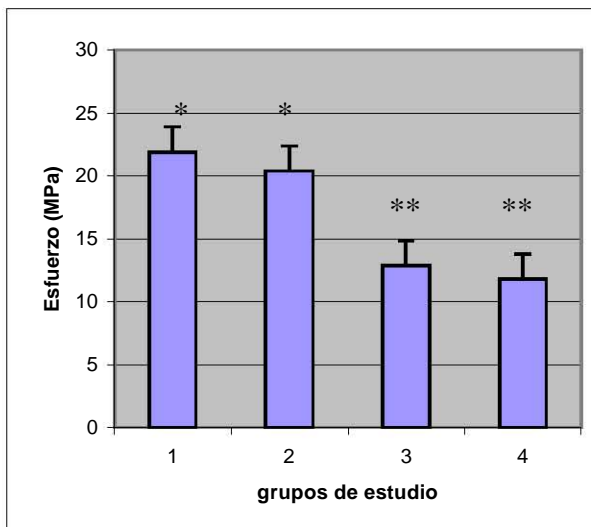
En el caso del porcentaje de elongación, mostró que el grupo I (PBTG al 0.5% no liofilizado) fue el que presentó mayor desplazamiento (57.8%), el grupo II (PBTG al 0.5% liofilizado) fue de (46.59%), finalmente, los grupos III (PBTG al 0.5%, ácido glutámico no liofilizado) y IV (PBTG al 0.5%, ácido glutámico, liofilizado) presentaron un porcentaje de elongación (39.8 y 29.89) respectivamente.

Finalmente, no se observaron diferencias entre grupos con respecto a la deformación. ($P > 0.05$).

	Esfuerzo MPa	Desplazamiento (mm)	Módulo	Deformación (mm)	Elongación (%)
Grupo I	21.898 b	11.613 a	118.39 b	0.472 a	57.8 a
Grupo II	20.368 b	9.318 ab	117.31 b	0.384 a	46.59 ab
Grupo III	12.864 a	7.961 b	47.13 a	0.3365 a	39.8 b
Grupo IV	11.822 a	5.979 b	41.12 a	0.1766 a	29.89 b
ee (±)	1.96	1.01	17.2	0.05	5.06

Cuadro 3. Determina por grupos cada una de las variables medidas en las pruebas mecánicas, así como el error estándar.

a, b. Promedios con diferente literal son estadísticamente significativos ($P < 0.05$).

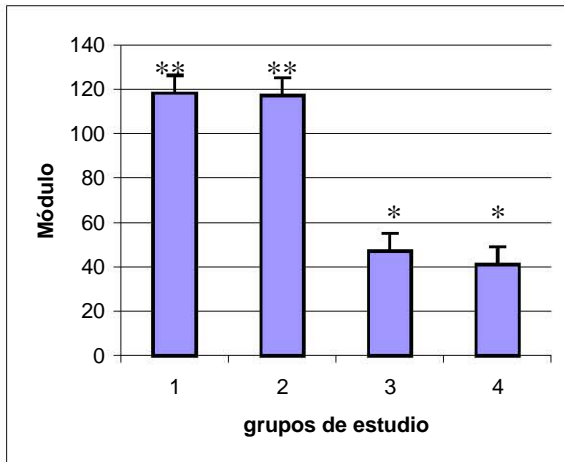


Gráfica 1. Aumento del esfuerzo en el Grupo I y II con respecto a los otros – Grupos.

* vs. ** ($P < 0.05$)

Gráfica 1 Respuesta el esfuerzo en MPa en los cuatro grupos.

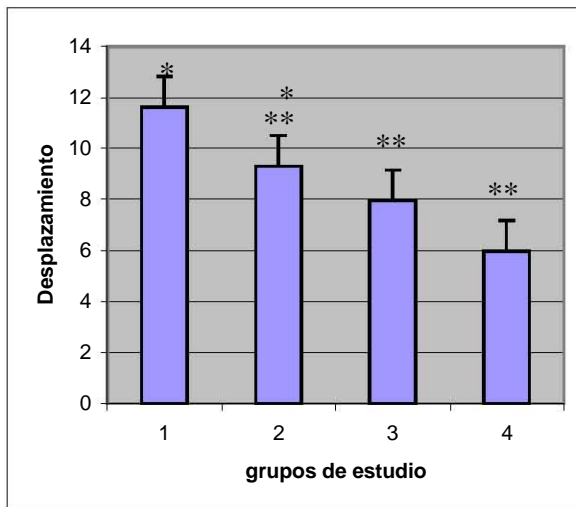
Grupos: I PBTG al 0.5%. II PBTG al 0.5% liofilizado. III PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico. IV PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico liofilizado



* vs ** (P<0.05)

Gráfica 2. Respuesta al módulo en los cuatro grupos.

