



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA**

**PETRÓLEOS MEXICANOS  
SUBDIRECCIÓN DE SERVICIOS DE SALUD  
GERENCIA DE SERVICIOS MÉDICOS  
HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD**

*ESTUDIO COMPARATIVO PARA LA REPARACIÓN NERVIOSA  
UTILIZANDO POLITETRAFLUOREILENO (GORE-TEX) Y  
NEURORRAFIA TERMINOTERMINAL EN NERVIIO CIÁTICO DE  
RATAS.*

**ESTUDIO EXPERIMENTAL EN RATAS WISTAR.**

**T E S I S**

**PARA OBTENER EL TÍTULO EN:**

***CIRUGÍA PLÁSTICA Y RECONSTRUCTIVA***

**PRESENTA:**

**DRA. ANA MAYRA BATALLA CAMARGO**

**ASESOR DE TESIS:**

**DR. FRANCISCO JAVIER CARRERA GÓMEZ**



MÉXICO, D. F.

2008



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**DR. CARLOS FERNANDO DÍAZ ARANDA**  
DIRECTOR

**DRA. JUDITH LÓPEZ ZEPEDA**  
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

**DR. FRANCISCO JAVIER CARRERA GÓMEZ**  
JEFE DE SERVICIO PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE CIRUGÍA PLÁSTICA Y  
RECONSTRUCTIVA

**DR. FRANCISCO JAVIER CARRERA GÓMEZ**  
ASESOR DE TESIS.

## AGRADECIMIENTOS

**A Dios:** Por darme la fortaleza para alcanzar el mayor sueño y mi más grande meta.

“El da poder al débil y multiplica las fuerzas del que no tiene ninguna, pero lo que esperan en Dios, tendrán nuevas fuerzas, levantarán las alas como las águilas, correrán y no se cansarán, caminarán y no se fatigarán”.

Isaías 40

**A la Virgen María:** Por tu consuelo en los momentos más difíciles y todas tus bendiciones.

**A mis Padres:**

“Para aprender a irnos, caminamos, dejamos atrás las colinas, los valles, los verdeantes prados, miramos su hermosura, pero no nos quedamos. Llevamos nuestros pies donde la soledad tiene su casa, pero la hoja que el otoño desprende de la rama, conoce los caminos de regreso. El amor que nos ama, no aparta de nosotros ni un instante su mirada, bajo ella estamos todos los dispersos, como espigas en haz, en gavilla apretada”.

R. Castellanos

Mamá : Gracias por tu amor y apoyo incondicional , por todo lo que has hecho por mí , por estar ahí en las buenas y en las malas...por el ejemplo de bondad que es mi mejor regalo.

Papá: Gracias por tu ejemplo, has sido mi inspiración para lograr mis sueños, gracias por tu cariño y apoyo. Te admiro mucho papá.

**A mis Hermanos**

Gaby: Mi mejor amiga, ejemplo de honestidad y tenacidad que fueron un pilar en mi educación.

Carlos: Por tu ejemplo de cordura tranquilidad y paciencia.

Los quiero mucho . Son lo mejor de mi vida!

**Armado:** Agradezco a Dios haberte conocido; has sido una bendición más en mi vida. Gracias por tu apoyo y tu cariño en esta importante etapa de mi vida.

Naty: Pequeño ser que me hace sonreír todos los días!

**A mi Familia.:** A mis tíos: Lupita, Vina, Ramiro, Lety, A mis primos y primas gracias por su cariño

### **A mis Profesores:**

“El tenue hilo que, saliendo del tejido a veces tan anche del saber y de las ciencias, corre a través de todos los tiempos, es continuado por los maestros, que nos abren los ojos, al principio con gran disgusto de nuestra parte, pero al final, con asombro y edificación, esto es algo positivo que puede ser transmitido de generación en generación “ J.W.Goethe

### **Gracias**

Dr. Javier Carrera. Por toda su enseñanza, su paciencia, gracias por confiar en mi.

Dr. Eduardo Gutiérrez Por su ejemplo y por su enseñanza tan valiosa en mi formación.

Dra. Silva, Dr. Cuervo, Dr. Cahuana, Dr. Duran, por contribuir en mi formación como especialista y como persona.

A mis profesores que también contribuyeron en mi formación en las rotaciones externas Dr. Papadóulos, Dr. Cienfuegos, Dra. Marcia Pérez, Dra. Araceli Pérez.

A la Dra. Judith López gracias por impulsarme a ser mejor y por su ejemplo de disciplina.

Dra. Norma Salgado le agradezco su paciencia y sus atenciones y ayudarme en este proyecto.

### **A mis compañeros:**

Marcos, Julio, por su amistad y por compartir todos los momentos y experiencias juntos. A, Benjamín, Mauro, Jorge y Fernando, por su amistad y paciencia. A mis ex compañeros Paco, Carlos, Ary, Gerardo y Ramón. A todos ustedes les reitero mi amistad, respeto y cariño.

### **Agradecimiento especial**

Personal de este Hospital que contribuyeron en mi tesis:

Dra. Rivera por su gran interés en mi trabajo, admirable su pasión hacia su trabajo,

Al Dr. Venegas por su aportación valiosa en las electromiografías, al los Veterinarios del Bioterio Dr. Guzmán, Dr. Liconá, Dra. Margarita, Dr. Edgar, gracias, sin ustedes mi trabajo no hubiera sido posible.

***“Detrás de cada logro hay otro desafío”***

*Madre Teresa de Calcuta.*

## ÍNDICE

II. Definición del Problema.....	1
III. Marco Teórico.....	2
IV. Justificación.....	6
V. Hipótesis.....	7
VI Objetivo General.....	8
Objetivos Específicos.....	8
VII Tipo de Estudio.....	9
VIII DISEÑO.....	9
a) Definición del Universo.....	9
b) Criterios.....	9
c) Métodos de Selección de la Muestra.....	10
d) Definición de Variable.....	10
e) Material y Métodos.....	11
IX PROCESAMIENTO Y PRESENTACIÓN DE LA INFORMACIÓN.....	14
X. CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	15
XI. RECURSOS Y LOGÍSTICA.....	15
XII RESULTADOS.....	16
XII DISCUSIÓN.....	18
XIII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
ANEXOS.....	20

## II. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

A pesar del uso de técnicas microquirúrgicas finas, las lesiones a nervios periféricos todavía constituyen un desafío clínico y un problema quirúrgico. Después de la colocación de suturas epineurales o perineales, las estructuras fasciculares internas en la línea de sutura se vuelven desorganizadas.

Los axones crecen en forma desorganizada, y esto es considerado uno de los factores comunes de obstaculización para recuperar una función nerviosa completa.

