

# Hipofisectomía transfaríngea en la rata (Descripción de la técnica)

Andrés Quintanar Stephano\*  
José Luis Quintanar Stephano\*

## Introducción

Desde su introducción a mediados de los años veinte por Phillip E. Smith, la técnica transfaríngea para hipofisectomizar ratas es una herramienta fundamental en el estudio de las funciones de la hipófisis, del hipotálamo y de los tejidos blanco de las hormonas hipofisarias.<sup>3</sup> Actualmente, los animales hipofisectomizados continúan siendo de gran valor en las investigaciones endocrinas y neuroendocrinas. Mientras que en los países desarrollados hay compañías encargadas de proporcionar ratas hipofisectomizadas, en México no existen estas fuentes; ello ocasiona serias limitaciones a los investigadores del área. Además, la descripción de las diferentes técnicas es limitada y de difícil interpretación para personas con poca experiencia en el manejo quirúrgico de las ratas.<sup>4,5,6</sup> Por tales motivos, es importante tener acceso a una técnica adecuada para obtener ratas hipofisectomizadas.

La técnica que aquí se describe es la desarrollada por Alvarez-Buylla *et al.*<sup>1</sup> (con algunas modificaciones), en la que sobresalen el diseño y manufactura del material e instrumental quirúrgicos, intubación traqueal a través del hocico, y, desde el punto de vista quirúrgico, la sección de la duramadre y el control de la fuerza de aspiración, que permiten extraer a la hipófisis en una sola pieza, así como evitar las lesiones hipotalámicas.

## Material y métodos

### Fabricación de algunos materiales e instrumentos quirúrgicos

**Mesa de operaciones.** Se construye con dos piezas de madera de 30 x 18 x 2 y 25 x 18 x 2 cm respectivamente, unidas por un extremo con una bisagra que permite inclinar la tabla superior en diferentes ángulos (Figura 1). Se cubre con una hoja de corcho de 5 mm de grueso. En la parte central del extremo libre de la tabla superior, se atornilla un ángulo de aluminio de 4 x 4 x 0.3 cm. Centrados sobre el ángulo de aluminio y a 2.5 cm del

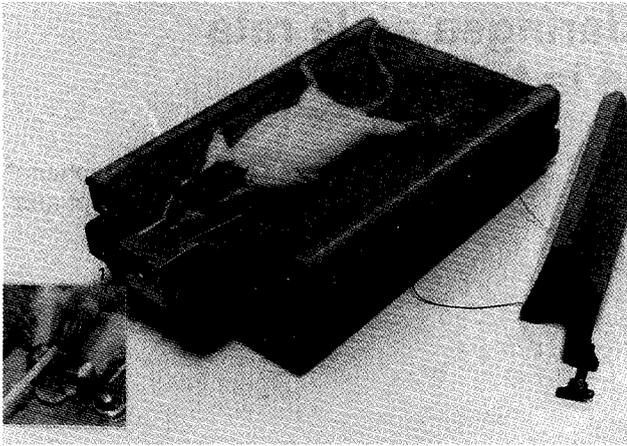
borde superior, se hacen 2 orificios (que atraviesen la tabla) de 4 mm de diámetro y separados entre sí 1.5 cm. Por estos orificios pasa la horquilla sujetadora de los incisivos superiores. Para fijar la horquilla, se hace un orificio en el ángulo de aluminio que da al borde lateral de la tabla superior, de tal manera que coincida con el orificio por donde pasa el brazo izquierdo de la horquilla. Se pasa un tornillo del tamaño adecuado de tal manera que pueda girar con facilidad para liberar o fijar la horquilla (Figura 1.1). En el lado izquierdo de donde va la horquilla, se atornilla un ángulo de aluminio de 5 cm de longitud y 1.3 cm de alto y 1 mm de espesor; dicho ángulo sirve para fijar al cuello, evitando su flexión cuando es jalado durante el acto quirúrgico (Figura 1.2). En los bordes laterales de la tabla superior y separados entre sí unos 3 cm, van unas rondanas de metal de 1 cm de diámetro y 0.5 mm de espesor, ligeramente curvadas hacia fuera y atornilladas de tal manera, que permiten enredar con rapidez los hilos de cáñamo doble cero que fijan a las patas del animal o los separadores de metal (Figura 1.3). Para fijar la mesa en diferentes ángulos se emplea un prisma de madera de forma triangular de 4.5 cm de altura x 5.5 cm de base y 16 cm de largo. Para que no resbale, se atornillan en la base 4 toques de hule de 1 cm de diámetro (Figura 1.4).

