

# Latencias de nervio medial y tibial por potenciales evocados somatosensoriales en monos sometidos a laminectomía intrauterina para simular mielomeningocele

Braulio Hernández-Godínez,\* Alejandra Ibáñez-Contreras,\* Alfredo Durand-Rivera,\*\* Alfonso Galván-Montaño,\*\*\* Sergio Abraham Reyes-Pantoja,\* Eduardo Cárdenas-Lailson\*\*\*

## Resumen

**Introducción:** Los potenciales evocados somatosensoriales (PESS) son un buen indicador del grado de lesión medular en enfermedades degenerativas, metabólicas y traumáticas del sistema nervioso central. La prevalencia de los defectos del tubo neural es aproximadamente de seis por cada 10 000 nacidos vivos en el mundo. Se cree que en su etiología contribuyen factores genéticos y ambientales. **Objetivo:** analizar y comparar las latencias obtenidas a través de los potenciales evocados somatosensoriales en monos sanos con las de monos rhesus sometidos a laminectomía intrauterina para simular defectos del tubo neural (mielomeningocele) en los cuales posteriormente se corrigió el defecto.

**Material y métodos:** Se utilizaron tres primates no humanos (*Macaca mulatta*), de los cuales a dos se les realizó laminectomía intrauterina para simular el defecto neurológico producido por el mielomeningocele; el tercer mono sirvió como control. La obtención de estos monos fue por cesárea. Para el análisis estadístico se emplearon cuatro monos más, nacidos por parto natural sin manipulación quirúrgica. Para los PESS se estimularon los nervios tibial y medial de los seis monos.

**Resultados:** No existieron diferencias significativas en los miembros anteriores de los monos evaluados. Se observó que las extremidades posteriores fueron las más afectadas, principalmente en la aferencia izquierda en el mono con exposición de la médula al líquido amniótico.

**Conclusiones:** Los PESS proporcionan información valiosa referente a la preservación de la función sensorial en una variedad de anomalías neurológicas experimentales.

**Palabras clave:** Potenciales evocados somatosensoriales, laminectomía, mielomeningocele, vía somatosensitiva.

## Abstract

**Background:** Somatosensory evoked potentials (SSEP) have been described as excellent indicators of the degree of medullary injury in degenerative and metabolic diseases of the central nervous system (CNS). The prevalence of neural tube defects (NTD) is 6 cases/10,000 live newborns worldwide. It is thought that genetic as well as environmental factors contribute to the etiology of NTD. The objective of this study was to analyze and compare the latencies obtained by means of SSEP in a clinically healthy monkey vs. rhesus monkeys with intrauterine surgery in order to simulate surgically the neural tube defect (myelomeningocele) by performing an intrauterine laminectomy and achieve correct the defect.

**Methods:** This study was performed using three non-human primates of the *Macaca mulatta* species. There were practice intrauterine surgeries in two products to simulate the neurological defect produced by myelomeningocele, using the third monkey as control. For statistical methodology four monkeys were used. They were born by natural birth without any surgical manipulation. With the cesarean-obtained products, stimulation was performed of the tibial and median nerve.

**Results:** We observed that the hind limbs were the most affected, in particular, the left afferent of the monkey. The spinal cord was exposed to amniotic fluid, and there were no significant differences in the forelimbs.

**Conclusions:** The use of SSEP provides valuable information regarding preservation of sensorial functions in a variety of experimental neurological abnormalities.

**Key words:** Somatosensory evoked potentials, laminectomy, myelomeningocele, somatosensory pathway.

\* Unidad de Primates, Centro de Investigación, Proyecto Camina, A. C., México, D. F.

\*\* Laboratorio de Neuroprotección, Instituto Nacional de Rehabilitación, Secretaría de Salud, México, D. F.

\*\*\* División de Cirugía General, Hospital General "Dr. Manuel Gea González", Secretaría de Salud, México, D. F.

### Correspondencia:

Braulio Hernández-Godínez.

