

11211



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA
"DR. ANTONIO FRAGA MOURET"

**EFFECTO DEL FACTOR DE CRECIMIENTO
FIBROBLÁSTICO EN LESIONES DEL
NERVIO CIÁTICO DE RATA**

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO EN:
ESPECIALISTA EN:

**CIRUGIA PLASTICA
Y RECONSTRUCTIVA**

PRESENTA

DRA. ERIKA CHACÓN MOYA

ASESOR ACADÉMICO
DR. JOSÉ LUIS ROMERO ZÁRATE



MÉXICO, D.F.

2005

m347941



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. JESUS ARENAS OSUNA

JEFE DE EDUCACION E INVESTIGACION MEDICA
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
"DR ANTONIO FRAGA MOURET" CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DR. PEDRO GRAJEDA LOPEZ

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DEL SERVICIO DE CIRUGIA PLASTICA
Y RECONSTRUCTIVA UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
"DR ANTONIO FRAGA MOURET" CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DR. JOSE LUIS ROMERO ZARATE

PROFESOR ADJUNTO DEL CURSO DEL SERVICIO DE CIRUGIA
PLASTICA Y RECONSTRUCTIVA UNIDAD MEDICA DE ALTA
ESPECIALIDAD
"DR ANTONIO FRAGA MOURET" CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DRA. ERIKA CHACON MOYA

ALUMNA
DEL CURSO DEL SERVICIO DE CIRUGIA PLASTICA Y RECONSTRUCTIVA
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
"DR ANTONIO FRAGA MOURET" CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

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

INDICE

| | |
|-------------------------|----|
| RESUMEN..... | 1 |
| ANTECEDENTES..... | 3 |
| MATERIAL Y METODOS..... | 6 |
| RESULTADOS..... | 7 |
| DISCUSIÓN..... | 11 |
| CONCLUSIONES..... | 13 |
| ANEXO..... | 14 |
| BIBLIOGRAFIA..... | 21 |

RESUMEN

OBJETIVO: Determinar si el FGF promueve la regeneración o reinervación del nervio ciático en ratas, evaluada en dos dimensiones: morfológica mediante estudio histológico y funcional por medio de la electromiografía.

MATERIAL Y MÉTODO: Se realizó un estudio experimental en ratas, siguiendo el modelo murino estandarizado. Se formaron dos grupos de diez ratas sanas cada uno, a las cuales se les seccionó el nervio ciático colocándose tubulización. En su interior a un grupo se le aplicó FGF y a otro, solución fisiológica. Se evaluó la reinervación a través de histología y electromiografía. Las variables identificadas mediante histología de la biopsia obtenida de la unión del nervio seccionado fueron: presencia y número de troncos nerviosos nuevos. Los estudios histológicos fueron realizados en los días 7, 14 y 21 de seguimiento. A través de electromiografía se evaluó la reinervación muscular a los días 7 y 21 en ambos grupos, verificando amplitud, duración y estabilidad del potencial de la unidad motora. Las diferencias de medias se evaluaron mediante la prueba t de Student.

RESULTADOS: No hubo diferencias estadísticas significativas del promedio de nuevas fibras neuronales en ambos grupos, de 3.9 y 3.6 en los grupos de FGF y solución fisiológica respectivamente. La respuesta electromiográfica a los 7 y 21 días posquirúrgicos fue la misma para ambos grupos, mostrando un potencial de acción característico de reinervación: estables, con poca intensidad o amplitud y larga duración.

CONCLUSIONES: La utilización del FGF, al parecer, no influye en la regeneración neuronal a través del aumento en la angiogénesis.

Palabras claves: Reinervación, tubulización nerviosa, factor de crecimiento fibroblástico.

SUMMARY

OBJECTIVE: To determine if the FGF promotes the regeneration and reinnervation of the sciatic nerve in rats, the evaluation are in two dimensions: morphologic identified by means of histologic and functional study by means of the electromyography.

MATERIAL AND METHOD: An experimental study was made in rats, following the murino model standardized. Two groups of ten healthy rats formed each one, to which them sectioned the sciatic nerve and was placed tubulización. In its interior to a group it was applied FGF to him and to another one, physiological solution. One evaluated the reinnervation through histology and electromyography. The histology variables were: it is present at and number of new nervous trunks. The histologic studies were made in days 7, 14 and 21 of pursuit. Through electromyography the muscular reinnervation to days 7 and 21 in both groups was evaluated, checking spaciousness, length and stability.

RESULTS: There were no histologic statistics differences between the groups with relation to the development of new neuronal fibers, of 3.9 and 3.6 in the groups FGF and physiological solution respectively. The electromyographic answer to the 7 and 21 postsurgery days was the same one for both groups, showing an ample evoked potential characteristic of the reinnervation, stable, with little intensity and it releases length. For the evaluation of average differences we used t Student.

CONCLUSIONS: The use of the FGF, apparently, it does not influence in neuronal regeneration through the increase in the angiogenesis.

Key words: Reinnervation, nervous tubulization, factor of fibroblasts growth.

