

**PATRÓN DE REGENERACIÓN AXONAL DE DOBLE
NEURORRAFIA TERMINO-LATERAL EN UN MODELO
EXPERIMENTAL EN RATAS**

Camilo José Romero Barreto

Francisco Javier Aguilar Sierra

Adriana Alejandra Flórez Vargas

UNIVERSIDAD EL BOSQUE

FACULTAD DE MEDICINA

POSTGRADO EN CIRUGÍA DE MANO

BOGOTÁ, 2013

Universidad El Bosque

Facultad de Medicina

**Patrón de Regeneración Axonal de Doble Neurorrafia Termino-Lateral en un
Modelo Experimental en Ratas**

Universidad El Bosque

Fundación Santa Fe de Bogotá

Investigación de postgrado

Investigadores principales:

Camilo José Romero Barreto

Francisco Javier Aguilar Sierra

Adriana Alejandra Flórez Vargas

Asesores Temáticos:

Constanza Moreno

Julio Bermúdez

Asesor Metodológico:

Lina María Prieto Garzón

“La Universidad El Bosque, no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.

Agradecimientos

La magnitud del aporte de esta investigación hubiese sido imposible sin la participación y la ayuda de las siguientes personas e instituciones, sin las cuales no se hubiera conseguido el objetivo propuesto.

Debemos agradecer de manera especial a la Doctora Constanza Moreno y al Doctor Julio Bermúdez por aceptarnos como pupilos en esta investigación, y dirigirnos en la misma. A la Doctora Lina María Prieto por la asesoría metodológica, al Doctor Víctor González por ayudarnos a entender mejor los resultados desde el punto de vista estadístico. Un gran agradecimiento a la División de Investigaciones de la Universidad El Bosque, por el apoyo que nos brindó todo el personal de esta División durante el desarrollo de esta investigación.

Especial agradecimiento a la Facultad de Medicina de La Universidad el Bosque en cabeza del Decano, que aprobaron parte de la financiación de este proyecto.

Agradecemos a la Facultad de Biología y a todas las personas que laboran en el mismo, por la gran ayuda que nos ofrecieron al momento de utilizar el Bioterio de la Universidad. Un especial agradecimiento a María Eugenia Mateus y al Doctor López por toda la colaboración que nos brindaron en el Laboratorio de Cirugía Experimental.

Agradecemos a la Fundación Santa Fe y a su Departamento de Patología por la invaluable ayuda para el procesamiento de las muestras, en especial a Paula Esquinas.

Un gran agradecimiento al Doctor Edgar Pinilla, Jefe del Programa de Cirugía de Mano y a todos los docentes del mismo, quienes nos incentivaron a seguir desarrollando nuevos conocimientos en este arte de la cirugía de la mano.

Dedicatoria

Dedico este logro a mi esposa Angela, quien me enseñó la importancia del saber que todo es posible. Le agradezco su maravillosa ayuda, sin la cual hubiera sido imposible llevar a feliz término este trabajo.

Camilo José Romero Barreto.

Quiero dedicar este logro a mis profesores, porque estoy convencido que a través de su experiencia he podido crecer y fortalecer mi interés en la cirugía de la mano.

Francisco Javier Aguilar Sierra

Guía de contenido

Abstract	
Introduccion.....	12
Marco Teórico	15
Injerto autógeno de nervio.....	16
Conductos nerviosos	17
Aloinjertos de nervio acelulares	17
Transferencias Nerviosas	18
Indicaciones de las Transferencias Nerviosas:.....	18
Principios de las Transferencias Nerviosas:.....	19
Neurorrafia Término – Lateral	19
Neurorrafia termino-lateral reversa	21
Problema.....	22
Justificación.....	25
Objetivos	26

Objetivo General	26
Objetivos específicos.....	26
Propósito.....	27
Aspectos metodológicos.....	28
Tipo de estudio	28
Población	28
Muestra.....	28
Variables.....	29
Técnica de recolección de la información.....	33
Materiales y Métodos	34
Intervención Quirúrgica	34
Procesamiento de las Muestras	37
Plan de análisis	41
Aspectos Éticos	42
Cronograma.....	44
Presupuesto.....	45
Resultados	46

Discusión.....	50
Conclusiones	54
Referencias	55
Anexos.....	58
Anexo 1. Instrumento de recolección.....	58

Lista de tablas y gráficas

Tabla 1. Resumen descriptivo de variables	26
Tabla 2. Resumen de variables	43
Grafica 1. Incisión de 2cm y abordaje por planos hasta el tercio distal del muslo...	32
Grafica 2. Identificación del nervio peronero (inferior en la imagen) y tibial (superior en la imagen).....	32
Grafica3. Doble neurorrafia termino-lateral. Los extremos distal y proximal del nervio tibial (lesionado o receptor) han sido anastomosados por la técnica terminolateral al nervio peronero (donante).....	33
Grafica 4. Doble neurorrafia termino-lateral a las 8 semanas de la intervención. Nótese la sutura de reparo para la identificación del área de trabajo previa. Nótese a su vez el método de marcación para la identificación de cada espécimen.	34
Grafica 5. Cabina de extracción donde se procesaron las muestras, para evitar riesgos de contaminación o inhalación de sustancias tóxicas.....	35
Grafica 6. Muestras polimerizadas después de la inclusión en resina, debidamente rotuladas.	36
Grafica 7, Fotografía histológica del extremo distal de un nervio receptor o peronero (D), distal a la anastomosis, a las 8 semanas del procedimiento.....	47

Introducción: Las lesiones de nervio periférico con defectos segmentarios, en la actualidad continúan siendo un reto para los microcirujanos debido a la alta variabilidad de las posibilidades de recuperación posterior a los procedimientos de reparo. Con este estudio se pretende contribuir al desarrollo de nuevas técnicas de reparo de grandes defectos nerviosos con menor morbilidad y mayor efectividad para los pacientes.

Objetivo: Evaluar el patrón de regeneración axonal mediante la medición del número total de axones mielinizados en un modelo experimental en ratas de doble neurografía termino-lateral.

Materiales y Métodos: Se plantea un modelo experimental en ratas con el cual se determine la coaptación termino-lateral, demostrando cuántos axones viables sobrepasan la doble anastomosis y su relación con el número de axones en los nervios intactos, tanto del receptor como del donante mediante el estudio histopatológico de los segmentos proximales y distales de los nervios utilizados.

Resultados: No hubo diferencias significativas en la cantidad de axones y fibras de morfología amielínica entre los cabos proximales y distales tanto del nervio receptor como del donante, lo que indica un patrón de regeneración axonal adecuado. Así mismo, no existieron diferencias en la cantidad de grupos regenerativos lo que sugiere un patrón homogéneo de reparación.

Conclusiones: La técnica de doble neurografía termino-lateral puede ser una valiosa herramienta en el tratamiento de defectos neurales, al disminuir la morbilidad derivada de la toma de un injerto y al posibilitar la reinervación de la placa neuromotora de forma más temprana y

efectiva. *Palabras Claves:* neurorrafia termino-lateral, regeneración axonal, lesión de nervio periférico, transferencia de nervio, reinervación.

Introduction: Peripheral nerve injuries with segmental defects, currently remains a challenge for microsurgeons due to the high variability of the chances of recovery following repair procedures. This study aims to contribute to the development of new techniques for repair of large nerve defects with less morbidity and greater effectiveness for patients.

Objective: To evaluate the pattern of axonal regeneration by measuring the total number of myelinated axons in a rat experimental model of end-to-side double neurorrhaphy.

Materials and Methods: We propose an experimental model in rats which determines the end-to-side coaptation, showing how many viable axons beyond the double anastomosis and its relationship to the number of axons in the nerves intact, both the recipient and the donor by histopathological study of proximal and distal segments of the nerves used.

Results: No significant differences in the number of axons and unmyelinated fibers morphology between the proximal and distal ends of both recipient and donor nerve, indicating a pattern suitable axonal regeneration. Likewise, there were no differences in the amount of regenerative groups suggesting a homogeneous pattern of repair.