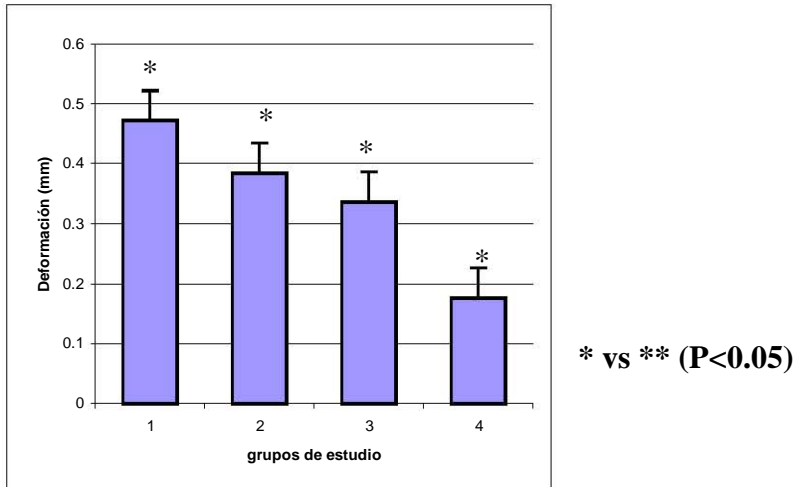
Grupos: I PBTG al 0.5%. II PBTG al 0.5% liofilizado. III PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico. IV PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico liofilizado



* vs ** (P<0.05)

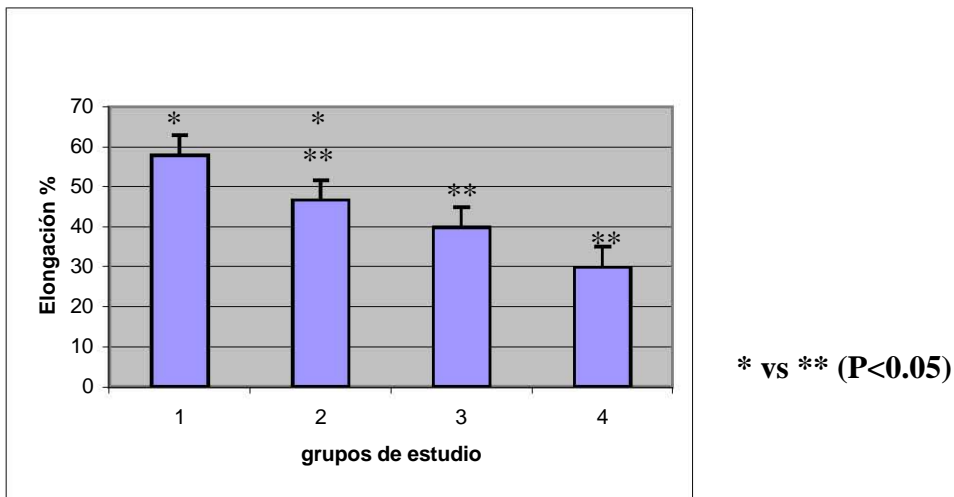
Gráfica 3. Respuesta al desplazamiento en los cuatro grupos.

Grupos: I PBTG al 0.5%. II PBTG al 0.5% liofilizado. III PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico. IV PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico liofilizado



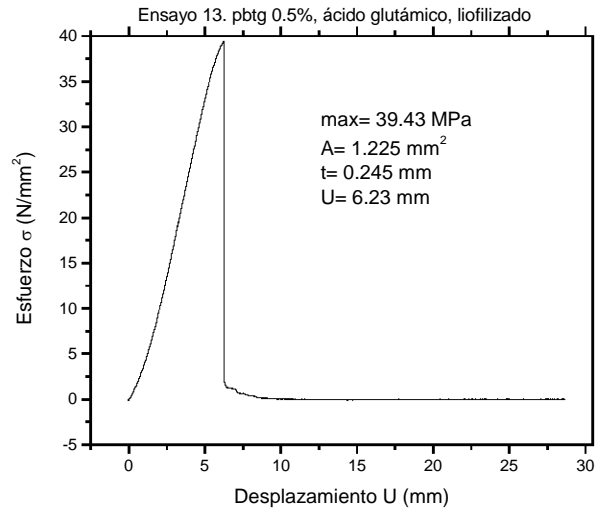
Gráfica 4. Respuesta a la deformación en los cuatro grupos.