ANTECEDENTES

Las lesiones de nervio periférico son las que con mayor frecuencia surgen como consecuencia de traumatismos o accidentes de trabajo y son uno de los problemas más frecuentes que se atienden en los servicios de urgencia. Esto conlleva un reto para el cirujano plástico ya que compromete la función de una de las herramientas primordiales de nuestro cuerpo afectando la calidad de vida del paciente. Dentro de las lesiones que puede presentar el nervio es la avulsión del músculo, lesión nerviosa multifocal a diferentes niveles, lesión alta del plexo braquial, defectos en el sistema nervioso central o en la terminación distal del nervio que se puede perder como resultado de la degeneración Walleriana, causando la denervación, todas estas situaciones producen un severo defecto funcional y estético. (1)

Sabemos actualmente que no solo una buena técnica microquirúrgica se requiere para la regeneración del nervio sino que existen otros factores que intervienen para que se realice de una manera adecuada. En las últimas décadas se ha visto que aún existe una limitante en el desarrollo de la reparación y reconstrucción nerviosa aunque nuestro entendimiento sobre la fisiopatología del nervio se ha incrementado substancialmente. (2)

Se han publicado datos experimentales que indican varios métodos que estimulan un efectivo crecimiento axonal. Por ejemplo, las técnicas de biología molecular han ayudado a definir las bases celulares para aumentar la supervivencia y crecimiento de las células nerviosas. El crecimiento axonal no solo es influenciado por la misma lesión sino por una serie de factores neurotróficos que usualmente se clasifican en tres grupos: Neurotróficos (factor de crecimiento neurotrófico, factor neurotrófico derivado cerebral, entre otros), Citoquinas neuropoyéticas (factor neurotrófico ciliar e IL-6) y Factor de crecimiento fibroblástico. (2)

Los factores de crecimiento son una familia de proteínas secretadas por la célula que actúan en un blanco apropiado para realizar una acción específica. Hay tres tipos de acción posible: autocrina, paracrina y endocrina. Estos factores de crecimiento pueden tener varios efectos en múltiples tipos de células e inducir ciertas funciones en varios tejidos. (3, 4, 5)

Una vez que el factor de crecimiento liga al receptor membranal de una célula receptora, induce una señal intracelular a un sistema transductor que alcanza al núcleo y produce una respuesta biológica. Esta interacción puede ser simple o compleja. Más aún esta redundancia del sistema biológico como las diferentes formas del mismo factor de crecimiento que liga un solo receptor o diferentes receptores de factores de crecimiento pueden activarse con una sola ligadura. (3, 4)

En 1974, Gospodarowics (6, 7) establece la existencia del factor de crecimiento fibroblástico (FGF) en el cerebro y pituitaria. Hoy día el factor de crecimiento fibroblástico se conoce que representa a un grupo similar a las proteínas que son potentes mitógenos celulares derivados del ectodermo y mesodermo. Existen dos factores de crecimiento fibroblástico que son el factor de crecimiento fibroblástico ácido (aFGF) que para ser extraído debe ser bien identificado y se puede encontrar a nivel cerebral y en la retina; y el factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF) que se encuentra en el cerebro, pituitaria, retina, cuerpo lúteo, riñón, placenta, suprarrenales, próstata y macrófagos. La estructura y función de ambos estimulan la proliferación celular y migración de células endoteliales. (8, 9)

En modelos experimentales el factor de crecimiento fibroblástico tópico mostró que mejora la angiogénesis, la formación de granulación tisular. El crecimiento epitelial y la fuerza tensil en la lesión. (9, 10) El factor de crecimiento fibroblástico básico juega un papel importante en lesiones comprometidas ya que se ha visto que mejora la cicatrización en roedores que presentan diabetes (11, 12), malnutrición

proteica (13) e isquemia ((14). Recientemente algunos estudios en animales indican que ambos factores de crecimiento fibroblástico estimulan la regeneración del nervio periférico. (15, 16, 17)

El factor de crecimiento fibroblástico básico es un polipéptido de una sola cadena que está compuesta por 146 aminoácidos. Primero se extrajo de la pituitaria bovina con una gran afinidad a la heparina y se llamó así por su actividad biológica y promoción de crecimiento fibroblástico. (18, 19) Los recientes avances en la biología molecular han identificado y reconocido su acción en la restauración neuroquímica y morfológica del déficit neurológico ocasionado por hipoxia o isquemia. (20)

En estudios clínicos en seres humanos en los cuales se ha utilizado el factor de crecimiento fibroblástico recombinante para el tratamiento de úlceras de presión crónicas, se ha visto que el factor de crecimiento fibroblástico como terapia ha tenido resultados en la reducción del tamaño e incrementa el número de fibroblastos y capilares en la herida. (21)

Aún existen muchas interrogantes, así como falta mucho que aprender con exactitud de cómo influye el FGF en su microambiente y las interacciones neuroquímicas que se llevan a cabo en la regeneración del nervio y que son reguladas por los factores neurotróficos.

OBJETIVO

Determinar si el FGF promueve la regeneración o reinervación del nervio ciático en ratas, evaluada en dos dimensiones: morfológica identificada mediante estudio histológico y funcional por medio de la electromiografía.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio experimental en ratas, comparativo, prospectivo y longitudinal, siguiendo el modelo murino estandarizado, con un tamaño de muestra convencional. Se formaron dos grupos de diez ratas sanas cada uno, a las cuales se les seccionó el nervio ciático y se colocó tubulización. Antes de la neurorrafia y cierre de herida a un grupo se le aplicó FGF en el interior del túbulo y al otro, que sirvió de control, solución fisiológica. Las características de las ratas fueron: Wistar, adultas, machos, con peso entre 300 a 350 grs.

