

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA

RECUPERACION FUNCIONAL DEL TRASPLANTE FACIAL EN
RATAS

LUIS LANDIN JARILLO

**UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE MADRID
DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA**



**Recuperación funcional del
trasplante facial en ratas**

Memoria presentada por

Luis Landín Jarillo

Para optar al grado de Doctor en Medicina



Facultad de Medicina
Departamento de Cirugía

El **DR. ABELARDO GARCÍA DE LORENZO Y MATEOS**, Profesor Titular del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid, y

El **DR. CESAR CASADO PÉREZ**, Profesor Asociado del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid,

HACEN CONSTAR que **D. LUIS LANDIN JARILLO** ha elaborado bajo su dirección la Tesis Doctoral titulada "Recuperación funcional del trasplante facial en ratas", con la finalidad de proceder a su lectura y defensa, una vez esté concluida al cumplir las exigencias académicas pertinentes.

Fdo.: Prof. Abelardo García de Lorenzo y Mateos

Fdo.: Dr. César Casado Pérez

A Naiara

A nuestro hijo Luis

Agradecimientos.

Quiero dar mi agradecimiento en primer lugar a las dos personas sin las que esta tesis hubiera sido imposible de realizar: al Dr. Emilio González García, neurofisiólogo del Hospital Universitario La Fe, y al Veterinario Dr. Carlos Vila López, del Centro de Investigación del Hospital Universitario La Fe. El Dr. González siempre prestó su colaboración con empeño y excelente predisposición. A él le debo todos los estudios electrodiagnósticos y la revisión de dicha parte de la tesis. El Dr. Vila ha estado siempre presente desde mi inicio en el entrenamiento microquirúrgico en el Centro de Investigación. Él ha supervisado éticamente el proyecto y ha logrado el suministro adecuado de animales. Otras dos personas han colaborado de forma importante en la ejecución de esta memoria: el Dr. Jose Carlos Rodríguez, director de la Unidad de Investigación del Hospital Dr. Negrín de Las Palmas de Gran Canaria, que gestionó e hizo posible el análisis estadístico de Araceli Caballero Hidalgo. A ambos les estoy muy agradecido por su disposición a participar en este trabajo.

En segundo lugar quiero mostrar mi agradecimiento a todas aquellas personas que han velado por la ejecución de las investigaciones aquí presentadas. Entre ellos se encuentra el Profesor Dr. José Gascó, del Departamento de Cirugía de la Universidad de Valencia que apoyó este proyecto durante el proceso de tutoría, trabajo de investigación y revisión del trabajo del DEA. También al Dr. Jose Vicente Castell Ripoll, presidente de la Comisión de Investigación del Hospital Universitario La Fe, quien revisó la viabilidad y ejecución del proyecto. Quiero también agradecer al Catedrático Dr. Francisco Gomar Sancho, del departamento de Cirugía de la Universidad de Valencia, la supervisión del trabajo, sus notas y comentarios, todos útiles para mejorar la calidad del mismo. En la fase final de revisión y defensa de este trabajo ha sido un honor contar con los apoyos del Dr. Abelardo García de Lorenzo, Profesor Titular de Medicina Intensiva de la Universidad Autónoma de

Madrid, a quien debo la aceptación del trabajo en esta Facultad de Medicina, y al Dr. César Casado Pérez, quien asumió la co-dirección de esta tesis y me ha apoyado en el momento de cambio al Hospital Universitario La Paz.

Quiero dar mi agradecimiento a todas aquellas personas que han asumido obligaciones que me correspondían y que me han regalado su tiempo para que yo pudiera dedicarme a esta tesis. Especialmente debo dar las gracias a mi mujer Naiara y a su madre Susana, que han cuidado de nuestro hijo día y noche sin exigir nada a cambio. Mi mujer me ha apoyado en la fase final del trabajo, dándome un valiosísimo soporte emocional en los momentos más difíciles y tediosos de la redacción de esta tesis. Ella es quien más ha influido sobre mi carácter en los últimos años y me ha ayudado a suavizar mi temperamento. A ella le debo el nacimiento de nuestro hijo Luis, a quien espero que llegado el caso, esta tesis pueda ser de interés y servir de ejemplo de trabajo y constancia.

Finalmente quiero agradecer a mis padres, ambos doctores, su apoyo incondicional y la educación que me han dado. Estos factores han influido en mis elecciones y en el aprovechamiento de las oportunidades que la vida me ha dado. Probablemente ellos hayan sido quienes más han determinado mi actitud profesional pasada, presente y futura. A mi madre le agradezco especialmente la inculcación del sacrificio y la determinación. A mi padre le agradezco su apoyo durante tantos años de estudio (tan necesario, ya me advirtió). Ambos han insistido en la realización de esta tesis por igual y debo reconocer su apoyo en todo momento.

TABLA DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN.	13
1.1 EL PROBLEMA DE LA RECONSTRUCCIÓN FACIAL.	14
1.1.1 Lesiones faciales complejas (LFCs).	14
1.1.2 Introducción a la terminología en trasplantología reconstructiva.	15
1.1.3 Introducción histórica.	17
1.1.4 Antecedentes experimentales en trasplante de tejidos compuestos.	19
1.1.5 Alograftos de tejidos compuestos clínicos.	21
1.2 INMUNOLOGÍA Y TRASPLANTE.	24
1.2.1 Activación linfocitaria.	26
1.2.2 Mecanismos efectores de la lesión de los aloinjertos.	30
1.3 MEDICACIÓN INMUNOSUPRESORA.	32
1.3.1 Modelo de la triple señal.	32
1.4 BASES DE LA RECUPERACIÓN NERVIOSA.	35
1.4.1 Fisiopatología de la lesión nerviosa.	35
1.4.2 Respuesta de los órganos diana a la lesión del nervio y su reparación.	41
1.4.3 Génesis, estimulación y registros electrodiagnósticos.	43
1.5 INTRODUCCIÓN A LA MICROCIROUGÍA Y SUS TÉCNICAS.	52
1.5.1 Reparación microquirúrgica de nervio periférico.	57
1.5.2 Examen histológico de lesiones de nervio periférico.	60
1.5.3 La región masticatoria.	61
1.5.4 La rata en el contexto del trasplante experimental.	67
2. HIPÓTESIS DE TRABAJO.	70
3. MATERIAL Y MÉTODO.	72
3.1 ANIMALES.	73

3.2	GRUPOS EXPERIMENTALES.	74
3.3	TÉCNICA QUIRÚRGICA.	76
3.4	PROTOCOLO DE INMUNOSUPRESIÓN Y VALORACIÓN DEL RECHAZO.	84
3.5	VALORACIÓN CLÍNICA, EDX E HISTOLÓGICA.	86
3.6	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	88
4.	RESULTADOS.	89
4.1	SUPERVIVENCIA Y SEGUIMIENTO CLÍNICO.	90
4.2	VALORACIÓN CLÍNICA, EDX E HISTOLÓGICA.	96
5.	DISCUSIÓN.	104
6.	CONCLUSIONES.	133
7.	BIBLIOGRAFÍA.	135
8.	RESUMEN.	165
9.	ANEXOS.	168
9.1	PUBLICACIONES Y PREMIOS DERIVADOS DE LA PRESENTE MEMORIA.	169
9.2	NOTAS, PERMISOS Y DERECHOS DE AUTOR.	170
10.	ÍNDICE DE TÉRMINOS.	172

ABREVIATURAS:

Ac: anticuerpo

ACC: arteria carótida común

ACE: arteria carótida externa

ADN: ácido desoxirribonucleico

AEDs: anticuerpos específicos contra el donante

Ag: antígeno

AHM: antígenos de histocompatibilidad menor

ARN: ácido ribonucleico

ATC: aloinjerto de tejidos compuestos

BL: bucolabial

CAE: conducto auditivo externo

CD: grupo de diferenciación (cluster of differentiation)

Células NK: células natural killer

CMH: complejo mayor de histocompatibilidad

CPA: célula presentadora de antígeno

Cs: ciclosporina

CTLA-4: molécula citotóxica antigénica nº 4 del linfocito T

CYP3A: citocromo P450 IIIA

DA: denervación activa

ECN: estudios de conducción nerviosa

ECM: esterncleidomastoideo

EDX: electrodiagnóstico

EEA: estudios con electrodos de aguja

ERG: elementos de respuesta de glucocorticoides

FK ó FK506: tacrolimus

FKBP12: proteína 12 de unión al FK

FNT: factor de necrosis tumoral

GAP-43: proteína asociada al crecimiento de 43-KDa

GMP: guanosin monofosfato

GTP: guanosin trifosfato

GsHM: genes de histocompatibilidad menor

ICAM-1: molécula de adhesión intercelular -1

ICN: inhibidores de calcineurina

IFN: interferón

Ig: inmunoglobulina

IL: interleukina

IMP: inosin monofosfato

IP₃: inositol trifosfato

LBC: lesión por bloqueo de conducción

LBN: Lewis-Brown-Norway

LEW: Wistar-Lewis

LFA-1: integrin leukocyte factor antigen-1

LFC: lesión facial compleja

LPA: lesión por pérdida axonal

LTh: linfocito T colaborador

MMF: micofenolato mofetil

MMs: marginal mandibular superior

mTOR: diana de la rapamicina en los mamíferos

NFAT: factor nuclear del linfocito T activado

NK: neuroqueratina

NMDA: N-metil-D-aspartato

OPA: ondas positivas agudas

PAMC: potencial acción muscular compuesto

PANS: potencial de acción nervio sensitivo

PF: potenciales de fibrilación

PVUM: potenciales voluntarios de la unidad motora

RLT: receptor del linfocito T

RMA: rechazo mediado por anticuerpos

SE: silencio eléctrico

SNP: sistema nervioso periférico

TGF: transforming growth factor

T_{regs}: linfocitos T reguladores

UEF: unidad estética facial

VC: velocidad de conducción

VYE: vena yugular externa.

ZyO: zigomático-orbitaria

1. INTRODUCCIÓN.

1.1 El problema de la reconstrucción facial.

1.1.1 Lesiones faciales complejas (LFCs).

Los seres humanos vivimos en una estructura social en la que nos desenvolvemos no sólo mediante la comunicación hablada, sino también en un contexto emotivo por medio de la expresión facial. Nuestra cara puede expresar un amplio rango de emociones y mensajes tanto obvios como silenciosos. Dado que la cara es importante para las interacciones en la negociación social durante la vida diaria, la reparación cosmética y funcional de la misma tras lesiones graves es de gran relevancia¹.

Las lesiones faciales complejas (LFCs) se pueden definir como defectos en la estructura, la composición y la cobertura en la región facial que afecta a piel, músculo, hueso u otras estructuras ó bien todas ellas a la vez. El abordaje actual de las LFCs y de la reconstrucción facial en general se fundamenta en que la función más importante de región facial es aparentar¹ la normalidad. Aparentar la normalidad implica no sólo al aspecto estético sino también el funcional, y la reconstrucción facial no debe centrarse sólo en la curación de heridas sino en lograr una apariencia saludable.

¹ 2. tr. Dicho de una persona: tener el aspecto correspondiente a la edad expresada. (Diccionario R.A.E. 22^a ed.)

1.1.2 Introducción a la terminología en trasplantología reconstructiva.

Se debe tener en cuenta las diferencias entre los conceptos utilizados por los especialistas en cirugía de trasplante y los especialistas en el ámbito de la cirugía reconstructiva (tanto cirugía plástica, como ortopédica o maxilofacial).

En cirugía reconstructiva se entiende por *injerto* el segmento de tejido no vascularizado que puede ser transferido desde el propio individuo (homoinjerto), desde otro individuo (aloinjerto) o desde otra especie (xenoinjerto). En general los homoinjertos se denominan sencillamente injertos. Entre los ejemplos de injerto se encuentran la piel, el nervio, el cartílago, el hueso, el músculo, el tendón o la mucosa. Para el caso de los injertos de piel la revascularización se produce en el plazo de unos días por un mecanismo conocido como *imbibición serosa*, en el cual los capilares del lecho donde se coloca el injerto crecen hasta conectarse con los capilares del injerto. El término "injerto" en cirugía de trasplante se utiliza para referirse al órgano o células que son trasplantados desde un individuo a otro y se añade el prefijo *alo-* en el caso de que el trasplante ocurra entre individuos genéticamente distintos (*homo-* si ocurre entre individuos genéticamente idénticos y *xeno-* si ocurre entre individuos de distintas especies). Su vascularización proviene de reparaciones vasculares realizadas en el momento mismo del trasplante y como ejemplo se encuentran el riñón y el corazón. En cirugía reconstructiva el término aloinjerto tiene un significado distinto ya que conserva su especificación de tejido no vascularizado como por ejemplo la piel, hueso y tendón, que se trasplanta entre individuos genéticamente diferentes.

El término *trasplante* se refiere a la traspaso de órganos o tejidos de un individuo a otro (aunque puedan ser genéticamente idénticos). Los trasplantes pueden ser *allogénicos*, cuando se realiza entre individuos genéticamente

distintos, *singénicos* cuando se realiza entre individuos genéticamente iguales, *semialogénicos* cuando comparten una parte de su carga genética y *xenogénicos* entre individuos de distintas especies. El término *transferencia* se reserva para el acto quirúrgico de llevar un segmento tejido desde una parte a otra del mismo individuo. Cuando el tejido se transfiere y se reparan las estructuras vasculares de las que depende por medio de técnicas de microcirugía, se denomina transferencia microvascular. Al bloque de tejido transferido con esta técnica se le denomina *colgajo*.

Con la aparición de la trasplantología reconstructiva el abanico de opciones se abre ante la posibilidad de transferir un colgajo entre individuos diferentes, lo que teóricamente se denominaría *alocolgajo*. Sin embargo, este término todavía no ha sido aceptado por los cirujanos de trasplante, que lo denominan *aloinjerto*, ni defendido en el ámbito general de la cirugía reconstructiva por su reciente aparición y escaso número².

Desde el primer trasplante de mano realizado en 1999, los aloinjertos de tejidos compuestos (ATCs) suponen una opción terapéutica hecha realidad en cirugía reconstructiva³. Se trata del trasplante de bloques tisulares vascularizados que se transfieren entre individuos cruzando el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH). Estos bloques pueden contener tejidos de diferentes estirpes, incluyendo piel, grasa, hueso, médula ósea, nervio, tendón, músculo, vasos, fascia, cartilago, dientes y mucosa. El objetivo de dichos trasplantes es la reconstrucción estructural y funcional, en contraste con la restauración fisiológica de los trasplantes de órgano sólido. Hasta el momento se han realizado 50 trasplantes de manos y 12 trasplantes faciales en el mundo (Tabla 1)^{4,5}.