Posterior a una lesión nerviosa, el resultado es una brecha o “gap”. Existe retracción del tejido del epineuro, seguido de extrusión de tejido endoneural. Colocando suturas en el epineuro e perineuro el resultado es un tejido endoneural comprimido y desorganizado (1)

El objetivo final de la reparación del nervio periférico es recuperar la función que requiere una apropiada regeneración neuronal. Esto incluye

- 1) Elongación de un adecuado número de axones regenerativos
- 2) Reinervación apropiada del órgano blanco
- 3) Maduración subsiguiente del nervio regenerado
- 4) Integración apropiada del sistema nervioso central

La reparación quirúrgica es la intervención con el mayor impacto en pronóstico para restablecer la continuidad y minimizar de desorganización axonal.(2)

Las lesiones en nervio periférico, particularmente en extremidades, pueden tener consecuencias devastadoras. El resultado de la lesión es determinado por la cantidad de daño celular y algunas variables las cuales incluyen el sitio de la lesión, el grado de disrupción, la extensión de lesiones asociadas, particularmente lesiones vasculares y la edad y estado de salud del paciente.

Actualmente las prótesis sintéticas podrían tener la gran ventaja de proporcionar una opción en la reconstrucción tejidos. Uno de los materiales sintéticos más utilizados es el Politetrafluoroetileno (Gore-tex). Está constituido por polímeros lineales enlazados, sin uniones cruzadas, a unidades de carbono polifluoradas con pesos moleculares de 6 a 10 millones. Este ofrece mayores ventajas comparadas con otros materiales sintéticos debido a que es altamente electronegativo (-17meV) e hidrofóbico. Sus características físicas, mecánicas y su estructura porosa permiten ser una estructura no trombogénica, no adhesivo y no provoca fricción, prácticamente no causa reacción inflamatoria en el cuerpo, no es alergénico, permite el crecimiento de tejido en su interior utilizada muy frecuentemente en prótesis vasculares, reparación de ligamentos y reconstrucción de pared torácica y abdominal y puede ser una estructura que favorezca la reparación nerviosa.

A través de este estudio experimental se propone utilizar el Politetrafluoroetileno (Gore-tex) para realizar reparación nerviosa y demostrar que es un material que permite una adecuada regeneración nerviosa.

### III. MARCO TEÓRICO

Las lesiones nerviosas son un problema que requiere alternativas microquirúrgicas. Desde el siglo pasado, diferentes investigadores han generado estrategias que favorezcan una buena conducción nerviosa (3,4), aunque la regeneración nerviosa no depende únicamente de una técnica quirúrgica meticulosa, sino de la influencia de factores proteicos secretados por células de la vecindad del nervio dista como lo es el flujo axonal del factor neurotrófico ciliar (5) o el factor de crecimiento transformante B, TGF-B (3) cuya capacidad fibrogénica estimula la formación de tejido cicatrizal en el sitio de la neurorrafia lo cual impide la reconexión axonal; por lo que el desarrollo de nuevas técnicas de reparación se han enfocado a evitar o disminuir el fenómeno fibrogénico a través de la regulación del tejido conjuntivo circundante al sitio del daño.

Algunos intentos para este propósito incluyen neurectomía interna, tubulización a través de materiales sintéticos como silastic, polietileno, surgicel, acrílico semipermeable, polilactato biodegradable o ácido poliglicólico (6,7) ; incluso materiales biológicos como arteria, vena y vainas pseudosinoviales ( 8,9). Otros intentos de reparación nerviosa han sido a través de la utilización de láser (10), los cuales varían desde el láser excimer (11) CO2 (12,), argón, YAG (13,14) y KTP 540, donde el sello formado por la radiación es circunferencial y por lo tanto impide el acceso de los fibroblastos o la salida de axones regenerados y hormonas neurotróficas. Fischer reportó menos constricción y formación de tejidos cicatrizal con la utilización del láser al compararlo con al sutura hasta en un 14% de los 30 animales de experimentación (15). Por otro lado, también se ha considerado la utilización de proteínas fibrosas para favorecer la reconexión nerviosa, de tal forma que se han reportado múltiples estudios con la utilización de fibrina, en los que se ha demostrado que orienta a los axones a través del bloque proteico y no interfiere con su progresión (16), permitiendo la síntesis del tejido y la adhesión tisular (17). Aunque Povlsen reporta que no hay diferencia estadística cuando se compara con la microsutura (18), la fibrina se ha utilizado inclusive en otras especialidades con el mismo fin, permitir la regeneración tisular (17,18,).

Finalmente, Braun en 1966 utilizó tubos de colágena fijados al nervio con seda para estabilizar el tubo previniendo la interposición de fibroblastos y dando una orientación lineal al crecimiento de las fibras nerviosas (19). En 1984 Colin y Donoff notaron que la utilización de tubos de colágena permite el crecimiento de más fibras que con la sutura epineural y no notaron cambios inflamatorios, hubo mejor regeneración comprobada histológica y electromiográficamente e incluso se incrementó el número de axones que cruzan los tubos a pesar de que fueron segmentos nerviosos de diferentes diámetros (20), no así en el trabajo de Madrosky y cols., donde encuentra una mejor conexión sensitiva y motora por neurorrafia que por tubulización (21).

Las neuronas periféricas son las células más largas y más complejas del cuerpo. Su tamaño significa que son capaces de funcionar sin el soporte estructural y metabólico de las células de la glía.

#### **Degeneración axonal.**

Posterior a unas horas de una interrupción física, las terminaciones de algunos axones son selladas. El transporte anterógrado axoplasmático continúa en el segmento proximal y el transporte retrógrado persiste por algunos días en el extremo distal. Como consecuencia de esto, los axones comienzan a llenarse con organelos, los cuales son capaces de progresar hasta el sitio de la lesión.

Péptidos vaso activos potentes como CGRP (péptido relacionado con el gen calcitonina) se acumula en los bulbos distales del axón y probablemente contribuya a la reacción hiperémica alrededor del sitio de la herida. La pérdida de citoesqueleto axoplásmico comienza hasta 7 días después en seres humanos, y de uno a dos días en roedores.

Al incrementarse el calcio intracelular es necesario y suficiente para inducir degeneración axonal y activar enzimas proteolíticas calcio-dependientes como fofolipasas, las cuales rompen el citoesqueleto.

#### **Respuesta inflamatoria en la degeneración Walleriana.**

En un período de tan solo 2 días, los linfocitos T, neutrófilos y macrófagos infiltran el sitio de la lesión; En horas, los niveles de citocinas inflamatorias presentes en el endoneuro como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF alfa), e interleucina (IL)-1alfa secretadas en su mayoría por las células de Schwann, comienzan a elevarse a nivel de la porción distal nerviosa lesionada. Al paso de los días esta respuesta se intensifica por cicoticas y otras moléculas bioactivas liberadas por macrófagos, mastocitos y células endoteliales activadas.

Algunas de estas moléculas influyen en el comportamiento de las células de Schwann, y otras pueden jugar un papel en la generación y/o mantener el dolor neuropático. TNF-alfa y el óxido nítrico tienen un particular efecto como mediadores del tipo de dolor el cual se reporta inmediato a una lesión, así como la ciclo-oxigenasa-2 expresada por macrófagos puede expresar el dolor neuropático postraumático crónico. (22).