La técnica quirúrgica de acceso, aislamiento, resección, tubulización y sutura del nervio ciático se encuentra anexo, conjuntamente con el cuestionario para seguimiento de la cicatrización y evaluación de las dos dimensiones, morfológica y funcional, evaluadas (anexos 1 y 4). Las variables identificadas mediante histología de la biopsia obtenida de la unión del nervio seccionado fueron: presencia y número de troncos nerviosos nuevos. Los estudios histológicos fueron realizados en los días 7, 14 y 21 de seguimiento, sacrificando una rata de cada grupo respectivamente (anexo 3).

A través de electromiografía cerrada con un electrodo de punta fina se evaluó la reinervación muscular a las semanas 1 y 3 (7 y 21 días) posquirúrgicas en ambos grupos, antes de sacrificar a las ratas. Para la estimulación nerviosa se usaron pulsos de corriente constante con una duración de 0.2 mseg con frecuencias entre 0.5-5 Hz. Los músculos fueron descansados por cuatro minutos entre cada estimulación (anexo 2).

Para evitar factores de confusión se mantuvieron las ratas en jaulas independientes, el laboratorio estableció una dieta estándar así como la frecuencia de la misma, además, se buscó que el ambiente donde se mantuvieron durante el estudio fuera poco propicio para la infección de las heridas. Se descartaron las

ratas cuyas heridas se infectaron, así como aquellas que enfermaron o murieron por alguna causa durante el tiempo de observación. Asimismo, si el túbulo empleado se hubiera desplazado o presentara dehiscencia de la unión nerviosa.

RESULTADOS

Histología de la unión o anastomosis

Las uniones nerviosas de los dos grupos experimentales fueron evaluadas histológicamente. No hubo diferencias histológicas entre los grupos con relación al desarrollo de nuevas fibras neuronales, pero sí en la formación de nuevos vasos sanguíneos. El grupo de ratas tratado con FGF mostró mayor angiogénesis. Debido a lo anterior, se seleccionaron las fotos de acuerdo a la claridad con la que se pueden observar los hallazgos con fines expositivos exclusivamente, los cuales se describirán a continuación siguiendo el orden de observación.

A los 7 días se pudo observar localmente alineación de las fibras nerviosas, congestión vascular y hemorragia reciente (foto 1).

La foto 2 corresponde a una observación a los 14 días donde se puede notar la anastomosis con restablecimiento casi completo de las fibras nerviosas y disminución del edema, los vasos están aumentados en número y no existe reacción inflamatoria.

Las fotos 3 y 4 corresponden a los 21 días. La número 3 es un acercamiento del sitio de la anastomosis, que muestra edema entre las fibras, proliferación vascular con disminución del número de fibras y notable ausencia de infiltrado inflamatorio. En la foto 4 podemos ver al nervio con estructura casi normal en el sitio de la anastomosis, las fibras están alineadas en su mayoría y en la porción central se encuentra edema y proliferación vascular. Las fotos 5 y 6 se exponen como una muestra visual de un nervio normal para fines comparativos con la foto 4.

Electromiografía

La respuesta electromiográfica a la primera y tercera semana (7 y 21 días) posquirúrgicas fue la misma para ambos grupos, mostrando un potencial evocado amplio característico de la reinervación, con poca intensidad y larga duración (foto 7c).

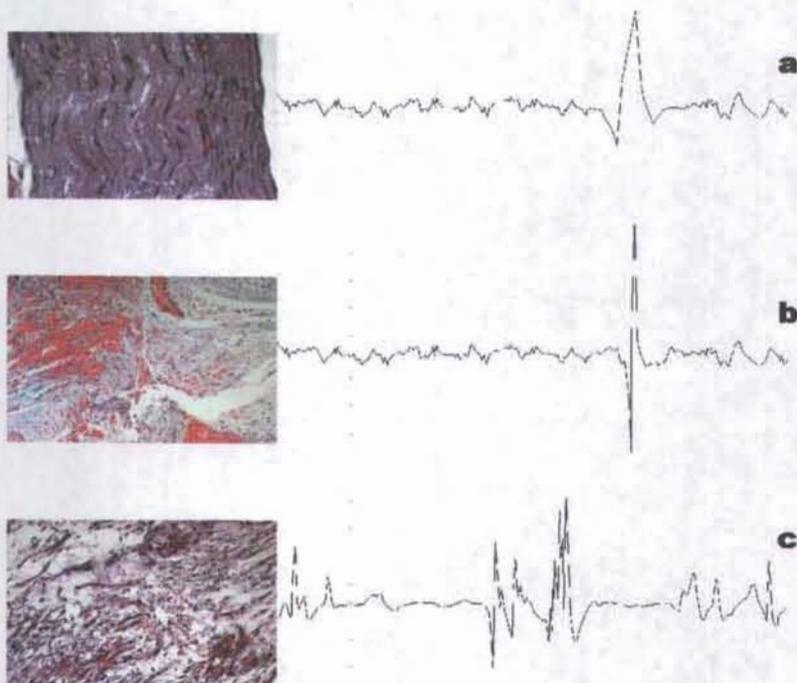


Foto 7. a) Trazo electromiográfico normal (medición basal). b) 7 días, denervación o sin respuesta. c) 21 días, reinervación.

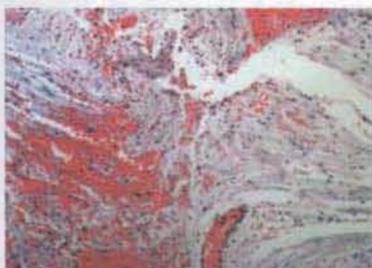


Foto 1) 7 días. Sitio de anastomosis que muestra alineación de las fibras neuronales, congestión vascular y hemorragia reciente.