**Disectores de vidrio.** Varillas de 10 cm de largo por 4 mm de diámetro (Figura 2.1). Se toma una varilla y se aplica la flama de un mechero de Bunsen a unos 3 cm de uno de los extremos; se gira para que el calor se distribuya de modo uniforme. Se jalan con suavidad ambos extremos, hasta que la parte central se adelgace a 1 mm de diámetro aproximadamente. Se deja enfriar y con una sierra pequeña (de las que vienen en las cajas de ampollitas) se hace en el centro de la parte adelgazada una pequeña ranura y se flexiona para que se rompa. Se aplica fuego a la punta hasta que quede roma.

**Ganchillos de vidrio.** Se toma un disector de vidrio y aplicando calor a 1.5 cm de la punta, se dobla para que quede con un ángulo de 45° aproximadamente (Figura 2.2).

**Separador curvo de vidrio.** Varilla de 12 cm de largo x 6 mm de diámetro (Figura 2.3). Conforme a las indicaciones para hacer los disectores de vidrio, se deja

\*Departamento de Fisiología y Farmacología. Centro Básico. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Av. Universidad 2100. 20100. Aguascalientes, Ags. México.



**Figura 1.** Mesa de operaciones. La cubierta es de corcho y el ángulo por el que atraviesan los brazos de la horquilla es de aluminio. Obsérvese en el recuadro el catéter endotraqueal sobresaliendo del hocico y cómo los incisivos superiores atraviesan por el orificio de la parte horizontal de la horquilla. 1) Tornillo para sujetar la horquilla. 2) Angulo para evitar la flexión del cuello. 3) Placas para sujetar los hilos. 4) Pieza para ajustar el ángulo de inclinación de la mesa.

un extremo adelgazado de 2-3 mm de diámetro y 3 cm de longitud. Se aplica calor a esta zona y se hace un semicírculo para formar un gancho.

**Aspiradores de sangre** (Figura 2.4). Se toma una pipeta Pasteur y con la flama de un encendedor de bolsillo se calienta la región que queda a 2 cm de la punta, hasta que se doble en ángulo de 45°.

**Aspirador de hipófisis** (Figuras 2.5 y 3). Se toma una pipeta Pasteur y se corta en aquella parte de la punta cuya luz sea de 3 mm de diámetro aproximadamente y se aplica calor para que la punta se temple y los bordes cortantes se regularicen. Para doblar el aspirador, se elige la región que queda a unos 5 cm de la punta y girando suavemente sobre la flama, se calienta hasta que se doble a un ángulo de 45°. Para controlar manualmente la fuerza de aspiración de la bomba de vacío, es necesario hacer un orificio lateral al aspirado. Para esto, se conecta el extremo grueso de la pipeta a una manguera de hule y se aplica calor a la parte dorsal e intermedia (entre la base y donde empieza el doblez), se tapa la punta de la pipeta con un dedo y se sopla por la manguera de hule, se levantará una ampolla que deberá romperse. Se aplica calor a los bordes del orificio (que debe quedar de unos 4-5 mm de diámetro) para que se regularicen.

**Horquilla para incisivos superiores** (Figura 2.6). Se toma una varilla de acero inoxidable de 3.0 mm de diámetro y unos 14 cm de longitud. Se marca el centro y separados del mismo 0.75 cm, se hacen dos dobleces de 90 grados (forma de horquilla), de tal manera que la parte central quede recta. Con una lima o un esmeril, se reduce a 2 mm el espesor de la parte horizontal. En el centro de la parte plana, se hace un orificio de tamaño tal que los incisivos superiores de una rata alcancen a pasar sin dificultad hasta su base. Los brazos

de la horquilla quedan de 5.5 cm de largo. La horquilla permite fijar la cabeza del animal a la mesa, impidiendo que gire lateralmente durante el acto quirúrgico.