1.1.3 Introducción histórica.

En los primeros momentos del cristianismo hubo cuatro santos patronos de la medicina, todos ellos provenientes de Asia Menor y con tradición médica griega. Se trataba de San Lucas (apóstol), San Cosme, San Damián y San Panteleimon. Los esfuerzos por transferir órganos de un paciente a otro tienen su primera referencia en el milagro realizado por San Cosme y San Damián⁶. A principios de la era cristiana los enfermos acudían a los templos de Esculapio donde recibían tratamientos con aceites y se les podía plantear una intervención quirúrgica. Alrededor del año 286 D.C. los hermanos gemelos San Cosme (médico) y San Damián (cirujano), realizaron el milagro de extirpar una pierna gangrenada a un anciano sacristán mientras dormía y sustituirla por una pierna de un moro etíope. Mientras uno de ellos realizaba la extirpación de la pierna gangrenada con una sierra, el otro acudió al campo de lucha de los gladiadores para exhumar el cadáver de un etíope recién fallecido y extraer una de sus piernas. Los santos implantaron la pierna del etíope en el muñón de amputación del blanco sacristán, el cual al despertarse pudo caminar con su pierna sanada. San Cosme y San Damián continuaron su actividad en la ciudad de Agea (actual Ayash), asistiendo a pacientes ricos y pobres procedentes de todo Asia Menor y ofreciéndoles sus curaciones sin aceptar el pago por sus servicios. Por ello recibieron el apodo de "*los sin plata*" y su actitud sirvió para el establecer algunos de los principios de la conducta médica: nunca descuidar la enfermedad, aplicar tratamientos que tengan resultados exitosos, no afligir daño y no cobrar honorarios abusivos. Las referencias pictóricas a los doctos hermanos incluyen detalles como cajas con medicinas, botellas de orina y espátulas. Finalmente, los emperadores Diocleciano y Maximiliano, preocupados por su influencia, solicitaron que renegaran de sus creencias cristianas. Al rehusar tal petición ambos fueron condenados a muerte por medio de tres torturas. La primera tortura consistió en hundirles en el mar atados de pies y

manos. De forma milagrosa pudieron soltarse y nadar a la orilla. En la segunda tortura se les condenó a la hoguera, pero las llamas no les quemaron. En la tercera se dictaminó que debían morir azotados, pero los látigos no les pudieron alcanzar. Finalmente los hermanos fueron decapitados a espada y enterrados en Ciro, Siria. El día de San Cosme y San Damián se celebra el 27 de Septiembre.

1.1.4 Antecedentes experimentales en trasplante de tejidos compuestos.

Existen antecedentes experimentales de ATCs desde antes de la introducción de la ciclosporina (Cs)⁷. En 1908 Sir Alexis Carrel describió el primer modelo exitoso de trasplante ortotópico de extremidad inferior en perros sin descripciones de retorno funcional. En 1936 Schwind describió el primer modelo parabiótico de neovascularización de una extremidad inferior en ratas y describió el retorno de función motora y sensitiva al injerto. En aquellos momentos se desconocían los principios de la inmunología y no se hizo ninguna referencia a la familia o estirpe genética de los animales utilizados. Desde entonces no hubo más referencia a este tipo de experimentos hasta que en 1962 de nuevo Schwind describió trasplantes parabióticos en los que se especificaba el origen familiar de los animales de experimentación y se realizaban pruebas de histocompatibilidad utilizando injertos de piel. Además se incluyeron algunas medidas para tratar de lograr tolerancia inmunológica al injerto, como por ejemplo trasplantar bazo, glándula salival o trasfundir sangre⁷.

En 1966, poco tiempo después de que el cirujano plástico Joseph Murray realizara el primer trasplante renal entre hermanos gemelos, Robert Goldwyn publicó un modelo canino de trasplante ortotópico de pata en animales no consanguíneos⁸. En aquel experimento se utilizaron mercaptopurina y azatioprina como inmunosupresores, reimplantes de pata como controles quirúrgicos y tras el fallecimiento de los animales (supervivencia máxima de 28 días) se estudió el rechazo y la forma y tiempos en que los diferentes tejidos eran infiltrados. Posteriores trabajos refinaron la técnica quirúrgica y añadieron mejoras en la inmunosupresión y evaluación de los aloinjertos, como por ejemplo radiografía y arteriografía. Finalmente Kazuteru Doi introdujo el

trasplante microvascular de extremidad inferior en ratas cruzando el CMH en 1979, abandonando definitivamente los modelos parabióticos y macrovasculares⁹.

La mayoría de los estudios experimentales de ATCs han sido realizados en roedores utilizando el modelo de trasplante de miembro inferior. Los tratamientos inmunosupresores en monoterapia con inhibidores de calcineurina (ICN) (Cs ó tacrolimus) han permitido alcanzar supervivencias mayores de 1 año. La administración de combinaciones de inmunosupresores como Cs + corticoides, o bien Cs + micofenolato mofetil (MMF) o bien inmunosupresión en monoterapia con tacrolimus (también conocido como FK506) han permitido lograr supervivencias suficientes para observar el retorno de la función y sensibilidad en los miembros trasplantados⁷.

En cuanto a modelos experimentales de trasplante en animales de mayor envergadura, dos estudios en cerdos con colgajos osteomiocutáneos de extremidad superior lograron supervivencias de 90 días libres de rechazo bajo terapia de inmunosupresión con Cs + MMF^{10,11}. Estudios posteriores se enfocaron en la capacidad relativa de sufrir rechazo por parte de distintos tejidos^{12,13}.

La estructura, función y fisiología del sistema inmunitario en los primates es muy parecida a la de los humanos y constituyen el mejor modelo para el ensayo de los ATCs. Existen al menos tres trabajos experimentales de trasplante de mano en primates no humanos que incluyeron Cs. La terapia inmunosupresora se acompañó de altas tasas de morbi-mortalidad y la mayoría de los animales sufrieron episodios de rechazo, si bien al menos un animal permaneció libre de rechazo durante más de 200 días¹⁴⁻¹⁶.

1.1.5 Alotrasplantes de tejidos compuestos clínicos.

El primer trasplante de tejidos compuestos documentado en humanos fue realizado en Ecuador en 1964. Un equipo de cirujanos liderado por Robert Gilbert realizó el trasplante de una mano desde un donante cadáver a un paciente amputado bilateral por explosión. En aquél momento la terapia inmunosupresora incluyó azatioprina e hidrocortisona. Desafortunadamente el trasplante se perdió trascurridos unos días¹⁷. En el mismo año comenzaron los primeros ensayos en el uso de Cs en trasplante renal, pancreático y hepático.

En 1991 tuvo la primera reunión enfocada abiertamente a la aplicación clínica de los ATCs, organizada por Black y Hewitt. Posteriormente, en 1997 tuvo lugar el Primer Symposium Internacional en Trasplante de Tejidos Compuestos, en Louisville (EE.UU.), que reunió a inmunólogos y cirujanos de diferentes partes del mundo para discutir la conveniencia de iniciar un programa de trasplante de tejidos compuestos. En 1998 el grupo de trasplantes de Lyon (Francia) liderado por Jean Michel Dubernard realizó el primer trasplante de mano exitoso de la historia³. Seguidamente se realizó el segundo trasplante unilateral de mano dirigido por Warren Breidenbach en el Kleinert-Kutz Institute, Louisville (EE.UU.)¹⁸. Dicho caso supone a fecha de hoy el trasplante de más larga evolución, contando ya con 10 años de antigüedad. Los siguientes trasplantes aparecen enumerados en la Tabla 1.

Tabla 1: Serie mundial de trasplantes de mano (1998-2008)

Fecha	Trasplantes Unilaterales (n°)	Ciudad	Trasplantes Bilaterales (n°)	Ciudad
Sep 1998	Lyon (1)			
Ene 1999	Louisville (1)			
Sep 1999	Guangzhou (2)			
Ene 2000	Nanning (2)		Lyon (1)	
Mar 2000			Innsbruck (1)	
May 2000	Kuala-Lumpur (1)			
Sep 2000			Guangzhou (1)	
Oct 2000	Milan (1)			
Nov 2000	Nanning (2)			
Ene 2001			Harbin (1)	
Feb 2001	Louisville (1)			
Oct 2001	Milán (1)			
Jun 2002	Bruselas (1)	(1)		
	Harbin (1)			
Jul 2002	Nanjin (1)			
Oct 2002			Harbin (1)	
Nov 2002	Milan (1)			
Feb 2003			Innsbruck (1)	
Abr 2003			Lyon (1)	
Feb 2005				
Jun 2006			Innsbruck (1)	
Feb 2006	Cracovia (1)			
Nov 2006	Louisville (1)			
Dec 2006			Valencia (1)	
Feb 2007			Lyon (1)	
Nov 2007			Valencia (1)	
Ene 2008	Cracovia (1)			
Junio 2008	Louisville (1)			
Julio 2008			Lyon (1)	
Septiembre 2008			Munich (1)	
Octubre 2008			Valencia (1)	
Total Pacientes	20		14	
Total N° Manos	20		28	

International Registry of Hand and Composite Tissue Allotransplantation.
www.handregistry.com. Último acceso 1 de Enero de 2010.

Trasplante de manos. Los resultados funcionales de los trasplantes de manos han sido evaluados y publicados por observadores independientes¹⁹. Los resultados funcionales de los cuatro primeros casos de trasplantes de manos fueron calificados de pobres en un caso, intermedios en dos casos y buenos en un caso. Después de 10 meses los pacientes pudieron realizar actividades simples de la vida diaria como abrir puertas, pasar páginas de un periódico o

llenar un vaso de agua. A pesar de un rápido avance del signo de Tinel la reinervación de la musculatura intrínseca de la mano fue pobre, mientras que la recuperación de la sensibilidad fue limitada, aunque la mayoría de los pacientes trasplantados mostraron su satisfacción con el procedimiento. La mayoría presentó algún tipo de efecto secundario relacionado con la medicación inmunosupresora como por ejemplo, diabetes mellitus insulín-dependiente, síndrome de Cushing, colitis por citomegalovirus, infección cutánea por herpes o micosis cutáneas recurrentes. Todas las complicaciones pudieron ser controladas bien con medicación bien mediante la disminución de la medicación inmunosupresora. Todos los episodios de rechazo pudieron ser controlados por medio del ajuste al alza de la inmunosupresión²⁰.

1.2 Inmunología y trasplante.

El rechazo inmunológico de un aloinjerto se debe al reconocimiento del tejido trasplantado como cuerpo extraño en el contexto de una respuesta defensiva apropiada. En todos los rechazos existe un componente del sistema inmunitario que reconoce alguna parte del aloinjerto como extraña²⁰⁻²³.

Los estudios realizados en trasplante de tejidos entre ratones consanguíneos han establecido los siguientes principios que gobiernan el rechazo de los injertos:

1. Los injertos trasplantados entre individuos consanguíneos (genéticamente idénticos) sobrevivirán.
2. Los injertos trasplantados entre individuos no consanguíneos (genéticamente no idénticos) serán rechazados.
3. Los injertos trasplantados desde un progenitor a su descendencia en primera generación sobrevivirán, ya que el receptor los reconocerá como propios (homocigóticos).
4. Los injertos trasplantados desde un descendiente en primera generación hacia su progenitor serán rechazados, ya que el receptor *no* reconocerá como propia la porción heterocigótica del aloinjerto (proveniente del otro progenitor).

Estos fenómenos han demostrado que el rechazo de los injertos es controlado por genes cuya herencia sigue las reglas mendelianas simples^{24,25}. Los genes que determinan el rechazo o la aceptación de los injertos se encuentran en un lugar (locus) del cromosoma 6 denominado complejo mayor de histocompatibilidad (CMH ó en inglés HLA)²⁶.

Las moléculas producidas a partir de los genes codificados en dicho cromosoma componen los Ags del CMH. En humanos los aloinjertos singénicos son aquellos que se trasplantan entre dos hermanos gemelos y sobreviven porque donante y receptor presentan Ags del CMH idénticos. Cuando donante y receptor se diferencian en sus Ags del CMH los aloinjertos son rechazados, salvo que el receptor se someta terapia de inmunosupresión²⁶.

El grado en que un aloinjerto comparte Ags con el receptor se denomina histocompatibilidad. El nivel de histocompatibilidad depende del CMH o en inglés *human leukocyte antigen (HLA)*. El fenómeno que inicia una respuesta de rechazo del aloinjerto es el reconocimiento de las moléculas del CMH (ó HLA) por el receptor de los linfocitos T (RLT). A diferencia de los anticuerpos (Acs) que pueden unirse a cualquier molécula ajena al individuo, el RLT reconoce específicamente los péptidos que conforman el CMH. Por tanto la activación de los linfocitos T depende de que el RLT identifique el CMH²⁷.

La información del CMH está contenida en seis lugares (locii) que codifican moléculas de superficie de dos tipos: clase I (HLA-A, -B y -C) y clase II (HLA-DR, -DP y -DQ)²⁸. Hay dos aspectos que caracterizan a las moléculas del CMH: el primero es que se trata de moléculas altamente polimórficas. A diferencia de otras moléculas que son iguales en todos los seres humanos (p. ej. proteínas estructurales y enzimas), cada locus del CMH puede expresar una entre cientos de variedades de moléculas diferentes. Cada una de las diferentes moléculas del CMH expresado en cada cromosoma se denomina *alelo* y al conjunto de alelos se le denomina *haplotipo*. El *genotipo* es la suma de dos haplotipos, cada uno proveniente de un progenitor.

El segundo aspecto importante es que los genes del CMH se expresan de forma *codominante*, de tal forma que los individuos expresan alelos de ambos cromosomas. Por tanto el genotipo del CMH de un individuo consiste en 12 moléculas diferentes del CMH (dos alelos por cada seis locus). Esto explica el fenómeno del rechazo de los aloinjertos de la primera generación de

descendientes cuando se trasplantan a uno de sus progenitores: el progenitor reconoce como extraños la mitad de los alelos del aloinjerto, ya que provienen del otro progenitor^{22,24,25,28}.

El beneficio evolutivo del extenso polimorfismo del CMH radica en que una amplia variedad de péptidos microbianos puede ser presentada y reconocida como extraña por los linfocitos T para iniciar una respuesta contra la infección. Sin embargo este aspecto supone una barrera técnica para la realización de los trasplantes ya que la probabilidad de encontrar individuos que compartan un alto número de alelos del CMH es muy baja²⁹.

La expresión de las moléculas de clase I y II (HLA-I y HLA-II) cuenta con diferentes patrones. El HLA-I se expresa en al casi todas las células nucleadas mientras que el HLA-II se expresa en las células presentadoras de antígenos (CPAs), como macrófagos, linfocitos B y células dendríticas. Las CPAs procesan los Ags y los combinan con moléculas HLA-II para que sean identificados por los linfocitos T mediante la unión al RLT³⁰. Después del trasplante, los primeros Ags que el receptor encuentra son los expresados por el endotelio vascular del aloinjerto. El endotelio vascular en reposo expresa moléculas de clase I, mientras que el endotelio vascular activado expresa moléculas de clase II. La inflamación del endotelio es uno de los rasgos distintivos del rechazo agudo^{26,31}.

1.2.1 Activación linfocitaria.

La importancia de los linfocitos T en el rechazo de los injertos alogénicos ha sido reconocida en diversos modelos de trasplante con linfocitos T genéticamente ausentes o sin funcionalidad. El reconocimiento de los aloantígenos por parte de los linfocitos T es el primer paso que conduce a la

activación, proliferación y diferenciación de linfocitos T aloreactivos y por tanto al rechazo dependiente de los linfocitos T³³⁻³⁵.