Calz. de Tlalpan 4430, Col. Toriello Guerra, Del. Tlalpan, 14050 México D. F.

Tel.: (55) 5573 0029.

E-mail: rhpithecus@yahoo.com.mx

Recibido para publicación: 26-04-2010

Aceptado para publicación: 21-09-2010

## Introducción

El mielomeningocele es una lesión no letal que afecta a los niños y que ocasiona diversos grados de disminución somatosensorial, disfunción de los esfínteres vesical y rectal, paraplejía, deformidades del esqueleto, disfunción sexual, hidrocefalia y retraso mental.<sup>1</sup>

La prevalencia de defectos del tubo neural es aproximadamente de seis por cada 10 000 nacidos vivos en el mundo. El 75% de los embarazos afectados finaliza en aborto o mortinato y solo 25% de estos niños nace vivo. Se considera que 40% de los niños con mielomeningocele muere dentro de los primeros cinco años de edad, y 73 % de estas muertes se atribuye a una herniación del rombencéfalo o cerebro posterior. Se ha determinado que tanto factores genéticos como ambientales contribuyen en la etiología de los defectos del tubo neural.<sup>2-4</sup>

Se ha comprobado en distintos modelos quirúrgicos para la corrección del mielomeningocele que los tratamientos quirúrgicos prenatales tienen un efecto más satisfactorio que los posnatales, ya que se reducen los daños químicos y mecánicos producidos en la médula expuesta al líquido amniótico.<sup>3,5,6</sup>

En un inicio, los modelos quirúrgicos para la corrección del mielomeningocele se efectuaron en fetos de ovejas.<sup>3,5,7-10</sup> Yingling<sup>9,10</sup> realizó potenciales evocados somatosensoriales (PESS) para valorar la función sensorial en un grupo de ovejas neonatas, algunas de las cuales recibieron atención quirúrgica fetal experimental; encontró falta de respuesta al estímulo en las ovejas sin corrección quirúrgica en comparación con aquellas con cirugía, las cuales respondieron al estímulo. De igual forma, Grande<sup>11</sup> realizó cirugía intrauterina para inducir mielomeningocele en 26 conejos a los cuales se realizó PESS para determinar el grado de lesión; al igual que Yingling,<sup>9,10</sup> observó la ausencia de respuesta al estímulo en los PESS en el grupo con mielomeningocele sin reparación quirúrgica a diferencia del grupo con corrección.

Finalmente, se ha descrito que los PESS son un buen indicador del grado de lesión medular en enfermedades degenerativas, metabólicas y traumáticas del sistema nervioso central.<sup>12</sup> Por lo que el objetivo de este trabajo fue analizar y comparar las latencias obtenidas a través de los potenciales evocados somatosensoriales del nervio tibial (PESSNT) y de nervio medial (PESSNM) en monos neurofisiológicamente sanos, comparados con dos sometidos a laminectomía intrauterina para simular quirúrgicamente el mielomeningocele y a corrección intrauterina.

## Material y métodos

La investigación se realizó de acuerdo con la *Norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999, especificaciones técnicas*

para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio, aprobada por el Comité Interno de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio.

Se utilizaron tres primates no humanos (*Macaca mulatta*), a dos de los cuales se les realizó laminectomía intrauterina en la semana 13 del periodo gestacional en la región lumbar (L5 y L6) para simular el defecto neurológico producido por el mielomeningocele; en uno se dejó expuesta la médula espinal y al otro se le colocó una malla de silicón.<sup>4,13</sup> El tercer mono se utilizó como control positivo. La obtención de los tres monos se realizó por cesárea en la semana 23 de gestación. Fueron criados artificialmente y alimentados con leche de fórmula materna con hierro para niños prematuros (Enfamil®, Mead Johnson & Company, Evansville, IN, EE. UU).

