



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS  
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO  
CIENCIAS MÉDICAS

EFICACIA DE LA SOLUCIÓN GLUCOSADA COMO AGENTE ESCLEROSANTE

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA

ELIZABETH JENNY REYES CHÁVEZ

TUTOR DE TESIS:

DR. JOSÉ DAMIÁN CARRILLO RUIZ  
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO

COMITÉ TUTORIAL:

DR. PAUL CARRILLO MORA  
INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN  
M.C BENJAMÍN LEÓN MANCILLA  
FACULTAD DE MEDICINA. UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX.,2016



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.

## ÍNDICE

Marco Teórico .....	3
Introducción.....	3
Epidemiología.....	4
Fisiopatología.....	5
Tratamiento.....	9
Agentes esclerosantes.....	12
El conejo como modelo experimental.....	13
Planteamiento del problema.....	14
Justificación.....	14
Pregunta de Investigación.....	15
Hipótesis.....	15
Objetivos.....	16
Diseño.....	16
Metodología.....	18
Resultados.....	26
Discusión.....	45
Conclusión.....	46
Bibliografía.....	47

## Introducción

La historia de las enfermedades venosas se remonta hasta el comienzo de la medicina. Monografías sobre las venas varicosas y su tratamiento quirúrgico fueron realizadas tan pronto como 1550 a.C

Una de las primeras descripciones ilustradas de una varix (del latín varix, nudos) se encontró en la base de la Acrópolis en Atenas y data del siglo IV a.C.



Bajorrelieve que ilustra una pierna con una vena varicosa tortuosa.

Reportes de intervenciones en las venas existen desde 270 a.C en Egipto con evidencia de extracción y ligadura de las venas.<sup>(1)</sup>

Hipócrates fue tal vez el primero en reconocer la relación entre enfermedad venosa y ulceración. El notó que elevar la pierna y la compresión permitían que la ulceración sanará más rápido y mejoraba los síntomas <sup>(1)</sup>

Celsus reconoció la importancia de la ligadura de las venas varicosas como tratamiento cuando presentaban hemorragia en el siglo primero en Roma<sup>(2)</sup> y Galeno en el segundo siglo ideó un método de ligadura y avulsión venosa usando unos ganchos especialmente diseñados para ese fin. <sup>(3)</sup>

## EPIDEMIOLOGÍA

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define várice como venas superficiales, cilíndricas o saculares, dilatadas anormalmente, que pueden ser circunscritas o segmentarias, e incluye a las telangiectasias diminutas así como a las dilataciones amplias de los troncos venosos principales del sistema venoso superficial, safeno interno y externo.<sup>(4)</sup>

Las venas varicosas de los miembros inferiores son el trastorno vascular más frecuente en los seres humanos. <sup>(5)</sup>

Existen varios factores asociados con el desarrollo de enfermedad venosa superficial. La prevalencia depende del número de factores epidemiológicos, incluyendo edad, género femenino, historia familiar, localización geográfica, embarazo y obesidad.<sup>(6)</sup> y el estar de pie por periodos de tiempo prolongados contribuyen al desarrollo.

Se ha demostrado que cerca del 30% de la población tiene enfermedad visible que involucra venas varicosas o cambios tróficos en las piernas y el 28% de la población tiene enfermedad funcional en algunas de las venas mayores superficiales o profundas de las piernas. Un estudio reporta que 28.6 %de los que tiene venas varicosas visibles en las extremidades inferiores sin edema u otras complicaciones progresaron a enfermedad venosa más seria después de 6.6 años,<sup>(7)</sup>.

Hay muy poca información en la literatura disponible sobre la proporción de gente con venas varicosas que progresan a ulceración venosa, un estudio de prevalencia estimó que aproximadamente 3-6% de la población que tiene venas varicosas en su vida; desarrollan úlcera venosa.<sup>(8)</sup>

Las venas varicosas son un problema común de salud y socioeconómico afectando a más de 25 millones de adultos de la población en Estados Unidos<sup>(9)</sup>. El primer programa nacional de detección de venas varicosas en los Estados Unidos identificó que el 32% de la población tenía venas varicosas.<sup>(10)</sup>

## FISIOPATOLOGÍA

Las venas varicosas surgen debido a la incompetencia de las válvulas de las venas superficiales, perforantes o profundas. Esta incompetencia genera un reflujo de sangre causando un incremento en la presión venosa resultando en dilatación y elongación o tortuosidad de las venas superficiales las piernas.

La causa original de toda insuficiencia venosa es la incompetencia valvular la cual se puede deber a alguna de las siguientes causas:

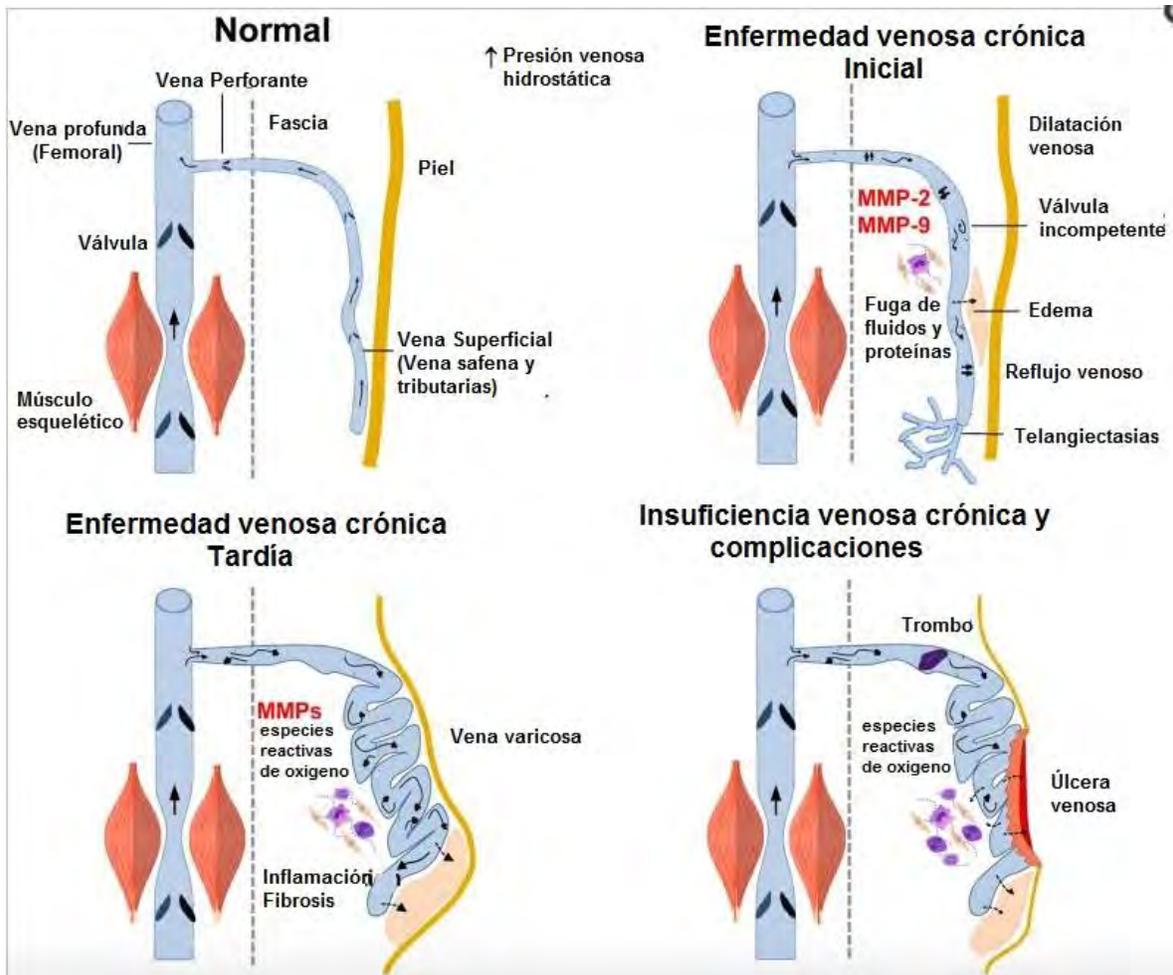
Avalvulación o hipovalvulación congénita.

Destrucción del sistema valvular del sistema profundo al recanalizarse el trombo en la tromboflebitis, debido a que las válvulas quedan dentro del tejido conectivo que sigue al proceso de recanalización.

La insuficiencia valvular progresiva<sup>(5)</sup> se debe a que las paredes son más delgadas que una vena normal existe desaparición de células musculares lisas que se sustituyen por fibras de colágena.<sup>(11)</sup>

En la teoría del fallo valvular sucesivo las válvulas se vuelven incompetentes debido a deficiencia constitucional de la propia válvula y de la pared venosa y a la intensidad de la onda retrógrada por el reflujo sanguíneo que repercutirá en la válvula inmediatamente inferior hasta volverla incompetente también y así sucesivamente.

Algunas características de las varices son explicadas por esta teoría como que la insuficiencia de la vena safena externa sea más rara ya que tiene un mayor número de válvulas; la insuficiencia de las venas perforantes inicia en el momento en que las válvulas tienen que soportar la onda retrógrada permitiendo el flujo del sistema profundo al superficial.



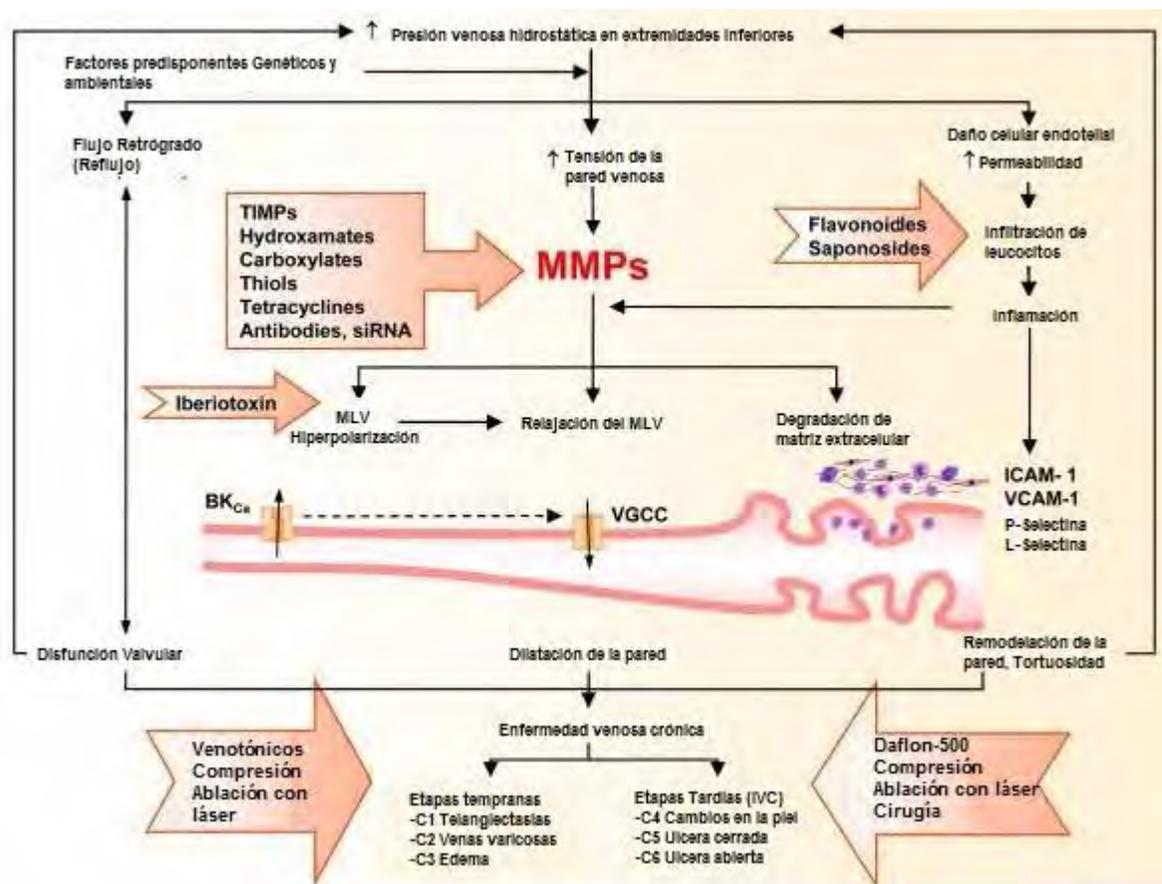
Manifestaciones tempranas y tardías de la enfermedad venosa crónica. En las venas normales con las válvulas intactas, el flujo sanguíneo va de lo superficial a la vena femoral profunda. El incremento en la presión venosa hidrostática de las extremidades inferiores y la tensión de la pared venosa son asociados con el incremento de la expresión/actividad de las MMPs <sup>(12)</sup>