## **Lesión Nerviosa**

Clasificación de Sunderland.

### Tipo I:

- Bloqueo de conducción local
- Sin degeneración Walleriana distal
- Recuperación funcional completa (días o semanas)
- Macroscópicamente (sin lesiones)
- Histológicamente (segmentos desmielinizados)
- Compresiones, isquemias
- Clínicamente (alteración motora, mínima repercusión sensitiva)

### Tipo II:

- Endoneuro y perineuro intactos
- Axones están fisiológicamente interrumpidos
- Recuperación (meses).

### Tipo III:

- Endoneuro interrumpido
- Perineuro integro
- Recuperación funcional incompleta
- Fibrosis interfascicular
- Mayor lapso de tiempo para inervar órgano diana

### Tipo IV:

- La integridad del nervio se debe aun tejido cicatricial
- Fascículos interrumpidos
- Degeneración retrógrada
- Fibrosis interfascicular
- Signo de Tinel

### Tipo V

- Neurotmesis
- Lesiones abiertas (exploración)
- Recuperación funcional espontánea

### Tipo VI (Mackinnon)

- Distintos grados de Sunderland en un mismo segmento nervioso

## **Neurorrafia**

Se define como la reparación quirúrgica del tejido nervioso.

Tipos de N

eurorrafia.

### **Sutura epineural externa**

- Indicaciones: indicada: lesiones de uno o pocos fascículos
- sutura no reabsorbible
- sin tensión
- orientación (vasos nutricios)
- **Reparación interfascicular**
- Identificar fascículos
- Requiere estimulación eléctrica intraoperatoria
- Requiere Técnicas histoquímicas
  - acetilcolinesterasa
  - anhidrasa carbónica

### **Reparación de grupo fascicular**

- nervio grueso con múltiples fascículos
- se identifican por su separación anatómica o por su función

Ventajas

- menos trauma quirúrgico
- requieren menos puntos
- alineación de los segmentos

#### **IV. JUSTIFICACION**

En estudios previos, se demostró que en la reparación de lesiones nerviosas, la neurorrafia utilizando material de sutura es el estándar, siendo el propósito aproximar los fascículos nerviosos con la finalidad de reparar la lesión y no se han descrito a la fecha estudios en los cuales se utilice el Gore-Tex en reparación nerviosa.

Utilizando Politetrafluoretileno ( Gore-Tex) se obtendrán mayores ventajas comparadas con otros materiales sintéticos y biológicos, debido a que es un material poroso, no adhesivo y que no causa una reacción inflamatoria, estimulando el incremento de ramificaciones nerviosa, lo cual produce una actividad nerviosa adecuada, además de disminuir la formación de tejido fibrótico, con lo cual se evita la formación de cicatrización patológica.

## V-HIPOTESIS

La reparación de lesiones nerviosas utilizando Politetrafluoretileno ( Gore-Tex) , es más eficaz para favorecer el proceso cicatrizal y prevenir la fibrosis excesiva en comparación con neurorrafia convencional.

- La proporción de vacuolas que traduce degeneracion del los tejidos es menor utilizando Gore –Tex que en Neurorrafia convencional
- El grado de Fibrosis Perineural es menor utilizando Gore –Tex que en Neurorrafia convencional
- El grado de Inflamación es menor utilizando Gore –Tex que en Neurorrafia convencional.
- La Integración nerviosa es mayor utilizando Gore –Tex que en Neurorrafia convencional.

## **VI. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la eficacia de la reparación nerviosa con Politetrafluoretileno Gore-Tex como protector de la neurorrafia en comparación con Neurorrafia Terminal con sutura, mediante un análisis Histológico y Electromiográfico del nervio ciático de la rata.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

**Ampliar** el conocimiento y el comportamiento del Politetrafluoretileno (Gore –Tex) en reparación de lesiones nerviosas, siendo utilizado como envoltura en las neurorrafias.

**Comparar** la presencia de vacuolas utilizando Politetrafluoretileno (Gore-Tex) en la neurorrafia y en la neurorrafia Terminal

**Comparar** el grado de fibrosis perineural utilizando Politetrafluoretileno (Gore-Tex) en la neurorrafia y en la neurorrafia Terminal

**Comparar** el grado de inflamación utilizando Politetrafluoretileno (Gore-Tex) en la neurorrafia y en la neurorrafia Terminal

**Comparar** la presencia o no de integración nerviosa utilizando Politetrafluoretileno (Gore-Tex) en la neurorrafia y en la neurorrafia Terminal

**Valorar** la conducción nerviosa mediante estudios Electromiográficos comparando el Politetrafluoretileno (Gore-Tex) y Neurorrafia Terminal

## **VII. TIPO DE ESTUDIO**

Experimental, Longitudinal, Prospectivo y Comparativo.

## **VIII. DISEÑO**

Diseño con bloques completamente aleatorizados y balanceados, siendo el bloque cada animal.

### **A) DEFINICION DEL UNIVERSO**

La población objetivo en el presente experimento es ratas Wistar, adultos, machos, de 3 meses de edad con peso entre 250 y 300 gr.

Se utiliza este modelo experimental debido a que ha sido estudiado ampliamente como modelo de regeneración nerviosa.

### **B) CRITERIOS DE**

#### **INCLUSIÓN**

20 ratas Wistar adultos machos de 3 meses de edad, entre 250 y 300 gr., íntegras.

#### **EXCLUSION**

Aquellas ratas con evidencia clínica de alguna enfermedad adquirida o congénita, así como aquellas que hayan sido usadas en otros estudios de cualquier índole.

#### **ELIMINACION**

Toda la rata fallecida durante el procedimiento experimental.

Todas las ratas que presenten morbilidad relacionada con la técnica quirúrgica como hematoma, seroma, infección de tejidos y dehiscencia de herida.

### **C) MÉTODOS DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA**

20 ratas raza Wistar adultos machos de 3 meses de edad entre 250 y 300 gr. de peso fueron seleccionados aleatoriamente entre los animales que contaba el bioterio del Hospital Central Sur de PEMEX en junio del 2007. Los animales son provenientes del Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de México.

El estudio se realizó en el Hospital Central Sur de Alta Especialidad PEMEX en el periodo comprendido de junio de 2007 a enero del 2008 en las Instalaciones del Bioterio del mismo hospital.

### **D) DEFINICION DE VARIABLE**

#### **INFLAMACION**

Reacción defensiva, celular y vascular contra elementos extraños que penetran en el tejido.

En la inflamación los leucocitos pasan de la sangre al tejido conjuntivo.

Fase aguda: Predominan los neutrófilos

Fase crónica: Predominan los linfocitos, plasmocitos, monocitos y macrófagos.

Se evaluará la presencia de leucocitos y macrófagos infiltrados en el tejido.