Conclusions: The double termino-lateral neurorrhaphy can be a valuable tool in the treatment of neural defects, to reduce morbidity resulting from the taking of a graft and to enable the neuromotor plate reinnervation of earlier and more effective way.

Keywords: end-to-side neurorrhaphy, axonal regeneration, peripheral nerve injury, nerve transfer, reinnervation.

Introducción

Las lesiones de nervio periférico en la actualidad representan un reto para el cirujano y a pesar de los avances en la microcirugía, aún se requieren más estudios para el mejoramiento de los resultados funcionales de estas lesiones.

El reparo termino-lateral es una de las nuevas herramientas que se está desarrollando para el manejo de ciertas lesiones nerviosas, especialmente en aquellas donde existen grandes defectos en los que el uso de injertos muy largos podría llegar a ser poco efectivo debido a que se asocian a fibrosis intraneural y a atrofia del órgano blanco en virtud del tiempo prolongado para la reinervación (1).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el patrón de regeneración axonal en un modelo experimental de doble neurorafia termino-lateral de nervios tibial y peroneo de rata, con el fin de establecer la efectividad de esta técnica en el reparo de las lesiones de nervio periférico que impliquen grandes defectos o brechas entre los extremos proximal y distal del mismo.

Marco Teórico

La reconstrucción de las lesiones del nervio periférico ha ido evolucionando a medida que aumenta nuestro conocimiento en la topografía interna del nervio, así como por los avances en las técnicas microquirúrgicas y por las investigaciones actuales tanto en ciencias básicas como en la clínica (2). Entre los factores que influyen la recuperación nerviosa se encuentran la edad del paciente, el tiempo transcurrido desde la lesión, el tipo de la lesión, el tamaño del defecto entre los extremos nerviosos, la asociación con lesiones de tejidos blandos o vasos sanguíneos y el mecanismo de lesión (2).

En cuanto al tipo de lesión, Sunderland clásicamente describió cinco grados de lesión nerviosa. El primer grado de lesión es un bloqueo temporal de la conducción en la cual la continuidad axonal está preservada y por tanto no resulta en degeneración Walleriana. En las lesiones de segundo grado hay interrupción de la continuidad axonal que produce degeneración Walleriana distal a la lesión, pero, debido a que el endoneurio se mantiene intacto, ocurre una regeneración axonal exactamente en el mismo sitio que inervaba originalmente, previniendo las sinquinesias. Las lesiones de tercer grado interrumpen tanto la continuidad axonal como la endoneural, sin embargo, los fascículos permanecen intactos entre el perineurio. En este grado también ocurre degeneración Walleriana. Debido a que el endoneuro está interrumpido, se puede desarrollar fibrosis intrafascicular lo cual generalmente bloquea, retarda o desvía el crecimiento axonal durante la regeneración (3).

En las lesiones de cuarto grado, se destruye la estructura fascicular del nervio pero el epineurio se mantiene intacto. En las lesiones de quinto grado hay una sección completa del nervio (3). Dado que el endoneurio está interrumpido en las lesiones desde el tercero hasta el quinto grado, la regeneración axonal invariablemente resultará en fibras con una dirección incorrecta que clínicamente se observarán como sinquinesias (3).

Las diferentes respuestas del nervio al grado de lesión determinarán los hallazgos clínicos, electrofisiológicos y los factores pronósticos de cada grado y así mismo son una herramienta para establecer el manejo, ya sea médico o quirúrgico según el caso (4).

El método ideal para la reconstrucción quirúrgica del nervio periférico implica una pronta neurorafia termino-terminal, primaria y libre de tensión (3). La tensión excesiva sobre el sitio de coaptación ha mostrado un deterioro significativo en la reinervación por la disminución del flujo microvascular y un aumento en la cicatrización (2). Si no es posible una neurorafia libre de tensión, se debe considerar el uso de diferentes métodos para superar la brecha entre los extremos nerviosos a anastomosar (2).

Entre los métodos disponibles para realizar el puente entre los extremos nerviosos se encuentran:

Injerto autógeno de nervio

Es el estándar de oro en el manejo de las brechas en las lesiones del nervio periférico. Estos injertos autógenos proveen una estructura inmunológicamente inerte y son una fuente de células de Schwann necesarias para la regeneración axonal (2;3).

Sin embargo, esta técnica cuenta con desventajas tales como la necesidad de un segundo sitio operatorio para la toma del nervio donante y la consecuente pérdida de la sensibilidad en el área inervada por el donante (2).

Conductos nerviosos

Se trata del uso de conductos sintéticos o biológicos para encaminar la brecha nerviosa. Entre los elementos biológicos utilizados se encuentran venas, arterias, colágeno, submucosa de intestino delgado y músculo. A su vez, los elementos sintéticos incluyen ácido poliglicólico y colágeno bovino purificado. Estos conductos están limitados al reparo de brechas menores de 3cm, de nervios de pequeño diámetro y sensitivos no críticos (2;3).

Aloinjertos de nervio acelulares

Los aloinjertos cadavéricos de nervio son una fuente potencial de material para injerto sin morbilidad adicional en el sitio donante. Sin embargo, su uso requiere inmunosupresión sistémica por un tiempo aproximado de 18 meses, tiempo en el cual los axones huésped sobrepasan el aloinjerto. Esta condición predispone a infecciones oportunistas o neoplasias y por tanto, la tendencia actual es el procesamiento de estos nervios para remover sus células de Schwann manteniendo su estructura, y así volverlos no-inmunogénicos. Su uso está limitado a defectos menores de 5cm, en nervios de pequeño diámetro y son de gran costo (4;5;5;6).

Transferencias Nerviosas

Las transferencias de nervio se diseñaron originalmente para el tratamiento de las lesiones del plexobraquial insalvables y en la actualidad están siendo usadas con más frecuencia en la reconstrucción de las lesiones de nervio periférico.

Las transferencias nerviosas permiten utilizar nervios donantes cercanos al órgano objetivo, minimizando el tiempo de reinervación, con posibilidad de restaurar la función tanto sensitiva como motora y de actuar adecuadamente fuera de la zona original de la lesión (3;7).

La lesión de la placa motora sufre un daño irreversible dado por degeneración y fibrosis después de 12 a 18 meses de la lesión nerviosa, por tanto, dado que la regeneración ocurre a una tasa de 2,5cm por mes, las transferencias nerviosas promueven un camino más expedito para la regeneración de la placa motora en menos tiempo (3;7).

Indicaciones de las Transferencias Nerviosas:

Las transferencias nerviosas están indicadas en el reparo de las lesiones del plexo braquial proximal cuando los injertos no son posibles; las lesiones proximales de los nervios periféricos que impliquen una gran distancia para la reinervación de la placa neuromotora; las áreas con fibrosis severa con alto riesgo de lesión de estructuras vasculares, óseas o nerviosas críticas; la pérdida segmentaria del nervio; el trauma mayor de la extremidad; las lesiones nerviosas parciales con pérdida funcional; la presentación tardía con tiempo inadecuado para la reinervación con injertos convencionales; el déficit sensitivo en regiones críticas (2;3;7).

Principios de las Transferencias Nerviosas:

Cuando los extremos nerviosos son quirúrgicamente inaccesibles o muy distantes de la placa neuromotora, ya sea debido a resección quirúrgica o lesión traumática del nervio, la neurorrafia termino-terminal o el reparo con injerto de nervio autógeno estarían muy lejos del músculo objetivo, conllevando a un menor potencial de recuperación funcional a causa de los efectos de la denervación prolongada. Así mismo cuando el extremo proximal no está disponible, ya sea por lesiones traumáticas severas, por discopatía cervical o por avulsión de las raíces nerviosas con daño de los cuerpos celulares, no es posible aplicar las técnicas de reconstrucción convencionales (2).

Las transferencias nerviosas requieren de la disponibilidad de un nervio donante sensitivo o motor que se pueda sacrificar, cerca del objetivo deseado. El uso de un nervio donante sinérgico no es necesario, aunque es preferible para facilitar la rehabilitación posoperatoria (7). Un tamaño similar entre el nervio donante y el receptor sería deseable, aunque no siempre es posible. De otro lado, un mismo nervio donante puede suplir varios grupos musculares (2;7;7). Las transferencias pueden realizarse con neurorrafia termino-terminal, termino-lateral o termino-lateral reversa (2).