A pesar de las consecuencias médicas mayores y socioeconómicas de las venas varicosas los mecanismos fisiopatológicos involucrados no están completamente entendidos,

En las últimas 2 décadas hemos visto grandes avances en nuestro entendimiento del papel de las metaloproteinasas en el desarrollo y la progresión de las venas varicosas. Estudios en tejidos venosos de animales y humanos han mostrado cambios marcados en la expresión/actividad de varias metaloproteinasas asociadas con la remodelación de la pared venosa. También hay estudios en fluidos de úlceras que sugieren la posible

correlación entre la actividad de las metaloproteinasas y el desarrollo de lesión en la piel y úlceras venosas en las piernas. Un desbalance entre la expresión/actividad de las metaloproteinasas y los inhibidores tisulares endógenos de las metaloproteinasas podrían causar cambios patológicos en la pared venosa en las válvulas conduciendo a la enfermedad venosa crónica. <sup>(13)</sup>

El incremento de la presión venosa hidrostática podrían ser la causa primaria de la elevación de los niveles de metaloproteinasas en las venas varicosas. El incremento prolongado en la presión venosa hidrostática puede causar daño extracelular e incrementar la permeabilidad vascular, llevando a infiltración leucocitaria e inflamación vascular, lo cual llevaría a fibrosis tisular, daño a la pared, degradación valvular y un daño irreversible a la vena que es la característica de los estados tardíos de la insuficiencia venosa crónica. <sup>(13)</sup>



Fisiopatología y manejo de la enfermedad valvular.

Con la presencia de factores de riesgo genéticos y ambientales, el incremento en la presión venosa hidrostática de las extremidades inferiores podría causar disfunción valvular y reflujo venoso al igual que un incremento en la tensión en la pared e incremento en la expresión /actividad de las metaloproteinasas (MMPs) . En suma la degradación de la matrix extracelular (ECM) proteínas, y MMPs pueden causar hiperpolarización del músculo liso venoso (MLV) y activación de los canales de K, lo cual podría causar inhibición de la entrada de Ca<sup>2+</sup> en los canales de Ca<sup>2+</sup> activados por voltaje (VGCC), relajación del músculo liso venoso (MLV), dilatación de la pared venosa, hiperpolarización y manifestaciones tempranas de la enfermedad crónica venosa. El incremento persistente de la presión venosa podría causar daño extracelular, infiltración leucocitaria e inflamación de la pared venosa y promover el aumento en la expresión/infiltración de las MMPs y llevar a remodelamiento de la pared venosa y tortuosidad y manifestaciones tardías de la insuficiencia venosa crónica. Existen varias opciones de tratamiento tanto para las manifestaciones tempranas como tardías de la enfermedad venosa crónica. Inhibidores de diferentes clases de las MMPs podrían proveer un mejor manejo de la enfermedad venosa crónica. <sup>(12)</sup>

Conforme a la clasificación CEAP (clínica-etiológica-anatómica-patofisiológica) la enfermedad venosa crónica tiene 7 estados clínicos C=0-6, donde C0 indica sin signos visibles de enfermedad venosa, C1 telangiectasias (venas en telaraña), C2 venas varicosas, C3 edema, C4a dermopigmentación o eczema, C4b lipodermatoesclerosis o atrofia blanca, C5 úlcera cerrada, C6 úlcera activa. A partir del C4 a C6 son frecuentemente designados como insuficiencia venosa crónica, reflejando el avanzado estado de la enfermedad <sup>(13)</sup>

Inicialmente la enfermedad venosa es considerada sólo como un problema estético creyendo erróneamente que no es un problema médico y dando por lo tanto una baja prioridad al tratamiento,<sup>(17)</sup> pero esta enfermedad puede evolucionar y con el tiempo llegar a complicaciones tales como cambios en la pigmentación de la piel, tromboflebitis superficial, hemorragias, pérdida de tejido subcutáneo, lipodermatoesclerosis o ulceración venosa.<sup>(8)</sup>

# TRATAMIENTO

Los objetivos del tratamiento clínico son aliviar los síntomas presentes, previniendo la progresión de la enfermedad, curación de la ulceración, mejorando la cosmética y la calidad de vida.

Los tratamientos principales para venas varicosas incluyen el uso de terapia compresiva con medias de compresión elástica que ejercen diferentes niveles de presión hidrostática sobre el maléolo así tenemos 3 niveles: leve < 20 mmHg, moderada 20-30 mmHg y fuerte 30-40 mmHg cirugía convencional, cirugía endoscópica, ablación endovenosa con láser, ablación con radiofrecuencia, y escleroterapia química.

Una revisión de los estudios de procedimientos invasivos indica que la tasa de recurrencia clínica de las venas varicosas a los 3 años después del tratamiento es probablemente entre 10 y 30%. Uno de los aspectos por los que se tienen datos insuficientes en las tasas de tratamiento de repetición en muchos de estos tratamientos que son relativamente nuevos y las tasas a largo plazo no han sido todavía reportadas. En 2009-2010 hubo 35, 659 procedimientos realizados en los Institutos de Salud en Estados Unidos, lo que nos habla del considerable costo financiero e impacto en la carga de trabajo.<sup>(8)</sup>

## Tratamiento farmacológico

Dentro del tratamiento farmacológico contamos con el uso de medicamentos: venotónicos y anticoagulantes.

## Tratamiento no farmacológico

La escuela de cirugía Hindú en su libro de texto del Sushruta Samhita (800-600 a. C) menciona el uso de flebotomías y cauterización de las venas.

En el tratamiento no farmacológico hay diferentes opciones como la Cirugía, el uso de Láser y la escleroterapia

## Cirugía

Los métodos para el manejo de la vena safena tradicionalmente incluyen ligadura y división de la unión safenofemoral y sus tributarias en la ingle, limpiando la vena safena desde la ingle hasta la rodilla, Las venas pequeñas son ligadas cerca de la vena poplítea,<sup>(15)</sup> las principales desventajas de la cirugía son los altos costos hospitalarios, periodos de recuperación prolongados y significantes tasas de recurrencia.<sup>(16,17)</sup>

## Ablación venosa con láser endovenoso

El uso del láser endovenoso causa un daño directo a la pared venosa lo que induce una respuesta inflamatoria y fibrosis subsecuente y cierre de las venas. <sup>(18)</sup> Se utiliza anestesia local, también se puede usar la sedación y se usa la técnica de tumescencia para prevenir daño neural y quemadura en la piel.

Después de un tratamiento con láser endovenoso, la recuperación es rápida no es necesario el ingreso hospitalario, no hay incisión quirúrgica y una rápida reanudación de la actividad diaria o del trabajo son ventajas de este procedimiento, sin embargo también puede producir algunas complicaciones tales como hematoma, infección, quemaduras de piel, trombosis venosa profunda, lesión del nervio safeno, punción dolorosa para introducción del catéter y la fibra láser, o la ruptura del catéter que puede ocasionar que un fragmento se quede en el cuerpo. <sup>(19)</sup>

Muchos estudios clínicos aleatorizados y controlados que han comparado la ablación venosa con láser endovenoso contra el tratamiento quirúrgico convencional no han encontrado diferencias en cuanto al dolor postoperatorio, tasas de recurrencia, y tiempo de retorno al trabajo o a la actividad normal <sup>(18, 19)</sup>

## Escleroterapia

La escleroterapia representa un método de tratamiento para las venas varicosas debido a que es mínimamente invasivo y bien tolerado, económico, que se ha usado desde tiempos de Hipócrates (460- 377 a.C)

el realizaba punciones reiteradas a las venas e introducción de diferentes sustancias y elementos vegetales para la obliteración después tenemos varios reportes de uso de diferentes sustancias pero debido al desconocimiento del mecanismo de acción de los agentes esclerosantes se causaron muchas complicaciones por lo que esta opción de tratamiento por lo que esta opción de tratamiento estuvo relegada hasta que después de 1970 cuando se empieza a estandarizar la técnica de escleroterapia y se buscan agentes que en su mecanismo de acción provoquen un daño permanente del endotelio vascular al inyectar la sustancia química en el interior del vaso sanguíneo ocasionando endofibrosis y obliteración.

### Definición

Procedimiento médico que consiste en la introducción de una sustancia química intravenosa, que puede ser aplicada en cualquier tipo de vena disfuncional, varicosa o en caso de angiodisplasias o problema de angiogénesis secundaria.<sup>(20)</sup>

### Mecanismo de acción

Produce por distintos mecanismos sobre el endotelio, la lisis del mismo y un fenómeno trombótico, dando lugar a la obliteración y fibrosis de vasos tratados.<sup>(6,11,12)</sup> Se ha propuesto otro mecanismo de acción de la escleroterapia ya que se ha demostrado el daño a la capa media utilizando la tinción hematoxilina y eosina posterior a la escleroterapia <sup>(21)</sup>

Hay un número infinito de sustancias potenciales que pueden ser inyectadas intravascularmente que pueden causar lesión endotelial y de la pared vascular. El esclerosante ideal deber ser indoloro a la inyección, libre de efectos adversos y con daño específico en las venas varicosas.

## AGENTES ESCLEROSANTES

Los fármacos disponibles que se usan actualmente como agentes esclerosantes pueden causar trombosis, fibrosis o ambas por lo que se clasifican según su mecanismo de acción en:<sup>(16)</sup>

### 1.- Detergentes

Agentes que producen cambios en la tensión de la superficie de la membrana celular al interferir con los lípidos de membrana, los más usados son el Tetradecil sulfato de sodio el cual no está aprobado para su uso en México y el Polidocanol al 1 y 3% el cual está aprobado en México y es el más usado, sus principales efectos adversos son hiperpigmentación posterior al tratamiento y también puede producir necrosis tisular o escaras cutáneas.