Receptor de los linfocitos T (RLT). El RLT es un heterodímero compuesto por cadenas polipeptídicas α y β , ambas con dominios tanto variables (V) como constantes (C). La diversidad adicional de la región que se une a los péptidos extraños y aloantígenos y que incluye el dominio V, es proporcionada por los segmentos de unión J. En la cadena β la diversidad viene dada por el segmento D. Un segundo heterodímero del RLT está formado por cadenas γ y δ , pero todavía no se ha demostrado su papel en la alorespuesta. El RLT se encuentra en la superficie de la célula T asociado al complejo CD3 que se compone de moléculas polipeptídicas que se encargan de transmitir las señales al interior celular (Figura 1).

Señales intracelulares. Es necesaria una compleja maquinaria molecular para transmitir las señales de lo que ocurre en la superficie celular hasta el núcleo celular y modificar acordeamente la expresión genética. Se han descrito un número de mecanismos para su ejecución y algunos de ellos han sido utilizados como dianas para tratamiento. El acoplamiento del RLT induce la fosforilación de proteínas asociadas al RLT como la cadena ζ ³⁶. Este proceso fosforilativo conduce a la activación de de varios procesos bioquímicos incluyendo la *vía de la calcineurina*³⁷⁻³⁹, la *vía de la proteína-kinasa C*¹¹³ y la *vía de la activación mitogénica de la kinasa Ras-Rac*^{40,41}.

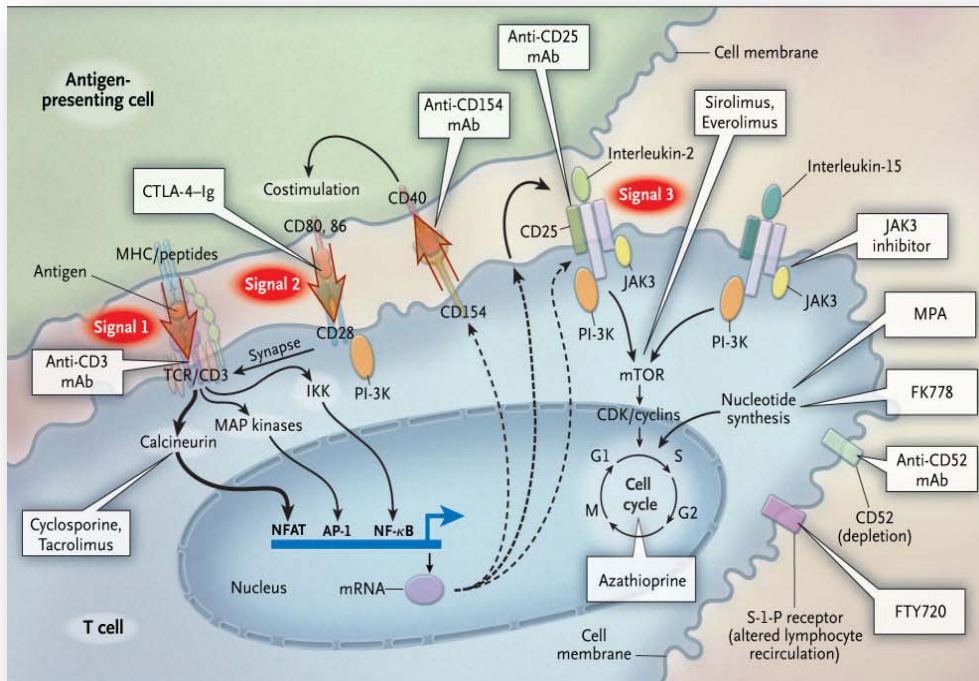


Figura 1: Modelo de la triple señal. Las tres señales aparecen marcadas en rojo (signal). Antigen-presenting cell: célula presentadora de antígeno; mAb: anticuerpo monoclonal; MHC: complejo mayor de histocompatibilidad; TCR: receptor de linfocito T; costimulation: coestimulación; cell membrane: membrana celular; Signal: señal; interleukin: interleukina; T cell: linfocito T; inhibitor: inhibidor; Nucleotide synthesis: síntesis de nucleótidos; cell cycle: ciclo celular; depletion: depleción; mTOR: receptor de la rapamicina de los mamíferos; MPA: ácido micofenólico; NF: factor nuclear. (Reproducido con permiso: Halloran PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med* 2004; 351:2715-29).

La *vía de la calcineurina* es la mejor conocida y es el lugar donde actúan diferentes drogas inmunosupresoras como la Cs y el tacrolimus (Figura 1)^{38,42-44}. Cuando un Ag interactúa con el RLT se desencadena la fosforilación de la proteína ZAP-70, que hidroliza el fosfolípido de membrana fosfatidil inositol 4,5-bisfosfato y lo convierte en inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃) y diacilglicerol⁴⁵. El IP₃

produce un aumento del calcio citosólico que se une a la calmodulina y estimula la actividad fosfatasa de la calcineurina⁴⁶. Ésta defosforila el factor nuclear del linfocito T activado (NFAT) y su componente citoplasmático (NFATc) puede trasladarse al núcleo y activar los genes involucrados en la síntesis de interleukina 2 (IL-2)^{43,47,48}. La IL-2 activa a los linfocitos T e induce la producción de otras citocinas. Tanto la Cs como el tacrolimus son las drogas conocidas como inhibidores de calcineurina (ICN)⁴².

La medicación inmunosupresora actual es considerablemente potente en el bloqueo del rechazo de los aloinjertos. Sin embargo este efecto se produce de forma inespecífica, de tal forma que también se suprime la respuesta del sistema inmunológico a las infecciones. El objetivo de la *inmunobiología del trasplante* es conocer y bloquear de forma específica las respuestas contra los aloantígenos del trasplante sin producir una inmunosupresión global⁴⁹.

1.2.2 Mecanismos efectores de la lesión de los aloinjertos.

Rechazo del aloinjerto.

La respuesta inmediata al trasplante se encuentra mediada por la inmunidad innata. Seguidamente los linfocitos T CD4 reconocen los compuestos péptido-CMH y adquieren un papel importante en el control de la respuesta. Los linfocitos T CD4 expresan moléculas de superficie celular y citocinas que a su vez estimulan a los monocitos. La cooperación entre los linfocitos T CD4 y los monocitos juega un papel importante en la destrucción del aloinjerto. La activación de linfocitos T CD4 y la producción de citocinas también estimula la proliferación de linfocitos T CD8 citotóxicos y de células NK. Cuando los linfocitos T CD8 reconocen las moléculas del CMH de clase I expresada por el aloinjerto provocan la muerte celular mediante dos mecanismos. El primero consiste en la liberación de los factores citotóxicos solubles conocidos como granzyma y perforina. En segundo lugar ocurre una regulación al alza del ligando Fas en la célula T que se une al Fas de las células del aloinjerto (CD95). El acoplamiento de la molécula Fas produce una apoptosis de la célula de aloinjerto⁵⁰.

La producción de citocinas por los linfocitos T CD4 también estimula los linfocitos B. Los linfocitos B comienzan a proliferar y a diferenciarse hacia células plasmáticas cuando los Ags se unen a sus Igs. Las células plasmáticas liberan Igs solubles que se unen a las células alogénicas y provocan daño celular bien mediante la fijación del complemento o bien mediante citotoxicidad directa⁵¹.

Tan sólo en rechazo agudo puede tratarse de forma eficaz. La pérdida del órgano trasplantado por rechazo agudo es un fenómeno cada vez menos frecuente. La aparición de un episodio de rechazo agudo debe ser tratada de

forma inmediata ya que la activación demasiado prolongada de los mecanismos inmunológicos hace inútil el tratamiento específico contra los linfocitos T⁵².

1.3 Medicación inmunosupresora.

1.3.1 Modelo de la triple señal.

Para entender mejor el mecanismo de acción de los fármacos inmunosupresores sobre los linfocitos se ha propuesto el *modelo de la triple señal*⁵³, que aparece representado en la Figura 1. La primera señal consiste en la presentación de tipo antígeno-específica producida por la unión del RLT a la CPA y que se transmite por medio del complejo CD3. La segunda señal es de tipo inespecífico y se debe a la coestimulación provocada durante el acoplamiento del complejo B7 de la CPA a la molécula CD28 del linfocito T. Ambas señales activan rutas intracelulares que conducen a la expresión de IL-2 y otros factores promotores del crecimiento. La estimulación del CD25 conduce a la activación de la molécula diana de la rapamicina de los mamíferos (mTOR), que estimula la proliferación celular y constituye la tercera señal.

Inhibidores de la calcineurina.

La ciclosporina (Cs) y el tacrolimus son dos fármacos que actúan inhibiendo la vía de la calcineurina (ICN) e impiden la activación de los linfocitos T por señales 1 y 2. La diana de actuación de Cs es la ciclofilina, mientras que la diana del tacrolimus es la FK-BP² (tacrolimus-binding protein). Ambos fármacos impiden la formación del complejo calcineurina-calmodulina, evitando a su vez la fosforilación y activación del factor nuclear-AT (NF-AT)⁵⁴. Esto evita la producción de citocinas como la IL-2, la IL-4, el interferón gamma (IFN- γ) y el factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α) lo que conduce finalmente a una

² FK y FK506 son los nombres que recibió el tacrolimus durante la fase de experimentación básica.

menor proliferación linfocitaria. Los pacientes tratados con ICN conservan cierto grado de respuesta inmunológica. Esto es debido a que la dosis terapéutica sólo logra disminuir un 50% la actividad de la calcineurina, lo que permite que señales fuertes puedan activar parcialmente la respuesta inmunitaria.

Tacrolimus. Fue descubierto en 1986 y es sintetizado por el *Streptomyces tsukubaensis*. Impide la activación de linfocitos T mediante su unión a la proteína FK-BP, anulando la formación del complejo calcineurina-calmodulina impidiendo la activación de la proteína NF-AT^{38,55}. La potencia de actuación del tacrolimus es 100 veces mayor que la de la Cs. Entre sus efectos también se encuentra el incremento de síntesis de TGF- β por lo que comparte los efectos tóxicos con la Cs a nivel renal. También presenta efectos adversos a nivel neurológico y en los islotes pancreáticos. No se debe combinar tacrolimus con Cs ya que su efecto aditivo produce una excesiva toxicidad. El tacrolimus no es un fármaco efectivo en el tratamiento del rechazo agudo. Su administración se realiza en dos dosis separadas de 12 horas y su absorción es independiente de las sales biliares. Su biodisponibilidad es del 25%, aunque existe gran variabilidad entre pacientes e incluso en el mismo paciente a lo largo del tiempo. El tacrolimus se une a las proteínas plasmáticas y por tanto su efecto no depende de los niveles de colesterol sanguíneos. Su metabolismo se realiza por el CYP3A y su excreción se produce por la vía biliar, no requiriendo ajuste en caso de insuficiencia renal.

Entre los efectos secundarios extrarrenales, a nivel hepático los ICN pueden producir aumento de aminotransferasas que suele ser limitado y dosis dependiente. También se han descrito diarreas, vómitos y molestias abdominales inespecíficas en el 75% de los pacientes. Un efecto tóxico importante se produce sobre los islotes pancreáticos debido al aumento de FK-BP, que produce aumento de la glucemia también potenciado por la administración simultánea de corticoides. A nivel neurológico se han observado

efectos adversos como temblor, cefalea, insomnio, crisis convulsivas en 1-2% e incluso leucoencefalopatía⁵⁶⁻⁵⁸.

1.4 Bases de la recuperación nerviosa.

1.4.1 Fisiopatología de la lesión nerviosa.

En 1850 Waller describió los fenómenos que tienen lugar tras la sección del nervio hipogloso de una rana. Sus descripciones detallaron la degeneración distal a la sección del nervio y los cambios se denominaron *degeneración walleriana*^{64,65}. Investigaciones posteriores de Ramón y Cajal evidenciaron que se producía un crecimiento de los axones lesionados desde el muñón proximal⁶⁵.

La sección de un nervio genera una cascada de eventos (Figura 2). Los cambios ocurren en el cuerpo de la neurona, en la zona lesional, en los segmentos proximales y distales del axón y en los órganos diana del nervio. Tras una axotomía el núcleo de la neurona migra hacia la periferia del soma y tiene lugar una cromatolisis neuronal. Ésta consiste en el desplazamiento lateral del núcleo celular, edema nuclear y disolución de los cuerpos de Nissl⁶⁶. Se produce un incremento del volumen celular así como un incremento en la producción de ARN y enzimas. El metabolismo se transforma para mejorar las capacidades regenerativas de la célula⁶⁴. Mientras que la producción de neurotransmisores disminuye, la producción de neuropéptidos, proteínas estructurales como actina y miosina y de la proteína GAP-43 se acelera tras 4 días desde el traumatismo alcanzando el pico de actividad transcurridos 20 días^{67,68}. La gravedad de la lesión y la proximidad al soma determina el grado de muerte neuronal. Cuanto más proximal sea la lesión mayor número de muertes neuronales ocurren^{202, 203}.

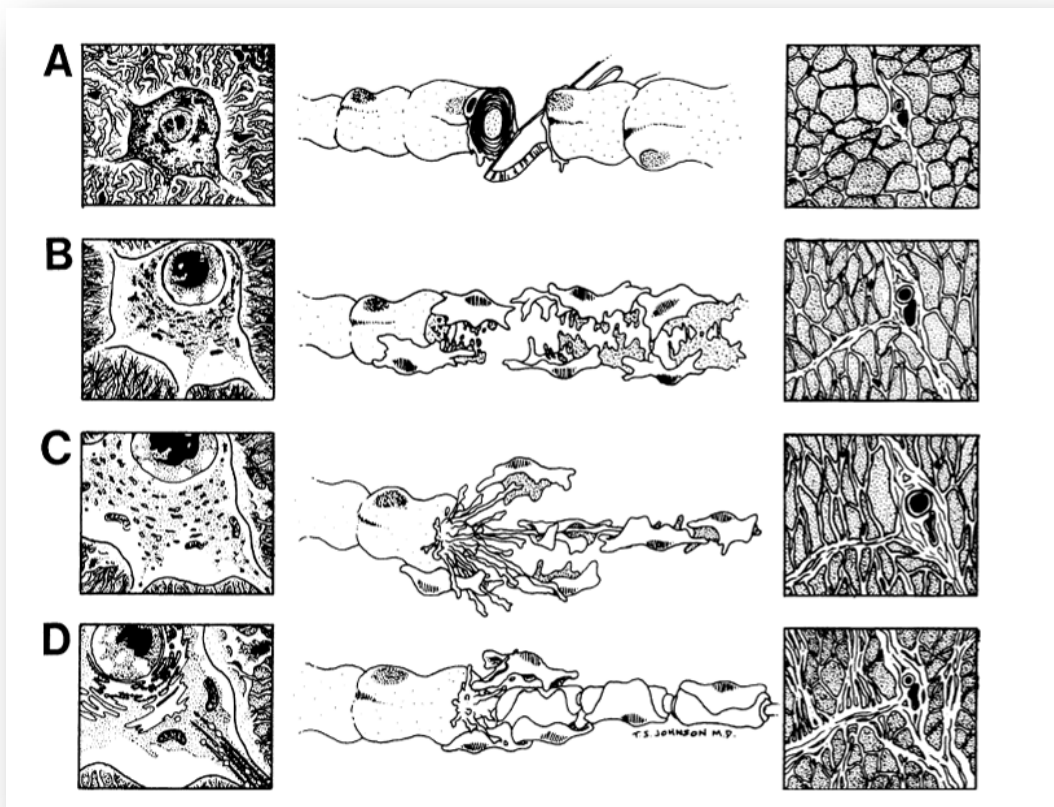


Figura 2: Respuesta neural a la lesión por axotomía. La figura muestra tres columnas: en la izquierda aparecen los cambios en el soma neuronal. En el centro se muestran los acontecimientos axonales. En la derecha se representan los cambios producidos en los órganos diana. (A) El aspecto normal del cuerpo celular de la neurona después del corte teórico bistrú en un solo axón. A la derecha, el tejido muscular del órgano diana tiene aspecto normal. (B) Se produce cromatolisis, excentricidad nuclear, edema y la disolución de los cuerpos de Nissl. Los procesos de degeneración walleriana se inician distalmente a la lesión y el músculo denervado empieza a atrofiarse. (C) Evidencia histológica de cromatolisis mientras que el axón forma un cono de crecimiento. Además continúa la atrofia muscular en los órganos diana. (D) El aspecto histológico vuelve a la normalidad con el tiempo. Las fibras se reducen hasta sólo persistir aquellas conectadas satisfactoriamente con el órgano diana, el cual recupera parcialmente su función y microestructura. (Reproducido con permiso: Maggi S, Lowe III J, Mackinnon S. Pathophysiology of nerve injury. *Clin Plast Surg* 2003;30:109-26).