Neurorrafia Término – Lateral

El reparo por sutura termino-lateral involucra la coaptación del extremo distal de un nervio seccionado a un lado del nervio donante y puede realizarse sin lesión de este nervio donante o en conjunto con la creación de alguna forma de lesión (deliberada o no) del mismo (8).

La neurorrafia termino-lateral fue descrita en 1873 por Letievant para el manejo de grandes defectos del nervio periférico aunque en esa época no se publicaron casos clínicos (9). Ballance, en 1895, suturó el extremo distal de un nervio facial seccionado, al nervio espinal para el tratamiento de parálisis facial. Otros autores, reportaron el uso del nervio hipogloso para neurorrafia termino-lateral.

Todos estos autores realizaban una escarificación lateral en el nervio donante para proveer una superficie de contacto para anastomosar el nervio receptor.

En 1992, Viterbo et al. reintrodujeron la neurorrafia termino – lateral pero sin lesión del nervio donante, en un modelo experimental de rata, donde demostraron crecimiento de axones en el nervio receptor (1).

Las ventajas de usar ésta técnica ya fueron descritas previamente para las transferencias nerviosas, e incluyen: posibilidad de reparo donde el extremo proximal del nervio lesionado no está disponible o es distante a su órgano objetivo, o en donde la brecha es demasiado grande; pero, a diferencia de la neurorrafia con injerto autólogo, no implica morbilidad asociada en el sitio inervado por el donante (8).

El proceso celular exacto que tiene lugar en el nervio donante después del reparo termino-lateral, así como el mecanismo que se lleva a cabo para producir brotes axonales a partir de nervios intactos, son motivo de estudio aún.

Existen hasta el momento tres posibilidades para explicar el origen de los axones regenerados dentro del nervio distal después del reparo termino-lateral: 1) invasión desde el extremo proximal del nervio seccionado, 2) regeneración desde axones del

nervio donante que se lesionan durante la preparación, o 3) regeneración desde un verdadero “brote colateral” desde el sitio del reparo termino-lateral (8).

Neurorafia termino-lateral reversa

En una neurorafia termino-lateral reversa, el nervio donante se secciona completamente para maximizar el número potencial disponible de axones motores, de esta forma, un extremo del nervio donante se anastomosa a un lado del nervio receptor, el cual permanece en continuidad (2).

Con esta técnica, se mantiene el potencial de recuperación en el nervio receptor, al tiempo que se reclutan axones donantes viables, motores o sensitivos, para permitir la reinervación del objetivo distal, en un tipo de organización sobrealimentada o “supercargado” (2). Los nervios sensitivos se han usado para inervar un músculo denervado, temporalmente, hasta que los axones motores nativos sean capaces de regenerar y alcanzar la placa neuromotora objetivo, previniendo así la atrofia muscular (2).

Problema

La lesión del nervio periférico es una condición muy frecuente, y su incidencia ha aumentado en los últimos años, presentándose principalmente en dos grupos: en los accidentes de tránsito y en los trabajadores u operarios de máquinas industriales.

Debido a la mayor cantidad de accidentes de tránsito, en países como Italia, el número de lesiones nerviosas en la extremidad superior fue de 1.200, en el período de 1997 a 2005 (10).

Las defunciones por lesiones causadas por accidentes de tránsito, representan en todo el mundo una epidemia silenciosa que afecta a todos los sectores de la sociedad. Unas 1.26 millones de personas en todo el mundo murieron en 2000, 90% de ellas en países de bajo o mediano ingreso (11).

En Colombia, el número de accidentes para el año 2009 fue de 389 por 100.000 habitantes y el número de heridos en el mismo año a causa de estos accidentes, fue de 87 por 100.000 habitantes (12). Sin embargo, para Colombia, no existen estadísticas actualizadas respecto a cuántas de estas lesiones debidas a accidente de tránsito, corresponden a lesiones del miembro superior.

La Organización Internacional del Trabajo (OIT), en el informe publicado en el 2005 expone que los trabajadores del mundo sufren 270 millones de accidentes ocupacionales (14).

Según el reporte del año 2004 sobre accidentes de trabajo y enfermedades profesionales del Ministerio de Protección de Colombia, el 82% de diagnósticos correspondían a lesiones del sistema musculo-esquelético, con compromiso del miembro superior o la columna, comprometiendo la calidad de vida de estos, conllevando a ausentismo laboral, disminución de la productividad y aumento de los gastos en el sistema de salud (15).

Las lesiones osteomusculares han sido definidas por el Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional como “un grupo de condiciones que involucra a los nervios, tendones, músculos y estructuras de soporte” (16).

Los trabajadores que más se lesionan son los del ramo de la construcción, y operarios de máquinas industriales.

En resumen, las lesiones del nervio periférico, que se presentan principalmente en los accidentes de tráfico y en las lesiones con máquinas industriales, representan una gran problemática para la persona que las sufre, para los médicos y los cirujanos que las tratan y para el sistema de salud que asume el costo del manejo de estos pacientes.

La capacidad de los nervios periféricos de regenerar sus axones y reinervar la placa neuromotora objetivo, ha sido reconocida por más de un siglo, a pesar de eso, los pobres resultados después de la lesión del nervio periférico continúan siendo un problema frustrante. Muchos factores contribuyen a los resultados postquirúrgicos, entre ellos se tienen el tiempo de reparo, el nivel de la lesión, el tipo y extensión de la lesión y factores propios del paciente como enfermedades de base, estado nutricional, posibilidad de realizar una adecuada rehabilitación postoperatoria. Sin embargo, los resultados han mejorado con el tiempo a partir del avance significativo en las técnicas

de reparo microquirúrgicas en las que se incluyen las transferencias nerviosas y los reparos termino-laterales (13).

El reparo termino-lateral se refiere a la técnica de unir el extremo distal del nervio lesionado a un lado de un nervio donante no lesionado. Existen diferentes controversias respecto a esta técnica y una de ellas es la fuente de regeneración de los axones en el extremo distal del nervio lesionado (13).

Un doble reparo termino-lateral en teoría podría mejorar el patrón de regeneración axonal y lo que se quiere evaluar con este estudio es demostrar el patrón de distribución de la regeneración nerviosa con esta técnica, ya que este es uno de los interrogantes en el uso de la técnica y aunque otros autores han estudiado la regeneración axonal con esta técnica, no se han realizado comparaciones formales entre los extremos distal y proximal tanto del nervio donante como del nervio receptor en virtud de esclarecer la fuente de regeneración axonal en el extremo distal del nervio receptor y los cambios en la regeneración axonal del nervio donante (9). Por tanto, la pregunta de investigación que se plantea es ¿cuál es el patrón de regeneración axonal en los nervios donante y receptor después de la doble neurografía termino-lateral en un modelo experimental de nervios peroneo (donante) y tibial (receptor) rata?

Justificación

Las transferencias nerviosas son una alternativa de reparo en donde la brecha entre los extremos nerviosos es demasiado grande; pero, a diferencia de la neurografía con injerto autólogo, no implica morbilidad asociada en el sitio inervado por el donante (4).

El mecanismo por el cual se regeneran los axones en la neurografía termino-lateral y más aún, el efecto sobre el nervio donante, es motivo de controversia (1). Con este estudio se pretende aumentar la evidencia respecto a la utilidad de la doble coaptación termino-lateral demostrando cuántos axones viables sobrepasan la doble anastomosis y su relación con el número de axones en los nervios intactos, tanto del receptor como del donante.

Al demostrar la viabilidad de una cirugía donde se haga una doble neurografía termino-lateral en los pacientes con lesiones de nervio periférico, se disminuirían los tiempos de cirugía considerablemente, porque no se necesitará lesionar otra zona del cuerpo, al no ser necesario tomar injerto de una zona donante. Principalmente se beneficiarán aquellos pacientes con lesiones traumáticas del nervio periférico, causadas por avulsión de los nervios o que tengan defectos cuyos extremos requieran injertos para hacer un reparo libre de tensión, por ejemplo los pacientes con lesiones en accidentes de tránsito y trabajadores manuales que manejan máquinas industriales (12).

