

ISBN: 970-27-0770-6

## **EFECTO DE LA REPARACIÓN TARDÍA EN LA ESTRUCTURA HISTOLÓGICA DEL NERVIIO CIÁTICO DE LA RATA REPARADO CON TUBOS DE QUITOSANA.**

### **PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**Jorge Espinoza María Guadalupe , Sarabia Estrada Rachel , , Gómez Rodiles Carmen Cecilia, Bañuelos Pineda Jacinto. Departamento de Medicina Veterinaria, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara.**

Anatómicamente el sistema nervioso se divide en: sistema nervioso central y sistema nervioso periférico. El sistema nervioso periférico incluye los nervios craneales y periféricos, los ganglios asociados con los nervios craneales y raquídeos y los órganos receptores periféricos (Afifi, 1999).

El nervio periférico esta formado por fibras mielínicas y amielínicas. Los axones mielínicos están cubiertos por vainas de mielina, que es una envoltura en espiral del citoplasma de una célula de Schwann, la cual contribuye con mielina para cada internodo del axón; entre dos segmentos mielínicos se encuentran los nodos de Ranvier. Las fibras amielínicas están envueltas en el citoplasma de una célula de Schwann por una simple extensión de esta célula (López, 2000, Winans y Gilman, 1998).

Cada fibra nerviosa está rodeada por una lámina de tejido conectivo denominada endoneuro cuya función es la protección y nutrición de los axones. Los fascículos se hayan rodeados uno por uno por una lámina de tejido conectivo definida como perineuro, que contribuye a la fuerza ténsil del nervio. Los grupos fasciculares se agrupan por tejido areolar laxo denominado epineuro que los nutre y protege. En la reparación nerviosa es importante respetar dicha distribución fascicular para obtener un buen resultado (Ayala, 1997).

Se toma como modelo para estudiar lesiones experimentales al nervio ciático de la rata. Es un nervio espinal que se origina en el plexo lumbosacro, está localizado hacia la parte lateral del fémur por debajo del músculo femoral. Este músculo discurre por el área perineal frente a la tibia y distalmente al final del fémur. Las fibras sensoriales de este nervio se originan de las raíces dorsales preganglionares de los segmentos lumbares 3-6, pero las raíces que emergen de L4 y L5 son las más importantes y constituyen cerca de un 98% a un 99% del total de fibras sensoriales.

Para evaluar la degeneración y regeneración experimentalmente se tienen establecidos tres grados de lesión en un nervio: neuropraxia, axonotmesis y neurotmesis. La neurotmesis es la lesión nerviosa más severa, equivalente a una interrupción fisiológica completa del nervio, como consecuencia la función nerviosa degenera de forma secuencial: motora, sensibilidad propioceptiva, tacto temperatura, dolor y componente simpático.

En el sistema nervioso periférico el potencial de regeneración es muy bueno; los procesos que suceden inmediatamente después de seccionar completamente las fibras son: el fragmento de axón separado o distal se destruye por atrofia y las células de las vainas nerviosas experimentan notables alteraciones por la destrucción de la mielina.

Después ocurre la regeneración nerviosa, que consiste en el restablecimiento de la capacidad de conducción nerviosa. Comienza con la degeneración en el cabo proximal y en el distal e implica una compleja interacción de neuronas, células de Schwann, elementos de matriz extracelular (Ramón y Cajal Junquera, 2002). También una de las condiciones para que la regeneración espontánea sea exitosa es que la distancia entre los cabos nerviosos proximal y distal, sea relativamente corta hasta 5mm, actualmente con las técnicas de reparación se manejan distancias mayores (de 8-10 mm) (Saito y col., 2003). Se pueden manejar también tiempos en la reparación. Pudiendo ser inmediata o tardía.

La reparación nerviosa inmediata está indicada:

1. Si el nervio seccionado tiene extremos lacerados limpios.
2. Si la intervención quirúrgica puede realizarse a las pocas horas de la lesión.
3. Si el nervio presenta únicamente desgarre parcial.
4. Si no hay contaminación de la herida.
5. Si no hay lesiones tegumentarias como fracturas o quemaduras.

Las ventajas de la reparación inmediata comprenden:

1. Fácil identificación de los extremos nerviosos.
2. Ausencia de la retracción nerviosa.
3. Ausencia de constricción del tejido conectivo en los extremos del nervio.

La reparación nerviosa tardía debe realizarse:

1. Si los extremos nerviosos están desgastados.
2. Si hay un trauma externo óseo o de tejidos blandos.
3. Si hay una herida abierta con probable contaminación.
4. Si se retrasa la intervención quirúrgica.

Las ventajas de la reparación tardía incluyen:

1. La presencia de un epineuro más grueso para el mantenimiento de las suturas.
2. La ausencia de lesiones, inflamación e infección asociadas.