#### **FIBROSIS PERINEURAL**

Aumento patológico del tejido conjuntivo que rodea al tejido nervioso.. Se clasificará en los siguiente, obteniéndose la apreciación microscópica en tejido incluido en parafina con tinción de Hematoxilina-eosina:

- Sin Fibrosis

+ Leve

++ Moderada

+++ Severa

## INTEGRACIÓN NERVIOSA

Es la presencia de continuidad de fibras nerviosas, demostrada por la estructura de los fascículos nerviosos observados en los cortes histológicos. y Electro miograficamente por la presencia de conducción nerviosa.

**Variable Independiente.** Lesión nerviosa tipo V de la clasificación de Mackinnon que será reproducida en animales de experimentación.

**Variable Dependiente.** Mejoría en la cicatrización. La presencia de una cicatrización adecuada en donde el grado de fibrosis leve o se encuentre ausente.

Conducción nerviosa adecuada, realizada a través de Estudios Electromiográficos comparando la amplitud y la latencia preoperatorio y postoperatoria en ambas extremidades inferiores de los animales de experimentación.

Las variables que señalan cuantificación del grado de inflamación se realizaran con estudios Histológicos en tejidos incluidos en parafina con tinción de Hematoxilina-Eosina.

## E) MATERIAL Y METODOS

Este estudio experimental se llevó a cabo en 20 ratas de raza Wistar adultas a las cuales se les realizó a cada una lesión nerviosa tipo Neurotmesis (V de la clasificación de Mackinnon) del nervio ciático de manera bilateral.

**Grupo I.** Lesión del nervio ciático izquierdo utilizando Neurorrafia directa con material de sutura nylon 10/0

**Grupo II.** Lesión del nervio ciático derecho utilizando Neurorrafia directa con material de sutura nylon 10/0 y Politetrafluoretileno (Gore –Tex).

Los animales fueron sometidos al procedimiento bajo anestesia utilizando Ketamina 25 mg/kg de peso IM más Xilocaína 20 mg /kg de peso IM.

Se realizó técnica de asepsia y antisepsia y tricotomía de la región glútea bilateral, en posición decúbito, incidiendo piel, músculo glúteo mayor identificando el nervio ciático. El nervio se seccionó completamente reproduciendo una lesión nerviosa tipo V (Neurotmesis) de acuerdo a la Clasificación de Sunderland de manera bilateral, utilizando una tijera micro quirúrgica.

Se formaron 2 grupos de estudios: El grupo I se le realizará exclusivamente neurorrafia epineural termino-terminal , colocando 2 puntos de sutura con nylon 10/0

En el grupo II se le realizó neurorrafia epineural utilizando 2 puntos de sutura con nylon 10/0 así como aplicación de una placa de Politetrafluoretileno (Gore-Tex) sobre los extremos nerviosos. De tal manera que en el mismo animal de experimentación se realizaron ambos tratamientos.

Las anastomosis fueron llevadas a cabo bajo magnificación con microscopio de operaciones Olympus modelo B X 40.

Posteriormente se cerro la incisión del el área con músculo glúteo mayor con monocryl 4 /0 y la piel con nylon 4/0 sutura intradérmica continua.

Posteriormente se evaluó la conducción nerviosa mediante Electro miografía de cada una de las extremidades, preoperatoriamente y a las 4 semanas del postoperatorio.

Análisis Electromiográfico se llevó a cabo en el Área de Fisioterapia y Rehabilitación en el Hospital Central Sur de Alta Especialidad. (foto1 )

Al concluir los estudios Electromiográficos los animales fueron nuevamente intervenidos , siendo sacrificados bajo anestesia, de acuerdo a los lineamientos internacionales y a la aprobación del comité de Bioética del HCSAE y apegado a la norma US Departamento Health and Human Services: Guide of the Care and Use of Laboratory Animals, se disecó y se expuso el sitio de reparación nerviosa, colectando el segmento tomando aproximadamente 1 cm de nervio ciático de ambas extremidades derecha e izquierda para realizar estudio Histopatológico.

En el estudio histológico se evaluaron la presencia de Vacuolas, la Fibrosis Perineural, la presencia o ausencia de Inflamación y la Integridad Nerviosa presente en cada muestra, con ayuda de microscopía óptica vaciando los datos en las hojas de recolección de datos utilizando una hoja de recolección de datos.

#### INSTRUMENTAL QUIRURGICO

Corte y disección micro quirúrgicos.

Bisturí hoja No. 15. Tijeras micro quirúrgicas

Sutura Nylon 9-0 y Prolene 4 -0

Porta agujas micro quirúrgico

Gore-Tex. (Foto 2 )

#### MICROSCOPIO DE LUZ

Olymps modelo BX 40 (Foto 3)

#### PROCEDIMIENTO

Se utilizaron 20 ratas Wistar de peso entre 250 y 300 gr. que se mantuvieron en le Bioterio del HCSAE, con riguroso control de temperatura de 22-25°C y luminosidad constante de las 07:00 hrs. a las 19:00 hrs. Todos los animales fueron alimentados con la misma dieta comercial y agua *ad limitum*

El protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Bioética del HCSAE y se realizo con estricto apego a la norma: US Department of Health and Human Services: Guide of the Care and Use of Laboratory Animals. Así mismo, de acuerdo a los lineamientos y principios a los cuales se debe someter la investigación científica y tecnológica destinada a la salud. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud (DOF 7 de febrero de 1984).

## TECNICA QUIRURGICA

A todos los animales se les administró profilaxis con antibiótico ampicilina ( 10 mg/kg ) antes de comenzar la anestesia general, misma que fue inducida mediante Ketamina (25 mg/kg) +Xilocaína (20mg/kg) IM

La extremidad inferior y el dorso fue rasurada (*foto 4*) y limpiada con solución yodopovidona, adicionalmente se aplico vía subcutánea lidocaína al 1% con epinefrina ( 1:100,000)

Se realizó una incisión sobre el glúteo mayor de aproximadamente 1.5 cm. (*foto 5*) con bisturí del No. 15 a lo largo de la pierna , se realizó disección por planos a través de los glúteos , identificándose la salida del nervio ciático , y se procedió a realizar una lesión nerviosa tipo V de Mackinnon antes de la bifurcación en sus 3 ramificaciones.

En el Grupo I se realizo neurorrafia Termino-Terminal con nylon 9 /0

En el Grupo II se realizó neurorrafia Termino- Terminal con nylon 9/0 y se envolvió la anastomosis con Gore-Tex. (*foto 6*)

### Asignación de Grupos:

Los animales fueron asignados aleatoriamente en 2 grupos

Grupo I Extremidad inferior izquierda de 20 ratas

Grupo II Extremidad inferior derecha de 20 ratas

### Histología Cualitativa:

El tejido se fijó 72 hrs en formaldehído al 10% y a temperatura de 20-25°C. El procedimiento de inclusión se realizó de la siguiente manera: 3 cambios de etanol al 96% 3 cambios de etanol absoluto, 2 cambios de xilol y la inclusión en bloques de parafina. Posteriormente se realizaron 3 cambios de 90 minutos. Se hacen cubos de parafina y se cortan a 6 micras. La preparación se tiño con Hematoxilina –Eosina.