Objetivos

Objetivo General

Evaluar el patrón de regeneración axonal mediante la medición del número total de axones mielinizados en un modelo experimental en ratas de doble neurorrafia termino-lateral.

Objetivos específicos

- Establecer la efectividad de la técnica de doble neurorrafia termino-lateral como método de reparo para las lesiones que impliquen defectos de los nervios periféricos.
- Comparar los resultados histológicos en los diferentes extremos tanto proximal como distal, del nervio intacto con el nervio lesionado con el fin de sugerir el patrón de regeneración axonal en el modelo experimental de nervio peroneo y tibial de la rata.

Propósito

Evaluar el patrón de regeneración axonal al realizar una doble neurografía termino-lateral, uniendo los extremos distal y proximal del nervio lesionado, al nervio donante, con el fin de establecer si esta técnica permitiría el no uso de injertos para el reparo de lesiones del nervio periférico que tengan brechas en las que el reparo termino-terminal no estaría indicado; si se tiene en cuenta que la toma de injerto implica un aumento en la morbilidad por lesión del área inervada por el donante, así como otro procedimiento quirúrgico.

Aspectos metodológicos

Tipo de estudio:

Estudio experimental.

Población de referencia:

Ratas adultas de la raza Wistar, con un peso promedio entre 150 y 250g, de género masculino, mantenidos en bioterio bajo condiciones estándar de vivienda, ventilación, alimentación, hidratación, temperatura, humedad y ciclo día/noche.

Muestra:

Se evaluará un total de 7 ratas. Este tamaño de muestra fue calculado en el programa Epidat 3.1 bajo los siguientes supuestos: se espera una desviación estándar del porcentaje de efectividad máximo de un 20 %, con una confianza del 95 % y una precisión absoluta de 15 % para un total de 7 ratas y 28 muestras de nervios.

Criterios de Inclusión y Exclusión:

Los criterios de inclusión son los mismos descritos para la población de referencia. No se requieren criterios de exclusión.

Sesgos:

No se considera que existan sesgos de selección por cuanto la población de referencia es de características similares. Para minimizar el sesgo de información, se estableció un protocolo para la realización de los procedimientos y la recolección de las muestras el

cual se siguió estrictamente. Los sesgos de medición que se podrían presentar durante el procedimiento y análisis de las muestras, se controlaron al hacer el montaje histológico de las mismas en un laboratorio debidamente certificado como lo es el laboratorio de Patología de la Fundación Santa Fe de Bogotá; a su vez, el conteo axonal fue realizado por personal de amplia experiencia en el campo.

Variables

Tabla 1. Descripción de las variables				
<i>Nombre</i>	<i>Definición conceptual</i>	<i>Definición operacional</i>	<i>Escala de medición</i>	
Conteo axonal del extremo proximal del nervio donante – peroneo intacto - (se le asignó la letra A tanto en la recolección y procesamiento de las muestras como en el análisis de resultados). (5mm proximal a la coaptación del extremo proximal del nervio lesionado)	Número de axones que conforman el nervio peroneo intacto.	Número de axones mielinizados en el área total del nervio medida en mm ² .	Cuantitativa discreta.	
Conteo axonal del extremo proximal del nervio receptor (se le asignó la letra B tanto en la recolección y procesamiento de las muestras como en el análisis de resultados). (5mm proximal a la coaptación al donante)	Número de axones que conforman el extremo proximal del nervio tibial.	Número de axones mielinizados en el área total del nervio medida en mm ² .	Cuantitativa discreta.	
Conteo axonal del extremo distal del nervio donante (se le asignó la letra C tanto en la recolección y procesamiento de las	Número de axones que conforman el nervio peroneo después de la coaptación termino-lateral de los extremos proximal y distal del	Número de axones mielinizados en el área total del nervio medida en mm ² .	Cuantitativa discreta.	

<p>muestras como en el análisis de resultados). (5mm proximal a la coaptación al donante) (5mm distal a la coaptación del extremo distal del nervio lesionado)</p>	<p>nervio receptor o tibial.</p>		
<p>Conteo axonal del extremo distal del nervio receptor (se le asignó la letra D tanto en la recolección y procesamiento de las muestras como en el análisis de resultados). (5mm proximal a la coaptación al donante) (5mm proximal a la coaptación al donante)</p>	<p>Número de axones que conforman el extremo distal del nervio tibial después de la coaptación termino-lateral al nervio donante o peroneo.</p>	<p>Número de axones mielinizados en el área total del nervio medida en mm².</p>	<p>Cuantitativa discreta.</p>
<p>Conteo de grupos regenerativos del extremo proximal del nervio donante – peroneo intacto - (se le asignó la letra A tanto en la recolección y procesamiento de las muestras como en el análisis de resultados). (5mm proximal a la coaptación del extremo proximal del nervio lesionado)</p>	<p>Número de grupos regenerativos (acúmulo de nervios en regeneración con detritus de mielina circundantes) que conforman el nervio peroneo intacto.</p>	<p>Número de grupos regenerativos en el área total del nervio medida en mm².</p>	<p>Cuantitativa discreta.</p>
<p>Conteo de grupos regenerativos del extremo proximal del nervio receptor (se le asignó la letra B tanto en la recolección y procesamiento de las muestras como en el análisis de resultados). (5mm proximal a la coaptación al donante)</p>	<p>Número de grupos regenerativos (acúmulo de nervios en regeneración con detritus de mielina circundantes) que conforman el extremo proximal del nervio tibial.</p>	<p>Número de grupos regenerativos en el área total del nervio medida en mm².</p>	<p>Cuantitativa discreta.</p>
<p>Conteo de grupos</p>	<p>Número de grupos</p>	<p>Número de grupos</p>	<p>Cuantitativa</p>

regenerativos del extremo distal del nervio donante (se le asignó la letra C tanto en la recolección y procesamiento de las muestras como en el análisis de resultados). (5mm proximal a la coaptación al donante) (5mm distal a la coaptación del extremo distal del nervio lesionado)	regenerativos (acúmulo de nervios en regeneración con detritus de mielina circundantes) que conforman el nervio peronero después de la coaptación termino-lateral de los extremos proximal y distal del nervio receptor o tibial.	regenerativos en el área total del nervio medida en mm ² .	discreta.
Conteo de grupos regenerativos del extremo distal del nervio receptor (se le asignó la letra D tanto en la recolección y procesamiento de las muestras como en el análisis de resultados). (5mm proximal a la coaptación al donante) (5mm proximal a la coaptación al donante)	Número de grupos regenerativos (acúmulo de nervios en regeneración con detritus de mielina circundantes) que conforman el extremo distal del nervio tibial después de la coaptación termino-lateral al nervio donante o peronero.	Número de grupos regenerativos en el área total del nervio medida en mm ² .	Cuantitativa discreta.
Conteo de fibras de aspecto amielínico del extremo proximal del nervio donante – peronero intacto - (se le asignó la letra A tanto en la recolección y procesamiento de las muestras como en el análisis de resultados). (5mm proximal a la coaptación del extremo proximal del nervio lesionado)	Número de fibras de aspecto amielínico (axones sin vainas de mielina) que conforman el nervio peroneo intacto.	Número de fibras de aspecto amielínico en el área total del nervio medida en mm ² .	Cuantitativa discreta.
Conteo de fibras de aspecto amielínico del extremo proximal del nervio receptor (se le asignó la letra B tanto	Número de fibras de aspecto amielínico (axones sin vainas de mielina) que conforman el extremo	Número de fibras de aspecto amielínico en el área total del nervio medida en	Cuantitativa discreta.