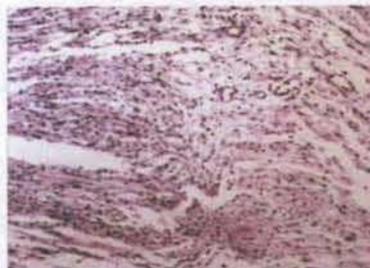


Foto 2) 14 días. Sitio de la anastomosis, reestablecimiento casi completo de las fibras neuronales y disminución del edema. El número de vasos está aumentado y no existe reacción inflamatoria.

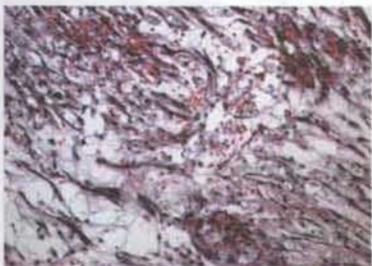


Foto 3) 21 días. Acercamiento del sitio de la anastomosis. Edema entre las fibras, proliferación vascular, con disminución del número de fibras nerviosas. Nótese la ausencia de infiltrado inflamatorio.

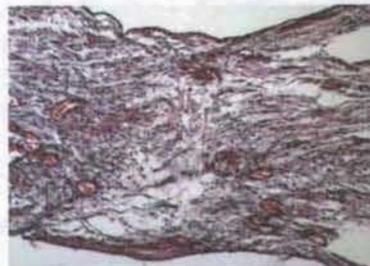


Foto 4) 21 días. Panorámica del sitio de la anastomosis del nervio con estructura casi normal. Las fibras están alineadas en su mayoría y en la porción central se observa edema y proliferación vascular.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Para evaluar las diferencias estadísticas en los promedios de las variables histológicas y electromiográficas se realizó la prueba t de Student.

Histología de la unión o anastomosis

Las uniones nerviosas de los dos grupos experimentales fueron evaluadas histológicamente. No hubo diferencias estadísticas en el promedio de nuevas fibras neuronales, en el grupo de ratas con FGF se obtuvo una media a los 21 días de 3.9 troncos nerviosos nuevos con desviación estándar (d.e.) .085; y con solución fisiológica una media de 3.6 y d.e. .098. Visualmente al microscopio hubo mayor formación de nuevos vasos sanguíneos en el grupo con FGF, es decir, el grupo de ratas tratado con FGF mostró mayor angiogénesis. Debido a los resultados cuantitativos indiferenciales, se seleccionaron las fotos de acuerdo a la claridad con la que se pueden observar los hallazgos con fines expositivos exclusivamente, los cuales se describirán a continuación siguiendo el orden de observación.

Electromiografía

La respuesta electromiográfica a la primera y tercera semana (7 y 21 días) posquirúrgicas fue casi la misma para ambos grupos, mostrando un potencial acción característico de reinervación: estables, con poca intensidad o amplitud y larga duración (foto 7c). Debido a las características irregulares de este tipo de trazo electromiográfico de la reinervación temprana, no fue posible obtener las mediciones planteadas desde un inicio.

DISCUSIÓN

Existen grandes avances en los intentos experimentales para favorecer la regeneración nerviosa y la recuperación funcional, aunque esta última no ha llegado a ser satisfactoria en su totalidad en la práctica, ya que los mecanismos y severidad del daño nervioso son múltiples, pudiendo afectar en diversos niveles las uniones neuromusculares: podemos citar como ejemplos la degeneración Walleriana del nervio, lesiones multifocales como es el caso del plexo braquial o defectos congénitos diversos. Por añadidura, aún no se conocen completamente los mecanismos biomoleculares que ocurren alrededor de los sitios lesionados y que probablemente estén influyendo en la recuperación morfológica, funcional y estética de los órganos afectados. Conocerlos implicaría la posibilidad de modificarlos en aras de alcanzar la efectividad en los resultados.

En este trabajo se reportan los resultados de la utilización del FGF para observar si influye en la regeneración neuronal a través de un aumento en la angiogénesis, sin embargo, los hallazgos no permiten aseverar esta influencia positiva y existen pocas investigaciones al respecto. (15-17)

En la actualidad el factor de crecimiento neuronal es el principal factor de crecimiento utilizado para estimular la regeneración nerviosa, a pesar de que se ha reportado al FGF como un buen factor neurotrópico. (24, 25, 26, 27)

Uno de los posibles mecanismos de la propiedad neurotrópica del FGF sería por el aumento en la perfusión sanguínea. Un estudio experimental, en el cual se aumenta la vascularización del sitio lesionado a través del uso de un tubo perineural vacío, reporta mejores hallazgos histológicos y electromiográficos de reinervación en el grupo intervenido que en el control, o sin estímulo de revascularización, lo cual aporta datos sobre la influencia que pudiera tener la angiogénesis en la reinervación. (28)

El impulso dado en la actualidad a las investigaciones sobre los eventos celulares y moleculares que ocurren en el nervio durante su regeneración, cobra mucha importancia, que se puede equiparar al ofrecido a las técnicas reconstructivas. La detección del factor de crecimiento neuronal (FCN) por Levi-Montalcini y Hamburger en 1951 causó grandes avances en este tipo de estudios. (29) Además, las técnicas de cultivo celular permitieron la detección de muchos factores in vitro, y muchos aspectos de la regeneración del nervio, por ejemplo: el desarrollo embrionario y la respuesta biológica al trauma.