Para el análisis estadístico se utilizaron cuatro monos más como controles negativos, los cuales nacieron por parto natural en la semana 24 del periodo gestacional y se encontraban con sus madres naturales sin ninguna manipulación quirúrgica. Se alojaron en jaulas grupales con piso de cemento, paredes cubiertas con azulejo y malla ciclónica, que permitía la exposición a un fotoperiodo natural. Los techos tenían una cubierta impermeable y resistente y las puertas están provistas de broches, para la seguridad de los animales y del manejador. Dentro de cada área se encontraban bebederos automáticos, por lo que la administración de agua fue *ad libitum* y los depósitos de alimento estaban colocados de tal forma que no estaban en contacto con las heces.

Para la realización de los PESS se sedó previamente a los monos con tiletamina-zolacepam (Zoletil®, Laboratorios Virbac S.A., Carros, Francia), con una dosis intramuscular de 4 mg/kg, con la finalidad de inmovilizarlos durante el registro.<sup>13-15</sup> Los PESSNM y los PESSNT se realizaron en el Laboratorio de Neuroprotección del Instituto Nacional de Rehabilitación. Se utilizó una computadora para potenciales marca Viasys Healthcare Niccolet® (San Diego, CA, EE. UU.), a la cual se le programaron los filtros para banda que permitían el paso de frecuencias entre 5 y 2500 Hz, con una sensibilidad de 10 µV. Se realizó el registro en el nervio tibial para los miembros posteriores colocando electrodos de disco en hueco poplíteo, lumbar 5 (L5), torácica 3 (T3) y corteza somatosensitiva contralateral (C3 o C4) al miembro estimulado, referenciados a la corteza frontopolar, con la tierra en el mastoides.

Para el monitoreo de los miembros anteriores, el registro se efectuó en el nervio medial colocando los electrodos en la fosa cubital anterior, punto Erb, cervical 7 (C7) y corteza somatosensitiva contralateral (C3 o C4) al miembro estimulado, referenciados a la corteza frontopolar, con la tierra en el mastoides. El estímulo utilizado fue un pulso eléctrico cuadrado, monofásico, de 100 microsegundos de duración,

a una frecuencia de estimulación de 0.5 a 1.1 estímulos/segundo. Se promediaron 250 estímulos. La intensidad utilizada fue la mínima suficiente para producir una contractura digital visible de 1.5 miliamperes. Se realizó un solo registro de PESS para cada uno de los primates, tomando como parámetros individuales las latencias de cada uno de los tres primates sometidos a cirugía y clasificando el modelo quirúrgico en expuesto, malla y control positivo. En los cuatro primates que sirvieron como control negativo la muestra fue más homogénea, lo que permitió obtener un promedio y una desviación estándar, para posteriormente comparar por t de Student para una sola muestra<sup>16</sup> el parámetro de cada caso quirúrgico contra el promedio del grupo de primates que nacieron de forma natural.

## Resultados

Se observó una onda que se mantuvo definida y constante en los siete monos, tanto en los miembros anteriores como en los posteriores (figura 1). Se realizó un registro de P1 en miembros posteriores en ambas derivaciones (izquierda y derecha), posteriormente se utilizó la prueba estadística de t de Student para una sola muestra, con la que se obtuvieron diferencias significativas entre los monos con cirugía y los monos no intervenidos (cuadro I). Se encontraron diferencias significativas en la mayoría de las derivaciones entre los monos con exposición de médula y los monos que nacieron por parto natural, con excepción de T3 aferencia derecha ( $p = 0.076$ ), con la latencia para el mono con

médula expuesta de 16.94 milisegundos, en relación con el promedio de los monos que nacieron de forma natural ( $10.8 \pm 4.5$  milisegundos). En el hueco poplíteo se obtuvo una  $p = 0.096$ , observándose que el mono con corrección de malla de silicón tuvo una latencia de 12 milisegundos, con un promedio para los monos que nacieron de forma natural de  $5.2 \pm 1.0$  milisegundos. Para los dos casos se obtuvieron las latencias más alargadas en comparación con los monos nacidos por parto natural (cuadro I).