<p>en la recolección y procesamiento de las muestras como en el análisis de resultados). (5mm proximal a la coaptación al donante)</p>	<p>proximal del nervio tibial.</p>	<p>mm2.</p>	
<p>Conteo de fibras de aspecto amielínico del extremo distal del nervio donante (se le asignó la letra C tanto en la recolección y procesamiento de las muestras como en el análisis de resultados). (5mm proximal a la coaptación al donante) (5mm distal a la coaptación del extremo distal del nervio lesionado)</p>	<p>Número de fibras de aspecto amielínico (axones sin vainas de mielina) que conforman el nervio peronero después de la coaptación termino-lateral de los extremos proximal y distal del nervio receptor o tibial.</p>	<p>Número de grupos regenerativos fibras de aspecto amielínico en el área total del nervio medida en mm2.</p>	<p>Cuantitativa discreta.</p>
<p>Conteo de fibras de aspecto amielínico del extremo distal del nervio receptor (se le asignó la letra D tanto en la recolección y procesamiento de las muestras como en el análisis de resultados). (5mm proximal a la coaptación al donante) (5mm proximal a la coaptación al donante)</p>	<p>Número de fibras de aspecto amielínico (axones sin vainas de mielina) que conforman el extremo distal del nervio tibial después de la coaptación termino-lateral al nervio donante o peronero.</p>	<p>Número de fibras de aspecto amielínico en el área total del nervio medida en mm2.</p>	<p>Cuantitativa discreta.</p>

Hipótesis

Hipótesis alterna:

Existen elementos de regeneración axonal en el extremo distal del nervio receptor o lesionado después de la doble neurografía termino-lateral en un modelo experimental de nervio peroneo – donante y tibial – receptor en ratas.

Hipótesis nula:

No existen elementos de regeneración axonal en el extremo distal del nervio receptor o lesionado después de la doble neurografía termino-lateral en un modelo experimental de nervio peroneo – donante y tibial – receptor en ratas.

Técnica de recolección de la información

La recolección de datos se realizará utilizando formato del Anexo 1 el cual será diligenciado para cada uno de los animales de experimentación.

Materiales y Métodos

Se incluyeron 7 ratas de la raza Wistar que se mantuvieron en el bioterio de la Universidad El Bosque, bajo supervisión, en condiciones estándar, a una temperatura ambiente promedio de 18°C, con adecuada ventilación, con un ciclo luz-oscuridad de 12x12 horas, con una humedad relativa del 55% y con un macroambiente libre de ruido, con tasa de intensidad menor a 65dB. Se colocaron en habitáculos fijos de un área de 4 x 3.6 metros, en jaulas independientes cada una de 30x30cm, en condiciones de esterilidad con paneles desmontables, de fácil limpieza y mantenimiento. La alimentación fue balanceada basada en un concentrado apto para suplir los requerimientos metabólicos altos de las ratas, con acceso ad libitum al agua.

Intervención Quirúrgica

Las ratas fueron aleatorizadas al lado de intervención. Con las ratas bajo anestesia general con pentobarbital sódico 30-50mg/kg intraperitoneal, se realizó rasurado del área glútea del lado asignado y asepsia con preparado de metanol al 70% más yodopovidona. Los procedimientos se realizaron bajo magnificación binocular usando microscopio quirúrgico con técnica microquirúrgica. Se realizó una incisión vertical de 2cm de longitud en el glúteo y se disecó en profundidad hasta identificar el nervio ciático y sus dos ramas principales: el nervio peroneo y el nervio tibial (Figura 1 y Figura 2).

Figura 1. Incisión de 2cm y abordaje por planos hasta el tercio distal del muslo.



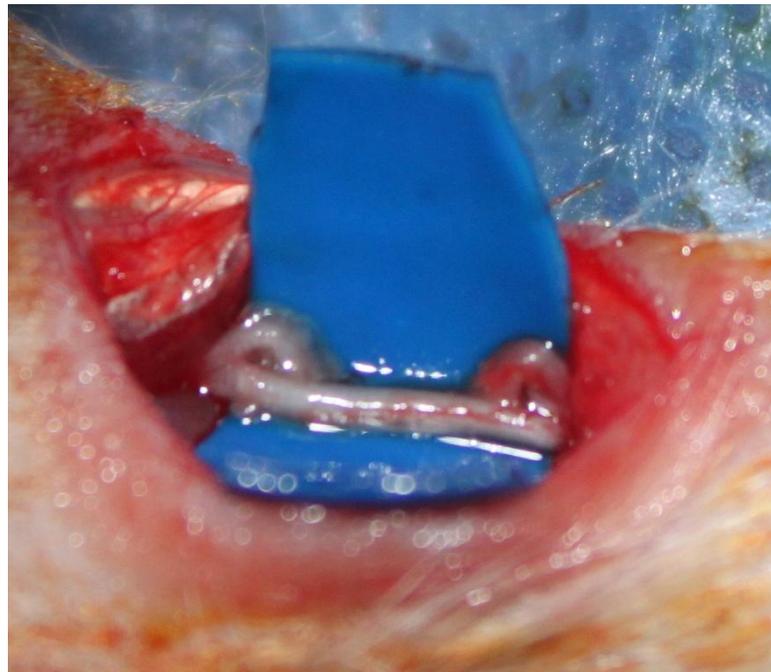
Figura 2. Identificación del nervio peroneo (inferior en la imagen) y tibial (superior en la imagen).



Luego el nervio tibial fue seccionado 1cm distal a la bifurcación y se resecó un segmento de 1cm para crear una brecha entre los extremos distal y proximal del mismo.

El extremo proximal del nervio tibial se anastomosó, mediante una ventana epineural, en un lado del nervio peroneo intacto, usando la técnica de sutura termino-lateral con nylon monofilamento 10/0. El extremo distal del nervio tibial se unió a otro segmento del nervio peroneo usando la técnica de sutura termino-lateral con nylon monofilamento 10/0, mediante una ventana epineural en el área de la coaptación (Figura 3). Cerca de la zona de reparo se dejó una sutura no absorbible de monofilamento nylon 4/0 para identificación de la misma. La incisión se suturó por planos con sutura monofilamento nylon 4/0.

Figura 3. Doble neurografía termino-lateral. Los extremos distal y proximal del nervio tibial (lesionado o receptor) han sido anastomosados por la técnica terminolateral al nervio peroneo (donante).



A las 8 semanas de la intervención, con los animales bajo anestesia general en la forma descrita, incidiendo sobre el área de disección previa y siguiendo la sutura de

reparo de monofilamento dejada previamente, se identificaron las áreas de anastomosis y se realizó la toma de la muestra en el segmento proximal del nervio peroneo o donante (A) y del segmento proximal del nervio tibial o receptor (B), 3mm proximal a la coaptación; así mismo, se tomó muestra del segmento distal del nervio peroneo o donante (C) y del extremo distal del nervio receptor o tibial (D), 3mm distal a la coaptación (Figura 4). Bajo anestesia general, se indujo la eutanasia con una sobredosis de pentobarbital intracardiaco.

Figura 4. Doble neurografía termino-lateral a las 8 semanas de la intervención. Nótese la sutura de reparo para la identificación del área de trabajo previa. Nótese a su vez el método de marcación para la identificación de cada espécimen.



Procesamiento de las Muestras

Las muestras se transportaron en refrigeración a 4°C embebidas en viales de plástico con glutaraldehído al 4%.

El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio de Microscopia Electrónica de Transmisión del Departamento de Patología y Laboratorios de la Fundación Santa Fe de Bogotá.

Siguiendo las normas de bioseguridad del Laboratorio (Figura 5), se realizó el proceso de fijación de las 28 muestras (4 muestras A, B, C y D por cada uno de los 7 ratas intervenidos) en glutaraldehído al 4% durante 24 horas; luego se lavaron con amortiguador y agua destilada y se postfijaron con tetróxido de osmio al 1% durante 2 horas, a 4°C protegido de la luz y se realizó la fase de Contraste pre-imbibición con Acetato de uranilo al 3% durante 12 horas.

Figura 5. Cabina de extracción donde se procesaron las muestras, para evitar riesgos de contaminación o inhalación de sustancias tóxicas.



Posteriormente se llevaron a un proceso de deshidratarán en concentraciones ascendentes de etanol (al 50% por 10 minutos, al 70% por 10 minutos, al 90% por 10 minutos y al 100% por 10 minutos, dos veces).

En seguida se llevaron a infiltración con una mezcla de etanol absoluto: acetona en relación de 1:1 durante 15 minutos y fueron colocadas en acetona por otros 15 minutos.