1. Desparafinización mediante calor por 20 minutos a 70°C en horno.
2. Xilol tres baños de 20 minutos
3. Etanol absoluto 2 baños de 5 minutos
4. Etanol ordinario 3 baños de 5 minutos
5. Agua bidestilada por 5 minutos
6. Hematoxilina 3 minutos
7. Agua destilada 5 minutos
8. Etanol ácido 3 segundos
9. Carbonato de litio en solución acuosa por 3 minutos
10. Eosina por 3 minutos
11. Etanol ordinario de 96 , tres cambios de 5 minutos
12. Etanol absoluto 3 cambios de 3 minutos
13. Xilol , tres cambios de 5 minutos
14. Montar en bálsamo de Canadá
15. Lectura

## **IX. PROCESAMIENTO Y PRESENTACIÓN DE LA INFORMACION**

### **Análisis Estadístico**

Las variables de desenlace categóricas *Vacuolas*, *Fibrosis endomicial*, *fibrosis periférica*, *Inflamación* e *Integración nerviosa* de cada tratamiento fueron descritas por sus frecuencias absolutas y relativas. Las descripciones de las variables de desenlace continuas *Latencia miográfica* y *Amplitud miográfica* fueron realizadas calculando sus medias y desviaciones estándares.

Las diferencias de las proporciones de las variables *Vacuolas*, *fibrosis perineural*, *Inflamación* e *Integración nerviosa* fueron determinadas por la prueba de McNemar, y los efectos de los tratamientos en las variables *Latencia miográfica* y *Amplitud miográfica* fueron analizados por el MANOVA (Análisis de Varianza Multivariado). El error  $\alpha$  de los efectos principales fue establecido como  $p < 0.05$ , mientras que la significancia estadística de la interacción fue determinada al nivel de  $p < 0.15$ . El cálculo para la prueba de McNemar se hizo manualmente (23) y el MANOVA se realizó con el paquete estadístico JMP7 de SAS Institute.

## **X. CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Este estudio por ser aplicado a animales de laboratorio no lo requiere.

## **XI. RECURSOS Y LOGISTICA**

Este estudio se realizó en el Hospital Central Sur de Alta Especialidad Petróleos Mexicanos.

Requirió para el desarrollo de la investigación:

Unidad de Bioterio. En donde los animales de experimentación fueron sometidos al procedimiento quirúrgico, ahí mismo fueron observados y donde requirieron los cuidados postoperatorios inmediatos y mediatos

Servicio de Medicina Física y Rehabilitación. En donde se realizó los Estudios Electromiográficos

Servicio de Anatomía Patológica en donde se realizó el análisis de muestras histológicas.

Recursos materiales. En el presente estudio se requirió de instrumentación microquirúrgica, así como de un microscopio óptico que se encuentra disponible en la Unidad de Bioterio. Así mismo se utilizó de Politetrafluoretilino (Gore Tex) disponible en este Hospital.

## XII. RESULTADOS

El estudio se realizó con 20 ratas Wistar adultos machos de 3 meses de edad con peso entre 250 y 300 gr.

En las extremidades inferiores de las ratas en las que se aplicó el Gore-Tex (GT), 3 de 20 casos (15%) presentaron **Vacuolas**. En las extremidades de las ratas que se realizó Neurorrafia Termino-Terminal con sutura (NTT) 12 de 20 ratas (60%) presentaron vacuolas. (*Foto 7*) Esto puede traducirse como una degeneración mayor del tejido nervioso.

En las ratas sometidas a la aplicación de GT la **Fibrosis Perineural** se presentó de manera leve en 16 casos (80%) y moderado en 4 casos (20%). No se reportó ningún caso con fibrosis severa o ausencia de fibrosis. En el tratamiento de NTT con sutura se presentaron 2 casos (10%) con ausencia de fibrosis 8 casos (40%) con fibrosis leve y 10 casos (50%) con fibrosis moderada. No hubo ningún caso con fibrosis severa. (*Foto 8*)

Las ratas a las que se aplicó el GT 10 casos (50%) no presentaron **Inflamación** y 9 casos (45%) presentaron inflamación leve, 1 caso (5%) presentó inflamación moderada. No se reportó ningún caso con inflamación severa. Las ratas sometidas a NTT se presentaron 5 casos (25%) sin inflamación. 13 casos (65%) con inflamación leve, 1 caso (5%) inflamación moderada y 1 caso (5%) presentó inflamación severa. (*Foto 9*)

Con respecto a **Integración Nerviosa** en los casos sometidos a GT, 17 casos (85%) presentaron integración nerviosa, mientras que en NTT 11 casos (55%). (*Foto 10*) (*Tabla 1*)

La diferencia de ambos tratamientos con respecto a la presencia de **Vacuolas** fue estadísticamente significativo ( $p= 0.001$ , prueba de McNemar) siendo la diferencia de 45% (Intervalo de Confianza de 95%: 19%, 71%)

La diferencia de ambos tratamientos con respecto a la presencia de **Fibrosis Perineural** no presentó significancia estadística ( $p= 0.146$ , prueba de McNemar) siendo la diferencia de 30% (Intervalo de Confianza de 95%: -1% , 61%)

La diferencia de ambos tratamientos con respecto a la presencia de **Inflamación** no fue estadísticamente significativo ( $p= 0.18$ , prueba de McNemar) siendo la diferencia de 25% (Intervalo de Confianza de 95%: -2%, 52%)

La diferencia de ambos tratamientos con respecto a la presencia de **Integración nerviosa** no fue estadísticamente significativo en la prueba de McNemar ( $p= 0.11$ ), sin embargo, el Intervalo de Confianza de 95% no abarcó "0%" (2%, 58%), es decir, la diferencia que se observó en la muestra es estadísticamente significativa (*Tabla2.*)

El análisis Electromiográfico se aplicó a las 20 ratas en un periodo comprendido de 4 semanas entre la lesión nerviosa y la aplicación del tratamiento. Se comparó la Latencia y Amplitud en el voltaje en el tratamiento Preoperatorio y Postoperatorio.