Polidocanol

$C_{12}H_{25}-(OCH_2-CH_2)_n-OH$

También conocido como lauromacrogol 400; corresponde a un hidróxido polietilénico unido al alcohol dodecílico que tiene una doble propiedad ya que es hidrofóbico e hidrofílico. Debido a esto actúa como un agente tensioactivo sobre el endotelio capilar uniéndose firmemente a los lípidos y células endoteliales del territorio venoso. A raíz de esta reacción "in situ" se produce una respuesta fibroesclerótica con formación trombótica local que colapsa las flebectasias y várices de diversa localización (naríz, esófago, recto, piernas).

El Polidocanol es el agente esclerosante para escleroterapia más usado en el mundo. <sup>(12)</sup>

### 2.- Hiperosmóticos

Producen una deshidratación del endotelio<sup>(16,17)</sup>

Los más conocidos son la solución Salina hipertónica al 11%, o 27% la combinación de Salina hipertónica-heparina y de Salina hipertónica-glucosa hipertónica, ninguna de esta aprobada para su uso en México.

La combinación de solución glucosada con solución salina hipertónica es de uso casi exclusivo en Canadá, la solución glucosada reduce la sobrecarga de sal y disminuye el dolor local y la sensación de quemazón en el sitio de inyección, aplicando máximo 10 mL por sesión y 1 mL por punto de inyección.

La solución glucosada hipertónica disminuye los efectos adversos de la solución salina hipertónica, y se ha visto que por sí sola la solución glucosada hipertónica tiene efectos esclerosantes similares a otros agentes<sup>(20)</sup> lo que podría indicar que la solución glucosada por si misma sería un prometedor agente esclerosante para varices.

La solución glucosada es fácil de conseguir y de bajo costo, se ha usado como agente esclerosante de venas de tipo telangiectasia que corresponde a C1 de la clasificación CEAP, se ha usado a concentraciones por arriba del 50% <sup>(1, 11)</sup> sola o en combinación con otros agentes como el polidocanol, pero estas concentraciones están justificadas por el uso tradicional sin contar con algún estudio de curva dosis- respuesta.

### 3.- Corrosivos<sup>(16)</sup>

Acción directa sobre el endotelio por modificación del entorno físico o químico del endotelio.

Un ejemplo de estos son el Poliyoduro de yodo y la Glicerina cromada ninguno aprobado para su uso en México.

## **EL CONEJO COMO MODELO EXPERIMENTAL**

El conejo constituye un animal de fácil crianza y mantenimiento, de bajo costo y de alta disponibilidad en nuestro medio.<sup>(22)</sup>

El uso de la vena marginal de la oreja de conejos ha sido previamente usado como un modelo de venas varicosas. Estudios previos demuestra que este modelo experimental provee un método exacto para comparar diferentes soluciones esclerosantes y concentraciones.<sup>(11,23, 24,25,26)</sup>

El conejo (*Oryctolagus cuniculus*) fue domesticado en el siglo I a.C., aunque otros autores sugieren que fue en varios monasterios de Francia entre los siglos VI y X d. C.

Existe una gran variedad de razas los mas comerciales son Nueva Zelanda y California.

Características físicas:

Tienen las orejas largas, ojos grandes y prominentes situados a los lados de la cabeza, sus extremidades posteriores están fuertemente desarrolladas y son más largas que las anteriores, además de que su cola es muy corta y está dirigida hacia arriba. Son animales con actividad crepuscular, muy dóciles y se dejan manejar muy bien cuando están acostumbrados, deben ser sujetados cuidadosamente para no lesionarlos ya que sus huesos son muy frágiles.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los países industrializados la prevalencia de venas varicosas varía entre 20% a 60% esto trae como consecuencia pérdida de días laborales a causa de la incapacidad que producen.

Un estudio en Bernink en Holanda, (1970) encontró que en 20.000 pacientes con úlcera venosa motivaron cerca de un millón de días laborales de pérdida por incapacidad.<sup>(4)</sup>

En USA (1979) las enfermedades venosas produjeron seis millones de días de ausentismo laboral, y en cuatro grandes empresas españolas se constató el 1,3% de incapacidad laboral transitoria debido a problemas flebopaticos. <sup>(4)</sup>

Extendido a todo el mundo supondría esto una pérdida de más de tres millones de jornadas laborales.<sup>(4)</sup>

## JUSTIFICACIÓN

Los síntomas pueden llegar a ser más severos con el tiempo o se pueden desarrollar complicaciones, incluyendo hemorragias, tromboflebitis, daño en la piel y ulceración. Un estudio demostró que 28.6% de aquellos que tienen venas varicosas visibles sin edema u otras complicaciones progresan a una enfermedad venosa más severa después de 6.6 años.

La escleroterapia ha sido usada como tratamiento de las venas varicosas por más de 40 años; involucra el depósito de una sustancia extraña dentro del lumen del vaso lo cual resulta en trombosis y fibrosis, y finalmente a la obliteración del vaso

Actualmente no hay disponible un esclerosante que cumpla con todos los atributos del agente esclerosante ideal, todos los esclerosantes disponibles causan varios efectos adversos y tienen tasas de recurrencia significativa, por lo que se propone el uso la solución glucosada al 5, 10, 12.5, y 25% como un nuevo agente esclerosante para el tratamiento de las venas varicosas, además de otras ventajas como su bajo costo y la abundante disponibilidad.

## PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Puede la solución glucosada ser utilizada como agente esclerosante al provocar la obliteración de la vena marginal de la oreja del conejo?

## HIPÓTESIS

Si la solución glucosada a diferentes concentraciones (5, 10, 12.5 y 25%) aplicada intravenosamente causa lesión endotelial y provoca obliteración de la vena en la que es inyectada, entonces la solución glucosada a diferentes concentraciones (5, 10, 12.5 y 25%) servirá como agente esclerosante venoso.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Valorar la eficacia de la solución glucosada a diferentes concentraciones como agente esclerosante en la vena marginal de la oreja del conejo.

### OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Determinar la concentración de solución glucosada a diferentes concentraciones con la que se consigue esclerosar la vena con mínimas complicaciones.
- Determinar la presencia de complicaciones de la solución glucosada a diferentes concentraciones
- Comparar los resultados en la obliteración de la vena marginal en la oreja del conejo de las diferentes concentraciones de solución glucosada contra el Polidocanol al 1%

## DISEÑO

El diseño del estudio es experimental, aleatorizado, analítico, doble ciego (debido a que estará cegado al aplicar la concentración de solución glucosada y al examen histopatológico), longitudinal y prospectivo.

### MUESTRA

El tamaño de la muestra no superó el mínimo necesario para asegurar la confiabilidad de los resultados.<sup>(7)</sup>

El cálculo de la muestra se hizo por medio de la ECUACIÓN DE RECURSOS DE MEAD.<sup>(7)</sup>

- $E = N - B - T$
  - $E = 16 - 0 - 5 = 11$       17 conejos = 34 orejas
  - $E = 11$
- 
- $N$ = número total de individuos menos 1
  - $B$ = efecto de bloque, el cual en este caso es cero porque todos los conejos tendrán las mismas condiciones de alimentación, y cuidados
  - $T$ = efecto de tratamiento, número total de grupos de tratamiento menos 1
  - $E$ = grados de libertad del componente error menos 1

#### Criterios de inclusión

- Conejos de raza Neozelandesa
- 13 semanas de edad
- Peso promedio de 2.0 kg
- Sanos

#### Criterios de exclusión

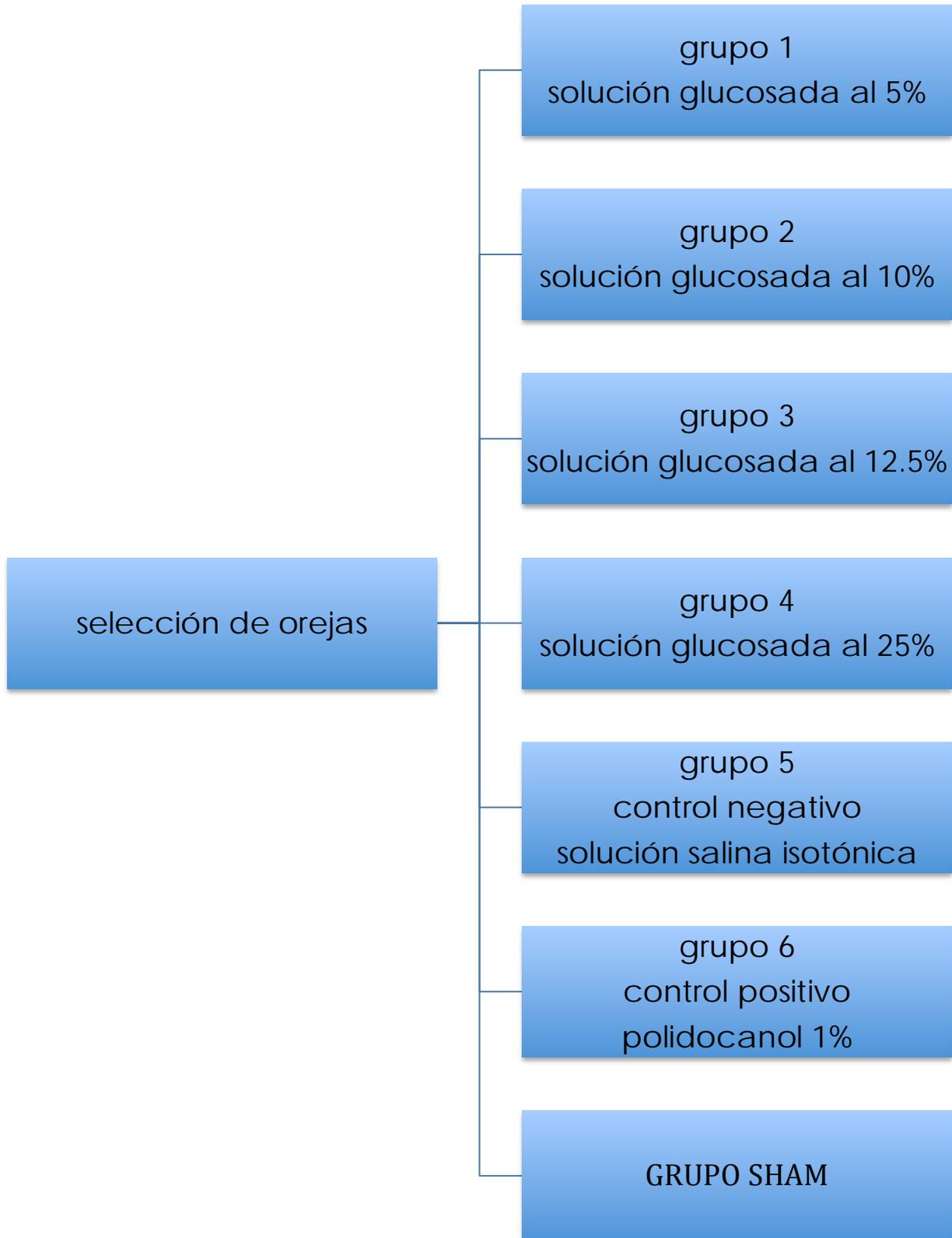
- Menos de 13 semanas de edad
- Presencia de enfermedad
- Menos de 2 kg de peso

## METODOLOGÍA

Se realizó la selección de 17 conejos para un total de 34 orejas debido a que el estudio se realizó en las orejas se contabilizaron estas individualmente como objetos de estudios, se formaron un total de 6 grupos con 5 orejas por grupo sobrando 4 orejas las cuales se asignaron a un grupo extra que se le aplicó una maniobra de tipo "SHAM".