La imbibición se realizó con una mezcla 1:1 de acetona: resina durante 2 horas y finalmente en resina pura (Spurr) por 2 horas más. La inclusión fue realizada en moldes de plástico con las muestras debidamente rotuladas y se polimerizaron a 70° por un período de 24 horas (Figura 6).

Figura 6. Muestras polimerizadas después de la inclusión en resina, debidamente rotuladas.



Se obtuvieron cortes semifinos entre 250 a 350nm en un ultramicrotómo y se colorearon con azul de toluidina al 1%. Las secciones se examinaron al microscopio de óptico de alta resolución.

Para el conteo de las variables, bajo visión microscópica de cada muestra se escogió el mejor campo, se administró aceite de inmersión, se hicieron las observaciones a 100 micras y según éstas se tomaron fotos tomando un área representativa de cada nervio en mm².

Las fotografías se imprimieron y sobre éstas, se realizaron los conteos de axones totales, de las fibras de aspecto amielínico y de los grupos regenerativos.

Sólo se realizó el análisis histológico teniendo en cuenta que esta medición es el estándar de oro para el estudio de regeneración axonal (14).

Plan de análisis

Las variables evaluadas fueron el número total de axones mielinizados, el número de grupos regenerativos y el número de fibras de aspecto amielínico, en cada uno de los extremos descritos (A, B, C y D). Todas las variables fueron del tipo cuantitativo de razón. Se realizó el análisis con base en los promedios o medias de cada variable y sus respectivas desviaciones estándar. Para establecer si las variables eran de distribución normal o no paramétrica, se aplicó la prueba "Kolmogorov-Smirnov", con el fin de determinar la herramienta de comparación. Dado que todas las distribuciones fueron normales, se utilizó la prueba de t-student para realizar las comparaciones, utilizando como paquete estadístico IBM SPSS 20.0.

Aspectos Éticos

Basados en un marco legal del Estatuto Nacional de Protección de los Animales que fue otorgado por la Ley 84 de diciembre de 1989 y de la resolución 008430 de octubre de 1993 en la cual se dictan las directrices para la práctica en investigación con el uso o empleo de animales, la investigación se realizó con los animales en un hábitat saludable, bajo condiciones adecuadas de movilidad, aseo, alimentación y luz, garantizadas bajo el cuidado y protección del Bioterio de la Universidad El Bosque. Además se garantizó la administración completa de los suministros alimenticios, medicamentos y bienestar que los ratones requerían para su adecuado desarrollo y crecimiento durante el periodo de observación e investigación.

El tamaño de muestra escogido fue el mínimo necesario para realizar una estimación precisa de la transferencia axonal.

La eutanasia de los ratones se efectuó bajo condiciones libres de sufrimiento, ni crueldad, ni agonía y únicamente con la autorización previa del Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad y la Fundación Santa Fe de Bogotá. La eutanasia fue indispensable para el análisis de los resultados ya que se debía tomar muestra de los nervios terminales del nervio ciático y por tanto dejar una lesión permanente en el miembro inferior de la rata que implica un deterioro de la calidad de vida.

Este protocolo fue aprobado en los comités de investigación y ética de la Fundación Santa Fe de Bogotá y de la Universidad El Bosque.

Organigrama



Cronograma

Fecha Límite	Descripción
Abril de 2012	Protocolo escrito
Noviembre de 2012	Inicio de Intervenciones
Noviembre de 2012	Fin de intervenciones
Diciembre de 2012	Toma y procesamiento de muestras
Diciembre y Enero de 2013	Análisis de información
Enero de 2013	Realización del informe escrito

Presupuesto

<i>RECURSOS</i>	<i>COSTO</i>	<i>CANTIDAD</i>	<i>UNIDAD</i>	<i>TOTAL</i>	<i>ORIGEN RECURSO</i>
Personal (investigadores, asesores)	4000000	1		4000000	Investigador
Equipos (alquiler computador, alquiler maquina)	1200000	1		1200000	Investigador
MATERIALES					
Ratas	10000	10	animal	100000	Un-bosque
Hospedaje Bioterio	30000	10		300000	Un-bosque
Alimento	3.000	10		30000	Un-bosque
Papel Kraft	550	38	pliego	20900	Un-bosque
Contenedor de Alimento	20000	1		20000	Un-bosque
Jeringa de Insulina	170	200	jeringa	34000	Un-bosque
Acepromazina	150000	1	frasco	150000	Un-bosque
Xilazina	150000	1	frasco	150000	Un-bosque
Ketamina	29600	1	frasco	296000	Un-bosque
Gasas	350	100	paquete	35000	Un-bosque
Bisturi	15660	1	caja	15660	Un-bosque
Solucion salina	1202	10	bolsa	12020	Un-bosque
Sutura 11-0					Un-bosque
Surtura de piel 4-0	8000	10	unidad	80000	Un-bosque
Mercurio	1500	2	frasco	3000	Un-bosque
Meloxicam	24600	1	ampollax3	24600	Un-bosque
Jeringa de 3 cc	150	20	jeringa	3000	Un-bosque
Eutanex	55700	1	frasco	55700	Un-bosque
Guantes de manejo	10440	2	caja	20880	Un-bosque
Guantes esteriles	812	50	caja	40600	Un-bosque
Gorros quirúrgicos	162	50	caja	8120	Un-bosque
Tapabocas	162	50	caja	8120	Un-bosque
Miscelaneos					Un-bosque
AnalisisHistopatologico	100000	40		4000000	Un-bosque
				5107600	
TOTAL				15715200	

Resultados

Los resultados de todas las variables examinadas fueron de distribución normal al aplicar la prueba de Kolmogorov – Smirnov. Por tanto, por medio de la prueba de t-student, se encontraron los hallazgos que se describen a continuación, según cada variable analizada. Se utilizó el software estadístico SPSS.

	N	Min	Max	Media	Desviación Estándar
N.TIBIAL PROXIMAL	7	167	418	247	84,8
N.PERONERO PROXIMAL	7	0	354	189,4	111,8
N.TIBIAL DISTAL	7	176	491	303,4	118,8
N.PERONERO DISTAL	7	0	324	230,1	112,7
PR.A	7	0	19	5,2	6,4
PR.B	7	0	11	1,8	4,09
PR.C	7	1	48	13,1	17,2
PR.D	7	0	47	12,1	18,9
AMIE.A	7	2	10	7,7	2,6
AMIE.B	7	0	11	4,1	4,2
AMIE.C	7	10	12	11	1
AMIE.D	7	0	11	7,8	3,8

IBM SPSS versión 20.0.

Resumen de las variables Tabla 2

Número total de axones por área en mm²:

Al comparar el promedio del número total de axones del extremo proximal del nervio donante: A (247 ± 84.8) contra el número total de axones del extremo proximal del nervio receptor: B (189.42 ± 111.8), se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.001$) que indica un mayor número de axones en el segmento A. Así

mismo, cuando se comparó el promedio de axones del extremo distal del nervio donante: C (303.42 ± 118.81) contra el extremo distal del nervio receptor: D (230.14 ± 112.7) se encontró una diferencia significativa ($p < 0.001$) que implica un mayor número de axones en el segmento C.

Por otro lado, al comparar los promedios del número total de axones mielinizados entre los extremos proximal y distal del nervio donante, A y C respectivamente, se encontró una diferencia significativa ($p < 0.001$) a favor de mayor número de axones en el extremo distal C. A su vez, entre los extremos proximal y distal B y D del nervio receptor, hubo una significancia estadística ($p = 0.004$) a favor de una mayor presencia de axones en el extremo distal D.