En la evaluación de la utilidad de la corrección intrauterina del defecto a través de la colocación de una malla de silicón, la única derivación donde no se encontraron diferencias significativas fueron en L5 aferencia derecha ( $p = 0.764$ ), con una latencia de 8.23 milisegundos para el mono con corrección con malla de silicón, en contraste con el promedio de los monos que nacieron de forma natural ( $7.6 \pm 3.8$  milisegundos). En el hueco poplíteo aferencia derecha se observó una  $p = 0.851$ , con una latencia de 5.88 milisegundos para el mono con corrección con malla de silicón y un promedio para los monos que nacieron de forma natural de  $5.6 \pm 1.9$  milisegundos, y en el hueco poplíteo aferencia izquierda una  $p = 0.489$ , con una latencia para el mono con corrección con malla de silicón de 9.41 milisegundos y un promedio para los primates que nacieron de forma natural de  $5.2 \pm 1.08$  milisegundos. Como era de esperar, las latencias en los PESSNT fueron más alargadas en los dos monos a los que se les realizó laminectomía intrauterina respecto al mono control y los monos que nacieron por parto natural (figura 1). En las extremidades anteriores no existieron cambios significativos (cuadro II).

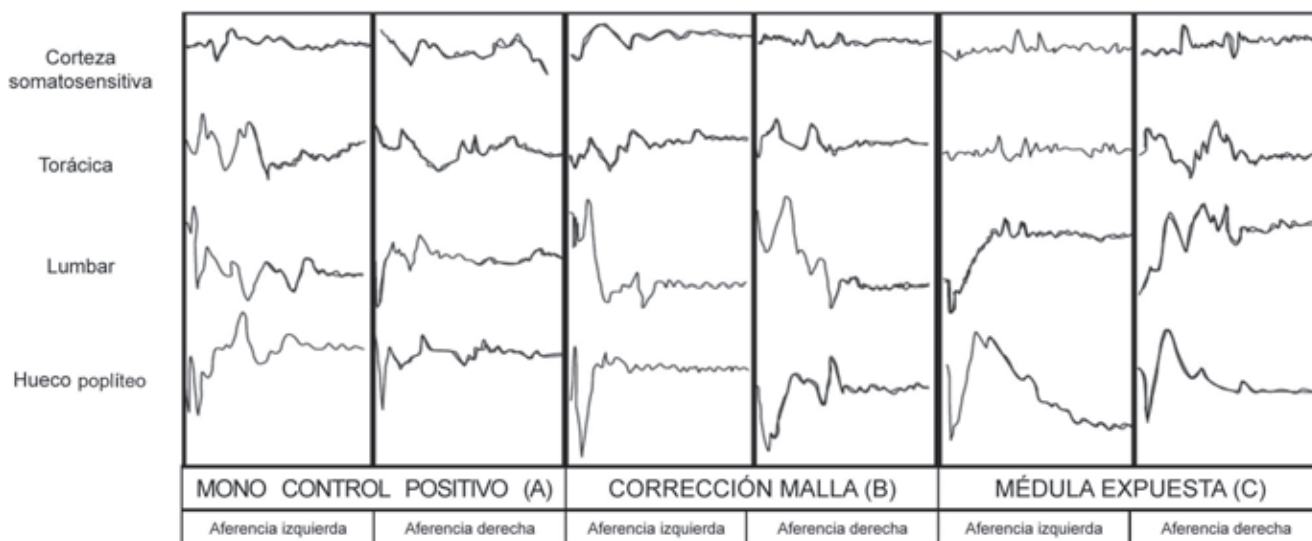


Figura 1. Morfología de las latencias obtenidas de los PESS de nervio tibial. Alargamiento de las latencias en B y C en relación con A.