Grupos: I PBTG al 0.5%. II PBTG al 0.5% liofilizado. III PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico. IV PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico liofilizado

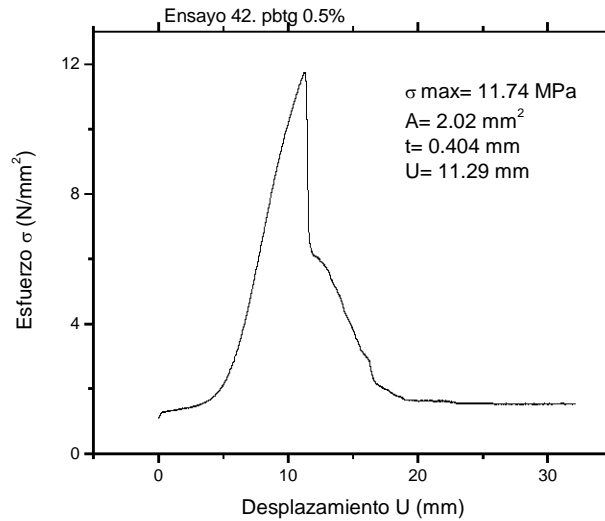


Gráfica 5. Respuesta a la elongación en % en los cuatro grupos.

Grupos: I PBTG al 0.5%. II PBTG al 0.5% liofilizado. III PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico. IV PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico liofilizado



Gráfica 6. Ensayo 4 de PBTG lavado con ácido glutámico y liofilizado.
Nótese el esfuerzo máximo alcanzado.



Gráfica 7. Ensayo 4 de PBTG al 0.5% liofilizado.
Nótese el esfuerzo máximo alcanzado.

VIII.- DISCUSIÓN

La bioprótesis de pericardio bovino tratada con glutaraldehído ha sido ampliamente utilizada en la elaboración de prótesis cardíacas, así como en conductos vasculares (1-6,9,10,14,19-21,24), cirugía reconstructiva (25,26), cirugía pediátrica (26), en la reparación de defectos herniarios diafragmáticos a nivel experimental (8,12,27), reconstrucción del esternón (7), resecciones pulmonares no anatómicas así como en reparaciones del septo nasal (33,34) y poco se ha reportado su uso en defectos toracoabdominales.

Una de las principales limitantes para que el uso de la bioprótesis sea intachable, es la respuesta inmunológica, así como la citotoxicidad que presenta el glutaraldehído, por lo cual se ha investigado ampliamente, tratando de entender de mejor manera su mecanismo de acción y la forma de neutralizar la citotoxicidad del glutaraldehído (18).

En este trabajo, se estudió se propusieron dos técnicas de tratamiento del pericardio bovino tratado con glutaraldehído (PBTG) para evaluar la utilidad en la reparación de defectos de pared torácica y abdominal.

Para comprobar la hipótesis, al realizar los cultivos microbiológicos de las bioprótesis tratadas con glutaraldehído al 0.5% liofilizada y no liofilizada y lavadas con ácido glutámico liofilizadas y no liofilizadas, después de 15 días de preparadas y antes de que fueran empleadas para la reparación de la pared torácica y abdominal en el estudio, encontramos que todos los perros (100%) fueron negativos debido a que el glutaraldehído actúa como germicida y con esto también se reduce la antigenicidad; esto coincide con lo reportado por el Dr. Santillán y colaboradores (1,2) quienes en sus trabajos de reparación de defectos abdominales empleando pericardio bovino tratado con glutaraldehído no encontraron crecimientos bacterianos en las bioprótesis utilizadas; y al mismo tiempo Grimm (51) reportó que el tratamiento del pericardio con ácido glutámico a un pH de 3.5 y almacenado en una solución no tóxica bacteriostática disminuyó el grado de calcificación cuando se implantó de forma subcutánea en ratas.

Con respecto a la evolución clínica de los animales a los que se les creó un defecto de la pared torácica o abdominal el (100%) de éstos presentaron una buena evolución clínica, sin presencia de sangrado posquirúrgico, alteración de las constantes fisiológicas y también durante el tiempo del estudio. El 95.8% de los casos, presentó buena cicatrización de la herida quirúrgica y solo el (4.16%) 1 perro presentó dehiscencia de los puntos.

En el caso de la formación de seroma, el (58%) 14 de los perros no presentó seroma y el (42%) 10 perros; aunque es conveniente mencionar que la formación de un seroma se debe a la presencia de espacios muertos entre los tejidos y que de ninguna forma es considerada como una evolución patológica, ya que es una acumulación estéril de suero y que es resultado de un proceso inflamatorio y un mecanismo de defensa del cuerpo. La causa del seroma es debido al uso de mallas o bioprótesis que no son porosas lo describe Martínez JM y colaboradores (62).