El factor de crecimiento neuronal y sus receptores se pueden encontrar en las células de Schwann, médula espinal, neuronas, ganglios dorsales y el músculo blanco. Inclusive se ha reportado un transporte retrogrado de algunos factores derivados de las células de Schwann o del músculo esquelético a la raíz de los ganglios dorsales o a las neuronas de la médula espinal. Algunos de estos factores actúan localmente, promoviendo la proliferación de las células Schwann y de la mielinización del axón durante la regeneración. La administración local o sistémica de éstos neurotróficos podría promover la regeneración de los nervios. (30, 31)

El FCN ayuda al crecimiento y a la conexión de las neuronas al órgano blanco (por ejemplo el músculo) durante el proceso de crecimiento y desarrollo. Después de una lesión, se sintetiza FCN por las células de Schwann y muy probablemente por los fibroblastos, y es transportado en una manera retrógrada a la terminación neuronal. Se pensaba que la sensibilidad y las terminaciones simpáticas eran los blancos principales de FCN, pero hay estudios que demuestran los efectos positivos de FCN en las neuronas motoras. 9-11

En estudios de la regeneración del nervio periférico, el FCN aumentó el número de axones nuevos, del grosor de la mielina y condujo a una mejor organización neuronal. (9) Spector y colegas demostraron que los efectos de FCN durante el

período temprano de la regeneración facial del nervio promovió una organización de los nervios más madura, una proliferación de neovascularización creciente, y aumentó el número de axones mielinizados. (10)

Los métodos de tubulization, que son compartimientos cerrados, han sido empleados como modelos para la regeneración nerviosa periférica. Sin embargo, la conexión músculo-nervio (que tiene una estructura específica) se supone que no es conveniente para estas técnicas, ya que el extremo del nervio está en contacto directo con el tejido inervado, por ejemplo el músculo, de tal manera que se dificulta su interacción con el FCN. (32) Por este motivo se ha sugerido su inyección en la anastomosis, tal como se ha empleado aquí, pero utilizando el FGF. Estudios similares al presente han reportado mejores datos de regeneración neuronal en grupos intervenidos que en los controles. (33, 34, 35)

La electromiografía tiene valor en el registro de los potenciales de acción en el músculo, y en la evaluación de sus cambios en las lesiones músculo-nerviosas. La reinervación se detecta como fibrilaciones y potenciales disminuidos de la unidad motora. A medida que la reinervación mejora, las amplitudes de los potenciales de acción de las unidades motoras aumentan, a la vez, que su duración se acorta. (36) La reinervación fue hallada en ambos grupos en este estudio, sin embargo, el tiempo de seguimiento no permitió evaluar en forma más completa ésta a través de la electromiografía.

CONCLUSIONES

La utilización de FGF, de acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, no influye en la regeneración neuronal, sin embargo, considerando la información internacional que apoya este punto, el tamaño de muestra utilizado y otras limitaciones metodológicas no permiten aseverar esta falta de influencia positiva, requiriéndose estudios adicionales. Incluso, debería estudiarse su respuesta en forma comparativa con el FCN.

ANEXO 1. PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO

Anestesia de los animales con Xilacina /10mg/Kg) y Ketamina (90mg/Kg).

Tricotomía, asepsia y antisepsia en glúteos y cara posterior del muslo (foto 8a).

Incisión de 2 cms en el sitio preparado previamente comprometiendo piel y tejido subcutáneo, para visualizar el plano muscular.

Disección del plano muscular longitudinalmente para separar el bíceps sural y el glúteo medio exponiendo el nervio ciático (foto 8b).

Con un microscopio quirúrgico Zeiss Omni 9 y con técnicas quirúrgicas estándar se aislará el nervio del tejido circundante laxo, se goteará con xilocaina al 1% para prolongar el efecto anestésico.

Sutura del nervio con Nylon 9-0 con aguja atraumática, de 3/8 de círculo a los 180 y 360° de la circunferencia nerviosa, en resorte (Strapling) para estabilizar en paralelo a los extremos del nervio (fotos 8c y 9a).

Sección del nervio con tijeras de microcirugía, en la mitad del trayecto de la sutura colocada previamente, sin cortar la sutura (foto 9b).

Reparación de la lesión con técnica de Resorte-Tubulización aproximando los extremos con un desplazamiento inducido por el correr de los cabos de la sutura hasta dejar un espacio entre ellos de 1-2 mm (fotos 9c).

Implantación entre los segmentos proximal y distal del nervio de una grapa tubular de silicona (Silastic) de 1.5 mm de diámetro interno y de 5 mm de longitud, seccionada completamente en uno de los lados y esterilizada con óxido de etileno (fotos 9d a la 9f y 10).

En el espacio de 1-2 mm formado entre los extremos del nervio y dentro del tubo, se depositó a un grupo de 10 ratas FGF a dosis de 1 mcg/Kg y en otro grupo del mismo número de integrantes solución fisiológica (foto 9g).

Cierre por planos, afrontando el músculo con tres puntos separados de Vycril 4-0 y la piel con Nylon 4-0 en surjete continuo.

Al ceder el efecto anestésico se aplicó una dosis única de antibiótico tipo ceftadime (30 mg/kg).