Los resultados con respecto a las latencias **Preoperatorias** en las 20 ratas

Nos reveló que la media de **Latencias** en las extremidades en que se aplicó Gore –Tex fue de 1.27 (D.E. $\pm$ 0.21). En las ratas en las que se realizó NTT la media fue de 1.2 (D.E  $\pm$ 0.22). No se presentó una diferencia estadísticamente significativa en relación a la latencia inicial de ambas extremidades. ( $p=0.25$ , prueba de *t* pareada) (*Fig. 1 y 2*)

Destacó además que la media de la **Amplitud** en las extremidades en que se aplicó Gore –Tex fue de 21.16 (D.E. $\pm$ 5.13). En las ratas en las que se realizó NTT la media fue de 21.01 (D.E  $\pm$ 4.05). No se presentó una diferencia estadísticamente significativa en relación a la latencia inicial de ambas extremidades. ( $p=0.88$ , prueba de *t* pareada) (*Fig. 3 y 4.*)

Los Resultados en el **Posoperatorio** fueron los siguientes:

Al realizar el análisis con MANOVA ( Análisis de Varianza Multivariado) , con respecto a la **Latencia** en ambas técnicas no se encontró el efecto principal del procedimiento quirúrgico ( $p=0.32$ ) ni interacción del procedimiento quirúrgico y tiempo (mediciones Preoperatorios y Posoperatorias) ( $p=0.96$ ), encontrándose únicamente el efecto principal del tiempo ( $p=0.040$ ).(*Fig.5*)

Con respecto a la **Amplitud** encontramos interacción en el procedimiento quirúrgico y tiempo estadísticamente significativo ( $p=0.073$ ) así como el efecto principal del tiempo (mediciones Preoperatorios y Posoperatorias) ( $p<0.0001$ ) (*Fig.6*)

### **XIII. DISCUSION**

En el presente estudio se llevo a cabo la comparación entre dos técnicas quirúrgicas en la reparación del nervio ciático de la rata Wistar, reproduciendo una lesión nerviosa tipo V de la clasificación de Mackinnon.

Las técnicas quirúrgicas comparadas fueron realizando Neurorrafia Termino-terminal y aplicación Politetrafluoretileno ( Gore-Tex) , y por otro lado la Neurorrafia terminoterminal con sutura. Estas técnicas se aplicaron en ambas extremidades inferiores en cada uno de los animales.

Se determinaron las siguientes variables histológicas: Presencia de vacuolas como indicador de degeneración de tejido nervioso, Fibrosis Perineural, Inflamación y Fibrosis periférica que consideramos que fueron los hallazgos más importantes a clasificar, a si mismo se realizo electro miografía a cada una de las ratas en ambas extremidades en el preoperatorio y 4 semanas después de la lesión nerviosa y reparación.

#### **Cambios histológicos.**

Los cambios histológicos en ambas técnicas nos relevaron que a nivel microscópico existen cambios importantes a nivel del nervio periférico, el más destacado fue la presencia de vacuolas, que nos traduce importante degeneración del tejido nervioso y se presentó en el 60% de las ratas en las que se utilizó Neurorrafia con sutura. Otro de los cambios importantes en las ratas a las que se aplico el GT 10 casos (50%) no presentaron inflamación y en los casos de NTT se presento hasta el 65% de inflamación leve, lo cual nos traduce que el Gore -Tex utilizado disminuye la inflamación severa . El hallazgo más relevante para nosotros fue encontrar que la Integración nerviosa se llevó a cabo exitosamente en un 85% en la técnica con Gore-Tex comparada con un 55% en la técnica de NTT. Este hallazgo es de suma importancia ya que podemos inferir que el Gore-Tex demostró no actuar como un cuerpo extraño, y no causar un grado de inflamación severa, favoreciendo la integración nerviosa. De igual manera encontramos que favorece la endotelización y la regeneración vascular a nivel nervioso, esto permite que el nervio se regenere con mayor rapidez. (foto 11)

### **Cambios Electro miográficos**

Los cambios Electro miográficos al inicio del experimento no tuvieron variaciones importantes entre ambas extremidades de cada una de las ratas. Esto quiere decir que se corrobora que los sujetos a experimentar se encontraban íntegros en el preoperatorio. Como se demuestra no existieron variaciones importantes en la latencia ni en la amplitud de las electro miografías realizadas en las extremidades inferiores de las ratas.

Los cambios Electro miográficos en el posoperatorio esperábamos encontrarlos con electro miografías que nos demostraran contundentemente una denervación importante demostrado ondas positivas, y disminución de la latencia y el voltaje, contrariamente a esto, un mes de evolución, las ratas no tuvieron variaciones en la amplitud comparativamente con el preoperatorio y las variaciones en la latencia+++

Por lo tanto cabe destacar que el análisis Electro miográfico nos conduce a pensar varias situaciones; una de ellas es que pudo no haberse hecho una denervación completa en el nervio periférico principal, otra situación puede ser que los sujetos a experimentar presentaron un nivel de regeneración nerviosa mayor a la esperado y su recuperación nerviosa y funcional fue más rápida, por lo que sugerimos que en estudios futuros se realice el control Electro miográfico en la primera o segunda semana posterior a la denervación.

No se observaron diferencias importantes Electro miograficas en ambas técnicas que demostraran que una es superior a otra.

#### **XIV. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.**

1. Bertelli J.,Mira JC. Nerve repair using freezing and fibrin blue: immediate histologic improvement of axonal coaptation. *Microsurgery* 2003;14:135-140.
2. M.Wolthers,M.D, M Moldovan, et al. Comparative electrophysiological, functional, and histological studies of nerve lesions in rats. *Microsurgery*. 2005;25:508-519.
3. David J.Terris, Willard E. Fee. Current issues in nerve repair. *Arch Otolaryngol Head Neck Surgery*.1993; 119:725-731.
4. Demirkan F, Snyder C.C, Latifoglu O. Slemionow M. A method of enhancing regeneration of conventionally repaired peripheral nerves. *Annals of Plastic Surgery*. 2005; 34:67-72.
5. Curtis R, AdryanK.M,et al. Retrograde axonal transport of ciliary neurotrophic factor is increased by peripheral nerve injury. *Nature* 1993;365:253-255.
6. Harris, Tindall. Techniques of peripheral nerve repair. *Neurosurg. Clin N. Am*. 1991; 2:93-104.
7. Daniel K.Hinckley, Alan Lyes, et al. Repair of peripheral nerves of unequal diameters. *Laryngoscope* 1991;101:1150-1154.
8. Brooke Rutledge Seckel, Sheila E. Ryan. Target-specific nerve regeneration through a nerve guide in the rat. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1986; 78:793-797.
9. Lee Dellon. Susan E, Mackinnon. An Alternative to the classical nerve graft for the manegement of the short nerve gap. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1998;82:849-856.
10. Menosvsky, Beek, Van –Gemert. CO2 Lasser repair of the facial nerve: an experimental study in the rat. *Laringol Otol*. 1994; 108: 466-469.
11. Thomas C. Huang, Robert H. et al . Laser vs. Suture nerve anastomosis. *Otolaryngology Head and Neck Surgery*. 1992;107:124-20.
12. Thomas C. Huang Robert H et al. Lasser- assisted nerve repair. *Arch Otolryngol Head and Neck Surgery*. 1992;118:227-280.
13. Dort, Wolfensbeger Felix. CO2 laser repair of the facial nerve: an experimental study in the rat. *J.Laringol Otol*. 1994; 108: 466-469.
14. Marjorie Kroff. Sthephen W. Brent. An investigation of the potential for laser nerve welding.*Otolaryngology Head and Neck Surgery*. 1992; 107:14-20.
15. Fischer D.W. Begs J.L. Comparative study of microepineural anastomosis with the use of CO2 laser on fibrin membrane. *Lasers Surg. Med*. 1995;17:64-73.
16. Palazzi S. Vila-Tores J. Fibrin glue is a sealant and not a nerve barrier. *Journal of Reconsructive Mircrosurgery*. 1995; 11:135-139.
17. Zohar, Swilli. Human fibrin glue in head and neck surgery. *Harefuah*. 1994;126:567-570.