Radiológicamente no se observó diferencia alguna debido a que la bioprótesis en todos los casos se integró de forma adecuada al tejido implantado, no mostrando presencia de hemorragia ni eventración.

Macroscópicamente se identificó buena integración de la bioprótesis a los músculos abdominales y pared torácica. La formación de adherencias se comportó de la siguiente manera: el (71%) presentó adherencias grado 3 (adherencia completa y firme), mientras que el 29% restante las adherencias fueron grado 2 (adherencia completa de fácil despegamiento).

Microscópicamente, en los grupos I y II (PBTG al 0.5% liofilizado) con plastía de abdomen y tórax respectivamente, la bioprótesis desencadenó una respuesta inflamatoria moderada, en la mayoría de los casos, esto es 4 animales del Grupo I (66.66%) infiltrado inflamatorio leve y 5 animales del Grupo II (83.33%) formación de tejido fibrótico sin inflamación y el dos perros (33.33%) presentaron pleura con hiperreactividad y hemorragia.

En el caso de los grupos III y IV se observa una respuesta inflamatoria moderada a severa, así como formación de fibrosis e importante formación de adherencias firmes intraabdominales e

intratorácicas, lo cual es indicativo de que el uso del ácido glutámico y la liofilización, no disminuyen del todo la reacción que produce sobre los tejidos adyacentes.

En lo que respecta a las pruebas de tensión, los grupos I y II (PBTG al 0.5% sin liofilizar y PBTG al 0.5% liofilizado) fueron las que tuvieron un mejor comportamiento, debido a que soportaron un mayor esfuerzo en MPa, desplazamiento, módulo, deformación y porcentaje de elongación. Esto nos permite deducir que las bioprótesis de los grupos I y II son las que soportan una mayor carga y deformación. Al contrario con lo que sucede con las bioprótesis de los grupos III y IV (PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico no liofilizado y PBTG al 0.5% lavado con ácido glutámico y liofilizado), que soportan un menor esfuerzo y deformación.

IX.- CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados descritos anteriormente y de las pruebas de resistencia, las bioprótesis (PBTG) de pericardio bovino tratado con glutaraldehído al 0.5% no liofilizadas y liofilizadas, representan la mejor opción para reparar defectos de la pared toracoabdominal que las bioprótesis (PBTG) de pericardio bovino tratado con glutaraldehído al 0.5%, lavadas con ácido glutámico no liofilizadas y liofilizadas.

El tratamiento con glutaraldehído, ácido glutámico y la liofilización son procesos físico-químicos que permiten la preservación del pericardio bovino para ser empleado como bioprótesis para una gran cantidad de procedimientos, así como para la reparación de defectos de la pared torácica y abdominal.

Las bioprótesis de pericardio bovino tratadas con glutaraldehído y aquellas tratadas con glutaraldehído y además liofilizadas permiten una mejor cicatrización de los tejidos, así como una menor reacción a cuerpo extraño que aquellas tratadas con ácido glutámico.

Las bioprótesis de pericardio bovino (PBTG) tratadas con glutaraldehído al 0.5% sin liofilizar en su conjunto fueron las que tuvieron un mejor comportamiento al momento de realizarles pruebas de tensión uniaxial, debido a que soportaron un mayor esfuerzo en MPa, y que por consiguiente presentaron un mayor porcentaje de elongación. Cabe mencionar que el comportamiento de las bioprótesis de pericardio bovino (PBTG) tratadas con glutaraldehído al 0.5% y liofilizadas fue muy similar a las bioprótesis de pericardio bovino tratadas con glutaraldehído y sin liofilizar. Esto nos permite pensar que las dos son una excelente opción para la reparación de defectos de las paredes torácica y abdominal.

Las bioprótesis tratadas con glutaraldehído al 0.5% lavadas con ácido glutámico sin liofilizar o liofilizadas fueron las que provocaron una mayor reacción a los tejidos circundantes, lo que las hace una prótesis inadecuada para la reconstrucción sobre todo de la pared torácica.

Las bioprótesis de pericardio bovino tratadas con glutaraldehído, liofilizadas, abaten costos, son fáciles de preparar, procesos que le confieren una gran resistencia, flexibilidad, facilidad en el transporte y sobre todo en el manejo quirúrgico, ya que le permite al cirujano trabajar en forma inmediata con ellas. Además de que son más económicas que aquellas prótesis de materiales sintéticos, las cuales son caras y difíciles de obtener.