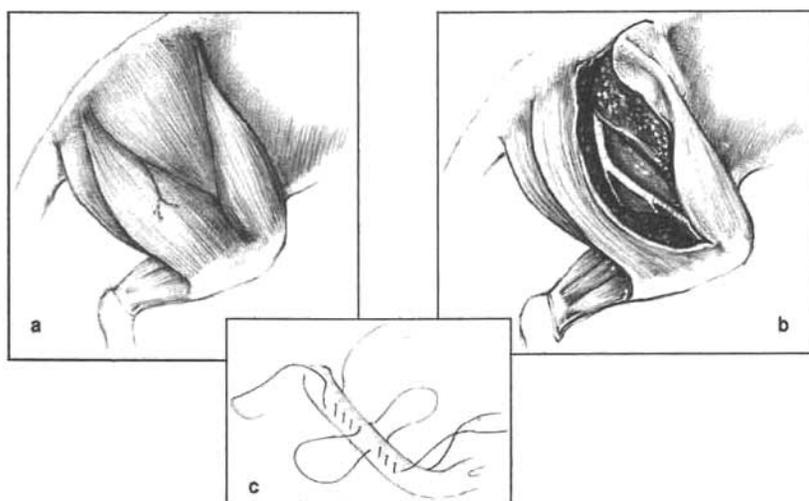


Foto 8. a) Glúteo y cara posterior del muslo de rata. b) Visualización del plano muscular y disección del plano separando el bíceps sural y el glúteo medio para exponer el nervio ciático. c) Técnica de sutura de Strapling.

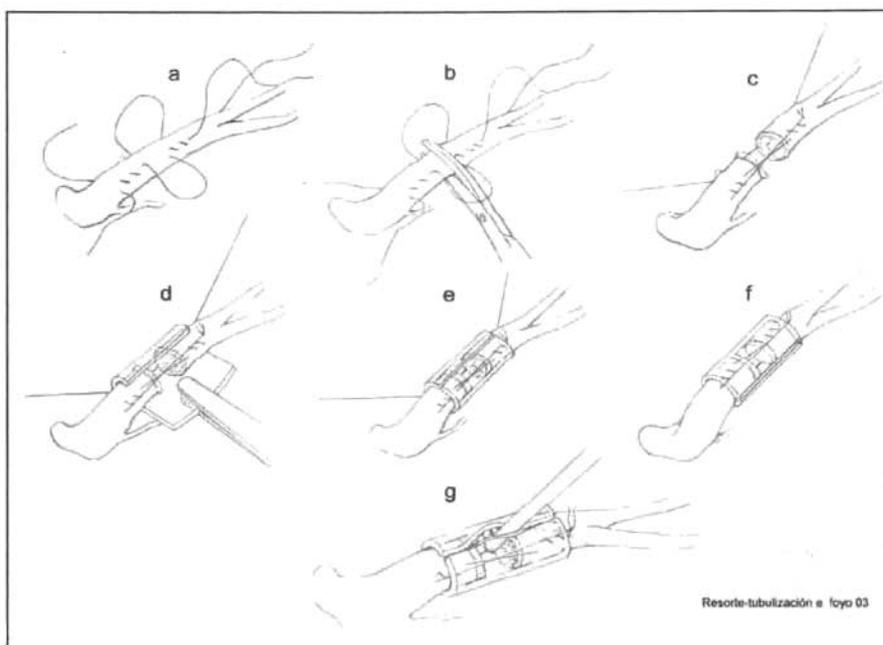


Foto 9. a) Sutura del nervio a los 180 y 360° de la circunferencia nerviosa, en resorte (Strapling) para estabilizar en paralelo a los extremos del nervio. b) Sección del nervio con tijeras de microcirugía, en la mitad del trayecto de la sutura colocada previamente, sin cortar la sutura. c) Reparación de la lesión con técnica de Resorte-Tubulización aproximando los extremos con un desplazamiento inducido por el correr de los cabos de la sutura hasta dejar un espacio entre ellos de 1-2 mm. d-f) Implantación entre los segmentos proximal y distal del nervio de una grapa tubular de silicona (Silastic) de 1.5 mm de diámetro interno y de 5 mm de longitud, seccionada completamente en uno de los lados y esterilizada con óxido de etileno. g) En el espacio de 1-2 mm formado entre los extremos del nervio y dentro del tubo, se depositó FGF a dosis de 1 mcg/Kg y solución fisiológica.