**Separadores curvos de metal** (Figura 2.7). Se hacen con varilla de soldadura de latón de 1.5 mm de diámetro y 6-7 cm de longitud. Se aplanan a golpe de martillo unos 2-3 cm a partir de uno de los extremos y se dobla en forma de gancho. Con una lija para agua se rebajan los bordes cortantes de la punta. Con unas pinzas de punta se dobla completamente el otro extremo, dejando un ojal por donde pueda pasar una liga pequeña. Ate a la liga un pedazo de hilo cáñamo de doble cero de unos 25 cm de longitud.

**Abatelenguas** (Figura 2.8). Se puede hacer con una lámina de aluminio de 13 cm x 7 mm x 1.5 mm. Se redondean los bordes cortantes con la lija para agua.

**Abrehocicos y mandriles para manipular los catéteres endotraqueales** (Figuras 2.9 y 2.10). Se hacen con alambre acerado del no. 20 y 22 respectivamente.

**Cánulas endotraqueales** (Figura 2.11). Se hacen con catéteres endovenosos de teflón\* de los números 16, 18 o 20, según el tamaño de la rata.

**Legra para hueso** (Figura 2.12). Se toma una cureta Lucas (de las utilizadas por los dentistas) y con una lima fina, lija de agua y unas pinzas de mecánico, se rebajan y moldean las puntas curvas hasta que queden lo suficientemente afiladas y delgadas, para que puedan penetrar por el orificio de la craneotomía y permitan un buen control visual de lo que se está legrando.

**Aguja para meninges** (Figura 2.13). Se toma una aguja del no. 25 y se dobla en sentido contrario el bisel de la punta en un ángulo de 45°. El otro extremo se solda a un mango de latón de 7 cm de largo y 4 mm de diámetro.

## Manejo preoperatorio

Previo anestesia con pentobarbital sódico (3 mg/100 g de peso/vía intraperitoneal), se procede a inyectar atropina (40 µg/100 g de peso/vía subcutánea) e hidrocortisona (3 mg/100 g de peso/vía intramuscular). Aunque los mecanismos de defensa en contra de las infecciones de estos animales son muy eficaces, se recomienda el uso de un antibiótico de amplio espectro, ya sea en el agua de beber o por vía parenteral durante 4 días, iniciando el día de la operación.

## Procedimiento quirúrgico

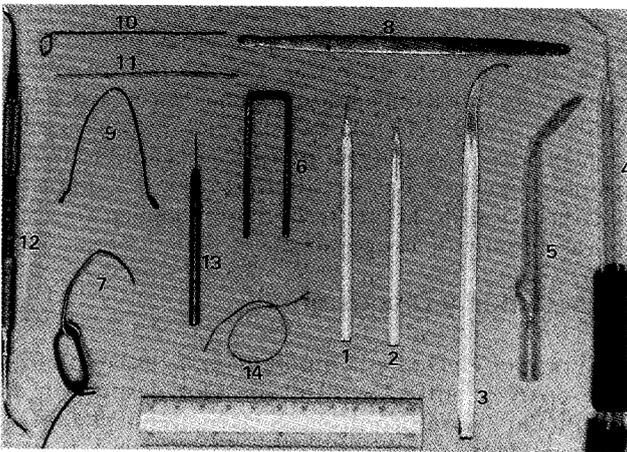
El instrumental se lava perfectamente y se frota con una gasa humedecida con una solución concentrada

\* Intracath Desert. Becton-Dickinson de México

de cloruro de benzalconio; luego, se limpia con una gasa empapada de alcohol.

El pelo de la cara anterior del cuello se corta. La rata se fija en decúbito dorsal sobre la mesa de operaciones (Figura 1). Para intubar la tráquea se inclina la mesa de operaciones en un ángulo aproximado de 70°, e iluminado de frente la zona del cuello con una lámpara de restirador, se coloca el abrehocicos entre los incisivos superiores e inferiores. Con ayuda del abatelenguas, se sujeta entre los dedos índice y pulgar la lengua, y se jala hacia afuera y adelante; en el fondo por transiluminación se observará la apertura intermitente de la glotis. Ayudándose con el mandril se canula la tráquea. Con la mesa en posición horizontal, se comprueba que el catéter haya quedado en la vía aérea, observándose cómo el aire espirado empuja el papel del probador de la intubación traqueal (Figura 2.14).