Se utilizó la vena marginal de la oreja por ser de fácil acceso, mantenerse limpia y ser manipulable.<sup>(11,23, 24,25,26)</sup>

I



Conformación de los grupos de estudio para las diferentes concentraciones de glucosa los controles positivo y negativo así como el



grupo SHAM.

Rack de alojamiento para los conejos en el bioterio.

En la vena marginal de cada oreja se aplicó 0.1ml de solución glucosada, solución fisiológica, polidocanol al 1% o SHAM. Se ocluyó la vena distalmente por 1 minuto para evitar que el agente esclerosante alcance la circulación sistémica. Se realizó fotografía del vaso sanguíneo antes del procedimiento y a la hora; los días 1, 8 y 30 postratamiento.



Las flechas indican la marca del sitio de punción en la vena marginal de la oreja y la identificación de cada oreja según el grupo asignado.

### APLICACIÓN

Se realizó el procedimiento en una semana llevando un grupo por día y realizando 2 grupos en 2 días comenzando por la concentración más baja.

	5%	10%	12.5%	25%	SSI	Pol. 1%	SHAM
lunes	5						4
martes		5					
miércoles			5				
jueves				5			
viernes					5	5	

SSI. Solución salina isotónica Pol. 1% Polidocanol al 1%

Toma de biopsia

Para la toma de biopsia todos los grupos se anestesiaron con ketamina 30mg/kg más xilacina a 3mg/kg, intramuscular y se realizó bajo condiciones asépticas.

Se tomó biopsia de piel que incluyó la totalidad de la vena.

Se tomó biopsia de 2 conejos de cada grupo por día de toma de biopsia, esto con el fin de evitar que la lesión causada por la biopsia afectará el examen histológico todas las muestras fueron conservadas en formol al 9%.

	Día 1	Día 8	Día 30
Grupo 1	**	**	*
Grupo 2	**	**	*
Grupo 3	**	**	*
Grupo 4	**	**	*
Grupo 5	**	**	*
Grupo 6	**	**	*
SHAM	**	**	*

Asignación para la toma de Biopsia por grupo

### BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO<sup>(27)</sup>

El respeto y cumplimiento de las recomendaciones nacionales e internacionales sobre el cuidado y uso de los animales de laboratorio, permite alcanzar resultados válidos, confiables, reproducibles y

comparables, así como adoptar una actitud responsable desde el punto de vista ético y moral frente al uso de seres vivos.<sup>(27)</sup>

Manejo<sup>(28)</sup>

Bioterio

Es una palabra compuesta que deriva del griego bios- vida y del latín therios bestia.

Es la instalación en que se mantienen y /o producen animales bajo condiciones ambientales acordes a cada especie.

Los principales objetivos que cumple un bioterio son:

- a) asegurar la procedencia y calidad de los animales
- b) constatar la procedencia de los productos biológicos, de los alimentos y su porcentaje de efectividad
- c) Proporcionar a los investigadores los animales necesarios para la experimentación asegurando la calidad de los mismos.

Según la clasificación de bioterios de acuerdo a la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999 , el bioterio utilizado en este proyecto de investigación fue de experimentación ya que no se dedica a la producción de animales salvo que exista un proyecto de investigación que así lo requiera; la mayoría de los animales que se encuentran en ellos proviene de instalaciones que se encargan de reproducirlos, se dedican a desarrollar experimentos fundamentados y justificados utilizando a los animales de laboratorio como modelos biológicos experimentales, a los cuales se les da el mantenimiento necesario de acuerdo a su especie y requerimientos de la investigación.

Alojamiento Primario

Se usaron jaulas de acero inoxidable con piso de malla de alambre, con suficiente amplitud y altura para permitir movimientos y posturas naturales.

#### Cuarentena

Todos los conejos estuvieron en observación por 1 semana antes de su uso, para que se aclimataran al nuevo ambiente, no se detectaron problemas no observados a su ingreso.

#### Alojamiento secundario

Se mantuvo un control de temperatura, humedad relativa y horas luz-oscuridad.

#### Alimentación

Se usó un alimento con nutrientes balanceados que cubría los requerimientos nutricionales, el agua potable se administró a libre demanda.

#### Métodos de identificación

Se usó colorante no tóxico temporal

Todo el manejo de los conejos se realizó siguiendo los lineamientos de la ley de Ley de Maltrato Animal en el Distrito Federal la cual entró en vigor el 1º de febrero del 2013.

solo se podrá realizar experimentos en animales si estos son aprobados por un comité de bioética

- siempre y cuando los resultados no puedan obtenerse con procedimientos alternativos
- de mejorar la producción favorecer y controlar la reproducción animal

- favorezcan la salud del humano o del animal

## NORMA OFICIAL MEXICANA

La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación publicó en el Diario Oficial del Gobierno Mexicano el 28 de junio de 2001 la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 la cual cuenta con un apartado de, Especificaciones técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio.

### Eutanasia

La Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 acepta el uso de todos los agentes barbitúricos para realizar la eutanasia debido a que inducen rápidamente la inconsciencia. El pentobarbital sódico es un agente barbitúrico utilizado para provocar la eutanasia en conejos y roedores.

El cadáver se somete a incineración después de terminar la experimentación.

ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO

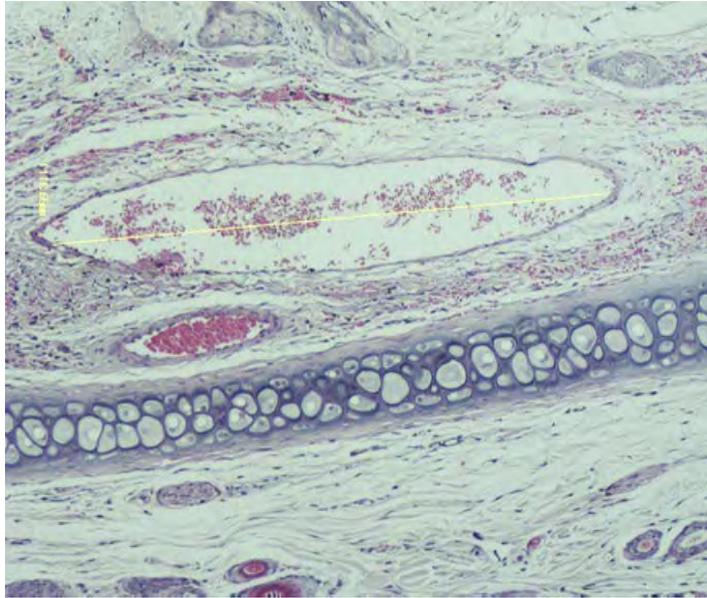


Figura 1. Microfotografía de vaso venoso con leve engrosamiento de su pared. Disminución de su luz (1.16 mm).

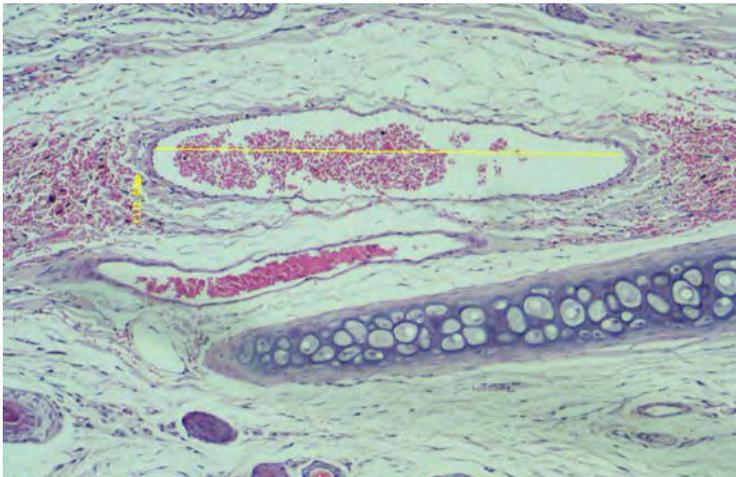


Figura 2. Microfotografía de un vaso venoso donde se observa el engrosamiento de la pared de los vasos venosos fue irregular en todo los casos. Llama la atención la presencia de hemorragia reciente.

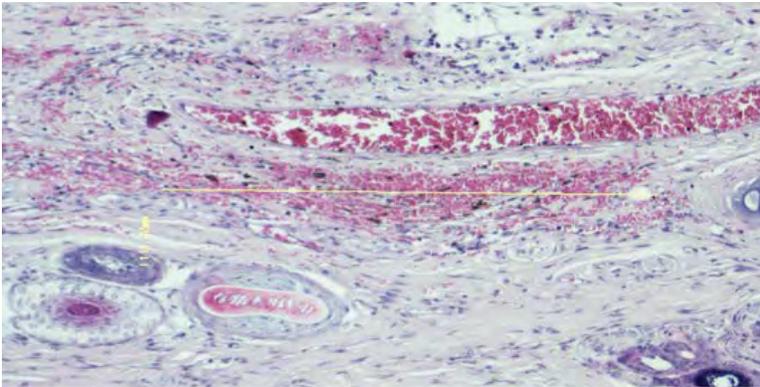


Figura 3. Microfotografía de vaso venoso donde se observa el engrosamiento marcado de la pared y disminución de su luz.

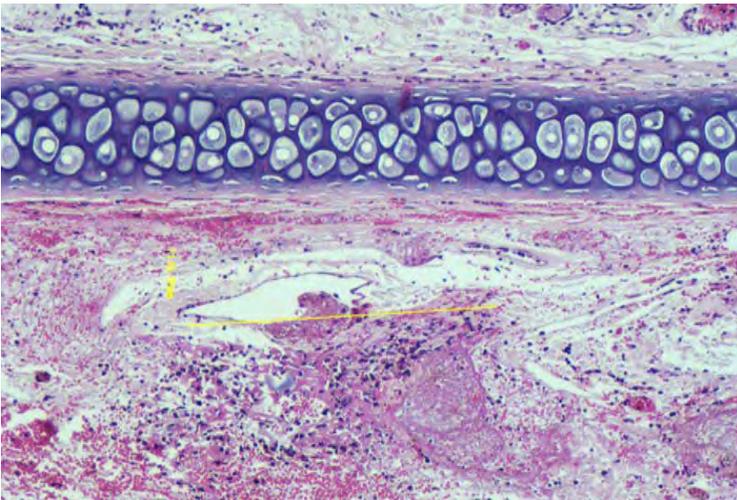


Figura 4. Microfotografía de vaso venoso donde además del engrosamiento, hay afección inflamatoria de la pared, este vaso pertenece al grupo de polidocanol al 1% donde también se observó presencia de trombosis y hemorragia reciente.