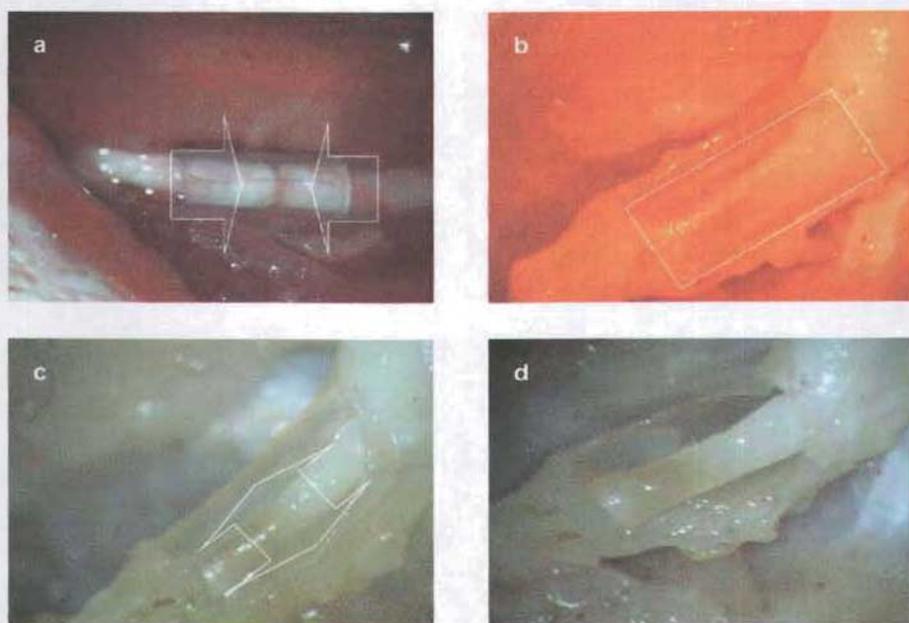


Foto 10. a) Reparación de la lesión con técnica de Resorte-Tubulización. b-d) Fotografías de seguimiento durante la cicatrización.

ANEXO 2. ELECTROMIOGRAFIA

Utilización de 3 electrodos de aguja EEG monopolares de 10-12 mm de longitud separados según sitio de estimulación y punto de recepción de la respuesta muscular. El tercero es para tierra.

Para la estimulación nerviosa se usarán pulsos de corriente constante con una duración de 0.2 mseg con frecuencias entre 0.5-5 Hz.

Los parámetros para recoger la respuesta del potencial de acción del músculo son:

-Tiempo de análisis de 50 milisegundos/división.

-Sensibilidad de 50 μ v/división,

-Filtros de baja de 3 Hz y de alta de 10 KHz.

ANEXO 3. ESTUDIO HISTOLÓGICO

Laparotomía del animal.

Identificación y cateterización de la aorta, exanguinación del animal con 500 ml de solución fisiológica e inyección de formol por la misma vía.

Sección transversal del animal en dos mitades, conservando la mitad inferior a 4° C durante dos días para fijar los tejidos en formol y evitar la degeneración.

Obtención de la muestra consistente en un segmento del nervio de aproximadamente 1 cm, incluyendo el sitio de reparación.

Fijación de la muestra en formol búfer.

Rotulación de la muestra.

Retiro del tubo, inmersión del nervio en parafina, posteriormente se obtendrán cortes longitudinales y transversales.

Tinción con hematoxilina eosina de los cortes para observar en microscopio el número, tipo y mielinización de los axones.

ANEXO 4. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

FOLIO RATA:.....
PESO:.....
SEXO:.....
FECHA CIRUGÍA:.....
GRUPO TRATAMIENTO: A..... B.....

EVALUACION ELECTROMIOGRÁFICA

| | AMPLITUD | DURACION |
|-------|-----------------|--------------------|
| Día 7 | | |
| | FASES | ESTABILIDAD |
| Día 7 | | |
| | VCM | VCS |
| Día 7 | | |

EVOLUCIÓN POST-QX: NORMAL..... ANORMAL.....

| | AMPLITUD | DURACION |
|--------|-----------------|--------------------|
| Día 21 | | |
| | FASES | ESTABILIDAD |
| Día 21 | | |
| | VCM | VCS |
| Día 21 | | |

EVOLUCIÓN POST-QX: NORMAL..... ANORMAL.....

EVALUACION HISTOLÓGICA

| | No. AXONES | MIELINIZACIÓN |
|---------|----------------|---------------|
| Días 7 | Fibras I..... | |
| | Fibras II..... | |
| | No. AXONES | MIELINIZACIÓN |
| Días 14 | Fibras I..... | |
| | Fibras II..... | |
| | No. AXONES | MIELINIZACIÓN |
| Días 21 | Fibras I..... | |
| | Fibras II..... | |

BIBLIOGRAFIA:

1. Menderes A, Yılmaz M, Vayvada H, et al. The effect nerve growth factors on the neurotization of denervated muscles. *Annals of Plastic Surgery*, 2002; 48 (4): 415-422.
2. He C, Chen Z, Chen Z. Enhancement of motor nerve regeneration by nerve growth factor. *Microsurgery* 1992; 13 (3): 151-154.
3. Lieberman R, Daluiski A, Einhorn T, et al. The role of growth factors in the repair of bone: biology and clinical applications. *Journal of Bone and Joint Surgery American*, 2002; 84-A (6): 1032-1044.
4. Trippel S, Coutts D, Einhorn T, et al. Instructional course lecture, American Academy of Orthopaedic Surgeon: growth factors as therapeutic agents. *Journal of Bone and Joint Surgery American*, 1996; 78 1272-1286.
5. Barnes G, Kostenuik P, Gerstenfeld L, et al. Growth factor regulation of fracture repair. *J Bone Miner Res*, 1999; 14: 1805-15.
6. Tucker H, Rusnov M. Laryngeal reinnervation for unilateral vocal cord paralysis: long-term results. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1981; 103 (1): 52-60.
7. Chen Y, Wang L, Coker N. Facial nerve regeneration. *Exp Neurol*, 1989; 103 (1): 52-60.
8. Seckel B. Enhancement of peripheral nerve regeneration. *Muscle Nerve*, 1990; 13 (9): 785-800.
9. Eppley B, Snyders R, Winkelmann T, et al. Efficacy of nerve growth factor in regeneration of the mandibular nerve: a preliminary report. *J Oral Maxillofac Surg*, 1991; 49 (1): 61-68.
10. Spector J, Lee P, Derby A, et al. Rabbit facial nerve regeneration in NFG containing silastic tubes. *Laryngoscope*, 1993; 103 (5): 548-558.