Tras la lesión, las células de Schwann proliferan y migran a modo de columnas (*bandas de Büngner*)^{63,64,69}. Las células de Schwann alteran su fenotipo y se transforman en no mielinizantes, con gran actividad mitótica y producción de factores de crecimiento, moléculas de adhesión y componentes de la membrana basal.

Las neurotrofinas y las citocinas neuropoiéticas regulan muchos aspectos de la regeneración nerviosa⁷⁰. El factor de crecimiento nervioso, la neurotrofina-3 y la neurotrofina 4-5 son importantes en la prevención de la muerte celular. Se sintetizan y se unen a receptores de baja afinidad (p75) y de alta afinidad, de tipo tirosin-kinasa (trk A, B y C)⁷¹. Las neurotrofinas estimulan a las células de Schwann para que migren y se adhieran a las proyecciones de crecimiento axonal⁷²⁻⁷⁴. Además ayudan a que la neurona restablezca la situación previa a la lesión una vez que se haya completado el crecimiento axonal. Las citocinas neuropoiéticas incluyen el factor neurotrófico ciliar, IL-6, factor estimulante de colonias granulocíticas y factor inhibidor de leucemia^{70,75,76}. El factor neurotrófico ciliar juega un papel en la orientación de las fibras, mientras que la IL-6 se encarga de activar a los macrófagos y células de Schwann. Bajo su influencia las células de Schwann comienzan a expresar moléculas de clase I y II del CMH, adquiriendo propiedades de CPAs. Otros factores de crecimiento, como el factor de crecimiento fibroblástico, el factor de crecimiento insulina-like, el factor de crecimiento plaquetario y el factor neurotrófico derivado de la glía se encargan de mejorar la regeneración nerviosa^{70,76}. Las moléculas de adhesión celular tienen importancia en la regeneración nerviosa. Entre ellas se incluyen la glucoproteína L1, la molécula de adhesión a células neurales y la N-cadherina⁷⁶⁻⁸¹. Se encargan además de mejorar las uniones entre el axón y la célula de Schwann así como con la membrana basal, ayudando a guiar la regeneración axonal. Estas moléculas pueden modificarse dependiendo de los carbohidratos presentes en el ambiente, influyendo sobre los axones que van a ser regenerados, bien motores o sensitivos. Entre las proteínas de la matriz extracelular, la laminina y la tenascina parecen tener los papeles más

importantes en la regeneración nerviosa^{70,75}. La laminina al igual que la célula de Schwann es imprescindible para el crecimiento axonal en prótesis de tubo de silicona⁸²⁻⁸⁵. La tenascina aparece en los nódulos de Ranvier y en el muñón distal a la lesión después de los fenómenos de degeneración walleriana. Todos los cambios a nivel celular y molecular son más notorios durante el primer mes y hasta el sexto, momento desde el cual la lesión se cronifica y las vainas del endoneuro se rellenan de colágeno y de células de Schwann atroficas, con menor poder para conducir el crecimiento axonal⁷⁵.

Distalmente a la zona de lesión tiene lugar la degeneración walleriana del nervio⁸⁶. La proliferación de células de Schwann y la rotura de la vaina de mielina tienen efectos importantes. Los remanentes axonales, ahora acelulares, se degradan junto con las vainas de mielina que les rodean (Figura 2-B). Los macrófagos pueden penetrar en la zona de lesión por la apertura de la barrera entre nervio y circulación sanguínea. Las células de Schwann y los macrófagos se encargan de depurar los deshechos axonales en las 48 a 72 horas tras la lesión. La membrana basal persiste intacta, si bien el tubo neural se colapsa al mismo tiempo que la mielina y el contenido axonal se digiere⁷⁰. Este proceso permite que los nuevos contenidos procedentes del cono de crecimiento se organicen con ayuda de las células de Schwann y crezcan longitudinalmente, formando las columnas de Büngner (Figura 2-C). Los macrófagos liberan factores de crecimiento y citocinas que estimulan a las células de Schwann y a los fibroblastos para que proliferen y elaboren moléculas de adhesión y factores de crecimiento. Las células de Schwann además de proliferar por el estímulo de los macrófagos se ven estimuladas por la ausencia de contacto con el axón y por el contacto con el cono axonal⁷⁰. La actividad de las células de Schwann permite la elongación del cono de crecimiento axonal. Tan sólo 24 horas después de la lesión en el lugar de la lesión cada axón es capaz de producir múltiples bulbos regenerativos (Figura 2-C). A su vez cada bulbo es un cono de crecimiento que presenta afinidad por la fibronectina y la laminina basal de las células de Schwann. Por medio de una guía de contacto los filopodios de los

conos de crecimiento son capaces de explorar el ambiente en busca de sustrato físico adecuado^{87,88}. Sólo el contacto con el sustrato adecuado permite el desarrollo completo del cono de crecimiento. La regeneración tiene lugar a lo largo del tubo neural para reconstituir el axón a razón de 1 a 4 mm por día. Sin el crecimiento adecuado tiene lugar la formación de un neuroma. En caso de que el proceso regenerativo tenga éxito los bulbos axonales son modulados durante un periodo que lleva meses o incluso años (Figura 2-D)^{89,90}.

La presencia de células de Schwann es imprescindible para el crecimiento axonal⁸². En experimentos de reparación de nervio con conductos de silicona se ha observado la formación de un conglomerado de fibrina y fibronectina en el fluido extravasado. Las células de Schwann, macrófagos y fibroblastos crecen en dicho conglomerado, pero sólo después de la migración de las células de Schwann hacia el conglomerado tiene lugar el crecimiento del axón. La maduración de las células de Schwann en dicho conglomerado parece estar regulada por la vía de la calcineurina y los fármacos ICN podrían tener cierto efecto beneficioso sobre el crecimiento axonal⁹¹.

Existen diferentes mecanismos que pueden orientar la regeneración axonal, a saber, alineación quirúrgica, guía por contacto, neurotropismo y neurotrofismo (Figura 3)^{64,92}. En la alineación quirúrgica la reparación directa de los nervios determina la dirección de la regeneración nerviosa. En la guía por contacto el reconocimiento del microambiente apropiado es el que dirige a la neurona en regeneración hacia el muñón distal correcto. El neurotropismo viene marcado por la presencia de un gradiente de moléculas disueltas en el ambiente que orienta el crecimiento. El neurotrofismo consiste en la maduración sólo de los axones que han alcanzado con éxito el órgano diana correcto, degenerando aquellos que no lo han alcanzado.

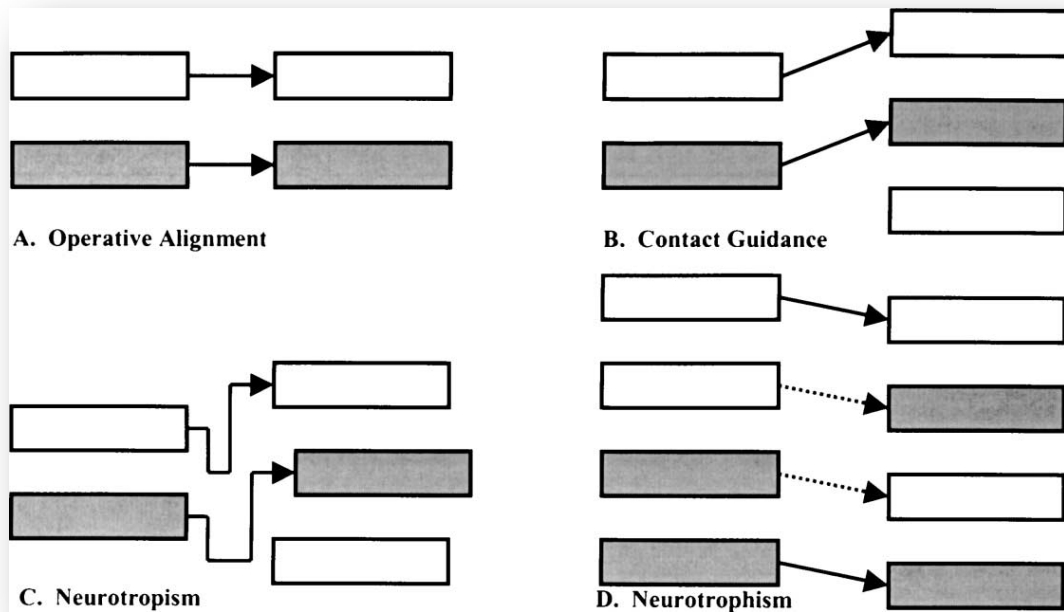


Figura 3: Representación esquemática de las cuatro teorías de regeneración nerviosa. (A) (Operative alignment) Alineación por intervención quirúrgica: la técnica de microcirugía se utiliza para reaproximar las terminaciones nerviosas seccionadas, lo que determina su dirección. (B) (Contact guidance) Guía por contacto: el reconocimiento de los factores del microambiente adecuado hace regenerar la neurona hacia el extremo distal correcto. (C) (Neurotropism) Neurotropismo: la orientación logra mediante un gradiente de sustancias disueltas a nivel molecular. (D) (Neurotrophism) Neurotrofismo: el apoyo trófico que se suministre a la regeneración de axones hace que éstos maduren adecuadamente tras una correcta conexión con el órgano diana, mientras que los axones que conectan incorrectamente sufren degeneración. (Reproducido con permiso: Maggi S, Lowe III J, Mackinnon S. Pathophysiology of nerve injury. *Clin Plast Surg* 2003;30:109-26).

1.4.2 Respuesta de los órganos diana a la lesión del nervio y su reparación.

Tras la axotomía el músculo denervado sufre diversos cambios^{75,86,93-97}. Las fibras musculares se atrofian significativamente y disminuye su sección transversa hasta en un 90%. Los núcleos de las miofibrillas, normalmente excéntricos, migran hacia una posición central creando células con forma de diana características de la denervación muscular^{98,99}. La arquitectura de la unión neuromuscular se mantiene íntegra durante más de un año. Los receptores de acetilcolina cambian su posición central habitual por una distribución difusa en las miofibrillas denervadas. Además tienen lugar procesos fibróticos que limitan la función muscular incluyendo depósitos de tejido conectivo a lo largo del epimisio que pueden detectarse tras 3 meses y alcanzan su máximo nivel transcurridos 11 meses⁹⁷.

La reinervación de la placa motora depende de las células de Schwann, que mantienen la lámina basal en la unión neuromuscular y en el propio nervio. Los axones que alcanzan la unión neuromuscular no sólo reinervan su miofibrilla correspondiente, sino que además de producen una regeneración colateral de inervación hacia miofibrillas vecinas. Sin embargo, parte de la inervación colateral es eliminada para evitar la redundancia. Se asume generalmente que para lograr una recuperación motora significativa la reinervación debe tener lugar en un plazo máximo de 12 a 18 meses^{93,94,100}.

Los órganos diana de las fibras sensitivas son los corpúsculos de Meissner y de Paccini, las terminaciones de Ruffini y las células de Merkel. Los corpúsculos de Paccini sólo reciben un axón terminal, no se reinervan y sus centros se rellenan con material fibrótico. Los mecanorreceptores como los corpúsculos de Meissner reciben múltiples axones y al igual que las terminaciones de Ruffini y células de Merkel sí que conservan la capacidad de

reinervarse. Es más probable la reinervación de los corpúsculos de Meissner que las células de Merkel, ya que estas últimas reciben un solo axón. La recuperación sensitiva no se encuentra limitada en el tiempo^{101,102}.

1.4.3 Génesis, estimulación y registros electrodiagnósticos.

Las lesiones traumáticas focales del sistema nervioso periférico (SNP) producen cambios patológicos a lo largo de las fibras nerviosas alterando su fisiología. Las pruebas electrodiagnósticas (EDX) detectan las anomalías a lo largo de las fibras mielínicas de los axones motores y sensitivos. Los exámenes EDX sirven de ayuda en el diagnóstico de las lesiones focales del SNP y constituyen la herramienta diagnóstica de laboratorio más extendida¹⁰³.

Las pruebas EDX consisten básicamente en dos partes: estudios de conducción nerviosa (ECN) y examen con electrodos de aguja (EEA). Otros tipos de estudio han sido descritos pero su utilidad clínica es limitada¹⁰⁴.

Existen algunas limitaciones para las pruebas EDX. En primer lugar los nervios periféricos están compuestos por axones de diversos tamaños pero con mayor predominancia de axones pequeños. Las pruebas EDX sólo pueden evaluar las fibras mielínicas de mayor tamaño. Las fibras de mayor tamaño contienen axones motores y sensitivos que o bien transmiten impulsos a los músculos o bien recaban información sensorial, incluyendo posición, vibración y sensibilidad ligera. Sin embargo los axones que transmiten información sobre dolor y temperatura son de pequeño tamaño y no se pueden evaluar mediante pruebas EDX. En segundo lugar, de las cuatro manifestaciones posibles que pueden presentar los axones mielínicos alterados, a saber, ausencia motora, ausencia sensitiva, presencia motora y presencia sensitiva, sólo las tres primeras pueden ser evaluadas por técnicas EDX. Los fenómenos dependientes de presencia sensitiva anómala en axones de gran tamaño (p.ej. parestesias) sólo pueden ser evaluadas por medio de microneurografía, por el momento disponible en muy pocos centros. En general, las pruebas EDX se utilizan para evaluar los déficits más que manifestaciones positivas del daño nervioso^{105,106}.