18. Povlsen. A new fibrin seal: functional evaluation of sensory regeneration following primary repair of peripheral nerves. *J. Hand Surg. Br.* 1994; 19:250-254.
19. Richard Braun. Comparative studies of neurohaphy and sutureless peripheral nerve repair. *Surgery. Gynecology Obstetrics.* 1966; 15-18.
20. Colin, Donoff . Nerve regeneration through collagen tubes. *J Dental Res.* 1984; 63:987-993.
21. Madrosky SJ, Swett JE et al. Motor versus sensory neuron regeneration through collagen tubules. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 1998;102:430.
22. S.Hall. The response to injury in the peripheral nervous system. *The Journal of Bone and Joint Surgery.*2005;87 (10):1309-1319.
23. Rosner B, *Fundamentals of Biostatistics*, 4<sup>th</sup> Edition. Duxbury Press, Belmont, CA,1995; p.p.381.



ANEXOS

Foto 1.



Instrumental Quirúrgico

Foto 2



Microscopio Electrónico

Foto 3



Preparación prequirúrgica

Foto 4



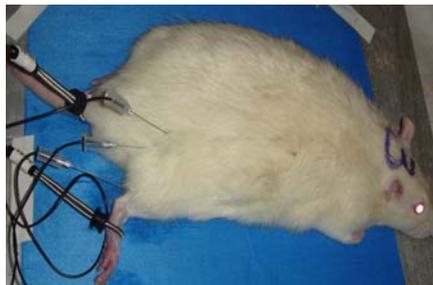
Exposición del nervio ciático

Foto 5.



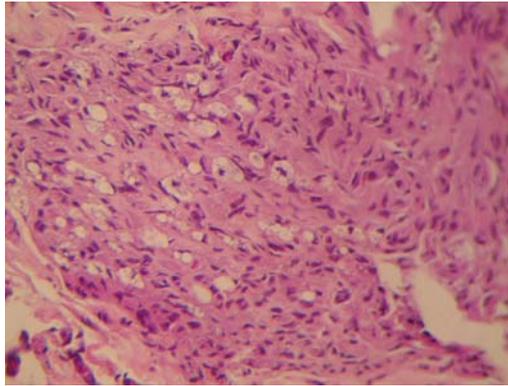
Aplicación del Politetrafluoretileno

Foto 6



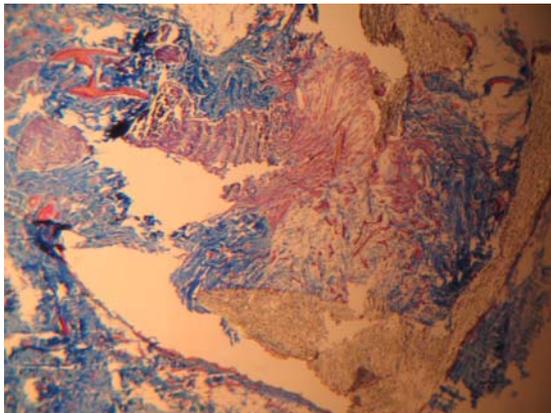
Estudio Electromiográfico.

Foto 7



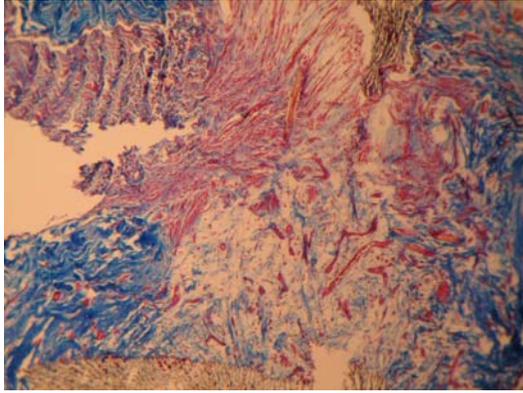
Vacuolas

Foto 8



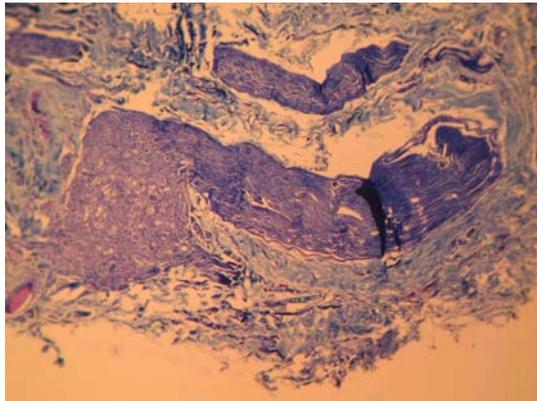
Fibrosis perineural

Foto 9



Inflamación

Foto 10



Integración Nerviosa

**Tabla 1. Hallazgos histológicos en ambas técnicas.**

	GT	NTT
<b>Vacuolas*</b> (-)	17 (85%)	8 (40%)
(+)	3 (15%)	12 (60%)
<b>Fibrosis perineural**</b> (-)	0 ( 0%)	2 (10%)
(+)	16 (80%)	8 (40%)
(++)	4 (20%)	10 (50%)
(+++)	0 ( 0%)	0 ( 0%)
<b>Inflamación**</b> (-)	10 (50%)	5 (25%)
(+)	9 (45%)	13 (65%)
(++)	1 ( 5%)	1 ( 5%)
(+++)	0 ( 0%)	1 ( 5%)
<b>Integración nerviosa***</b> (+)	17 (85%)	11 (55%)
(-)	3 (15%)	9 (45%)

Suma de los casos de las categorías dentro de cada procedimiento quirúrgico será 20 (100%)

GT Politetrafluoretileno (Gore-Tex) NTT (Neurorrafia Terminal-Terminal)

\*(-) ausente, (+) presente; \*\*(-) ausente (+) leve. (++) moderado, (+++) severo; (+) presente, (-) ausente

Tabla 2. Comparación de las respuestas histológicas

	Diferencia de GT y NTT (IC95% LI, LS)*	p**
Vacuolas <sup>1</sup>	45% (19%, 71%)	0.001
Fibrosis perineural <sup>2</sup>	30% (-1%, 61%)	0.146
Inflamación <sup>3</sup>	25% (-2%, 52%)	0.180
Integración nerviosa <sup>4</sup>	30% (2%, 58%)	0.110