XI.- LITERATURA CITADA

1. Santillán DP, Jasso VR, Sotres VA, Olmos ZJR, García D, Vanda CB, Gaxiola GM, Santibáñez SJA, Martín MS, Cabello AR.: Thoracoabdominal wall repair with glutaraldehyde preserved bovine pericardium. *J Invest Surg* 1996;9:45-55.
2. Santillán DP, Jasso VR, Sotres VA, Olmos ZR, Arreola JL, García D, Vanda B. Reparación de defectos de pared toracoabdominal de perros con bioprótesis de pericardio bovino. *Rev Invest Clin* 1995; 47: 439-46.
3. Olmos ZR, Jasso VR, Sotres VA, Arreola RJL, Gaxiola GM, Vanda CB, Santillán DP. Utilización de pericardio bovino tratado con glutaraldehído en la reparación de defectos abdominales en ratas. *Cirujano General* 1996;18(3):161-165.
4. Jenkins SD, Thomas MD, Klamer MD, Parteka JJ, Condon RE. A comparison of prosthetic materials used to repair abdominal wall defects. *Surgery* 1983; 94(2):392-8.
5. Santibáñez SJA. Tratamiento quirúrgico de las hernias postincisionales con pericardio bovino tratado con glutaraldehído (tesis de especialidad). UNAM. México (D.F) México: Universidad Nacional Autónoma de México, 1986.
6. Olmos ZR, Jasso VR, Sotres VA, Arreola RJL, Gaxiola GM, Vanda CB, Santillán DP. Utilización de bioprótesis liofilizadas en la reparación de defectos abdominales en ratas. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex* 1996; 9:183-186.
7. Jasso VR, Olmos ZR, Arreola RJL, Sotres VA, Vanda CB, Santillán DP. Reconstrucción del esternón con pericardio bovino tratado con glutaraldehído (PBTG). Estudio experimental. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex* 1995;8(3):189-191.
8. Gallo MD, Artiñano E, Val F, Duran C. Glutaraldehyde-preserved heterologous pericardium for the repair of diaphragmatic defects. *Thorac Cardiovasc Surg*, 1982;
9. Bauer JJ, Salky. Repair of large abdominal wall defects with expanded polytetrafluorethylene. *Ann Surg* 1987: 206-65.
10. Usher FC. New technique for repairing incisional hernias with marlex mesh. *Am J Surg* 1979; 138:740-744.
11. Nyhus LM, Condon RE. *Hernia*. Philadelphia Lippincott, 3a ed. 1989.
12. Santana Ferreira BIF, Correa JJJ, Loenardi LS. *Hepato-Gastroenterology* 2003; 50-839-840.

13. Hernández MLF, Arango CJE, Juana M. Pericardio heterólogo como material protésico en cirugía. *Rev Cubana Cardiol Cir Cardiovasc* 1996; 10(1).
14. Parulkar BG, Mathur SK, Supe AN, Samsi AB, Vora IM. Use of indigenous knitted nylon mesh to repair large abdominal defects-an experimental study. *Journal of Postgraduate Medicine* 1986; 32(4):214-8.
15. Ionescu IM, Ross DN, Wooler GH. Biological tissue in heart valve replacement. 1972 Chap 22:515-41, London.
16. Ionescu IM, Tandom AP. Tissue heart valves 1979; 6:201. London Butterworths.
17. Bodnar E, Olsen EGJ, Ross DN. Observations on glutaraldehyde-treated heterologous cardiac valves *Thorax* 1979;34:794-800.
18. Maizato MJS, Higa OZ, Mathor BM, Camillo APM, Spencer JP, Pitombo NR, Zavaglia AC, Leirner AA. Glutaraldehyde-treated bovine pericardium: Effects of lyophilization on cytotoxicity and residual aldehydes *Artificial Organs* 2003;27(8):692-694.
19. Khor E. Methods for the treatment of collagenous tissues for bioprostheses. *Biomaterials* 1997;18(2):95-105
20. Bauer JJ, Harris MT, Kreel I, Gelernt IM. Twelve-year experience with expanded polytetrafluoroethylene in the repair of abdominal wall defects. *Herniorraphy* 1999;66(1):20-25.
21. Bellón JM, Contreras LA, Bujan P, Bujan J. Neoperitoneal formation after implantation of various biomaterials for the repair of abdominal wall defects in rabbits. *Eur J Surg* 1999; 165:145-150.
22. Meddings RN, Carachi R, Gorham S, French DA. A new bioprosthesis in large abdominal wall defects. *J Pediatric Surg* 1993;28(5):660-3.
23. Chandy T, Mohanty M, John A, Rao BS, Sivakymar R, Sharma CP, Valiathan MS. Structural studies on bovine bioprosthetic tissues and their in vivo calcification: prevention via drug delivery. *Biomaterials* 1996; 17(6):577-585.
24. Carpentier et al. Six year follow-up of glutaraldehyde-preserved heterografts. *Journal of Thorac Cardiovasc Surg* 1974;68(5):771-781.
25. Gomes QJ, Caneves RS, Souza RN, Crocci AJ. Comparison of glycerin preserved bovine pericardium and a polyester mesh for the repair of abdominal wall defects in rats. *Acta Cir Bras* 2003;18(4):