En tercer lugar, no todas las pruebas EDX son igualmente adecuadas para evaluar cualquier región del SNP. La lesión que puede ser mejor estudiada es aquella en nervios periféricos mixtos que se localice ni muy proximal ni muy distal. Para la ejecución de los ECN debe haber disponibles al menos dos zonas, una de estímulo y otra de registro, y para los EEA debe haber algún músculo accesible. En cuarto lugar, el momento en el que se realizan las pruebas EDX es fundamental. Aunque clínicamente los déficits sensitivo y motor se establezcan inmediatamente tras la lesión, la mayoría de las anomalías EDX no son aparentes hasta la 2ª o 3ª semana. Además pasado un tiempo las anomalías EDX tienden a resolverse si la lesión original fue mínima o moderada, siendo a veces incluso imposible su detección. En quinto lugar existe un número de factores que pueden limitar la utilidad de las pruebas EDX: (1) la presencia de dos lesiones a diferente nivel en el mismo nervio, (2) la presencia de lesiones generalizadas en el sistema nervioso y (3) la ausencia de lugares de estímulo o registro para los ECN, o la ausencia de músculos accesibles para el EEA debido a razones múltiples (p.ej. vendajes, sistemas de fijación, pérdidas de cobertura). Por último los hallazgos EDX en las lesiones focales del SNP tienen una correlación tan sólo limitada con los diferentes grados de lesión estructural del nervio. Esto ocurre porque dichas clasificaciones tienen en cuenta no sólo el daño axonal y mielínico sino también el daño arquitectural en el lugar de la lesión. Sin embargo el daño de las estructuras del nervio periférico no tiene significación EDX. En consecuencia la clasificación de lesiones EDX contiene tan sólo dos categorías: lesión por bloqueo de conducción (LBC) y lesión por pérdida axonal (LPA). Las LBC corresponden al grado I de Sunderland y suelen presentarse como síndromes de compresión nerviosa, mientras que la LPA aparece en el resto de los grados.

Estudios de conducción nerviosa (ECN).

Los ECN pueden ser de tres tipos: motores, sensitivos y mixtos¹⁰⁷⁻¹¹¹. Todos ellos tienen en común el hecho de que las respuestas obtenidas son

registradas después de la estimulación del nervio. Para este tipo de estudios se suelen utilizar electrodos de superficie.

Durante los *ECN de tipo motor* los electrodos se colocan sobre un músculo y los axones motores que inervan a dicho músculo son estimulados percutánea y proximalmente en uno o más lugares a lo largo de su trayectoria. El registro obtenido se denomina *potencial de acción muscular compuesto* (PAMC) (Figura 4). Los ECN motores suministran información indirecta sobre los nervios que estudian ya que el registro obtenido es la suma de los potenciales de acción de las fibras musculares, más que la suma de los potenciales de acción generados por el nervio motor^{65,112,113}. Esto tiene el inconveniente diagnóstico de no poder diferenciar las lesiones del nervio periférico de las lesiones de la placa neuromuscular. La ventaja que presenta es que la activación de un solo axón motor puede generar impulsos eléctricos sobre múltiples miofibrillas, lo que resulta en PAMCs de suficiente amplitud como para ser detectados.

Por el contrario los *ECN de tipo sensitivo* se obtienen de nervios mixtos o sensitivos puros y las fibras son estimuladas bien proximal o bien distalmente a la zona de registro. De esta forma los axones sensitivos se pueden evaluar de forma directa y el potencial de acción del nervio sensitivo (PANS) es muy pequeño (hasta una centésima parte de los PAMC) y más difícil de detectar¹⁰⁸. Su ventaja radica en que la única parte de las pruebas EDX que valora el componente sensitivo de los axones. Los ECN sensitivos son particularmente útiles en la localización de las lesiones del SNP por dos motivos: (1) los PANS son más sensibles a los procesos fisiopatológicos que los PAMC y permiten detectar antes cierto tipo de desmielinizaciones y (2) los PANS se afectan en las lesiones proximales del SNP pero sólo en las lesiones distales a la salida de la raíz del ganglio dorsal, que es donde se encuentra su soma neuronal¹¹¹. Por tanto son capaces de detectar lesiones del plexo nervioso, pero no se ven alterados por radiculopatías. Por contra los PMAC se ven afectados tanto por

lesiones del canal intraespinal como por lesiones en el canal foraminal, ya que su soma neuronal se encuentre en la médula espinal¹⁰⁹. La presencia de PANS normales en ausencia de PMAC sugiere la lesión axonal preganglionar. Los ECN de tipo mixto ofrecen pocas ventajas para evaluar las lesiones de nervio periférico.

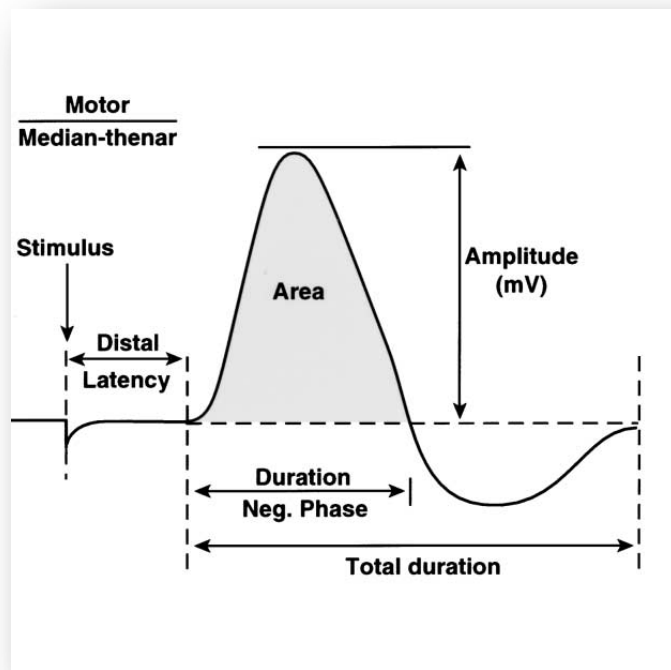


Figura 4: Estructura del potencial de acción muscular compuesto obtenido durante los estudios de conducción nerviosa. Stimulus: estímulo; distal latency: latencia distal; amplitude: amplitud; duration: duración; neg. phase: valle. (Reproducido con permiso: Wilbourn AJ. The electrodiagnostic examination with peripheral nerve injuries. *Clin Plast Surg* 2003;30:139-54).

Los ECN recogen diferentes componentes que pueden ser analizados. Entre ellos se incluye amplitud, duración, latencia, área de respuesta y velocidad de conducción (VC), siempre y cuando se obtengan medidas desde dos puntos de estimulación diferentes y a distancia conocida. Cada uno de estos parámetros tiene rangos de normalidad en función de la edad. Sin embargo en ocasiones se toman como referencia los valores contralaterales. Valores 50 veces menores que el lado contralateral se consideran anormales¹⁰⁵.

Amplitud. Es la altura de la respuesta obtenida en la estimulación máxima medida en milivoltios (mV) para los ECN motores y en microvoltios (μ V) para los ECN sensitivos. Los ECN obtenidos con electrodos de superficie nos dan una medida cualitativa del número de axones que conducen impulsos entre el lugar de estímulo y el lugar de registro, así como la tasa de conducción a lo largo de los axones. En las lesiones focales del SNP la amplitud es el componente que más información nos da ya que se relaciona directamente con el grado sintomático de la lesión¹⁰⁸. Las medidas de amplitud pueden ser comparadas con el lado contralateral.

Duración. Es el intervalo de tiempo en el que se observa la respuesta y se expresa en milisegundo (ms). En general cuando la duración aumenta la amplitud disminuye¹⁰⁸.

Latencia. Es una medida de la VC y se expresa en ms. La latencia distal es el intervalo de tiempo transcurrido entre la estimulación en un punto distal y la aparición de un PAMC o un PANS y por tanto es un registro de la velocidad de transmisión del impulso nervioso a lo largo de las fibras que conducen más rápidamente. Existen además dos medidas complementarias de latencia, la del pico y la del valle, correspondientes al tiempo hasta el pico del potencial o hasta el valle del potencial respectivamente. La latencia suscitada por la estimulación distal es un elemento importante del ECN, mientras que la latencia registrada al estimular en un punto proximal se utiliza para calcular la VC máxima¹⁰⁴. Las medidas de latencia pueden ser comparadas con el lado contralateral.

Velocidad de conducción. Es una medida de la velocidad del impulso y se expresa en m/s. Nos permite comparar la velocidad de propagación del impulso entre distintos nervios con independencia de la longitud de nervio que sea estudiada. Esta medida proporciona información sobre las fibras que más rápidamente transmiten los impulsos, pero no informan sobre el número de axones que realizan la transmisión. Normalmente es el aspecto de menor

importancia en el ECN ya que es el parámetro que menos se altera en las lesiones focales del SNP¹⁰⁴.

Area. Se mide en mV/ms ó μ V/ms y nos da información sobre el número de axones activados de forma precisa. Su determinación es más fiable que la de la amplitud, pero requiere equipos más sofisticados.

Examen con electrodos de aguja (EEA).

Durante los EEA una aguja es insertada percutáneamente en diferentes músculos para estudiar la actividad eléctrica tanto en reposo como en contracción voluntaria. Los EEA constan de tres fases: (1) inserción, (2) estudio en reposo y (3) estudio en contracción^{65,104,105,113}.

Durante la inserción la aguja atraviesa la piel hasta encontrar el músculo en el que luego se avanza por pasos. Cada avance en la inserción en el músculo sano desencadena una pequeña descarga eléctrica denominada *actividad insercional*. Se pueden encontrar patrones de inserción anormales incluyendo ondas positivas agudas (OPA) insercionales así como silencio eléctrico (SE). El SE durante la fase insercional es signo de muerte muscular y ausencia de regeneración¹⁰⁴.

Por el contrario el SE es el hallazgo normal en la fase en reposo del examen. Los cambios patológicos producen potenciales anormales denominados *denervación activa* (DA). Los más frecuentes son los *potenciales de fibrilación* (PF) que son además los más característicos y a menudo son los únicos hallazgos en las lesiones focales del SNP. Los PF son potenciales de acción repetitivos y espontáneos que ocurren de forma regular. Son generados por fibras musculares independientes que han perdido su inervación al menos 2 o 3 semanas antes y no son producidos ni pueden ser evitados por el sujeto¹⁰⁴. La pérdida de un solo axón puede hacer fibrilar hasta 2000 fibras musculares, así que los PF son el indicador más sensible de pérdida axonal motora. Los PF pueden ser observados antes de que la lesión tenga repercusión clínica^{105,113}.

Durante la fase de activación del EEA la aguja se sostiene fija en el músculo mientras que el sujeto lo contrae. Cuando esto ocurre se producen *potenciales voluntarios de la unidad motora* (PVUM). En una situación normal un esfuerzo mínimo dispara uno o dos PVUM repetidamente, de forma semi-regular, con frecuencias entre 5 y 10 Hz. Si aumenta la energía de la contracción se produce un aumento progresivo de los PVUM, cada uno disparando a su propia frecuencia. En contracciones muy enérgicas hay tantas PVUM que no se pueden observar las características de los potenciales unitarios sino que se registra un *patrón de interferencia*. En las contracciones muy enérgicas se produce también un aumento en la frecuencia de disparo, alcanzando hasta 25 a 40 Hz. En estas circunstancias los PVUM se suman tanto espacial como temporalmente logrando triplicar la fuerza de la contracción^{104,113}.

Los PVUMs pueden alterarse en su patrón de disparo, estabilidad en los disparos repetidos, configuración externa y configuración interna. Tan sólo algunos de estos cambios se producen en las lesiones focales del SNP: activación incompleta de PVUMs, y reclutamiento reducido de PVUMs. En la activación incompleta de los PVUMs la contracción enérgica produce disparos con un número limitado, no alcanzando frecuencias mayores de 10 Hz. En el reclutamiento reducido de PVUMs también se encuentran disparos en menor número durante la contracción enérgica, pero en un número mayor que la tasa de disparo en reposo. Pueden alcanzar frecuencia de 25 a 40 Hz sin que se produzca un patrón interferencial, indicando la pérdida de un número importante de PVUM. En cuanto a las alteraciones de la configuración externa de los PVUM, las lesiones nerviosas se suelen manifestar con mayor frecuencia como incrementos en la duración y a veces también como incrementos de la amplitud. Esta transformación se conoce como *cambio crónico neurogénico de los PVUM* e indica que el músculo evaluado sufrió una denervación parcial o total en algún momento del pasado y que posteriormente ha sido reinervado por nuevas terminaciones colaterales. Cada axón controla un gran número de

miofibrillas y por tanto la actividad generada por cada unidad motora es mayor de la normal. En condiciones de reinervación la contracción muscular voluntaria produce un registro de muy poca amplitud y muy polifásico (p.ej. más de cuatro fases), disparando de forma lenta o moderada y con menor frecuencia. Según pasa el tiempo las condiciones de la reinervación mejoran y los PVUM son remodelados, disminuyendo su duración y el número de fases, mientras que la amplitud aumenta, a veces logrando una apariencia normal¹⁰⁴.

Aunque las lesiones del SNP pueden ocurrir por diversas causas, los mecanismos fisiopatológicos y su repercusión clínica se limita a dos eventos: la lesión axonal y la desmielinización focal. La *lesión axonal* es la más frecuente, se caracteriza por la pérdida de axones y se traduce en una disminución de la amplitud en PAMC y los PANS. Si algunos axones se preservan, la VC y la latencia pueden aparecer conservadas. En el EEA el hallazgo característico son los PF y en casos severos la disminución del reclutamiento de PVUM. La gravedad de la lesión se relaciona directamente con la presencia de PF. Cuando la lesión axonal es suficientemente severa disminuye la amplitud de los PAMC en los ECN motora y se reduce el reclutamiento de PVUM en el EEA. Cuando la pérdida de axones es completa no se pueden obtener respuestas en los ECN. A mayor tiempo desde la lesión las pruebas tienen mayor sensibilidad, alcanzando el máximo tras 3 a 5 semanas. La lesión axonal produce clínica de pérdida de fuerza, sensibilidad, discriminación de la temperatura y sudoración, mientras que en las lesiones desmielinizantes, tan sólo se afectan las fibras mielinizadas y por tanto no se alteran la nocicepción ni la termocepción. Las lesiones traumáticas del SNP producen LPA. La medida de amplitud de los PAMC y los PANS es el componente más importante a conocer de los ECN porque tiene una correlación clínica directa. Los PF aparecen transcurridos unos días ya que algunos axones son capaces de mantener cierta actividad hasta que el fracaso en la conducción nerviosa es completo.

1.5 Introducción a la microcirugía y sus técnicas.

Se entiende por *microcirugía* a aquella disciplina quirúrgica que necesita de la asistencia de magnificación visual por medio del microscopio. La *cirugía microvascular* se define como la coaptación de estructuras vasculares realizadas bajo aumento de microscopio iluminado¹¹⁴. Este término se ha hecho equivalente al de microcirugía reconstructiva cuando se asocia a la transferencia de colgajos.

Curva de aprendizaje. Estudios retrospectivos han demostrado que el factor crítico más importante para el éxito de la microcirugía es un elevado nivel técnico. Las mayores tasas de éxito se han logrado tras largas curvas de aprendizaje, pudiendo alcanzar hasta un 96 ó 97% de éxitos al final de las mismas^{115,116}.