## ANÁLISIS EXPLORATORIO DE LOS DATOS

### Estadísticos

		oreja	sustancia	biopsia	complicación	mm
N	Válido	340	340	340	340	340
	Perdidos	0	0	0	0	0

Tabla 1. Se observa que el mismo número en todas las variables sin datos perdidos

### sustancia

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	glucosa 5%	50	14,7	14,7	14,7
	glucosa 10%	50	14,7	14,7	29,4
	glucosa	50	14,7	14,7	44,1

12.5%				
glucosa 25%	50	14,7	14,7	58,8
sol salina	50	14,7	14,7	73,5
SHAM	40	11,8	11,8	85,3
polidocanol 1%	50	14,7	14,7	100,0
Total	340	100,0	100,0	

Tabla 2. Todos los grupos de estudio tuvieron el mismo tamaño de muestra

### Resumen de procesamiento de casos

		Casos					
		Válido		Perdidos		Total	
	tipo de concentración	N	Porcenta je	N	Porcenta je	N	Porcenta je
mm de cierre	glucosa 5%	50	100,0%	0	0,0%	50	100,0%
	glucosa 10%	50	100,0%	0	0,0%	50	100,0%
	glucosa 12.5%	50	100,0%	0	0,0%	50	100,0%
	glucosa 25%	50	100,0%	0	0,0%	50	100,0%
	sol salina	50	100,0%	0	0,0%	50	100,0%
	SHAM	40	100,0%	0	0,0%	40	100,0%
	polidocanol 1%	50	100,0%	0	0,0%	50	100,0%

Tabla 3. Se muestra el resumen de los datos permaneciendo constante en todos los grupos de contraste

### Pruebas de normalidad

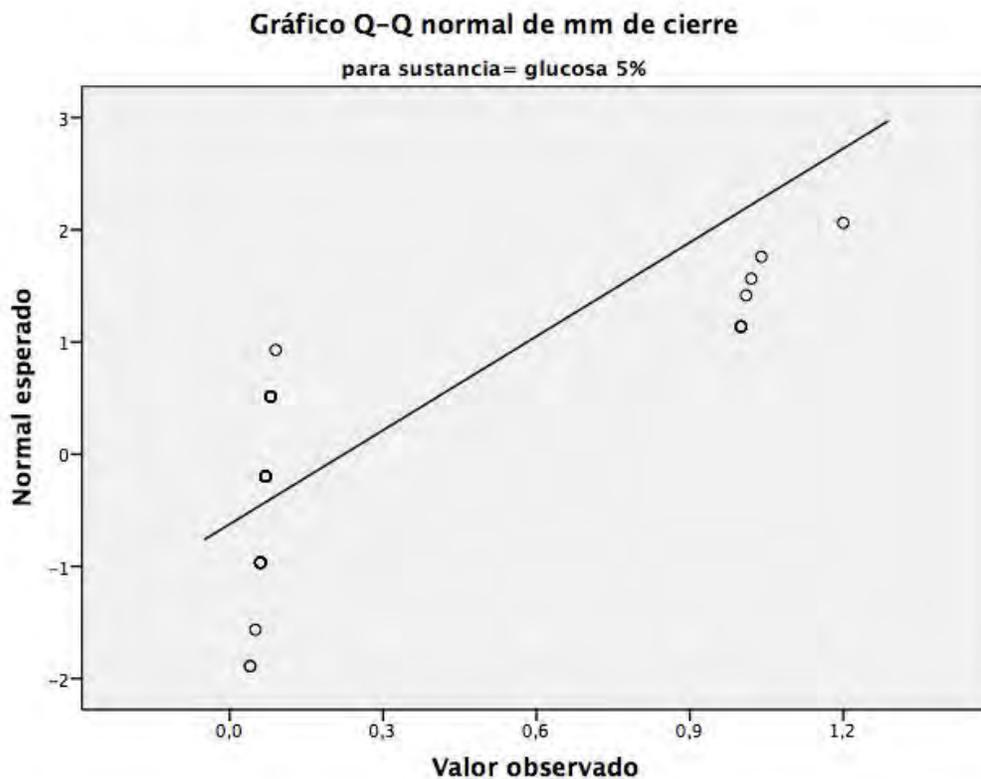
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	tipo de concentración	Estadísti co	gl	Sig.	Estadísti co	gl	Sig.
Mm de cierre	glucosa 5%	,485	50	,000	,480	50	,000
	glucosa 10%	,458	50	,000	,547	50	,000

glucosa 12.5%	,427	50	,000	,632	50	,000
glucosa 25%	,436	50	,000	,607	50	,000
sol salina	,476	50	,000	,481	50	,000
SHAM	,505	40	,000	,425	40	,000
polidocanol 1%	,433	50	,000	,598	50	,000

Corrección de significación de Lilliefors

Tabla 4. Al ser la prueba de Kolmogorov significativa en todas las variables vemos que no se cumple el supuesto de normalidad

Un gráfico cuantil-cuantil (Q-Q) permite observar cuán cerca está la distribución de un conjunto de datos a la distribución normal



Gráfica 1. Observamos que la variable glucosa al 5% no presenta una distribución normal

**Gráfico Q-Q normal de mm de cierre**  
para sustancia= glucosa 10%

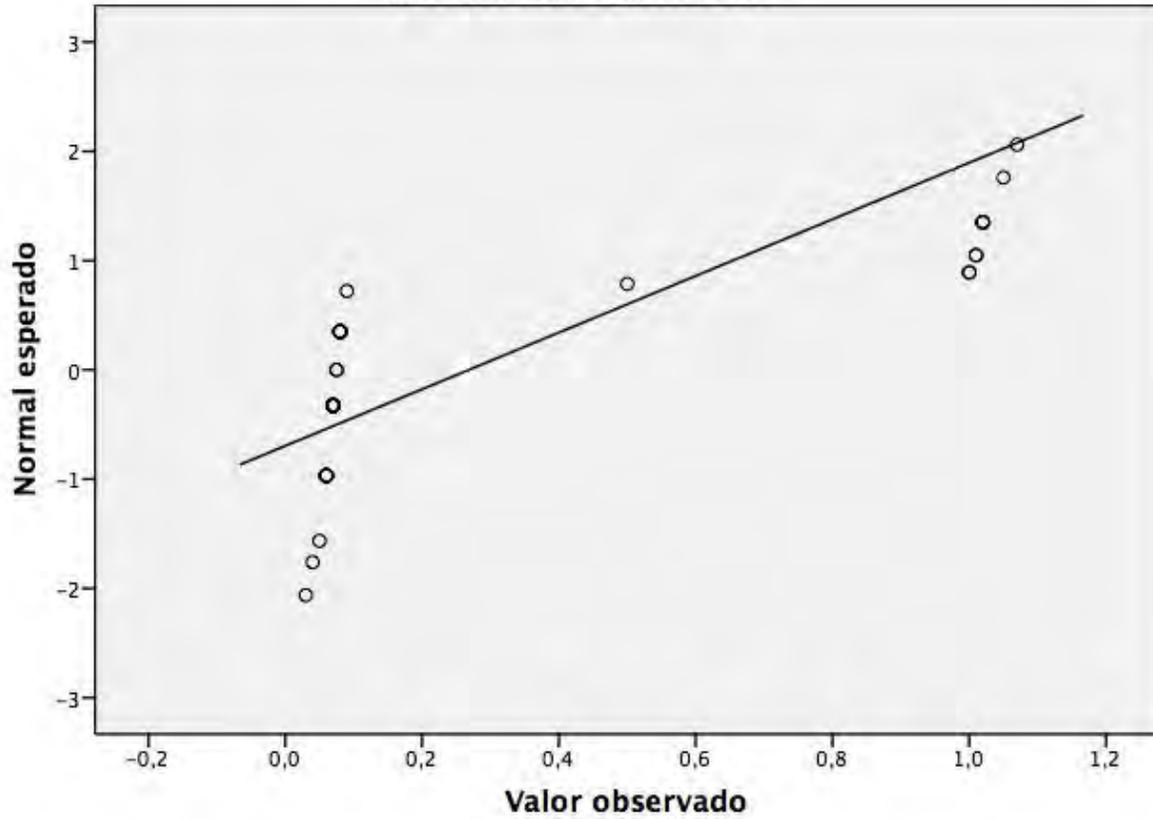
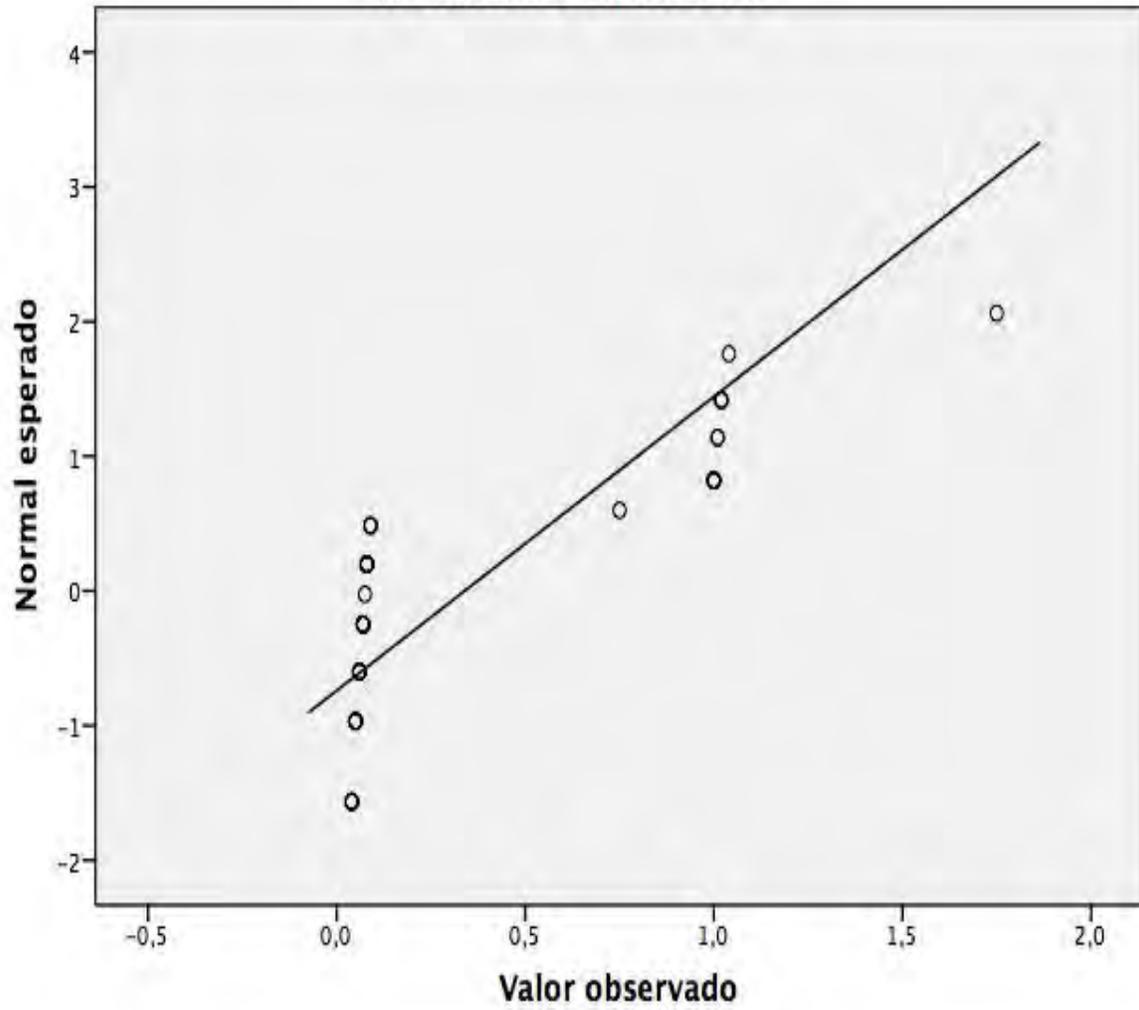