11. Mulhollan M, Romanchuc G, Lally K, et al. Efficacy growth factor promotes neurite outgrowth in guinea pig myenteric plexus ganglia. *Am J Physiol*, 1994; 267 (4): G716-G722.
12. Spector J, Lee P, Derby A, et al. Comparison of rabbit facial nerve regeneration in nerve growth factor conining silicone tubes to that in autologous neural grafts. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1995; 104 (11): 875-885.
13. Danielsen N, Varon S. Characterization of neurotrophic activity in the silicone chamber model for nerve regeneration. *J Reconstr Microsurg*, 1995; 11 (3): 231-235.
14. Utleay D, Lewin S, Cheng E, et al. Brain -derived neurotrophic factor an collagen tubulization enhance functional recovery after peripheral nerve transaction and repair. *Arch Otolarygol Head Neck Surg*, 1996; 122 (4): 407-413.
15. Hiraizumi Y, Fujimaki E, Transfeldt E, et al. The effect of the platelet derived wound healing formula and the nerve growth factor on the experimentally injured spinal cord. *Spinal Cord*, 1995; 34 (7): 394-402.
16. Rich K, Disch S, Eichler M. The influence of regeneration and nerve growth factor on the neuronal cell body reaction to injury. *J Neurocytol*, 1989; 18 (5): 569-576.
17. Date I, Furukawa S, Ohmoto T. Increased nerve growth factor level in the distal stump of transected sciatic nerve in relation to aging and its application for neural grafting. *Exp Neurol*, 1994; 130 (1): 168-173.
18. Gimenez G, Cuevas P. Fibroblast growth factors, proteins with a broad spectrum of biological activities. *Neurol Res*, 1994; 16: 313-316.
19. Kazuho A, Hiroishi S. Effects of basic Fibroblast growth factor on central nervous system functions. *Pharmacological Research*, 2001; 43 (4):
20. Massague J. TGF beta signaling: receptors, transducer, and Mad proteins. *Cell*, 1996; 85: 947-950.
21. Rich K, Alexander T, Pryor J, et al. Nerve growth factor enhances regeneration through silicone chambers. *Exp Neurol*, 1989; 105 (2): 162-170.

22. Guevara A. Efecto de la trombina como matriz de reparación en la neurografía periférica: técnica de resorte tubulización en modelo murino. Tesis en CPR. HE, CMNR, IMSS. 2004.
23. Varejao S. Meek F. Ferreira J. et al. Functional evaluation of peripheral nerve regeneration in the rat: walking track analysis. *Journal of Neuroscience Methods*. 2001; 108(1):1-9.
24. Abe K. Saito H. Effects of basic fibroblast growth factor on central nervous system functions. *Pharmacological Research*. 2001;43(4):307-12.
25. Cuevas P. Carceller F. Therapeutic implications of fibroblast growth factors in traumatic spinal cord injury. *Neurological Research*. 2001;23(2-3):207-9.
26. Aguilar LC. Islas A. Rosique P. Hernandez B. Portillo E. Herrera JM. Cortés R. Cruz S. Alfaro F. Martin R. et al. Psychometric analysis in children with mental retardation due to perinatal hypoxia treated with fibroblast growth factor (FGF) and showing improvement in mental development. *Journal of Intellectual Disability Research*. 1993;37 (Pt 6):507-20.
27. Yao DL. Masonic K. Petullo D. Li LY. Lincoln C. Wibberley L. Alderson RF. Antonaccio M. Pretreatment with intravenous FGF-13 reduces infarct volume and ameliorates neurological deficits following focal cerebral ischemia in rats. *Brain Research*. 1999;818(1):140-6.
28. Restrepo Y. Injertos nerviosos de tubos perineurales vacíos vascularizados en la reparación de nervio periférico: estudio experimental en conejos. Disponible en: <http://www.encolombia.com/orto11397injertos1.htm> 31/07/2005.
29. Carroll WR. Nerve grafting and neuromuscular transfers. *Otolaryngol Clin North Am* 1994; 27: 125-138.
30. Seckel BR. Enhancement of peripheral nerve regeneration. *Muscle Nerve* 1990;13 (9): 785-800.
31. Shenaq SM, Rabinovsky ED. Gene therapy for plastic and reconstructive surgery. *Clin Plast Surg* 1996; 23 (1): 157-171.
32. Gold BG. Axonal regeneration of sensory nerves is delayed by continuous intrathecal infusion of nerve growth factor. *Neuroscience* 1997; 76 (4):1153-1158.

33. Mey J, Thanos S. Functional and biochemical analysis of CNS-relevant neurotrophic activity in the lesioned sciatic nerve of adult rats. *J Hirnforsch* 1996;37(1):25-50.
34. Timmer M, Robben S, Muller-Ostermeyer F, et al. Axonal regeneration across gaps in silicone chambers filled with Schwann cells overexpressing high molecular weight FGF-2. *Cell Transplant* 2003;12(3):265-77.
35. Midha R, Munro CA, Dalton PD, Tator CH, Shoichet MS. Growth factor enhancement of peripheral nerve regeneration through a novel synthetic hydrogel tube. *J Neurosurg* 2003;99(3):555-65.
36. Arauz S. Sistema de monitoreo de funciones motoras. Disponible en: <http://www.sinfomed.org.ar/Mains/publicaciones/monitor.htm> 17/01/2005.