Instrumentos. El microscopio quirúrgico permite magnificaciones del campo operatorio hasta $\times 40$ aumentos. La ergonomía es de vital importancia y la orientación del campo quirúrgico debe modificarse de acuerdo a la localización anatómica. El material instrumental se fabrica habitualmente de acero inoxidable. Las tijeras de microcirugía que se utilizan para disección son curvas, poseen puntas redondas y un retroceso suave. Las tijeras de microcirugía utilizadas específicamente para la preparación adventicial son rectas y con punta fina. Los porta agujas microquirúrgicos presentan también retroceso suave y se pueden manejar con el dedo índice y el pulgar. Las pinzas de microcirugía presentan puntas muy finas, en especial las del número 5. Para la consecución de las anastomosis microvasculares es necesario el uso de *clamps* específicos para dicho tamaño. Los clamps deben mantener ocluido el flujo vascular sin lesionar el vaso¹¹⁷. El coagulador bipolar es un instrumento imprescindible para lograr un campo exangüe. Tiene la ventaja de permitir la coagulación de tejidos sólo en el lugar localizado justo entre sus puntas. El uso

del instrumental debe tener lugar en una posición adecuada. Las muñecas deben reposar estables sobre una superficie y la mano debe sostener el instrumento suavemente pero con firmeza. Las suturas se encuentran en el rango desde 7-0 hasta 12-0 y van montadas sobre agujas de acero de $\frac{3}{8}$ de circunferencia y diámetros entre 30 y 150 μm , siendo la más habitual de 75 μm ¹¹⁸.

Requerimientos técnicos. El primer paso consiste en el entrenamiento en laboratorio. Los condicionantes previos para el éxito son la calma y la paciencia. Es necesario que el cirujano pueda concentrarse sin otras obligaciones o interrupciones. Las pausas para el descanso son importantes ya que la fatiga limita la destreza. La planificación es importante para una ejecución adecuada. El acceso más confortable, las incisiones correctas y la posición del sujeto y del cirujano son importantes. La colocación del colgajo en el lugar receptor debe tener en cuenta la edematización postquirúrgica y el riesgo de sangrado. En general la colocación es más sencilla si tiene lugar antes de realizar las anastomosis, aunque el control del sangrado puede ser más difícil. Es vital el uso de vasos receptores sanos donde realizar la anastomosis. Los vasos sanos suelen presentar sus envolturas intactas y son fácilmente disecables. Los vasos traumatizados o irradiados suelen ser difíciles de exponer. El estudio de los vasos receptores por medio de angiografía no ha demostrado suministrar información importante siempre y cuando haya pulsos palpables presentes¹¹⁹.

Anastomosis microvasculares.

Técnica de disección. Durante la disección se debe mantener campo exangüe, por medio del uso de clips o coagulación bipolar. Los hematomas perivasculares aumentan el riesgo de vasoespasmo, inflamación local e isquemia de la pared arterial. El sangrado puede lavarse con suero salino además ayuda a mantener un ambiente húmedo y a evitar la desecación de los vasos. Durante el proceso de anastomosis la irrigación suele realizarse con

suero heparinizado. Algunos estudios han demostrado que el suero heparinizado no es superior en la prevención de trombosis que el suero salino¹²⁰.

Preparación de los vasos. Los vasos poseen tres capas. La capa más interna se denomina *túnica íntima* y se encuentra formada por el endotelio apoyado sobre la lámina basal. Por encima se encuentra una capa subendotelial compuesta por tejido conectivo adyacente a la lámina elástica interna, que separa esta capa de la *túnica media*. La túnica media consiste en tejido muscular liso muy desarrollado en las arterias, a veces imperceptible en las venas. Se encuentra cubierta en su porción externa por una *membrana elástica externa*, que la separa de la *túnica adventicia*. Ésta se compone de un tejido areolar que contiene el *vasa vasorum* que se encarga de nutrir al propio vaso¹²¹.

La clave para la disección vascular es el avance entre el vaso y la vaina que le rodea¹²². Tras seccionar esta vaina el vaso puede disecarse bien por medios romos o afilados. Las ramas pueden ser ligadas o coaguladas según sean de mayor o menor tamaño, respectivamente. Los vasos son disecados hasta lograr una longitud suficiente para la anastomosis con los vasos receptores sanos. Un exceso de longitud puede ser perjudicial ya que puede provocar una rotación o un acodamiento del pedículo. Una disección de longitud insuficiente puede producir la trombosis de las anastomosis por un exceso de tensión. Los vasos deben seccionarse transversalmente evitando la proximidad de válvulas para el caso de las venas. La túnica adventicia debe ser eliminada de la zona de la anastomosis ya que su interposición en la zona de anastomosis tiene un efecto trombogénico¹²². Su resección se realiza por medio de microtijeras de adventicia. La eliminación de la adventicia tiene como efecto ventajoso añadido la retirada concomitante del sistema nervioso simpático vascular, favoreciendo la vasodilatación. La manipulación vascular tiene un efecto vasoespásmico que puede ser tratado mediante adventiciectomía e

irrigación de lidocaína al 2% o bien papaverina 30 mg/ml¹²³. La hipovolemia, la hipotermia y el dolor favorecen el vasoespasmo.

Todavía no se ha elucidado el orden de reparación más ventajoso. En general se debe comenzar por los vasos que se localicen más profundos. En igualdad de condiciones la reparación de la arteria en primer lugar disminuye el tiempo de isquemia caliente, pero tiene el inconveniente de un mayor sangrado. Por el contrario se puede permitir la oclusión arterial temporal hasta que se termine de realizar la anastomosis venosa¹²⁴. La reparación de una o dos venas no parece tener un efecto beneficioso en la supervivencia de los colgajos¹²⁵.

Los principales fallos en las anastomosis vasculares incluyen el rasgado vascular, el escape sanguíneo, el estrechamiento vascular, la sutura de la pared posterior y la inclusión de la túnica adventicia¹²⁶. El rasgado de la pared vascular ocurre cuando se realiza la anastomosis bajo un exceso de tensión o cuando la resección adventicial resulta excesiva. El escape sanguíneo ocurre cuando la distancia entre dos suturas es excesiva o cuando se produce el sangrado por alguna rama pequeña próxima a la anastomosis. Los escapes, incluso muy pequeños, producen un trombo que puede obstruir la luz del vaso. El estrechamiento vascular puede ocurrir por suturas con exceso de mordida, por cruce entre diferentes nudos o por suturas continuas excesivamente tensas. La sutura de la pared posterior es un error técnico que consiste en incluir la pared posterior del vaso en el nudo provocando la oclusión de la luz. Se puede evitar abriendo la luz vascular con las pinzas y manteniéndola irrigada.

Técnica de sutura. El objetivo es realizar la anastomosis con el mínimo número de suturas que eviten el escape de sangre. La aguja se sostiene con el porta agujas microquirúrgico en la mano dominante, mientras que en la contralateral las pinzas microquirúrgicas sostienen el vaso cogido sólo la adventicia. La mordida en la pared vascular viene determinada por el grosor de la pared, de la aguja y del hilo. Como regla general la distancia entre dos

suturas debe ser la misma que la distancia de la mordida. El nudo debe ser doble para a continuación terminarlo con una vuelta inversa sencilla. La tensión del nudo debe vigilarse visualmente y debe terminar cuando las dos paredes vasculares se tocan¹²⁶.

Sutura termino-terminal interrumpida. Es el tipo de sutura más frecuente y se puede utilizar tanto en arterias como en venas. En primer lugar se sutura la pared posterior, procediendo seguidamente a suturar a ambos lados alternativamente hasta finalmente alcanzar la porción más anterior. Esta técnica permite siempre visualizar la pared posterior.

Sutura término-lateral. Se utiliza cuando se considera que el vaso receptor debe permanecer en continuidad, o bien cuando se evidencia una gran discrepancia de tamaños. Este tipo de anastomosis requiere una preparación especial del vaso receptor. Se colocan clamps tanto proximal como distalmente a la zona seleccionada para la anastomosis. Se retira la adventicia y se realiza la arteriotomía longitudinal mediante la resección de un segmento mínimo de la pared vascular. Los vasos se colocan en posición mediante dos suturas en los extremos opuestos de la anastomosis. Seguidamente se procede a la sutura de la pared posterior, que es más difícil de controlar y después se sutura la pared anterior¹²⁶.

El tiempo de isquemia hasta la restauración del flujo vascular no ha demostrado ser un factor estadísticamente significativo en el éxito de la transferencia microvascular de tejidos^{127,128}. Existe evidencia experimental de que la perfusión tisular con solución heparinizada disminuye la lesión por isquemia/reperfusión (I/R), sin embargo no se observado ninguna repercusión clínica de este hecho¹²⁹.

La permeabilidad de las anastomosis vasculares se comprueba de diferentes maneras: sangrado activo distal a la anastomosis, presencia de pulso transversal, relleno vascular y prueba de patencia. Normalmente las

anastomosis arteriales obstruidas presentan un pulso longitudinal y el segmento distal a la anastomosis aparece vacío. Cuando la anastomosis venosa se encuentra obstruida se produce un sangrado excesivo del colgajo en zonas que previamente nos sangraban y se acompaña de un cambio de color, a más oscuro en la vena distal a la anastomosis, mientras que la vena proximal a la anastomosis permanece vacía. El paso directo de sangre a través de una anastomosis puede ser evaluado por medio del test de patencia. Éste debe realizarse con gran delicadeza para no lesionar la capa íntima. Consiste en ocluir la arteria distal a la anastomosis con una pinza mientras se exprime el segmento hacia distal con otra pinza. Al liberar la pinza proximal puede comprobarse el relleno de sangre. De igual manera pero en sentido inverso puede evaluarse la anastomosis venosa. En cuanto a la monitorización clínica del tejido transferido, se incluyen la observación del color, relleno capilar, sangrado y volumen del tejido¹²⁶.

1.5.1 Reparación microquirúrgica de nervio periférico.

El éxito de la reparación nerviosa depende del nivel de lesión, del tipo de lesión y su extensión, de las destrezas técnicas, del tipo de técnica utilizada, de la anatomía fascicular en la zona de lesión y de las condiciones fisiológicas del paciente.

Los principios de reparación microquirúrgica del nervio periférico (*neurorrafia*) fueron establecidos por Hanno Millesi en 1973¹³⁰. Entre ellos se encuentran: adecuada magnificación, de al menos $\times 4$ con la ayuda de lupas o de microscopio, utilización de suturas de nylon de 9-0 y 10-0 interrumpidas, y preparación de los extremos mediante sección transversa. La aproximación de los cabos debe tener como objetivo maximizar la captura de axones mediante la coaptación termino-terminal de los extremos. Si bien una sutura directa sobre el perineuro o el epineuro puede dar sensación de coaptar los fascículos, puede resultar en un giro del fascículo o en una unión excesivamente tensa. La primera sutura a dar debe ser intencionadamente holgada para afinar la

alineación fascicular con las siguientes suturas. Es preferible un mejor contacto termino-terminal que una sutura perfectamente sellada. Finalmente se debe corregir la presencia de fascículos evertidos fuera de la neurorrafia^{64,131}.

La tensión en la reparación nerviosa afecta negativamente a la regeneración. Un nervio de rata que haya sido elongado un 8% recibe hasta un 50% menos de flujo vascular¹³². En el momento de la reparación debe evaluarse la tensión y plantear la necesidad de interponer injertos de nervio. Las reparaciones nerviosas deben ser evaluadas intraoperatoriamente en todo el rango de movilidad articular. Las posturas para disminuir la tensión pueden afectar a la extremidad aumentando su rigidez y no deben sustituir a los injertos de nervio. Los extremos nerviosos pueden ser disecados a lo largo de 2 cm para lograr una sutura sin tensión. La elección entre reparación primaria o mediante interposición de injertos de nervio se discute más adelante.

Reparación epineural frente a fascicular. La cuestión sobre qué tipo de técnica es superior todavía está sujeta a debate y no existe un estudio randomizado que haya podido dar respuesta al mismo. Entre las ventajas de la reparación fascicular se encuentra la mejor oportunidad de guía mediante alineación quirúrgica. Entre sus desventajas se encuentra la limitación técnica por la necesidad de mayor manipulación y mayor cicatriz, la distorsión de los fascículos por topografía alterada o no concordante y el sangrado, edema o cicatriz acompañante en los muñones. Si no se logra la concordancia los fascículos reparados pueden quedar completamente excluidos⁶⁴. En casos concretos como la lesión de la rama motora del nervio cubital a nivel de la muñeca, la reparación fascicular debe ser intentada siempre ya que la topografía fascicular es favorable y fácilmente reconocible y a falta de una correcta reparación no habrá regeneración clínicamente significativa^{133,134}.

La monitorización de las reparaciones de nervio periférico se asienta en la evolución del signo de Tinel durante el periodo de recuperación⁶⁴. Tras la neurorrafia las fibras nerviosas en regeneración avanzan cruzando la sutura

transcurridas tan sólo 24 horas. El signo de Tinel progresa a una velocidad que oscila entre 1 y 3 mm/día. Esta progresión se puede evaluar si los injertos se encuentran localizados en el tejido subcutáneo ya que la percusión de los axones en crecimiento es más fácil. Finalmente tiene lugar la inervación sensitiva, simpática y motora. En primer lugar se recuperan las fibras amielínicas y las fibras mielínicas más finas, restaurando la sensación de temperatura y dolor. Al mismo tiempo la inervación simpática promueve el retorno de la sudoración, por lo que la piel glabra deja de presentar apariencia suave y seca. Seguidamente retorna la percepción por medio de los corpúsculos de Meissner, detectando estímulos vibratorios de 30 Hz y luego la sensibilidad de movimiento, tacto constante y por último la vibración de 256 Hz. Los músculos comienzan a presentar tono muscular, para después presentar contracción voluntaria y finalmente retorno de la potencia de contracción⁶⁴. La reinervación inicial se sigue de una mayor densidad de reinervación. El resultado final depende de la densidad de reinervación y se alcanza aproximadamente 30 meses después de la reconstrucción.

Después de la reconstrucción las pruebas electrodiagnósticas (EDX) deben solicitarse juiciosamente y deben ser interpretados con precaución. La presencia de conducción nerviosa no se relaciona con la densidad de reinervación. Si bien el EEA puede detectar reinervación antes de que ésta sea clínicamente visible, la evidencia de recuperación EDX no implica una recuperación clínica futura^{64,105}.

1.5.2 Examen histológico de lesiones de nervio periférico.

En las preparaciones histológicas de nervio periférico la mielina de cada segmento aparece interrumpida por fisuras oblicuas conocidas como hendiduras de Schmidt-Lantermann. Estas hendiduras constituyen áreas de separación de las láminas mielínicas envueltas en espiral. Las zonas situadas entre estas láminas contienen el citoplasma de las células de Schwann. La relación exacta entre el axón y la vaina de la célula de Schwann no puede observarse directamente con el microscopio óptico. Los métodos ordinarios de preparación histológica eliminan la mielina y dejan sólo un retículo artefacto de proteína residual denominado *neuroqueratina*. El artefacto de neuroqueratina se observa sólo cuando los axones se encuentran rodeados por la vaina de la célula de Schwann⁶⁹.

El artefacto de neuroqueratina es una manera indirecta y sencilla de objetivar la presencia de células de Schwann espiralizadas y enrolladas alrededor de los axones para darles soporte mielínico. Su ausencia tras la lesión axonal traduce la ausencia de axones mientras que su presencia indica la remielinización de fibras nerviosas⁶⁹.

1.5.3 La región mistacial.

La región mistacial es una unidad sensitivo-motora facial altamente especializada en los roedores¹³⁵. La región mistacial se encuentra en el hocico de la rata (Figura 5) y contiene las vibrisas (o bigotes) a modo de pelos largos táctiles que se originan en los folículos pilosos organizados por filas^{135,136}. Las ratas mueven sus vibrisas de forma coordinada y rítmica para adquirir información táctil del ambiente¹³⁶.