La cara anterior del cuello se limpia con solución de cloruro de benzalconio y se hace una incisión de 2 a 3 cm en la línea media de la piel, desde 1 cm por atrás del borde inferior de la mandíbula, hasta un poco por delante del mango del esternón. Se corta la fascia



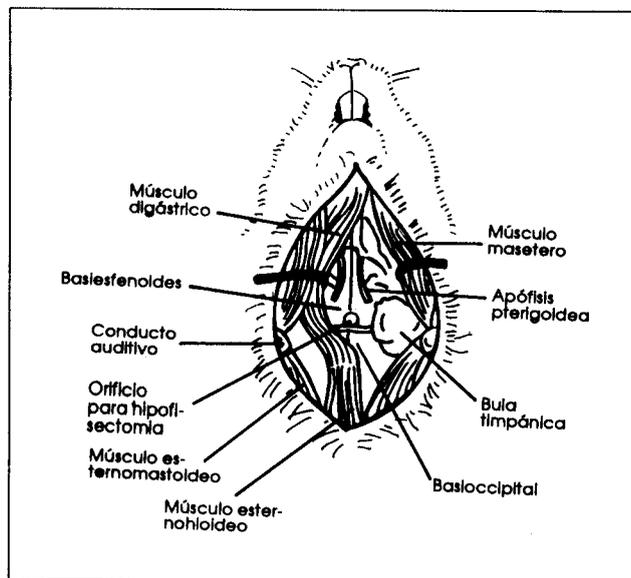
**Figura 2.** Parte del material e instrumental quirúrgico requerido para realizar la hipofisectomía. 1) disector de vidrio recto, 2) ganchillo de vidrio, 3) separador curvo de vidrio, 4) aspirador de sangre y moco 5) aspirador de hipófisis, 6) horquilla para incisivos superiores, 7) separador de metal, 8) abatelenguas, 9) abrehocicos, 10) mandril, 11) cánula traqueal, 12) legra para hueso, 13) aguja para romper meninges, 14) probador de intubación traqueal.

superficial que recubre a los músculos digástricos y esternohioideos. Usando como referencia el tendón central del músculo digástrico izquierdo, con los disectores de vidrio rectos se hace una separación roma de las siguientes estructuras: vena yugular interna izquierda y cara interna del músculo masetero del mismo lado, los cuales quedan hacia fuera, y el músculo digástrico y conductos faringoesofágico y laringotraqueal, que quedan hacia la línea media. De aquí en adelante, la operación se hace bajo control microscópico\* con aumento de 7.5 o 10X. Con el separador de vidrio curvo se jalan las estructuras inter-

\* Estereomicroscopio con lámpara integrada

nas hacia la línea media; en el fondo aparecerá el piso de la nasofaringe, de la que sobresale el extremo distal de la apófisis pterigoidea izquierda. Para llegar al hueso basicsfenoides, se rompe la nasofaringe inmediatamente por detrás de la apófisis pterigoides. Con el mismo disector se raspa y se desprende del hueso la porción nasal del músculo faríngeo; al hacer esto aparecerá en el hueso una línea transversal, generalmente de color azul claro, que corresponde a la articulación esfeno-occipital (Figura 3). Tomando como referencia a la articulación, se continúa limpiando el hueso hacia adelante de la línea azul, empezando por la parte más hacia la izquierda hasta llegar un poco más allá de la línea media. Conforme se va haciendo la disección, la nasofaringe y las estructuras vecinas se van rechazando hacia la derecha con el separador de vidrio curvo.