Dentro de las técnicas quirúrgicas utilizadas para la reparación nerviosa se encuentran: la neurorafia, técnica de reparación más utilizada tanto en la clínica humana y animal, consiste en la aproximación de los nervios lesionados mediante suturas. Y una técnica alternativa es la tubulización, que consiste en la utilización de cámaras en forma de tubo o cilindro en las cuales se introducen los extremos de un nervio seccionado con la finalidad de promover su reparación y recuperación funcional. Se han utilizado materiales de origen natural para elaborar tubos, como la quitosana..

Es un polímero derivado de la quitina, que es un polisacárido de estructura lineal que se encuentra en el exoesqueleto de crustáceos, la quitosana se caracteriza por ser un material bioabsorbible y biodegradable, con capacidad antimicrobiana y es biocompatible. Además se ha probado que favorece el crecimiento nervioso y ha demostrado ser histocompatible con las células e Schwann.

Objetivo: Evaluar la reparación tardía de la lesión por neurotmesis producida en el nervio ciático de rata mediante tubos con quitosana.

Material y métodos: Se utilizarán 12 ratas macho de la cepa Wistar, con un peso de 200-250 gramos, de las cuales se formarán 2 grupos de 6 animales cada uno: Grupo 1, axotomía-tubulización inmediata con quitosana y grupo 2, axotomía-tubulización tardía con quitosana. Ambos grupos se evaluarán a los 120 días poslesión. Los animales serán mantenidos en condiciones controladas de bioterio, con agua y alimento balanceado *ad libitum*, con ciclos de 12 horas luz, 12 horas de oscuridad y humedad relativa del ambiente, de acuerdo a la NOM-062-ZOO-1999, *Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio*. Todos los animales recibirán una inyección intramuscular de ketamina (90 mg/kg) y xilazina (10 mg/kg). Se llevará a cabo una incisión vertical a nivel de la unión de los músculos glúteo superficial y bíceps femoral, mediante disección roma se separarán y se localizará el tercio superior del nervio ciático. Al grupo 1 (reparación inmediata) se le provocará una lesión por neurotmesis y se retirarán 5 mm del nervio, llevándose a cabo su reparación inmediata con tubos de quitosana (15 mm). Al grupo 2 se le practicará la misma lesión mediante un corte completo del eje nervioso pero sin retirar ningún segmento, después de 1 hora se cortarán 5 mm del extremo proximal y 5 mm del extremo distal, llevándose a cabo la reparación secundaria del nervio con tubos de quitosana. Los animales se llevarán a recuperación en un ambiente tibio (tapete térmico a 37°C) antes de regresar a sus condiciones habituales de bioterio. 120 días después de la lesión se sacrificarán los animales y se extraerá el tejido que se encuentre dentro del tubo. De la zona distal del nervio reparado, a intervalos de 2 mm se obtendrán fragmentos de tejido con 1mm/lado, serán posfijados en tetraóxido de osmio y después se deshidratarán mediante cambios crecientes de alcohol y acetona, posterior a esto, serán incluidos en resinas epóxicas. Finalmente se harán cortes de 1  $\mu$ m y serán teñidos con azul de toluidina para llevar a cabo el análisis morfométrico de los axones mielinizados.

*Proyecto No, 29604-z, realizado con financiamiento de la Secretaría de Educación Pública -Subsecretaría de Educación Superior e Investigación Científica- Dirección General de Educación Superior. Convenio: 2003-14-001-016*

**Bibliografía**

1. Afifi AK., Bergman RA. 1999. Neuroanatomía funcional. México, D.F. Ed. McGraw-Hill Interamericana, p.p. 31-36.
2. Ayala H. 1997. Estudio experimental en la cirugía de los nervios periféricos. Rev Ortop Traum, 21(IB): 3-14.
3. López AL. 2000. Anatomía funcional del sistema nervioso. Noriega editores. P.p. 173-178, p.p. 173-78.
4. Purves D., Augustine GJ., Fitzpatrick D., Katz LC., LaMantia AS., MacNamara JO. 2001. Invitación a la neurociencia. Médica Panamericana, Buenos Aires, Arg, p.p 7-8.
5. Ramón y Cajal Junqueira R., 2002. Contribución de Ramón y Cajal a la Patología. Rev Esp Patol., 35(1): 77-88.
6. Saito I., Oka Y., Odaka M. 2003 Promoting nerve regeneration though long gaps using a small nerve tissue graft. Surg Neurol., 59: 148-55.
7. Salgado-Ceballos H., Guizar-Sahagun G., Feria-Velasco A., Grijalva I., Espitia L., Ibarra, A., Madrazo I. 1998. Spontaneous long-term myelination after traumatic spinal cord injury in rats. Brain Res., 782: 126-35.
8. Winans NS., Gilman S. Neuroanatomía y neurofisiología. 1998. Clínicas de Manter y Gatz, 9ª. edición, Manual moderno, México, D.F., p.p. 27-30