Gráfico 2. El gráfico Q-Q para la variable de solución glucosada al 5% nos permite ver que no se acerca a la distribución normal

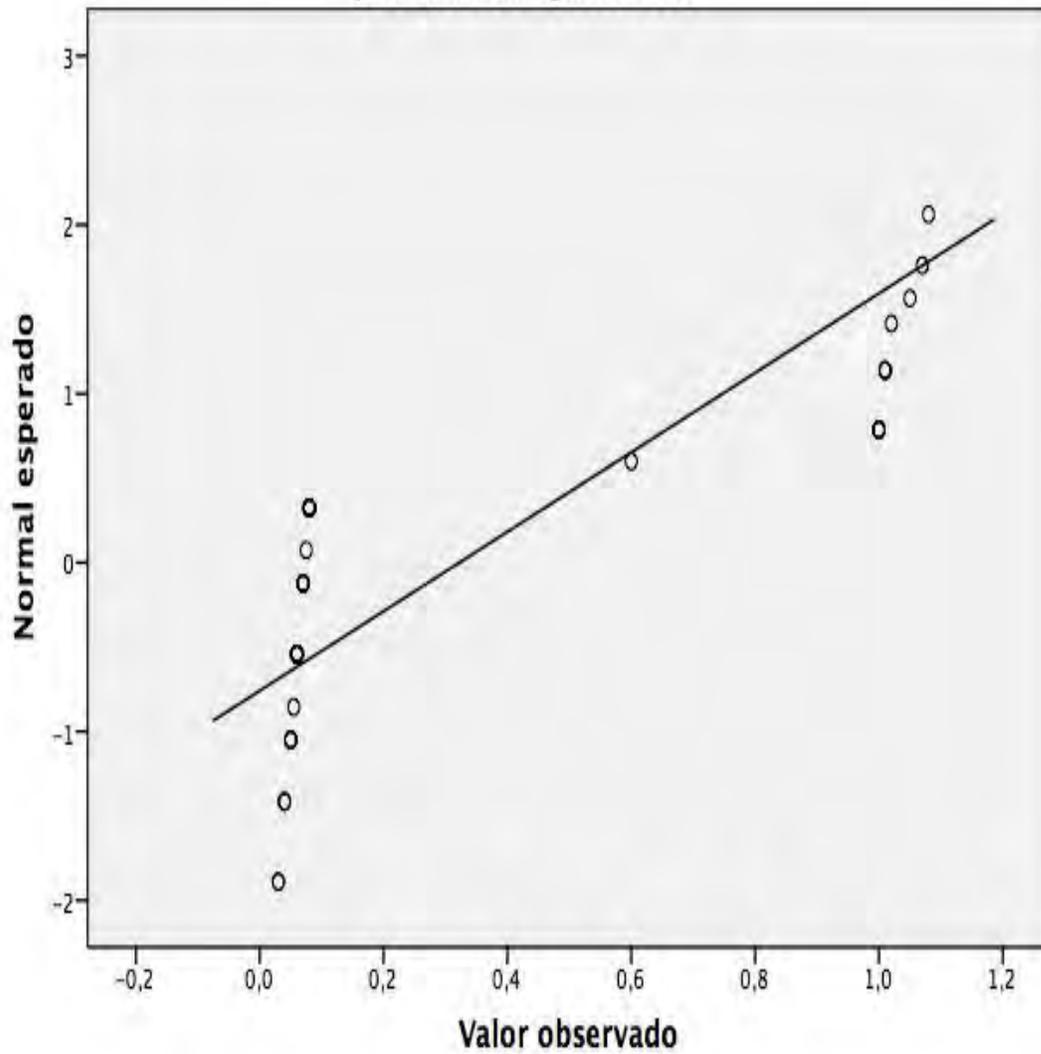
**Gráfico Q-Q normal de mm de cierre**  
para sustancia= glucosa 12.5%



Gráfica 3. El gráfico Q-Q para la variable de solución glucosada al 12.5% nos permite ver que no se tiene una distribución normal

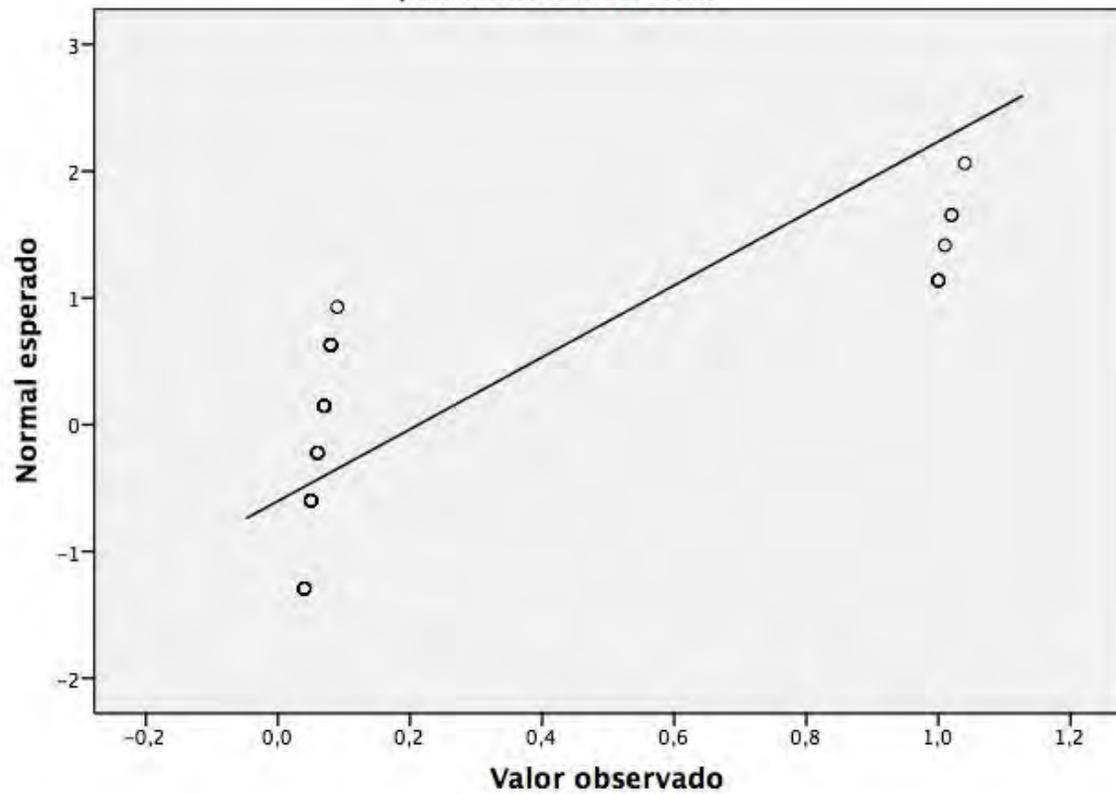
### Gráfico Q-Q normal de mm de cierre

para sustancia= glucosa 25%

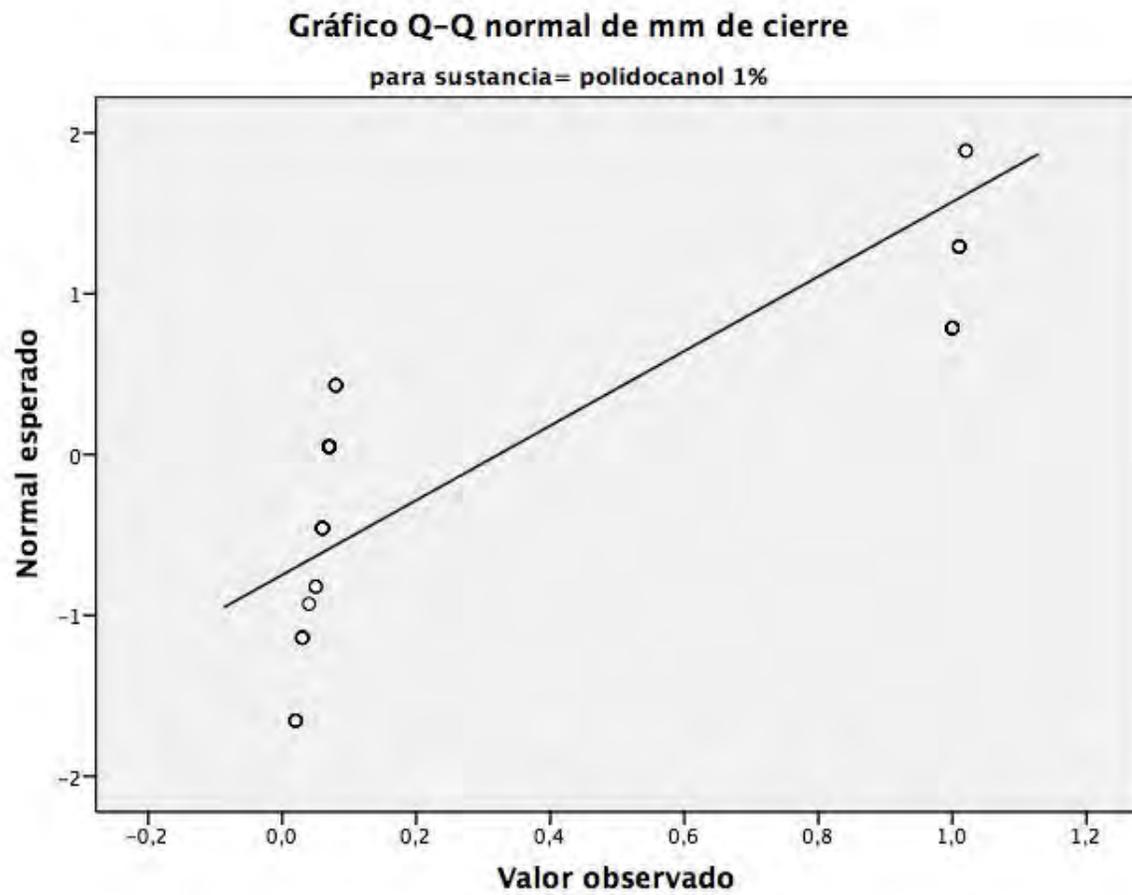


Gráfica 4. El gráfico Q-Q para la variable de solución glucosada al 25% nos permite ver que no hay una distribución normal