Se procede a colocar los separadores de metal de tal manera que la herida quede lo suficientemente amplia

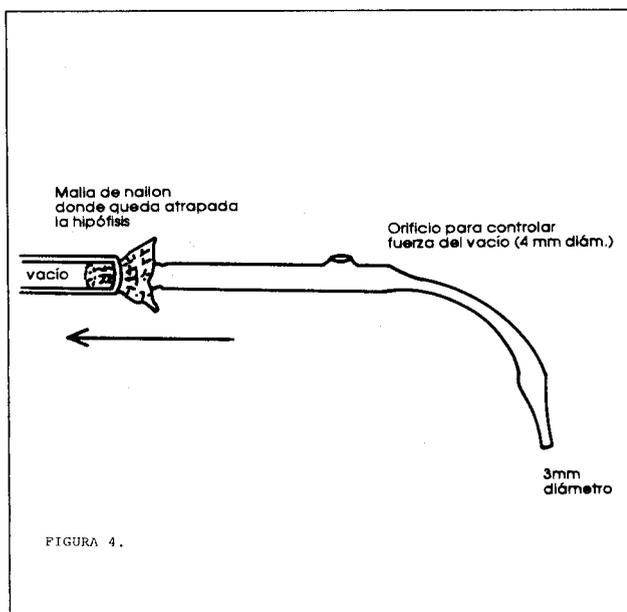


**Figura 3.** Esquema que representa los músculos del cuello, apófisis pterigoides, articulación esfeno-occipital (línea azul) y el sitio de trepanación del cráneo para extirpar la hipófisis.

y permitan realizar con buena visibilidad las maniobras posteriores. Para evitar el daño por compresión, es importante que los separadores no queden excesivamente apretados. El número de separadores y el lugar de su localización dependerá de la visibilidad de la zona operatoria. Generalmente se coloca uno jalando hacia adelante el músculo nasofaríngeo, y otros dos que tiran hacia abajo y a los lados, formando un triángulo de base inferior. Con la broca\*\* de bola se trepana el hueso basicsfenoides en la parte media e inmediatamente por delante de la línea azul, hasta llegar a la duramadre,

\*\* Motor de dentista. Pieza de mano. Broca de 4.5 cm y bola del 8

teniendo cuidado de no romperla. En este punto es frecuente la hemorragia ósea por la ruptura de los senos venosos; la hemostasia se hace aplicando, con un ganchillo de vidrio, cera para hueso\* sobre los senos sangrantes. Con la legra para hueso, se levantan y desprenden los restos de la lámina interna del hueso; con la misma legra, se redondean los bordes del orificio, hasta que quede con un diámetro final de 3 mm aproximadamente. La hipófisis se transparenta en el fondo cubierta por la duramadre. Con la aguja para meninges se rompe la duramadre en forma de cruz. Para extraer la hipófisis, se toma un pedazo de malla de nailon fina (la parte más cerrada del tejido de una pantimedia), y se interpone a manera de red entre el aspirador de hipófisis y el tubo de un sistema de vacío (Figura 4). Para regular la fuerza del vacío, se coloca un dedo en el orificio lateral del aspirador y con suavidad se aspira la hipófisis, la cual deberá salir completa. Con frecuencia los lóbulos adeno y neurohipofisarios se



**Figura 4.** Aspirador de hipófisis. El diámetro de la punta debe ajustarse al tamaño de la hipófisis que se está extirpando. Obsérvese el orificio lateral que permite controlar la fuerza de succión. La hipófisis queda atrapada en la malla de nailon.

separan y, en algunos casos, el lóbulo anterior se parte a la mitad. Después de la hipofisectomía, se presenta una pequeña hemorragia acompañada de líquido cefalorraquídeo que cesa espontáneamente en unos cuantos segundos. La hipófisis extirpada y atrapada en la malla se observa bajo el microscopio y se determina si la hipofisectomía es completa. Una vez que la hemorragia cesa, se aspira el coágulo y, dirigiendo la punta del aspirador hacia la nariz, se aspira el moco acumulado en la parte nasal de la faringe. Hay que asegurarse de

que no haya más hemorragia. Se procede a retirar los separadores de metal y a suturar la piel. El acto quirúrgico se realiza en 15 a 20 minutos.