**Cuadro I.** Análisis estadístico (prueba t) de los potenciales evocados somatosensoriales del nervio tibial

	Derivación	DE Control negativo (n = 3)	Media Control negativo (n = 3)	Caso A (n = 1)		Caso B (n = 1)		Caso C (n = 1)	
				Latencia (ms)	p	Latencia (ms)	p	Latencia (ms)	p
DERECHO	C4	3.95	11.76	14.11	0.321	20.00	0.025	19.76	0.027
	T3	4.56	10.85	10.35	0.841	18.82	0.04	16.94	0.076
	L5	3.83	7.60	8.47	0.681	8.23	0.764	14.88	0.032
	Hueco poplíteo	1.95	5.68	4.7	0.39	5.88	0.851	9.17	0.038
IZQUIERDO	C3	1.37	13.05	12.7	0.645	21.17	0.001	22.58	0.001
	T3	2.082	9.5	9.17	0.772	16.47	0.007	18.55	0.003
	L5	3.206	8.15	7.76	0.823	15.29	0.021	14.82	0.025
	Hueco poplíteo	1.088	5.25	4.94	0.139	9.41	0.489	12	0.096

Prueba t para una sola muestra donde se comparan A (control positivo), B (corrección quirúrgica con malla) y C (exposición de médula), contra el grupo control negativo; se observó alargamiento de las latencias en B y C, en relación con A. DE = desviación estándar, C4 = corteza somatosensorial derecha, C3 = corteza somatosensorial izquierda, T3 = tercera vértebra torácica, L5 = quinta vértebra lumbar.

**Cuadro II.** Análisis estadístico (prueba t) de los potenciales evocados somatosensoriales del nervio medial

	Derivación	DE Control negativo (n = 3)	Media Control negativo (n = 3)	Caso A (n = 1)		Caso B (n = 1)		Caso C (n = 1)	
				Latencia (ms)	p	Latencia (ms)	p	Latencia (ms)	p
DERECHO	C4	4.127	12.21	12.6	0.862	11.2	0.658	13.5	0.576
	C7	4.039	9.845	9.12	0.743	9.1	0.737	8.4	0.526
	Erb	2.131	6.795	7.6	0.505	6.3	0.674	5.8	0.419
	Fosa cubital	1.638	4.180	4.16	0.982	5.08	0.352	3.8	0.674
IZQUIERDO	C3	5.220	10.23	10.3	0.982	9.88	0.9	9.6	0.823
	C7	4.820	8.24	9.2	0.719	8.7	0.863	8.2	0.986
	Erb	4.356	7.53	7.4	0.954	6.63	0.705	6.32	0.615
	Fosa cubital	1.355	4.02	4.2	0.808	4.13	0.881	4.05	0.967

No se observan diferencias significativas en los animales monitoreados. Caso A = control positivo, Caso B = corrección quirúrgica con malla, Caso C = exposición de médula, C4 = corteza somatosensorial derecha, C3 = corteza somatosensorial izquierda, C7 = séptima vértebra cervical.

## Discusión

No obstante que la corrección quirúrgica del mielomeningocele ha disminuido la frecuencia de la hidrocefalia y la presión ventricular en el primer mes de vida en los humanos, no ha sido posible determinar los beneficios en la función de las extremidades inferiores,<sup>17</sup> ya que existen pocos trabajos

que registren la evaluación de la vía somatosensorial con la corrección intrauterina del mielomeningocele.<sup>18-20</sup> Numerosos estudios de cirugía fetal con diferentes modelos animales para la corrección de mielomeningocele han sugerido que la reparación intrauterina posiblemente puede mejorar los resultados clínicos y fisiológicos, pero de igual forma no se evalúa la vía somatosensorial en los modelos animales.<sup>4,21</sup>