Número total de grupos regenerativos por área en mm²:

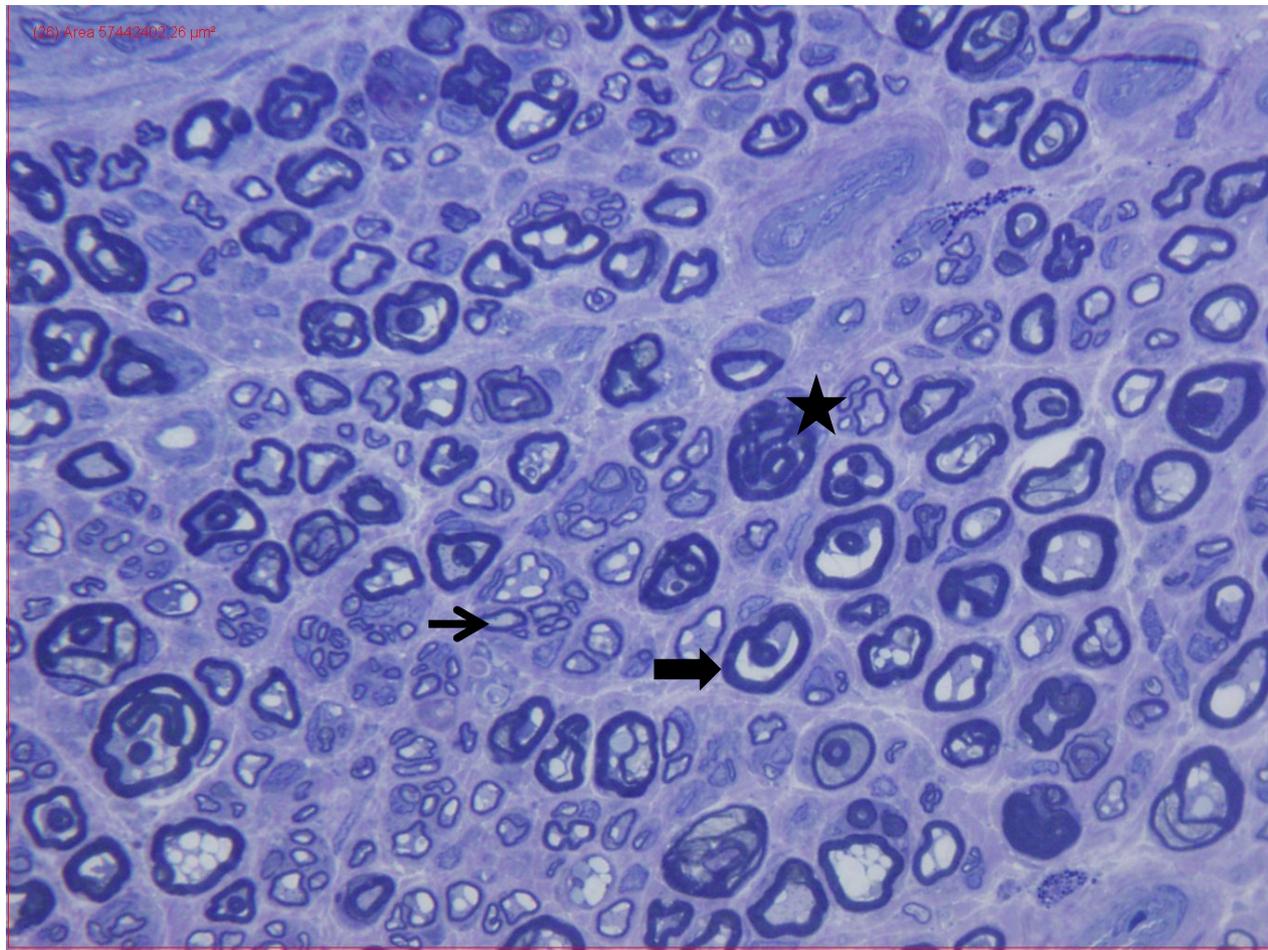
Al comparar los promedios de la cantidad de grupos regenerativos entre los extremos proximales A (5.28 ± 6.47) y B (1.85 ± 4.09), no existió diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.074$); así mismo, al comparar los promedios de la cantidad de grupos regenerativos entre los extremos distales C (13.14 ± 17.24) y D (12.14 ± 18.93) no existió diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.09$). Entre tanto, al comparar las medias entre los extremos proximal y distal del nervio donante, A y C, no se encontró diferencia estadística ($p = 0.074$) como tampoco se encontró ($p = 0.276$) en el análisis de la cantidad de grupos regenerativos entre los extremos proximal y distal del nervio receptor B y D.

Presencia de fibras de aspecto amielínico por área en mm²:

Al comparar la presencia de fibras de aspecto amielínico, entre el segmento A (7.71 ± 2.62) y B (4.14 ± 4.29) existió diferencia estadística ($p < 0.001$) a favor de una mayor presencia de fibras amielínicas en el segmento A. Al comparar entre C (11 ± 1) y D (7.85 ± 3.89) existió diferencia estadística ($p < 0.001$) a favor de la presencia de fibras amielínicas en el segmento C, lo cual demuestra que hubo una mayor presencia de fibras de aspecto amielínico en el nervio donante que en el receptor. Por último, al comparar entre A y C, existió diferencia estadística ($p < 0.001$) a favor de mayor presencia en el segmento distal C y al comparar entre B y D, existió una diferencia estadística ($p = 0.002$) a favor de mayor presencia de fibras amielínicas en el segmento distal D.

En la figura 7 se muestran el aspecto histológico de cada una de las variables evaluadas.

Figura 7. Fotografía histológica del extremo distal de un nervio receptor o peroneo (D), distal a la anastomosis, a las 8 semanas del procedimiento. Nótese los axones (flecha negra gruesa), los grupos regenerativos (estrella negra) y las fibras de aspecto amielínico (flecha negra delgada).



Discusión

Las lesiones de los nervios periféricos son frecuentes. El desarrollo de nuevas técnicas microquirúrgicas acompañado del avance en el instrumental microquirúrgico y la evolución en la investigación de la fisiología de la regeneración nerviosa, han ayudado a mejorar el pronóstico de los pacientes con lesiones de nervio. Pero a pesar de tener más de 100 años el tratamiento quirúrgico moderno de las lesiones con defecto o brechas de los nervios, hoy en día continúa siendo un problema en el área de la microcirugía (13).

En la última década se han realizado grandes esfuerzos para comprender la regeneración nerviosa y encontrar alternativas diferentes a la utilización del nervio autógeno. La recuperación funcional después de una lesión de cualquier nervio periférico está determinada principalmente por dos factores: primero, por el tiempo de reinervación de la placa motora y segundo, por el número de axones regenerados que lleguen a la placa motora.

Utilizar un injerto donante autólogo para colocarlo en el sitio del defecto nervioso es la cirugía que generalmente se realiza; pero ésta se asocia con varias desventajas. Una de las desventajas es la realización de una incisión adicional para la toma de un nervio sano generalmente sensitivo lo que conlleva un déficit sensitivo del respectivo dermatoma e incrementa la morbilidad; de otro lado, usualmente la cantidad de injerto que se puede utilizar es limitada, sobretodo en casos de lesiones extensas o cuando hay compromiso de más de un nervio, lo que quiere decir que en los defectos mayores a 10cm existe un mal pronóstico de recuperación clínica.

Para solucionar esto se han utilizado aloinjertos y conductos de diferentes materiales para reemplazar el injerto autólogo, pero se ha demostrado que la regeneración axonal no es posible en conductos acelulares, sin células de Schwann y sin factores de crecimiento, en conductos mayores a los 4cm de longitud (15).

Por las múltiples desventajas mencionadas y por el mal pronóstico en las lesiones extensas, es necesario buscar métodos alternativos en la reconstrucción del nervio periférico como el planteado en esta investigación, donde se estudia el patrón de regeneración axonal en una doble neurorrafia termino-lateral en la cual se logra evitar la utilización de un injerto de nervio (16).

Diferentes modelos experimentales han demostrado la regeneración axonal en las neurorrafias termino-laterales, para que ocurra esto deben suceder tres cosas, que haya la inducción de brotes colaterales, que exista la habilidad axonal de cruzar varias capas y que se reajusten las motoneuronas que han adoptado la nueva unidad motora (17).

Es conocido que en pequeños roedores puede existir en algunas ocasiones regeneración espontánea de los nervios, por lo tanto en esta investigación se tuvo el cuidado de realizar una técnica microquirúrgica minuciosa para realizar las neurorrafias y que la rafia proximal estuviera separada de la distal por lo menos un centímetro. Tal reconexión se evaluó al momento de la toma de las muestras para histología y no se encontró en ninguno de los casos.