### Cuidados posoperatorios

Antes de retirar la cánula traqueal, se aspira el moco de la faringe a través del hocico y de la nasofaringe a través de los orificios nasales. El moco suele ser sanguinolento o con coágulos; se debe aspirar lo más que se pueda y procede a retirar la cánula, aspirando suavemente para que salga el moco acumulado en la tráquea. La excesiva fuerza de aspiración al retirar la cánula puede provocar edema laríngeo. La aspiración repetida a través de los orificios nasales y de la faringe a través del hocico, cuando se requiere es de gran importancia, pues la obstrucción de vías aéreas por cúmulo del moco es una de las principales causas de muerte. En ocasiones, en la región del cuello se forma un enfisema subcutáneo; éste se previene colocando un trozo de cinta adhesiva (Maskin tape) en forma de collar, que la misma rata se encarga de quitar al cabo de pocos días.

El animal es colocado en la caja de cuidados intensivos, cuyo fondo lo constituye un colchón térmico, y la tapa, una cubierta de vidrio. Por un orificio lateral penetra un tubo conectado a la toma de gas carbónico (95% O<sub>2</sub>, 5% de CO<sub>2</sub>). Por otro orificio se pasa el tubo del bebedero (agua + azúcar al 10% y el antibiótico de amplio espectro si se decide darlo por vía oral). La recuperación de la anestesia tiene lugar entre 1 y 2 horas después de la operación.

### Resultados y Discusión

El primer efecto de la hipofisectomía es la poliuria, que aparece entre los 40-90 minutos después de la operación y se autocontrola en las siguientes 12 horas. Es importante que la rata tenga libre acceso al agua glucosada para evitar la muerte por deshidratación. Se mantiene a los animales durante unas 4-5 horas en la caja de cuidados intensivos y, una vez recuperados, son pasados a su jaula. El antibiótico continúa administrándose durante 3 días posoperatorios. Una temperatura ambiente de 28-30 C y una dieta constituida de agua glucosada, alimento molido y pan humedecido con leche suelen ser importantes para la supervivencia posoperatoria.

Los accidentes más frecuentes durante la cirugía suelen ser:

a) Canulación traqueal defectuosa. El catéter se desliza al esófago o bien perfora la faringe. La superación de este problema no debe ser difícil.

b) Pérdida de las relaciones anatómicas. Para evitar este problema es necesario familiarizarse con la zona del cuello; por ello, es aconsejable estudiar su anatomía y realizar disecciones e hipofisectomías en animales muertos, comprobando después, mediante necropsia, la totalidad de la hipofisectomía. También pueden perderse las relaciones anatómicas durante el acto

\*Ethicon

quirúrgico, cuando la cabeza y cuello del animal no han quedado bien fijados a la mesa de operaciones (Figura 1).

c) Lesión o ruptura del esófago, laringe, tráquea o músculo nasofaríngeo. Esto suele ocurrir cuando los separadores de metal quedan mal colocados o comprimen con mucha fuerza dichas estructuras.

d) Ruptura de la duramadre e hipófisis con la broca. Cuando esto ocurre, la hipófisis sale en múltiples fragmentos, lo que dificulta la verificación de una hipofisectomía completa.

e) Fragmentación de la hipófisis durante la extracción. Esto puede deberse a: 1) la trepanación excéntrica del hueso, 2) que el orificio practicado en la duramadre sea muy pequeño, 3) que el orificio de la craneotomía haya quedado estrecho o con los bordes irregulares, 4) que la punta del aspirador de hipófisis sea muy estrecha y 5) que la fuerza de aspiración sea mayor que el tejido friable de la hipófisis puede soportar.

f) Asfixia por edema laríngeo. Esto suele ocurrir cuando la aspiración del moco a través de la cánula traqueal se hace con fuerza excesiva.

Conforme se adquiere práctica en la técnica operatoria y en los cuidados posoperatorios, la supervivencia de los animales podrá ser hasta del 97%. En la experiencia de los autores de este trabajo con esta técnica se pueden operar animales de 80 g de peso corporal en adelante. Las probabilidades de supervivencia son mayores en animales jóvenes de peso mayor a 150 g.