Respecto a esta investigación, en los animales intervenidos se observó un alargamiento en las latencias en todas las derivaciones y en ambas aferencias en los PESSNT en relación con los monos control no sometidos a manipulación intrauterina. En pocos estudios realizados en diferentes especies animales sobre la corrección intrauterina del mielomeningocele se ha evaluado la funcionalidad e integridad de la vía somatosensorial. Grande<sup>11</sup> y Yingling<sup>9,10</sup> evaluaron la respuesta somatosensitiva en las extremidades inferiores al comparar a un grupo de animales (conejos y ovejas) con mielomeningocele con otro con corrección quirúrgica intrauterina y un grupo control no manipulado quirúrgicamente; encontraron que no existía respuesta en los PESS en el grupo con mielomeningocele en comparación con el grupo con reparación intrauterina. Al contrario que Grande<sup>11</sup> y Yingling<sup>9,10</sup> en este trabajo hubo respuesta en el mono sin corrección intrauterina, con latencias muy alargadas en ambas aferencias en todas las derivaciones (cuadro I). El objetivo fue provocar una lesión no mecánica, por lo que en este mono solo se efectuó laminectomía de la región lumbar sin la manipulación de la médula espinal, a diferencia de Michejda<sup>21</sup> quien además de la laminectomía llevó a cabo desplazamiento medular. A diferencia del mono con corrección intrauterina (colocación de malla de silicón), el mono expuesto presentó afectación de toda la vía somatosensorial, como se observó en la investigación de Abdolhamid,<sup>5</sup> donde se analizaron los efectos del líquido amniótico en los cambios histopatológicos de la médula espinal expuesta en fetos de ovejas, y donde se concluyó que la exposición de la médula espinal al líquido amniótico causa daños estructurales del tejido neural que se pueden prevenir mediante la reparación fetal del mielomeningocele, con lo que se refuerzan los resultados respecto a la funcionalidad de la malla como agente preventivo al impedir que la médula esté en contacto con el líquido amniótico.

Por otro lado, el mono con corrección intrauterina con la colocación de una malla de silicón presentó alargamiento en la derivación de L5, lo que era de esperar ya que en ese sitio fue donde se realizó la laminectomía y la colocación de la malla pudo afectar alguna inervación de las raíces dorsales de la médula. Cabe destacar que solo existió compromiso neurológico en L5, que no generó daño ya que es el único músculo funcional inervado por el nervio tibial.

Se realizaron los PESSNM para evaluar el estado funcional de la vía, ya que estos animales son de locomoción cuadrúpeda y sus dos cinturas, escapular y pélvica, son importantes para su comportamiento locomotor, por lo que era necesario conocer la integridad de la región anterior, donde no se encontraron diferencias significativas ya que no hubo manipulación neurológica en esta región (cuadro II).

Se concluye que los PESS son una técnica neurofisiológica muy útil, no invasiva y de bajo costo para las ciencias

veterinarias, que permite medir la integridad de la vía somatosensitiva desde el punto de vista neurofisiológico y no solamente clínico en cirugía experimental, para valorar las técnicas de lesión y de reparación del defecto del tubo neural, en este caso mielomeningocele inducido. Es importante evaluar la morbilidad neurológica asociada con el mielomeningocele corregido quirúrgicamente, dato que no se ha investigado con herramientas como los PESS, fundamentales para la evaluación neurofisiológica de la vía somatosensorial en las enfermedades del tubo neural, así como sus posibles correcciones y modelos animales.