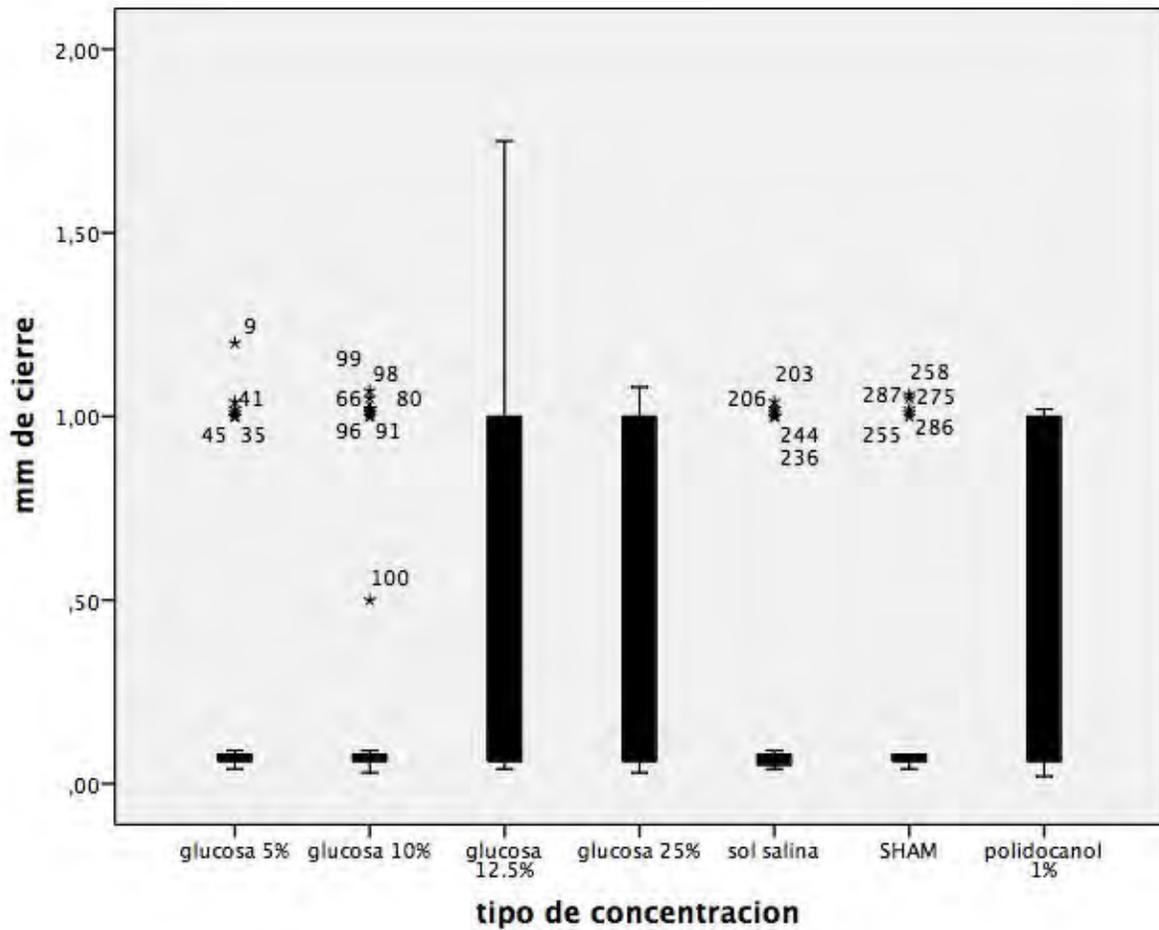
**Gráfico Q-Q normal de mm de cierre**  
para sustancia= sol salina



Gráfica 5. En el gráfico Q-Q para la variable de solución salina podemos observar que no presenta una distribución normal



Gráfica 6. El gráfico Q-Q para la variable de control Polidocanol al 1% vemos que no tiene una distribución normal.



Gráfica 7. Podemos observar como la solución glucosada a concentraciones de 12.5 y 25% son muy parecidas al polidocanol

Prueba de Kruskal-Wallis

**Rangos**

	sustancia	N	Rango

			promedio
obliteración	glucosa 5%	50	178,53
	glucosa 10%	50	189,89
	glucosa 12.5%	50	182,61
	glucosa 25%	50	174,80
	sol salina	50	142,98
	SHAM	40	164,95
	polidocanol 1%	50	158,63
	Total	340	

**Estadísticos de prueba<sup>a,b</sup>**

	obliteración
Chi-cuadrado	8,088
gl	6
Sig. asintótica	,232

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: sustancia

Tabla 5. En la prueba estadística no paramétrica de Kruskal-Wallis no hay significancia estadística

**ANOVA**

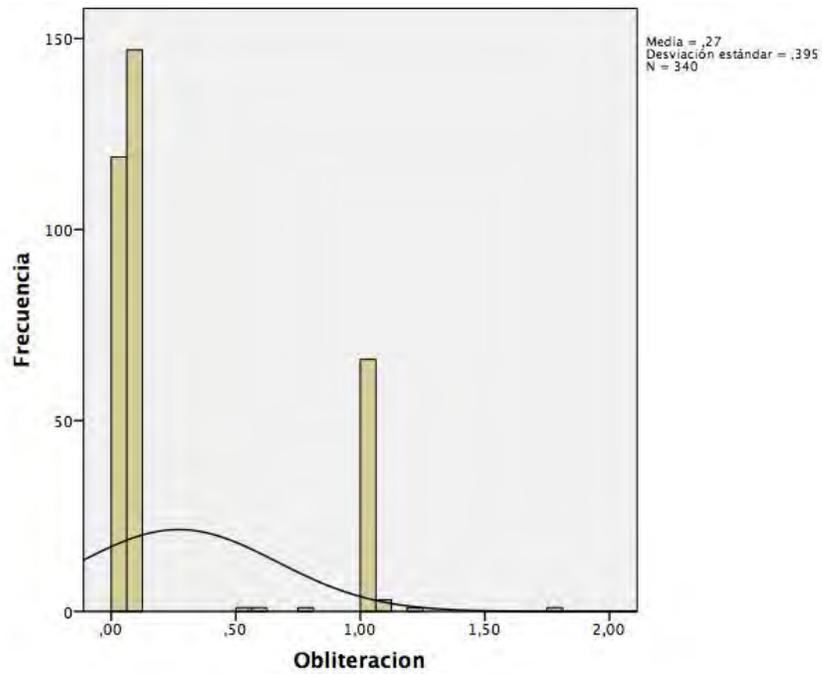
	Suma de	gl	Media	F	Sig.
--	---------	----	-------	---	------

		cuadrados		cuadrática		
Obliteración	Entre grupos	1,065	6	,177	1,138	,340
	Dentro de grupos	51,947	333	,156		
	Total	53,012	339			
CompliMlcr	Entre grupos	957,176	6	159,529	2213,471	,000
	Dentro de grupos	24,000	333	,072		
	Total	981,176	339			
Complimacro	Entre grupos	124,294	6	20,716	123,184	,000
	Dentro de grupos	56,000	333	,168		
	Total	180,294	339			

Tabla 6, Se observa una diferencia estadísticamente significativa en las complicaciones microscópicas y macroscópicas.

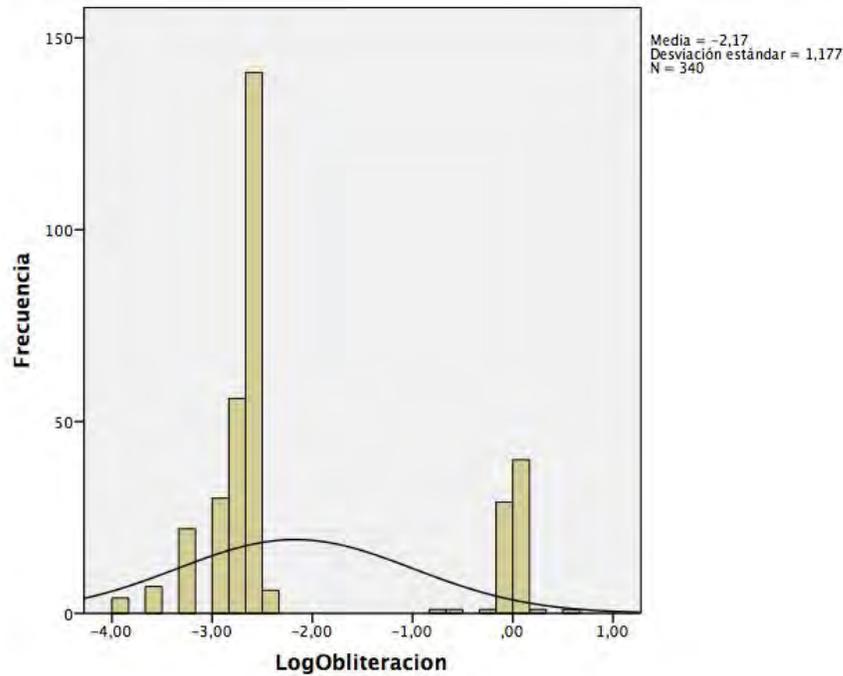
#### TRANSFORMACIÓN LOGARÍTMICA

Se realizó la transformación logarítmica de variable obliteración



Gráfica 8. Histograma que muestra la variable obliteración comparada con la curva de normalidad.

La variable obliteración esta medida en mm.



Gráfica 9. Histograma que muestra la variable obliteración convertida a logaritmo neperiano, comparada con la curva de normalidad, vemos que de este modo ajusta más a la curva de normalidad  
La variable obliteración esta medida en mm.

Posterior a la conversión en logaritmos de la variable obliteración se realizó un análisis de ANOVA obteniendo el siguiente resultado

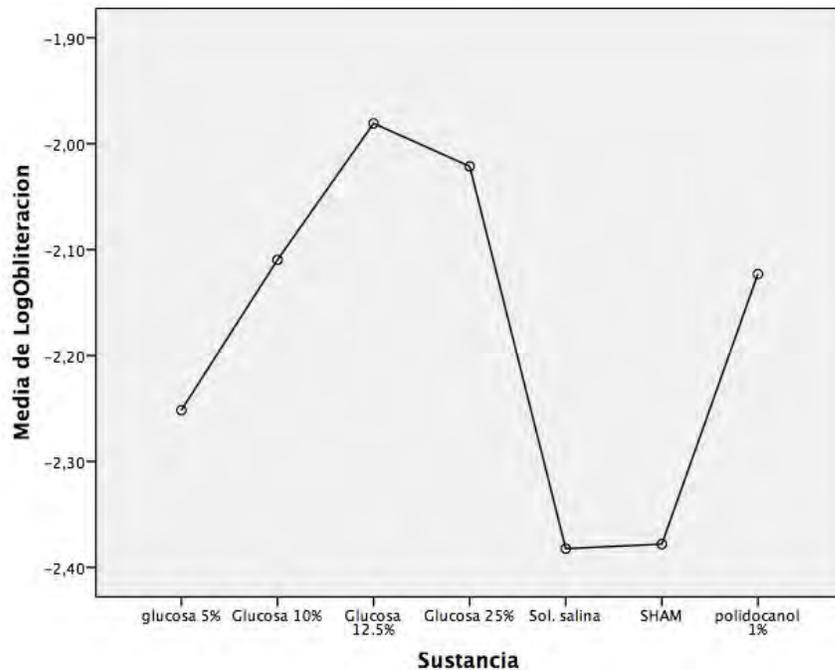
### ANOVA

LogObliteracion

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	7,504	6	1,251	,902	,494
Dentro de grupos	461,951	333	1,387		
Total	469,455	339			

Tabla 7. Resultado de la prueba estadística ANOVA después de la transformación logarítmica de la variable obliteración.

Y se obtiene el gráfico de medias



Gráfica 10

Posterior a la transformación logarítmica de la variable obliteración vemos como el resultado mejor se obtiene con la concentración de solución glucosada al 12.5% siguiendo la concentración al 25% estando ambas concentraciones por arriba del polidocanol al 1%, siendo la concentración de solución glucosada al 10%. prácticamente igual el polidocanol al 1%.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

En el análisis estadístico podemos notar que no hay una diferencias estadísticamente significativa entre los diferentes grupos de solución

glucosada y el grupo control de polidocanol al 1%, en la gráfica 7 se observa que la solución concentrada al 12.5 % y 25% presenta un comportamiento muy similar, y en la gráfica 10 donde la variable obliteración sufrió una transformación logarítmica vemos como el comportamiento de la concentración de solución glucosada al 12.5% y 25% es incluso superior al control positivo que es el polidocanol al 1%. En los resultados no hay diferencia significativa entre las diferentes concentraciones de solución glucosada y polidocanol al 1%.