La doble neurorrafia termino-lateral ofrece varios beneficios, como se muestra en esta investigación y en estudios previos con diferentes modelos experimentales (16;18-21).

Primero, se evita la utilización de un injerto donante, lo cual genera menos morbilidad en la intervención quirúrgica. Segundo, se logra una adecuada regeneración axonal del nervio lesionado, sin lesión del nervio donante; y tercero, se disminuye el riesgo de formación de neuromas en el cabo proximal lesionado, al realizarse una neurorrafia termino-lateral; este último aspecto ya ha sido demostrado por otros autores (18).

El crecimiento axonal es el factor más importante para el adecuado resultado clínico en las lesiones de nervio periférico. El mecanismo exacto de la reinervación en las neurorrafias termino-laterales no ha sido plenamente identificado. Trabajos de investigación como el que se desarrolló ayuda a dilucidar un poco más sobre este tema.

En el estudio actual las diferencias encontradas en los cabos proximales de los nervios (A y B), comparados con las muestras de los fragmentos distales (C y D) indican que existe una adecuada regeneración axonal de ambos nervios.

No existió diferencia estadísticamente significativa entre los grupos A y B, al ser los cabos nerviosos proximales sin lesión.

Además en los cabos distales (C y D) existen un mayor número en proceso de regeneración, puesto que morfológicamente a nivel ultraestructural, dentro de las fibras descritas como de aspecto amielínico, se encuentran axones en proceso de mielinización, que no se identifican con claridad por el tiempo de regeneración que se estipuló para este trabajo. Estudios ultraestructurales más completos y con un mayor tiempo de seguimiento de reinervación serán llevados a cabo en próximas investigaciones.

La diferencia estadísticamente significativa entre las muestras de los segmentos distales C y D, a favor de C, se explica porque este es el nervio donante, en donde no existió una completa disrupción de las membranas basales de las células de Schwann, lo que explica mayor número axonal y a la vez regeneración nerviosa.

Se evidenció tanto en el conteo y en las características ultraestructurales del grupo C y D, un aumento del colágeno endoneural. Aunque este es un estudio controlado en ratas jóvenes, sin evidencia aparente de comorbilidades, y con tiempos entre la sección nerviosa y las neurorafias muy cortos; la presencia de dicho aumento es un factor que permite suponer que los procesos de interacción nutricional entre los vasos endoneurales y la población axonal, se vean afectados, en contra del adecuado suministro y desecho de sustancias, pudiendo alterar el proceso de recuperación funcional, que es a donde apunta finalmente el resultado esperado. De ahí que extrapolando a los pacientes que necesitaran un procedimiento como éste, los factores adicionales como comorbilidades y tiempo transcurrido para la realización del procedimiento pueden ser factores pronósticos adversos en contra de la recuperación esperada tanto motora como sensitiva.

Conclusiones

Las lesiones de los nervios periféricos se presentan frecuentemente y hoy en día constituyen un reto en la microcirugía. Cuando existen defectos nerviosos extensos se necesitan injertos que conllevan a aumentar la morbilidad y no mejoran sustancialmente el pronóstico. La doble neurorrafia termino-lateral puede ser una valiosa herramienta en las lesiones de nervio, ya que se demuestra una regeneración axonal adecuada, sin lesión del nervio donante, sin la comorbilidad de un injerto autólogo y disminuye la probabilidad de un neuroma al realizar una neurorrafia termino-lateral del cabo proximal.

Referencias

- (1) Viterbo F, Amr AH, Stipp EJ, Reis FJ. End-to-side neuroorrhaphy: past, present, and future. *Plast Reconstr Surg* 2009 Dec;124(6 Suppl):e351-e358.
- (2) Boyd KU, Nimigan AS, Mackinnon SE. Nerve reconstruction in the hand and upper extremity. *Clin Plast Surg* 2011 Oct;38(4):643-60.
- (3) Ray WZ, Mackinnon SE. Management of nerve gaps: autografts, allografts, nerve transfers, and end-to-side neuroorrhaphy. *Exp Neurol* 2010 May;223(1):77-85.
- (4) Brown JM, Yee A, Mackinnon SE. Distal median to ulnar nerve transfers to restore ulnar motor and sensory function within the hand: technical nuances. *Neurosurgery* 2009 Nov;65(5):966-77.
- (5) Hu J, Zhu QT, Liu XL, Xu YB, Zhu JK. Repair of extended peripheral nerve lesions in rhesus monkeys using acellular allogenic nerve grafts implanted with autologous mesenchymal stem cells. *Exp Neurol* 2007 Apr;204(2):658-66.
- (6) Karabekmez FE, Duymaz A, Moran SL. Early clinical outcomes with the use of decellularized nerve allograft for repair of sensory defects within the hand. *Hand (N Y)* 2009 Sep;4(3):245-9.
- (7) Tung TH, Mackinnon SE. Nerve transfers: indications, techniques, and outcomes. *J Hand Surg Am* 2010 Feb;35(2):332-41.

- (8) Dvali LT, Myckatyn TM. End-to-side nerve repair: review of the literature and clinical indications. *Hand Clin* 2008 Nov;24(4):455-60, vii.
- (9) Iwakura N, Ohtori S, Kenmoku T, Suzuki T, Takahashi K, Kuniyoshi K. Single Versus Double End-to-Side Nerve Grafts in Rats. *J Hand Surg Am* 2012 Feb;37(2):261-9.
- (10) Portincasa A, Gozzo G, Parisi D, Annacontini L, Campanale A, Basso G, et al. Microsurgical treatment of injury to peripheral nerves in upper and lower limbs: a critical review of the last 8 years. *Microsurgery* 2007;27(5):455-62.
- (11) Definiciones por Accidentes de Tránsito en países seleccionados de las Américas, 1985-2001. OPS, Boletín Epidemiológico. 25[1]. 2004.

Ref Type: Generic

- (12) Secretaría General. Accidentes de Tránsito en la Comunidad Andina 2000 - 2009. SG/de 345[E.3.1.]. 2010.

Ref Type: Generic

- (13) Dvali L, Mackinnon S. The role of microsurgery in nerve repair and nerve grafting. *Hand Clin* 2007 Feb;23(1):73-81.
- (14) Hunter DA, Moradzadeh A, Whitlock EL, Brenner MJ, Myckatyn TM, Wei CH, et al. Binary imaging analysis for comprehensive quantitative histomorphometry of peripheral nerve. *J Neurosci Methods* 2007 Oct 15;166(1):116-24.

- (15) Vekris MD, Soucacos PN. Update on peripheral nerve microsurgery. *Microsurgery* 2006;26(4):216-7.
- (16) Lykissas MG. Current concepts in end-to-side neuroorrhaphy. *World J Orthop* 2011 Nov 18;2(11):102-6.
- (17) Lykissas MG, Korompilias AV, Batistatou AK, Mitsionis GI, Beris AE. Can end-to-side neuroorrhaphy bridge large defects? An experimental study in rats. *Muscle Nerve* 2007 Nov;36(5):664-71.
- (18) Aszmann OC, Korak KJ, Rab M, Grunbeck M, Lassmann H, Frey M. Neuroma prevention by end-to-side neuroorrhaphy: an experimental study in rats. *J Hand Surg Am* 2003 Nov;28(6):1022-8.
- (19) Bersaneti JA, Viterbo F, Jorge J, Denadai R. Muscle reinnervation in one or two stages?: experimental study in rats with end-to-side nerve graft. *Acta Cir Bras* 2012 Dec;27(12):841-7.
- (20) Haninec P, Kaiser R, Dubovy P. A Comparison of collateral sprouting of sensory and motor axons after end-to-side neuroorrhaphy with and without the perineurial window. *Plast Reconstr Surg* 2012 Sep;130(3):609-14.
- (21) Yu Q, Lin ZK, Ding J, Wang T, Chi YL, Gao WY. Functional Motor Nerve Regeneration Without Motor-Sensory Specificity Following End-to-Side Neuroorrhaphy: An Experimental Study. *J Hand Surg Am* 2011 Dec;36(12):2010-6.