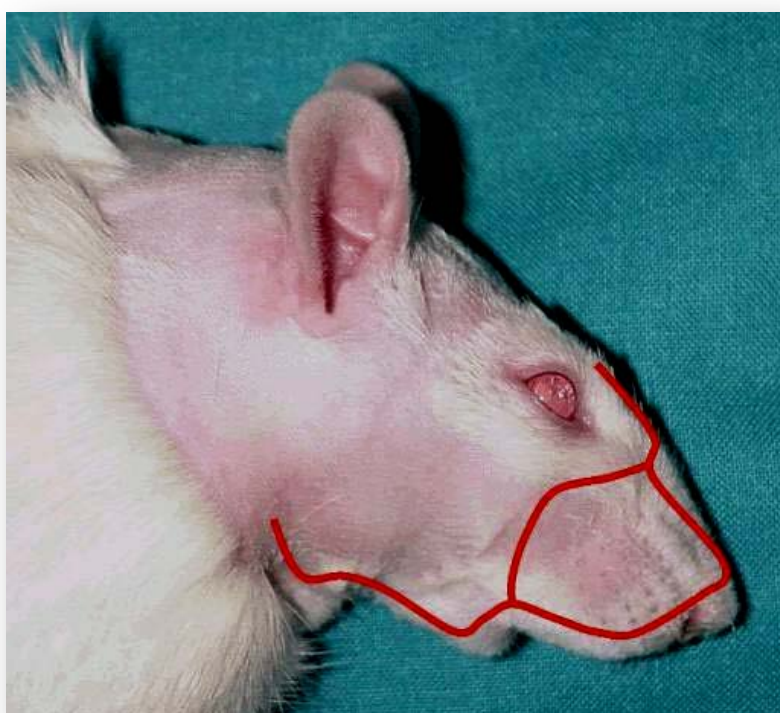


Figura 5: Delimitación de la región mistacial. La región mistacial, o de los bigotes, aparece demarcada en la figura con líneas rojas. (Reproducido con permiso: Landin L, Cavadas PC. The mystacial pad flap. A functional facial flap in rats. *Ann Plast Surg.* 2005;56:107-8)

El contacto de las vibrisas con diferentes texturas origina diferentes vibraciones. Estas vibraciones generan señales asociadas a la velocidad y a la posición angular de la vibrisa. La combinación de ambas es utilizada por la rata para elucidar las variaciones espaciales de su entorno y en particular la localización de los objetos en referencia a coordenadas centradas en su cabeza¹³⁷.

La compleja organización estructural de las vibrisas y su correlación a nivel del sistema nervioso central han sido objeto de múltiples estudios¹³⁷. La extensa representación cortical de las vibrisas traduce su gran importancia, hasta el punto que ha mostrado tener más peso en la exploración ambiental que la visión¹³⁸. Otros autores han demostrado la importancia de las vibrisas en aspectos como la agresión o el nado¹³⁹. Ciertos experimentos han demostrado que las vibrisas permiten distinguir entre objetos esparcidos en el espacio, con una discriminación sensitiva que rivaliza con la humana¹⁴⁰⁻¹⁴². Algunas observaciones experimentales han mostrado que los animales eran capaces de distinguir variaciones en la distancia de tan sólo 5%, así como capacidad para distinguir objetos por su forma y tacto¹⁴³.

Las vibrisas constituyen haces cónicos delgados que pueden ser estudiados según sus características de plegado y frecuencia de vibración. Las células de Merkel de los folículos de las vibrisas recogen las vibraciones de los haces¹⁴⁴. Las vibrisas son constantes en su tamaño y distribución espacial. En el fenotipo estándar de la rata, los folículos mustaciales se encuentran ordenados en cinco filas (A, B, C, D, E) y una columna localizada caudalmente (Figura 6). Las filas A y B tienen cuatro folículos cada una, mientras que las filas C, D y E presentan entre nueve y doce. Cada uno de los folículos presenta una proyección somatotópica precisa en el sistema nervioso central¹³⁶.

Los movimientos de los folículos están controlados por el nervio facial, que inerva los músculos intrínsecos y extrínsecos (Figura 6 y Figura 7). Los músculos intrínsecos se encuentran confinados en la región mustacial, forman

un cabestrillo alrededor de cada folículo y su contracción produce la proyección hacia adelante de las vibrisas. Los músculos extrínsecos forman puentes desde la superficie misticial hasta inserciones fuera de la misma. Entre ellos se incluyen los músculos *nasolabialis*, *maxillolabialis* y *levator labii superioris*. Su contracción produce el movimiento de retracción de la vibrisa mediante el giro del folículo en relación al orificio de salida del pelo^{135,145}.

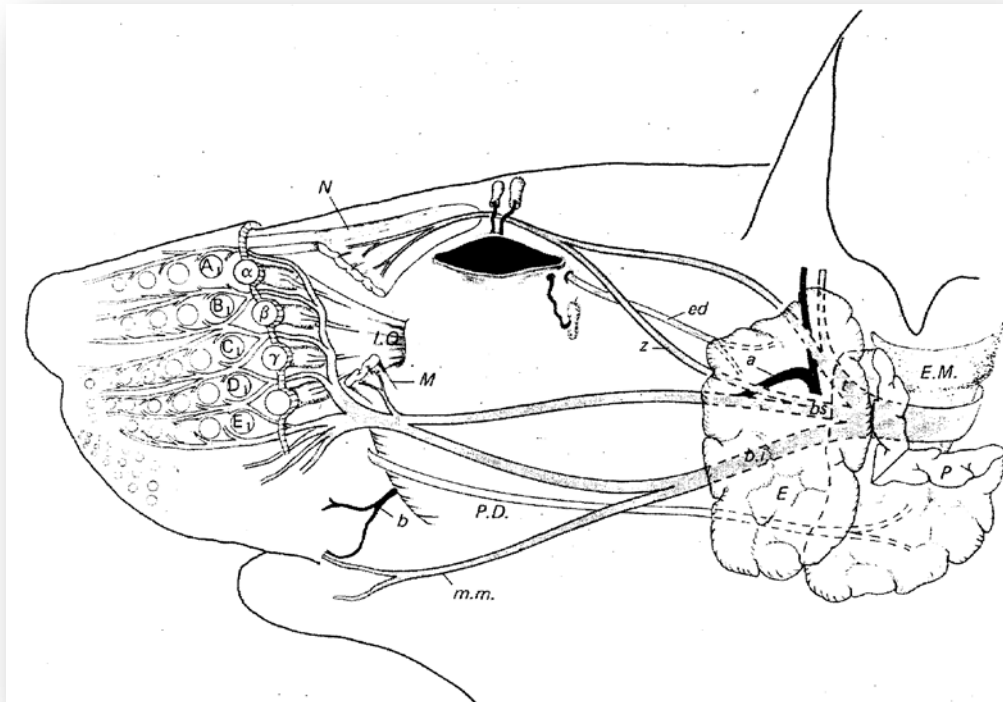


Figura 6: Anatomía de la región mistacial. En la figura se observa la región mistacial, la disposición de los folículos de las vibrisas, la musculatura extrínseca y su innervación por los nervios facial e infraorbitario. A, B, C, D y E representan las cinco filas de vibrisas, mientras que α , β y γ representan la columna caudal. Los folículos de las vibrisas recogen la sensibilidad que se transmite por el nervio infraorbitario (I.O.). La musculatura extrínseca de las vibrisas se inerva por ramas del nervio facial. El músculo *nasolabialis* (N) se encuentra innervado por la rama zigomático-orbitaria (z), mientras que el músculo maxilolabialis (M) se encuentra innervado por la rama bucolabial, tras reunirse la bucolabial superior (bs) y la inferior (bi) y la marginal mandibular (m.m.) (Reproducido con permiso: Dorfl J. The innervation of the mystacial region of the white mouse: A topographical study. *J Anat* 1985;142:173-84).

Los músculos intrínsecos del bigote están controlados por la rama bucolabial (BL) y marginal mandibular superior (MMs) del nervio facial. El músculo *nasolabialis* se encuentra innervado por la rama zigomático-orbitaria (ZyO), mientras que el *levator labii superioris* y el maxilolabialis se encuentran

inervados por las ramas BL y MMs del nervio facial, respectivamente. La rama infraorbitaria (IO) del nervio trigémino recoge la sensibilidad de los folículos (Figura 6)^{135,145}.

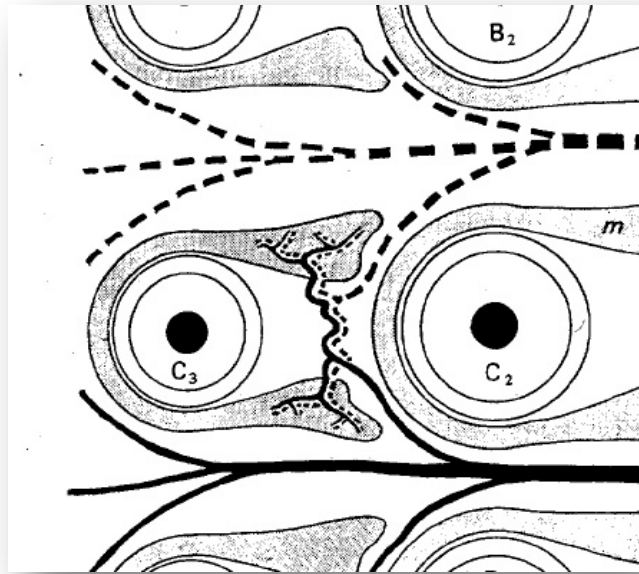


Figura 7: Musculatura intrínseca de los folículos y su inervación. Corte transversal de los folículos, ordenado por filas (C) y su musculatura (m).

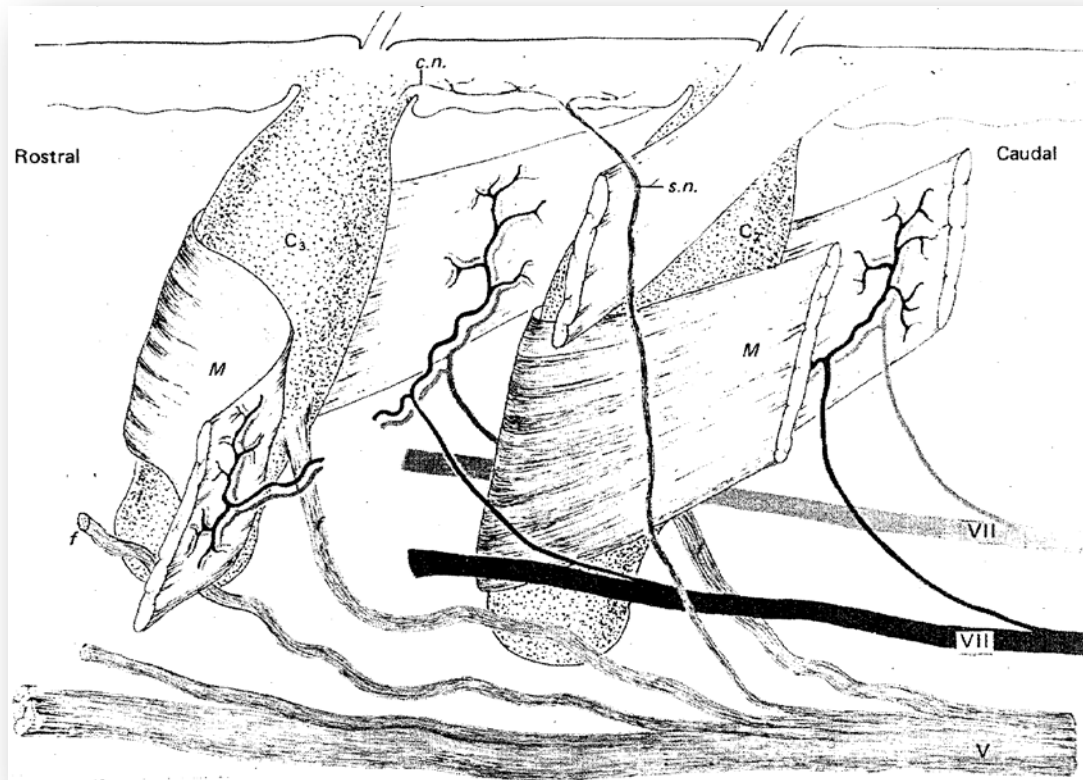


Figura 8: Musculatura intrínseca de los folículos y su innervación. Representación anatómica de los folículos (C), su musculatura intrínseca (M) y su innervación. Cada uno de los folículos se encuentra rodeado por un músculo intrínseco a modo de cabestrillo. Cada uno de estos músculos intrínsecos es innervado por una rama del nervio facial (VII). La sensibilidad de cada folículo es recogida por una rama del nervio infraorbitario (V), además de ramas sensitivas que llegan directamente hasta la piel (s.n.). (Reproducido con permiso: Dorfl J. The innervation of the mystacial region of the white mouse: A topographical study. *J Anat* 1985;142:173-84).

1.5.4 La rata en el contexto del trasplante experimental.

Los roedores son una especie utilizada en experimentación biológica por su coste reducido, fácil manejo en cautividad, necesidad de instalaciones relativamente sencillas y pequeñas, alta tasa de reproducción y ciclo vital corto. La rata del laboratorio deriva de la rata salvaje marrón o «*Rattus Norvegicus*». Las razas más comunes en el laboratorio son las albinas Sprague-Dawley y Wistar-Lewis, que son muy dóciles. Las ratas albinas presentan pelo blanco excepto en la cola, patas y pies y las orejas, siendo en éstas últimas donde mejor puede observarse su piel rosada¹⁴⁶.

El complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) del *Rattus norvegicus* se denomina RT1¹⁴⁷. Al igual que otros mamíferos es altamente polimórfico y se han detectado múltiples haplotipos en diferentes líneas de consanguinidad. Algunos laboratorios han creado líneas consanguíneas para RT1 de gran utilidad en investigación de trasplantes. El orden de los genes que codifican las moléculas de clase I y II del sistema RT1 es bien conocido¹⁴⁷. Presentan locus denominados A, B, D y C/E. A y C/E son de clase I, mientras que B y D son de clase II. A, B y D presentan fuerte antigenicidad, mientras que C/E presenta una antigenicidad más débil. Toda la fuerza antigénica reside en la región RT1A, que se expresa en las células de todos los tejidos de la rata, incluyendo los glóbulos rojos. Las moléculas de clase II de la región RT1B y D tienen una distribución más restringida, encontrándose en linfocitos B, macrófagos, células dendríticas, células de Langerhans y túbulos renales, pero no en los glóbulos rojos¹⁴⁷.

En cuanto a su anatomía vascular, ambas arterias carótidas comunes (ACC) se originan del cayado aórtico y se dividen en arteria carótida externa (ACE) y arteria carótida interna (ACI). La ACE da numerosas ramas, incluyendo la arteria occipital, faríngea ascendente, tiroidea superior, lingual, palatina

ascendente, maxilar, maseterina, auricular y temporal superficial. La vena yugular externa (VYE) es la principal vena superficial del cuello, discurre posterior al músculo esternocleidomastoideo (ECM) y prosigue muy superficial hasta la clavícula, donde confluye con la con la vena axilar para formar la vena subclavia¹⁴⁸.