## DISCUSIÓN

El uso de animales de laboratorio es muy importante en el estudio de enfermedades humanas. El uso de animales apropiados es crítico no sólo para la investigación básica sino también para el desarrollo de herramientas diagnósticas y terapéuticas.

El conejo ha sido ampliamente usado para el estudio de las venas varicosas desde hace aproximadamente 30 años se ha usado en algunos estudios comparativos de agentes esclerosantes <sup>(29,30)</sup>, también se ha utilizado como modelo para el estudio de otras enfermedades cardiovasculares. <sup>(31, 32)</sup>

Con la introducción de tratamientos endovenoso efectivo y mínimamente invasivo.

Las bases de la decisión de cada tratamiento para las venas varicosas depende de la anamnesis, estudios clínicos y ultrasónico. El tratamiento endovenoso de las venas varicosas en el paciente externo ha probado ser tan efectivo como el tratamiento convencional con cirugía y con menos complicaciones.

El tratamiento de la enfermedad venosa superficial e insuficiencia venosa crónica, continúa evolucionando. Un mejor entendimiento de la anatomía venosa y la patofisiología y el desarrollo de nuevas y más eficientes tecnologías diagnósticas nos han permitido utilizar técnicas mínimamente invasivas en el tratamiento de las venas varicosas <sup>(1)</sup>

Un mejor entendimiento de la fisiopatología de la enfermedad varicosa venosa nos permitirá tener más opciones terapéuticas que sean mínimamente invasivas y más económicas como pretende demostrar este estudio donde se encontró que no existe diferencia entre la solución glucosa a diferentes concentraciones y el polidocanol al 1% que es el único agente esclerosante aprobado en México, siendo costoso y difícil de conseguir, la solución glucosada representa una opción mucho más accesible tanto en su costo como en su accesibilidad.

Siendo el la enfermedad varicosa crónica un problema de salud pública con la solución glucosada tendríamos una opción más de tratamiento para estos pacientes.

Este estudio es el inicio de una línea de investigación debido a que tiene la limitante de haber sido usada solo una aplicación por concentración usada, por lo que se abre la posibilidad de hacer nuevos protocolos con más sesiones de aplicación para cada concentración y buscando otras variables como diámetro de vaso a aplicar según concentración y medir el número de sesiones necesarios para conseguir la esclerosis del vaso.

Y pasar a una etapa de comparación clínica entre las diferentes concentraciones y el agente esclerosante polidocanol.

## CONCLUSIÓN

Es estudio nos ofrece la posibilidad de contar con más opciones de agentes esclerosantes como lo es la solución glucosada a diferentes concentraciones para tratamiento de la enfermedad venosa en su variedad de telangiectasias siendo estas opciones fáciles de conseguir e económicas.

La respuesta a la pregunta de investigación es que las concentraciones de solución glucosada estudiadas cumplen el criterio de NO INFERIORIDAD al no haber diferencia estadísticamente significativa entre los grupos ni al compararse contra el esclerosante convencional Polidocanol al 1% y si tienen la ventaja de menos presencia de efectos adversos.

Queda abierta la posibilidad de utilizar otras variables como podrían ser realizar otras tinciones o inmunohistoquímica a los cortes de las biopsias de este estudio buscando marcadores de inflamación y fibrosis en la afán de buscar diferencias entre las concentraciones de solución glucosada y el polidocanol al 1%.

Este estudio tiene la limitante de ser solo una aplicación del probable agente esclerosante; la solución glucosada; por lo que abre la posibilidad de realizar nuevos protocolos para determinar con cuántas aplicaciones dependiendo del grosor de la vena se consigue la obliteración de las mismas.

También hay que considerar la limitante de que el estudio se realizó en una vena sana por lo que en una vena varicosa podría encontrarse diferencias en la respuesta inflamatoria y la subsecuente fibrosis en la vena varicosa respecto de la sana dependiendo de la concentración de solución glucosada o Polidocanol al 1 % que se utilice.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Ombrellino M, Kabnick LS. Varicose Vein Surgery. *Seminars in Interventional Radiology*. 2005;22(3):185-194. doi:10.1055/s-2005-921951
2. Celsus A C. *Of Medicine in Eight Books*. Grieve J, trans. London: Wilson & Durham; 1756.
3. Walsh J. Galen's writing and influences inspiring them. *Ann Med Hist*. 1934;1:14.

4. Kouhri M. Varices de miembros inferiores, Epidemiología y tratamiento. Revista de Clínica Quirúrgica 2004. 2-3
5. Solano A. Verdugo,P. Indicaciones, contraindicaciones, ventajas y desventajas de los procedimientos de esclerosis, físicos, químicos y electrónicos Unoversitat Autonoma de Barcelona 2010
6. Eckmann, D. M. (2009). Polidocanol for endovenous microfoam sclerosant therapy. *Expert opinion on investigational drugs*, 18(12), 1919-1927.
7. Dinn E, Henry M. Treatment of venous ulceration by injection sclerotherapy and compression hosiery: a 5-year study. *Phlebology*. 1992;7(1):23–26.
8. National Clinical Guideline Centre (UK). Varicose Veins in the Legs: The Diagnosis and Management of Varicose Veins. London: National Institute for Health and Care Excellence (UK); 2013 Jul. (NICE Clinical Guidelines, No. 168.) Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK264166/>
9. Beebe-Dimmer JL, Pfeifer JR, Engle JS, Schottenfeld D. The epidemiology of chronic venous insufficiency and varicose veins. *Ann Epidemiol*. 2005;15(3):175–84.
10. McLafferty RB, Lohr JM, Caprini JA, et al. Results of the national pilot screening program for venous disease by the American Venous Forum. *J Vasc Surg*. 2007;45(1):142–8.
11. Bourgeois A.[66% glucose, a safe sclerosant. Experimental study] *J Mal Vasc*. 1984;9(2):97-9.
12. Doganci, S., Yildirim, V., Erol, G., Yesildal, F., Karabacak, K., Kadan, M.& Ozgurtas, T. (2016). Polidocanol (Lauromacrogol 400) has anti-angiogenic effects in vitro and in vivo. *European review for medical and pharmacological sciences*, 20(7), 1384-1389.
13. Kucukguven A, Khalil RA. Matrix Metalloproteinases as Potential Targets in the Venous Dilatation Associated with Varicose Veins. *Current drug targets*. 2013;14(3):287-324.
14. Joseph N, B A, Faizan Thouseef M, Devi M U, Abna A, Juneja I. A multicenter review of epidemiology and management of varicose veins for national guidance. *Annals of Medicine and Surgery*. 2016;8:21-27. doi:10.1016/j.amsu.2016.04.024.
15. Lin F, Zhang S, Sun Y, Ren S, Liu P. The Management of Varicose Veins. *International Surgery*. 2015;100(1):185-189. doi:10.9738/INTSURG-D-14-00084.1
16. Albanese G.Kimi L. Kondo, D.O.Charles E. Ray, M.D. Pharmacology of Sclerotherapy *Semin Intervent Radiol*. 2010 Dec; 27(4): 391–399.

17. Matheus Bertanha. Polidocanol versus hypertonic glucose for sclerotherapy treatment of reticular veins of the lower limbs: study protocol for a randomized controlled trial, *Trials*. 2014; 15: 497.
18. Rasmussen LH, Lawaetz M, Bjoern L, Vennits B, Blemings A, Eklof B. Randomized clinical trial comparing endovenous laser ablation, radiofrequency ablation, foam sclerotherapy and surgical stripping for great saphenous varicose veins. *Br J Surg*. 2011;98(8):1079–1087
19. León M.B, Villegas A.F. Manual de manejo y anestesia en el conejo como modelo quirúrgico en docencia. México. UNAM; 2006
20. Whiteley, M. S., Dos Santos, S. J., Fernandez-Hart, T. J., Lee, C. T. D., & Li, J. M. (2016). Media damage following detergent sclerotherapy appears to be secondary to the induction of inflammation and apoptosis: an immunohistochemical study elucidating previous histological observations. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 51(3), 421-428.
21. Hernandez Rivero, Alejandro José et al. El conejo como modelo experimental de entrenamiento en cirugía laparoscópica pediátrica. *Arch Venez Puer Ped*. 2012, vol.75, n.1 pp. 6-10
22. Goldman M P. A comparison of sclerosing agents. Clinical and histologic effects of intravascular sodium morrhuate, ethanolamine oleate, hypertonic saline (11.7%), and sclerodex in the dorsal rabbit ear vein. *J Dermatol SurgOncol*. 1991;17(4):354–362.
23. Goldman M.P., Martin D.E., Fitzpatrick R.E., Ruiz-Esparza J. Pulsed dye laser treatment of telangiectases with and without subtherapeutic sclerotherapy. Clinical and histologic examination in the rabbit ear vein model. *J. Am. Acad. Dermatol*. 1990;23(1):23–30.
24. Khalid M. AlGhamdi Phenol as a novel sclerosing agent: A safety and efficacy study on experimental animals. *Saudi Pharm J*. 2014 Jan; 22(1): 71–78
25. Martin D.E., Goldman M.P. A comparison of sclerosing agents: clinical and histologic effects of intravascular sodium tetradecyl sulfate and chromated glycerin in the dorsal rabbit ear vein. *J. Dermatol. Surg. Oncol*. 1990;16(1):18–22
26. Hernández S. El modelo animal en las investigaciones biomédicas *BIOMEDICINA*, 2006, 2 (3) - 252-256 ISSN: 1510-9747
27. León M.B, Villegas A.F. Manual de manejo y anestesia en el conejo como modelo quirúrgico en docencia. México. UNAM; 2006
28. Goldman, M. P., Martin, D. E., Fitzpatrick, R. E., & Ruiz-Esparza, J. (1990). Pulsed dye laser treatment of telangiectases with and without subtherapeutic sclerotherapy: clinical and histologic examination in the rabbit ear vein model. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 23(1), 23-30.

29. Goldman, M. P., Kaplan, R. P., Oki, L. N., Cavender, P. A., Strick, R. A., & Bennett, R. G. (1987). Sclerosing agents in the treatment of telangiectasia: comparison of the clinical and histologic effects of intravascular polidocanol, sodium tetradecyl sulfate, and hypertonic saline in the dorsal rabbit ear vein model. *Archives of dermatology*, 123(9), 1196-1201.
30. Fan J, Kitajima S, Watanabe T, et al. Rabbit models for the study of human atherosclerosis: from pathophysiological mechanisms to translational medicine. *Pharmacology & therapeutics*. 2015;0:104-119. doi:10.1016/j.pharmthera.2014.09.009.
31. Demetz E, Tancevski I, Duwensee K, et al. Inhibition of hepatic scavenger receptor-class B type I by RNA interference decreases atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*. 2012;222(2):360-366. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2012.03.012.
32. Duffy DM. Sclerosants: a comparative review *Dermatol Surg*. 2010 Jun;36 Suppl 2:1010-25.