26. Hellstrom WJ, Reddy S. Application of pericardial graft in the surgical management of Peyronie's disease. *J Urol* 2000;163:1445-7.
27. Pais V, Jiang Z, Fung L. Foreign body reaction to bovine pericardium a previously unreported complication of pediatric chordee repair. *J Urol*;168:702-703.
28. Olmos ZR. Estudio funcional y microestructural de bioprótesis de pericardio bovino tratado con glutaraldehído en diafragma en perros (tesis de maestría). México (D.F.) México: Universidad Nacional Autónoma de México, 1990.
29. Carpentier Biological factors affectin long-term results of valvular heterografts *J Thorac Cardiovasc Surg* 1969; 58(4):467-483.
30. Olmos ZR, Jasso VR, Sotres VA, Cedillo LI, Arreola RJL, Gaxiola GM, Santillán DP. Utilidad del pericardio bovino tratado con glutaraldehído en resecciones pulmonares no anatómicas en perros. *Rev Inst Nal Enf Resp* 1997;10(3):155-159.
31. Olmos ZR, Jasso VR, Sotres VA, Gaxiola GM, Argote GLM, Lara GH, SantillánDP. Evaluación de la utilidad del pericardio bovino en resecciones pulmonares no anatómicas en perros. *Rev de Investigación Clínica* 2002;54(4):334-341.
32. Olmos ZR, Jasso VR, Sotres VA, Gaxiola GM, Cedillo LI, Argote-GreeneLM, Santillán DP. Suture-line reinforcement with glutaraldehyde-preserved bovine pericardium for nonanatomic resection of lung tissue 2001;14:161-168.
33. Hazelrigg SR, Boley MT, Naunheim KS, Magee JM, Lawyer C, Henkle QJ and Keller NC. Effect of bovine pericardial strips on air leak after stapled pulmonary resection *Ann Thorac Surg* 1997;63:1573-5.
34. Olmos ZR, Jasso VR, Gutiérrez ML, Sotres VA, Manjarrez VR, Gaxiola GM, Avila CA, Avendaño MG, Santillán DP. Usefulness of bovine pericardium as interpositional graft in the surgical repair of nasal septal perforations (Experimental study) *Jour Inv Surg* 2003;16:209-217.
35. Schmidt C, Bailer J. Acellular vascular tissues: natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering. *Biomaterials* 2000;21:2215-2231.
36. GarcíaPJM, Herrero JE, Sanmartín C, Millán I, Condon A, Maestro M, Rocha A, Arenaz B, Castillo OJL. Comparison of the mechanical behaviours of biological tissues subjected to uniaxial tensile testing: pig, calf and ostrich pericardium sutured with gore-tex. *Biomaterials* 2003;1671-1679.