<sup>1</sup> Vacuola (-) vs. (+), <sup>2</sup> Fibrosis perineural (-, +) vs. (++, +++), <sup>3</sup> Inflamación (-) vs. (+, ++, +++),  
<sup>4</sup> Integración nerviosa (+) vs. (-)

\* Estimador puntual de la diferencia de la respuesta histológica postquirúrgica de GT ante NTT con Límite Inferior y Límite Superior de su intervalo de confianza de 95%

\*\* Prueba de McNemar: cálculo exacto de la probabilidad basada en la distribución binomial

Figura 1. Distribución de latencias Electromiográficas

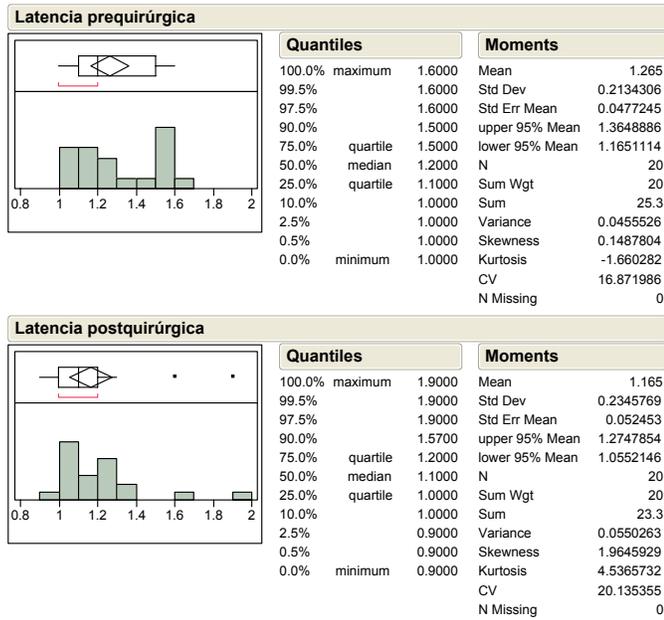


Figura 2. Comparación de la latencia Electromiográfica del nervio ciático entre las piernas operadas por GT y NTT

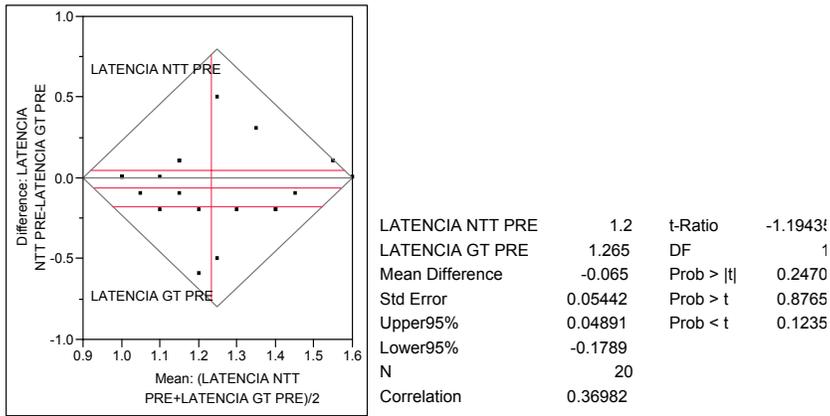


Figura 3. Distribución de amplitud electromiográficas

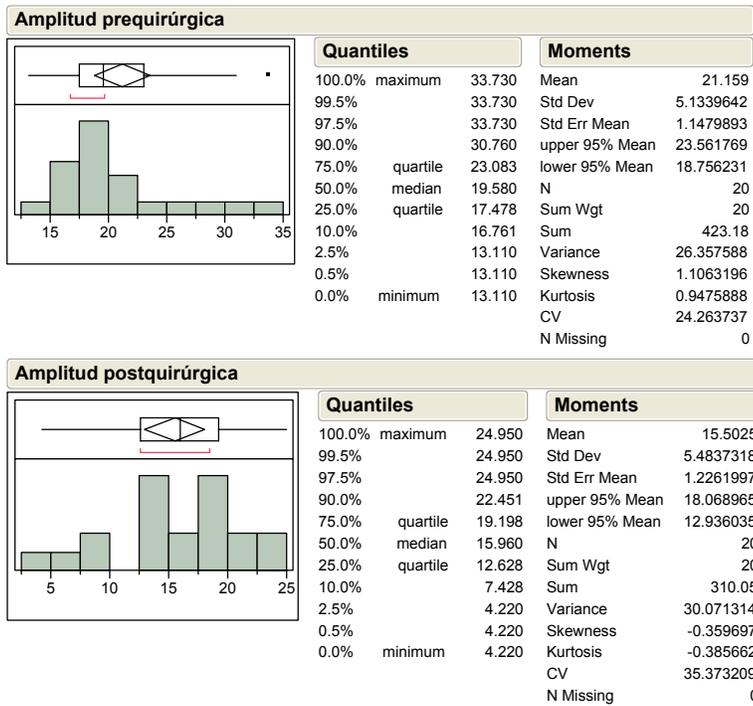
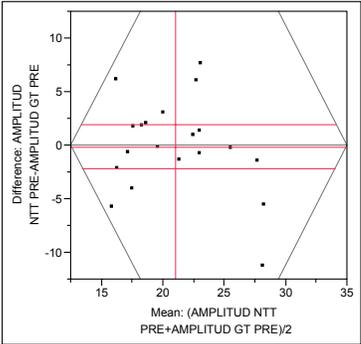
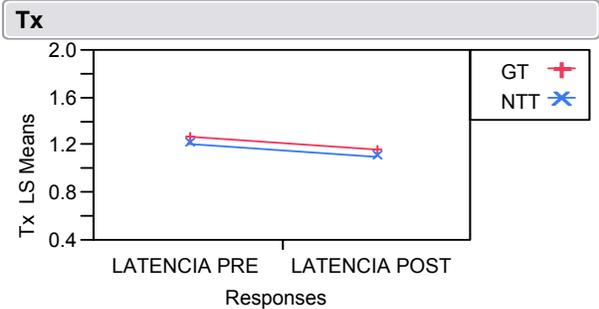


Figura 4. Comparación de la latencia electromiográfica del nervio ciático entre las piernas operadas por GT y NTT



AMPLITUD NTT PRE	21.0075	t-Ratio	-0.15324
AMPLITUD GT PRE	21.159	DF	1
Mean Difference	-0.1515	Prob >  t	0.8798
Std Error	0.98864	Prob > t	0.5601
Upper95%	1.91774	Prob < t	0.4399
Lower95%	-2.2207		
N	20		
Correlation	0.55834		

Figura 5. Efectos de procedimiento quirúrgico en latencia analizado por MANOVA



Tx	LATENCIA PRE	LATENCIA POST
GT	1.265	1.165
NTT	1.2	1.105

Figura 6. Efectos de procedimiento quirúrgico en amplitud analizado por MANOVA