## Referencias

1. Steinbock P, Irving B, Cochrane DD, Irwin BJ. Long-term outcome and complications of children born with meningomyelocele. *Childs Nerv Syst* 1992;8:92-96.
2. Vieira AR, Castillo-Taucher S. Maternal age and neural tube defects: evidence for a greater effect in spina bifida than in anencephaly. *Rev Med Chil* 2005;133:62-70.
3. Abou-Jamra RC, Valente PR, Araújo A, Sanchez RC, Saldiva PH, Pedreira DA. Simplified correction of a meningomyelocele-like defect in the ovine fetus. *Acta Cir Bras* 2009;24:239-44.
4. Galván-Montaño A, Cárdenas-Laison E, Hernández-Godínez B, Ibáñez-Contreras A, Martínez-del Olmo A, Aragón-Inclán J. Desarrollo de un modelo animal de mielomeningocele y opciones de tratamiento prenatal en Macaca mulatta. *Cir Cir* 2007;75:357-362.
5. Abdolhamid A, Mehrdad M, Mahmood A, Mehdi F, Mohammad-Hasan S, Sarang S, et al. The effects of amniotic fluid on the histopathologic changes of exposed spinal cord in fetal sheep. *Arch Iranian Med* 2009;12:35-40.
6. Heffez DS, Aryanpur J, Hutchins GM, Freeman JM. The paralysis associated with myelomeningocele: clinical and experimental data implicating a preventable spinal cord injury. *Neurosurgery* 1990;26:987-992.
7. Meuli M, Meuli-Simmen C, Yingling CD, Hutchins GM, Timmel GB, Harrison MR, et al. In utero repair of experimental myelomeningocele saves neurological function at birth. *J Pediatr Surg* 1996;3:397-402.
8. Pedreira DA, Sanchez e Oliveira Rde C, Valente PR, Abou-Jamra RC, Araújo A, Saldiva PH. Validation of the ovine fetus as an experimental model for the human myelomeningocele defect. *Acta Cir Bras* 2007;22:168-173.
9. Yingling CD, Meuli-Simmen C, Meuli M, Timmel GB, Harrison M, Adzick NS. Experimental fetal neurosurgery: effects of in-utero manipulations on somatosensory evoked potentials. *Pediatr Surg Int* 1999;15:535-539.
10. Yingling CD, Meuli-Simmen C, Meuli M, Timmel GB, Adzick NS, Harrison M. Assessment of sensory function in neonatal sheep with somatosensory evoked potentials: methodology and normative data. *Pediatr Surg Int* 1999;15:530-534.
11. Grande C, Sancho MA, Conill J, Julia V, Albert A, Martínez E, et al. Creación de un modelo de mielomeningocele en el feto de conejo. *España. Cir Pediatr* 2002;15:101-106.
12. Ynsunza A. Potenciales somatosensoriales. En: Hernández-Orozco F, Flores-Rodríguez T, Peñalosa-López Y, eds. Registros electrofisiológicos para el diagnóstico de la patología de la comunicación humana. México: SSA-INCH; 1996. pp. 195-202.
13. Galván-Montaño A, Hernández-Godínez B, Ibáñez-Contreras A, Cárdenas-Laison E, Ramírez-Hernández R, Aragón-Inclán J. Anes-

- thetic management in intrauterine surgery to evaluate an experimental model of myelomeningocele in non-human primates (*Macaca mulatta*). *Acta Cir Bras* 2010;25:294-297.
14. Booker JL, Erickson HH, Fitzpatrick EL. Cardiodynamics in the rhesus macaque during dissociative anesthesia. *Am J Vet Res* 1982;43:671-676.
  15. Poblano A, Hernández-Godínez B, Arellano A, Arteaga C, Elías Y, Morales J, et al. Serum testosterone and electroencephalography spectra in developmental male rhesus *Macaca mulatta* monkeys. *Arch Med Res* 2004;35:406-410.
  16. Edward N, Armitage, Berry G. *Estadística para la investigación biomédica*. España: Harcourt Brace; 1977. pp. 346-349.
  17. Juliá V, Sancho MA, Albert A, Conill J, Martínez A, Grande C, et al. Prenatal covering of the spinal cord decreases neurologic sequelae in a myelomeningocele model. *J Pediatr Surg* 2006;41:1125-1129.
  18. Boor R, Schwarz M, Goebel B, Voth D. Somatosensory evoked potentials in Arnold-Chiari malformation. *Brain Dev* 2004;26:99-104.
  19. Scarff TB, Toleikis JR, Bunch WH, Parrish S. Dermatomal somatosensory evoked potentials in children with myelomeningocele. *Z Kinderchir Grenzgeb* 1979;28:384-387.
  20. Reigel DH, Dallmann DE, Scarff TB, Woodford J. Intra-operative evoked potential studies of newborn infants with myelomeningocele. *Dev Med Child Neurol Suppl* 1976;37:42-49.
  21. Michejda M. Intrauterine treatment of spina bifida: primate model. *Z Kinderchir* 1984;39:259-261.