37. Gratzner PF, Pereira CA, Lee M. Solvent environment modulates effects of glutaraldehyde cross linking on tissue-derived biomaterials. *J Biomed Mater Res* 1996;31:533-543.
38. Simionescu D, Simionescu A, Deac R. Mapping of glutaraldehyde treated bovine pericardium and tissue thickness measurements. *J Biomed Mater Res* 1993;27(6):697-704.
39. Hiester ED, Sacks MS. Optimal bovine pericardium selection sites II. Cartographic analysis *J Biomed Mater Res* 1998;39:215-221.
40. Samouillan V, Dandurand J, Lacabbane C, Thoma RJ, Adams A, Moore M. Comparison of chemical treatments on the chain dynamics and thermal stability of bovine pericardium collagen. Wiley Periodicals, Inc 2002; 330-338.
41. Grabenwöger M, Grim M, Eybl E, Leukauf C, Müller M. Decreased tissue reaction to bioprosthetic heart valve material after L-glutamic acid treatment. A morphological study. *J Biomed Mater Res* 1992;26:1231-1240.
42. Golomb G. Controlled release of diphosphonates from synthetic polymers to inhibit calcification. *J Biomat Apl* 1987;2:226-288.
43. Pérez CD, Sotres VA, Jasso VR, Olmos ZR, Villalba CJ, Santibáñez SJA, Santillán DP. Uso del pericardio bovino tratado con glutaraldehído. *Rev Inst Nal Enf Resp* 2005;18(3):224-229.
44. Fishbein MC, Levy RJ, Ferrans V, Dearden CL, Carpentier A. Calcification of cardiac valve bioprostheses. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1982;83:602-609.
45. Maranto AR, Schoen FJ. Alkaline phosphatase activity of glutaraldehyde-treated bovine pericardium used in bioprosthetic cardiac valves *Cir Res* 1988;63:844-848.
46. Vasudev S, Chandy T, Mohanty M, Umasankav PR, Sharma CP. Inhibition of bioprosthesis calcification due to Synergistic effect of Fe/mg ions to polyethylene glycol grafted bovine pericardium. *J Biomat Apl* 2001;16:93-107.
47. Grabenwoger M, Sider J, Fitzal F et al Impacto of glutaldehyde on calcification of pericardial prosthetic heart valve material. *Ann Thorac Surg* 1996;63:772-778.
48. Zhang Z, Dong H, Liu J, Wang W, Hu B. Vascular endothelial growth factor gene transfer improves host endothelialization of xenogenic biological heart valve in vivo. *Chin Med J* 2002;115(6):878-883.

49. Soncini DaRG, Dacosta FD, Mesquita L, Costa I. Estudio comparativo de la eficacia del etanol y del ácido glutámico en la prevención de la calcificación de las cúspides y de la pared aórtica del cerdo: estudio experimental en ratas. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2002; 17(2):148-159.
50. Grabenwoger M, Sider J, Fitzal F, Zelenka. Impact of glutaraldehyde on calcification of pericardial bioprosthetic heart valve material. *Ann Thorac Surg* 1996;62(3):772-7
51. Grimm M, Eybl E, Grabenwoger M, Griesmacher A, Losert U, Bock P, Muller M and Wolner E. Biocompatibility of aldehyde-fixed bovine pericardium. An in vitro and in vivo approach toward improvement of bioprosthetic heart valves *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991;102:195-201.
52. Franks F. Freeze-drying of bioproducts: putting principles into practice. *Eur J Phar Biophar* 1998;45:221-229.
- 53.- Días MNE. Reconstrucción de arteria pulmonar en perros con aloinjertos de arteria pulmonar liofilizada o tratada con glutaraldehído y ácido glutámico.
- 54.- Showman JW. Downstream Process: Equipment and Techiques. 1988: 315-351.
- 55.- Rey JF, Kruse A, Neumann C. Techinal note on cleaning and disinfection. *Endoscopy* 2003;35:869-877.
- 56.- Holt JP. The normal pericardium. *Am J Cardiol* 1970;26:455-465.
- 57.- Elias H. Boyd LJ. Notes on tha anatomy, embryology and histology of the pericardium. II. *N. Y Med Coll News Notes*, 1960;2:50-75.
- 58.- Ishihara T, Ferrans VJ, Jones M, Boyce SW, Kawanami O, Roberts WC. Histologic and ultrastructural features of normal human parietal pericardium. *Am J Cardiol* 1980;46:744-753.
- 59.- Smith BJ. *Canine Anatomy*. Lippincott Williams, Philadelphia,1999.
- 60.- Evans & de Lahunta. *Dissección del Perro de Miller*. McGraw Hill. 5ª. Ed, 2002.
- 61.- Budras KD, Mc Carthy PH, Fricke W, Richter R. *Anatomy of the dog. An illustrated text*. 4a ed. Blackwell Pub Profesional, 2002.
- 62.- Martínez JM, Vergara VF, Mendiola JI, Viñas DJC. Seoma por hernioplastía inguinal preperitoneal por vía laparoscópica. Informe de un paciente. *Cirujano General* 2000;22(1):69-71.
- 63.- *Polymer Engineering Principles. Properties, processes, test for design*. Progelhof RC, Throne JL. Hanser/Gardner Publications, INC, Cincinnati, 1993. pags. 191-193.

64.- William F. Riley, Leroy D. Sturges, Don H. Morris. Mechanics of Material. 5a edición.. Ed. John Wiley & Sons, INC, 1999.USA.

APÉNDICE I

Equipo utilizado para evaluar la resistencia de los materiales.