La extracción de la hipófisis en bloque permite determinar inmediatamente y con alto grado de certeza la totalidad de la hipofisectomía (la cual deberá además comprobarse directamente durante la necropsia). Los demás criterios para la hipofisectomía dependerán de las posibilidades de cada laboratorio, entre otros, se pueden valorar los siguientes: a) curva de crecimiento corporal, b) peso de los órganos blanco de las hormonas adenohipofisarias y c) cuantificación por radioinmunoanálisis de las hormonas adenohipofisarias o las hormonas de sus órganos blanco.

Con esta técnica, así como las encontradas en la literatura,<sup>4, 5, 6</sup> durante la hipofisectomía el tallo hipofisario se rompe a nivel de la base de la hipófisis, por lo que siempre queda una porción del tallo unido a la base del hipotálamo. No obstante, la mayor parte de los experimentos en ratas hipofisectomizadas se realizan con animales en estas condiciones. Gross<sup>2</sup> demostró que en la parte tuberal del tallo hipofisario y parte basal del hipotálamo, se encuentran tipos celulares típicos de la adenohipofisis capaces de producir las hormonas luteinizante, folículo estimulante y tirotrópica. Dado que habrá situaciones en las que se requiera de animales hipofisectomizados en los que se

incluya la eliminación de la *pars tuberalis*, recientemente Alvarez-Buylla *et al.*,<sup>1</sup> han descrito cómo obtener la hipófisis de una sola pieza, incluido el tallo hipofisario a partir de su conexión con el hipotálamo.

## Abstract

In this paper a transpharyngeal technique to hypophysectomize rats is described. The hypophysis is excised in one piece. A portion of the *pars tuberalis* always remains attached to the hypothalamus. Pre- and postoperative care is also described. In order to obtain a better survival rate, intermittent aspiration of the mucus through the nostrils and mouth, and the use of an intensive care box (temperature and air controlled) are included. Some criteria to verify the hypophysectomy and some of the most frequent accidents, which can occur during this procedure, are mentioned. The advantages of an adequate operating table, and how to construct some materials and surgical instruments in the laboratory, are described. The average survival rate after hypophysectomy was of 70% in rats from 80 to 130 g bodyweight and of 97% in heavier rats.

## Agradecimientos

Los autores agradecen la asistencia técnica de Ma. Guadalupe Espino López, Daniel Valdivia Jáuregui y Roberto Hernández Montoya, así como al Dr. Luis Castillo Hernández por la revisión y correcciones del manuscrito.

Este trabajo fue apoyado por la DIGICSA, convenio 91-01-01-001-645 y la UAA, registro PIBB 90-2.

## Literatura citada

1. Alvarez-Buylla, R., Quintanar-Stephano, A., Quintanar-Stephano, J.L. y Alvarez-Buylla, Elena de: Technical note: Removal of the unfragmented pituitary gland (Hypophysectomy in the rat). *Bol. Est. Méd. Biol. Méx.*, 39: 33-38 (1991).
2. Gross, D.S.: Hormone production in hypophysial *pars tuberalis* intact and hypophysectomized rats. *Endocrinology*, 112: 733-644 (1983).
3. Jacobson, D.: The technique and effects of hypophysectomy, pituitary stalk section and pituitary transplantation in experimental animals. In: *The Pituitary Gland*. Vol. 2. Edited by: Harris, G.W., Donovan, B.T., 1-21. *Butterworths*, London, 1966.
4. Tamarit, J. y Delson, J.L.: Hipofisectomía en la rata. En: *Prácticas de Bioquímica y Fisiología*. Editado por: Tamarit, J., Delson, J.L., 159-161. *Marban*, Madrid, España, 1977.
5. Waynforth, H.B. and Flecknell, P.A.: Hypophysectomy. The parapharyngeal method. In: *Experimental and Surgical Technique in the Rat*. 2nd ed. Edited by: Harcourt, B.J., 248-253. *Academic Press*, New York, 1992.
6. Zarrow, W.X., Yochin, J.M. and McCarty, J.L.: Hypophysectomy, parapharyngeal approach. In: *Experimental Endocrinology, A Source Book of Basic Techniques*. Edited by: Zarrow, W.X., Yochin, J.M., McCarty, J.L., 308-310. *Academic Press*, New York, 1964.