Los aparatos que realizan las pruebas de tensión son de varios tipos y se emplean para aplicar cargas de tensión controladas para evaluar las muestras. El equipo debe ser capaz de variar la velocidad de aplicación de la carga además de medir de manera exacta las fuerzas, deformación y elongaciones aplicadas a las muestras (63).

Las máquinas más exactas son aquellas que emplean presión servohidráulica, ya que son capaces de generar velocidades y fuerzas más grandes que aquellas generadas por los equipos electromecánicos; además de ofrecer un amplio rango de control y variación de carga aplicada a la muestra (63).

Las máquinas servohidráulicas poseen una combinación de componentes hidráulicos y eléctricos. El principal componente hidráulico es el actuador, el cual se puede extender o retraer cuando se aplica presión de tipo hidráulico a cualquier lado del pistón. La celda de carga o transductor de desplazamiento, convierte la fuerza aplicada o el desplazamiento en una señal eléctrica (63).

Probeta

Muestra de cualquier sustancia o material para probar su elasticidad o resistencia.

Fuerza tensil

Es la carga necesaria para producir la ruptura de las fibras del pericardio, se expresa en Mpa.

Elongación

Es la distancia máxima del material estudiado antes de que aparezca la ruptura, con la que se pierde toda posibilidad de reversibilidad, la cual es expresada en porcentaje. La elasticidad es la capacidad de un cuerpo de resistir la influencia de distorsión o esfuerzo y de regresar a su tamaño original cuando se le quita dicho esfuerzo. Todos los sólidos son elásticos para una pequeña

deformación, pero si el esfuerzo excede a cierta cantidad conocida como el límite elástico, se produce una deformación. Tanto la resistencia al esfuerzo y el límite elástico dependen de su composición.

Para fines de éste trabajo, se definirá elongación como el cambio por unidad de longitud lineal expresado en porcentaje; y tensión es la carga sobre un espécimen dividido por el área a través de la cual actúa.

En general, a mayor viscoelasticidad, más deformable es el pericardio y mayor es el porcentaje de elongación.

Pruebas de Tensión

Los datos de las gráficas de esfuerzo-deformación se obtienen aplicando una carga axial a una muestra y midiendo de manera simultánea la carga y deformación. Una máquina de pruebas se emplea para deformar una muestra y medir la carga necesaria para producir una deformación. El esfuerzo se obtiene dividiendo la carga por el cruce de la sección inicial de la muestra.

Esfuerzo

Es la intensidad de fuerza.

En una barra con un área de cruzamiento seccional uniforme. Una fuerza S es aplicada axialmente a la barra, la fuerza axial que se extiende para elongar la barra es denominada fuerza axial; a la fuerza que tiende a contraer la barra se denomina fuerza compresiva. Las fuerzas de tensión son positivas, compresivas y negativas cuando la fuerza se aplica de manera uniforme a través de la barra. El esfuerzo denominado esfuerzo normal se denota como (σ) .

Un cuerpo debe ser capaz de resistir una intensidad de fuerza interna, de lo contrario el cuerpo puede sufrir una ruptura o una deformación excesiva. La intensidad de fuerza (esfuerzo o estrés) es la fuerza dividida por el área sobre la cual se distribuye la fuerza

Fuerza F

$$\text{esfuerzo} = \frac{\text{fuerza}}{\text{área}} = \frac{S}{A}$$

Donde A es la superficie de área paralela a la fuerza aplicada; la carga aplicada puede no ser puramente normal o paralela a una sección de cruzamiento dada. El esfuerzo resultante, S, es entonces resuelto hacia un esfuerzo normal (63)

Desplazamiento

Es el movimiento de un punto con respecto a un sistema de ejes de referencia conveniente. En algunos casos el desplazamiento está asociado a la rotación del cuerpo como un todo y nunca cambia el tamaño o forma del cuerpo. Cuando el desplazamiento inducido por la aplicación de cargas provoca que el tamaño o la forma del cuerpo se altere. El cambio en cualquier dimensión asociada con éste desplazamiento relativo es conocido como deformación.

Módulo de Elasticidad

Es la porción inicial de la gráfica de esfuerzo-deformación. La cual en la mayoría de los materiales, es una línea recta, aunque existen materiales en los que se presenta una ligera curva aún a esfuerzos muy pequeños. Se utiliza dibujar una línea recta para promediar los datos de la primera parte de la gráfica y no considerar la curva. La ley de Hooke únicamente describe la porción lineal inicial de la gráfica esfuerzo-deformación siendo válida nada más para pruebas de tensión uniaxial.

Deformación

Es la cantidad usada para medir la intensidad de una deformación únicamente como esfuerzo (fuerza por unidad de área) y es usada para medir la intensidad de una fuerza interna (64).