La vida media de la rata estabulada es de un año y medio. La temperatura corporal oscila entre 34,5 °C y 40 °C, con un promedio de 38,2 °C. La traspiración tiene lugar en las palmas. La cola es el órgano implicado en la mayor pérdida de calor. Su volumen sanguíneo es de 58 ml/Kg. La frecuencia cardiaca oscila entre 250 y 600 sistoles/min, mientras que el promedio de respiraciones es de 90 por minuto. Presentan más actividad durante la noche y practican la coprofagia de forma habitual.

En cuanto a los requerimientos de estabulación, la temperatura ambiente debe permanecer entre 20 y 27 °C, con una humedad de 45-60%. La superficie de la jaula de estabulación suele rondar los 0,04 m², y debe ser cómoda e higiénica con libre acceso al agua y comida. Las jaulas son fabricadas con acero inoxidable y plástico transparente y deben estar rellenas de virutas de madera, lavándose dos o tres veces por semana. Tras la intervención quirúrgica la rata se deposita en una jaula aclimatada con paños limpios, para trasladarse a una de virutas en 48 horas.

La anestesia en cirugía experimental permite la realización de procedimientos quirúrgicos sin dolor y facilita el manejo del animal después de la intervención.

Por vía inhalatoria, el anestésico más frecuentemente utilizado es el éter. Se trata de un líquido muy volátil que se puede suministrar en forma de vapor. Tiene un efecto rápido, así como su despertar. Se utiliza como inductor anestésico ya que su manejo en intervenciones complicadas es ciertamente difícil e impide el uso de coagulación por diatermia.

El *diazepam* es una droga derivada de la 1,4-benzodiazepina, con propiedades ansiolíticas, miorrelajantes, anticonvulsivantes y sedantes. El diazepam es usado para tratar estados de ansiedad y tensión, y es la benzodiazepina más efectiva para el tratamiento de espasmos musculares. Actúa deprimiendo la conducción nerviosa en las neuronas del sistema nervioso central, produciendo desde una leve sedación hasta hipnosis o coma en función de la dosis administrada. Su mecanismo de acción consiste en potenciar o facilitar la acción inhibitoria del neurotransmisor ácido γ -aminobutírico, mediador químico de la inhibición tanto en el nivel del botón presináptico como postsináptico, en todas las regiones del sistema nervioso central.

La *ketamina* es una arilcicloalquilamina con efecto analgésico y anestésico que alcanza rápidamente el sistema nervioso central, para más tarde distribuirse por el resto del tejido adiposo. La vida media es de aproximadamente dos horas y se producen alucinaciones tras finalizar su efecto. Este fármaco permite realizar una *anestesia disociativa* que consiste en la separación de los sistemas límbico y tálamo-cortical. Se acompaña de analgesia y amnesia, sin perder la capacidad motora. Su efecto analgésico se debe a su competición por el receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), disminuyendo los efectos de la sensibilización central secundarios a la suma de estímulos nociceptivos. A nivel cardiovascular puede producir hipotensión por su efecto analgésico, mientras que a nivel neurológico no afecta a la ventilación¹⁴⁶.

La atropina es un agente con acción parasimpaticolítica que disminuye la salivación y secreción de moco nasofaríngeo que habitualmente acompaña al uso de éter o barbitúricos¹⁴⁶.

2.HIPÓTESIS DE TRABAJO.

El presente trabajo ha sido diseñado para evaluar el retorno de la función motora y sensitiva en la región masticial tras un trasplante facial en ratas, bajo monoterapia de inmunosupresión con tacrolimus, por medio de la exploración clínica, métodos electrodiagnósticos e histológicos.

Se establece como *hipótesis nula* (H_0) que la reparación de los nervios facial e infraorbitario no tiene efecto sobre la recuperación sensitiva y motora de la región masticial en el contexto de un trasplante hemifacial en ratas. Como *hipótesis alternativa* (H_1), se sostiene que la reparación de los nervios facial e infraorbitario tiene efecto sobre la recuperación sensitiva y motora de la región masticial en el contexto de un trasplante hemifacial en ratas.

Además se establecieron los siguientes objetivos secundarios:

1. Conocer la vascularización del integumento facial en la rata.
2. Verificar la anatomía quirúrgica del nervio facial en la rata.
3. Adquirir destrezas técnicas microquirúrgicas.

3.MATERIAL Y MÉTODO.

3.1 Animales.

Todos los animales utilizados en el presente estudio recibieron trato de acuerdo con la Directiva del Consejo de Europa del 24 de noviembre de 1986. El proyecto contó con los requisitos establecidos en el RD 223/1988 y fue aprobado por el Comité Ético de Experimentación Animal y la Comisión de Investigación del Hospital Universitario la Fe, con fecha 30 de Junio de 2005.

Se seleccionaron ratas de entre 250 y 400 gramos, de dos familias no consanguíneas: Wistar-Lewis (LEW) haplotipo RT1^l y Lewis Brown-Norway (LBN) RT1ⁿ (Harlan Interfauna Ibérica, Barcelona).

Todos los procedimientos se realizaron bajo condiciones de asepsia. Durante las intervenciones los animales se mantuvieron calientes con manta eléctrica a 37°C. La anestesia se indujo utilizando una mezcla de ketamina 25 mg + diazepam 20 mg + atropina 1 mg, administrando 1 ml por vía subcutánea por cada 300 g de peso. El pelo de la cabeza y cuello fue rasurado y acondicionado con clorhexidina acuosa 0,05%. Como suplemento de fluidos durante la intervención y en el postoperatorio (1 día) se utilizó solución lactada de Ringer a razón de 5 ml/8h por vía subcutánea. La región ocular se protegió con pomada epitelizante. Tras la intervención los animales se aislaron en celdas individuales en condiciones estándar, suministrando pienso y agua a demanda. La analgesia postoperatoria se realizó administrando metamizol 2 mg/Kg/12h durante los primeros 2 días postoperatorios.^{149,150} También se administró profilaxis antibiótica con ciprofloxacino 4 mg/Kg/12h durante 2 días.

3.2 Grupos experimentales.

Un total de 48 animales fueron estudiados en tres grupos experimentales. En el grupo I 12 ratas LEW fueron utilizadas para el ensayo de la técnica y realización de estudios angiográficos del colgajo. En el grupo II (grupo estudio vascular, n = 12) se realizaron trasplantes hemifaciales no vascularizados con el objetivo de elucidar si el colgajo hemifacial podría sobrevivir a modo de injerto de piel total, sin necesidad de reparaciones vasculares.

En el grupo III se trasplantaron un total de 24 aloinjertos hemifaciales con reparación vascular cruzando el CMH desde ratas LBN RT1ⁿ a ratas LEW RT1^l. El grupo III se dividió a su vez en dos subgrupos dependiendo de las reparaciones realizadas en los nervios facial e IO. En el subgrupo III_a (grupo control, n = 12) no se realizó reparación nerviosa, creando un defecto nervioso de 10 mm en los nervios facial e IO y coagulando los extremos de los nervios. En el subgrupo III_b (grupo de reinervación, n = 12) los aloinjertos hemifaciales se acompañaron de neurorrafia microquirúrgica primaria (Tabla 2, pág. 75).

Tabla 2: Diseño de los grupos experimentales

Grupo	Propósito	Denominación	Características del colgajo hemifacial	Muestra; resultado; días de supervivencia
I	Ensayo del colgajo	Estudio anatómico	Técnica quirúrgica	n = 12
II	Viabilidad del trasplante	Estudio vascular	No vascularizado	n = 12; 100% necrosis
III	Aloinjerto Vascularizado	Grupo control: III _a	Sin neurorrafia	n = 12; 66,67% supervivencia; 56,56,0,56,56,21,56,0,56,56,40,56
		Grupo reinervación: III _b	Con neurorrafia	n = 12; 83,33 % supervivencia; 56,56,56,0,56,56,56,56,56,32,56,56

(Traducido y modificado con permiso: Landin L, Cavadas PC, Gonzalez E, et al. Functional outcomes after facial allograft transplantation in rats. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008;61:1034-43).

3.3 Técnica quirúrgica.

En el grupo de estudio anatómico (grupo I), se elevaron los colgajos hemifaciales y se sometieron a estudio angiográfico con contraste. Para ello se utilizó una modificación de la técnica de Rees¹⁵¹. Se dejó decantar un bote de 100 g de papilla de bario (Barigraf® 98%, Laboratorios Juste, Barcelona) durante 96 horas. Una vez desechado el sobrenadante, se mezcló el bario con gelatina (Royal®) y se añadieron 200 ml de agua hirviendo. Se mezcló vigorosamente y luego se inyectó por la arteria carótida común de forma pulsátil, dejando enfriar el espécimen en nevera durante 12 horas para luego radiografiar el tejido con técnica de 1,6 mA 42 kV a 60 cm de distancia.

Procedimiento del trasplante.

Preparación del donante. La disección se realizó de acuerdo con los modelos experimentales de trasplante facial revisados anteriormente¹⁵²⁻¹⁵⁸. La preparación del donante se inicia por una incisión hemicircunferencial en el cuello que pasa un centímetro por encima del yúgulo esternal y del borde superior de los hombros, continuando hacia atrás un centímetro por detrás de la oreja. Seguidamente se realiza otra incisión de forma elíptica rodeando el ojo dejando un margen de piel intacta alrededor de los párpados de aproximadamente 4 mm. La última incisión incluye desde la frente, continuando por el dorso nasal, para luego rodear la nariz y continuar por el margen externo de los labios (Figura 6 y Figura 13).

Después se disecan la porción cervical superficial del músculo platisma y las zonas anterior y lateral del cuello. Se localiza la vena yugular externa (VYE), resultado de la confluencia de las venas faciales anterior (VFA) y posterior (VFP) (Figura 9-b). Se ligan las ramas venosas que provienen que

llegan a la VFA y la rama arterial para la arteria facial que irrigan la glándula submandibular, para definitivamente extirpar dicha glándula (Figura 9-b).

Seguidamente aparece el músculo digástrico, del cual se secciona el tendón intermedio y se liga su pedículo vascular. Se desinsertan los músculos estilohioideo y omohioideo del cuerno posterior del hioides, que se secciona para abordar las ramas de la arteria carótida externa (ACE) una vez retirado el nervio hipogloso (Figura 9-a).

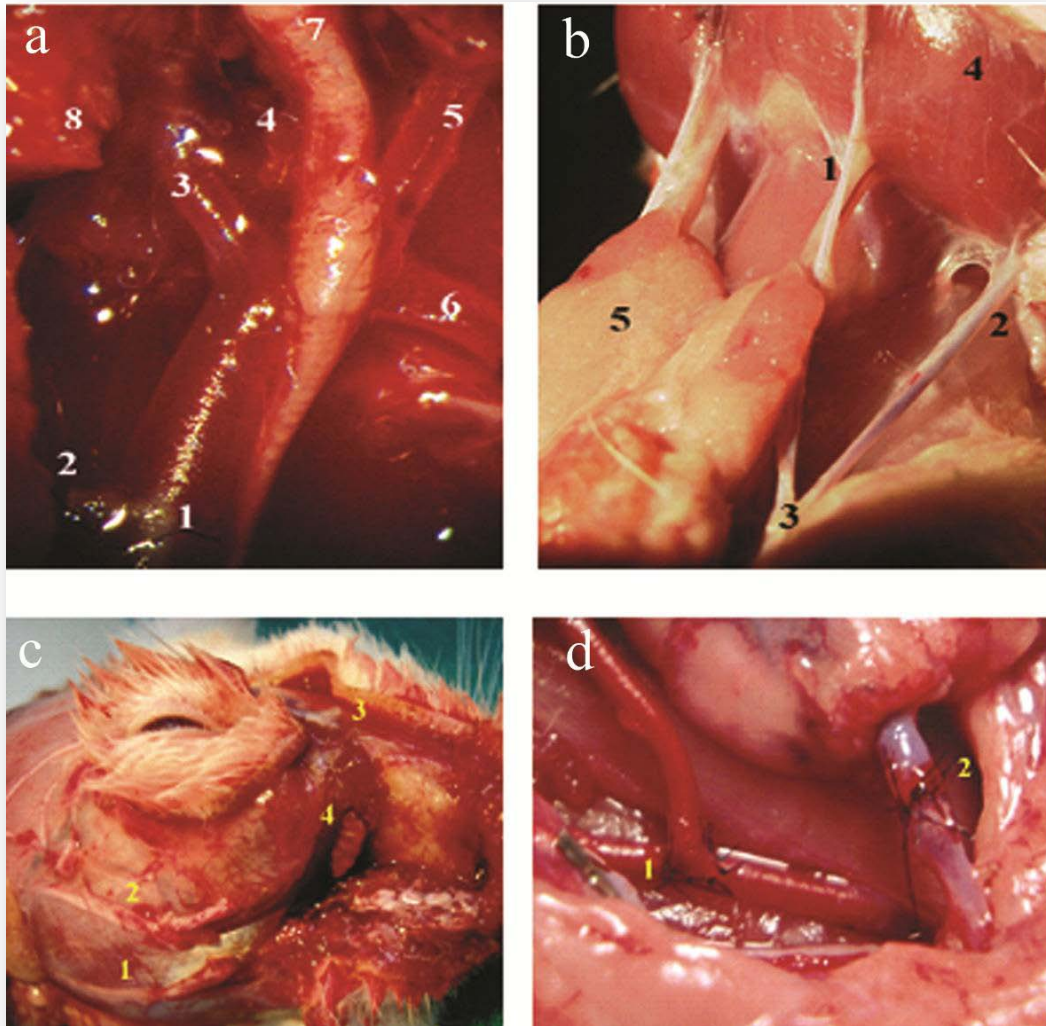


Figura 9: Anatomía quirúrgica de la región facial en ratas. (a) La arteria carótida externa, sus ramas y su relación con el nervio hipogloso. 1: arteria carótida externa; 2: arteria tiroidea superior; 3: arteria faríngea; 4: arteria lingual; 5: arteria facial; 6: arteria temporal superficial; 7: nervio hipogloso; 8: cuerno posterior del hioides (b) Drenaje venoso superficial. 1: vena facial anterior; 2: vena facial posterior; 3: vena yugular externa; 4: músculo masetero; 5: glándula submandibular. (c) Inervación de la región masticatoria. 1: rama marginal mandibular superior; 2: rama bucolabial; 3: rama zgomático-orbitaria; 4: nervio infraorbitario. (d) Anastomosis microvasculares. 1: arteria carótida común (término-lateral); 2: vena yugular externa (término-terminal).

Para el siguiente paso se coloca al animal en decúbito lateral. Se incide el músculo elevador auricular mayor y luego se separa la inserción del músculo esternocleidomastoideo (ECM) de la apófisis mastoides y de la apófisis paraoccipital del cráneo. Bajo este el músculo se secciona la rama auricular posterior del nervio facial. Se disecan la arteria y vena auriculares posteriores preservándolas ventrales al nervio auricular posterior. Por debajo y detrás de la oreja se secciona el nervio facial que emerge este nivel. En la salida del conducto auditivo externo (CAE) se identifica la arteria auricular posterior, la arteria temporal superficial y la arteria maxilar interna. La arteria maxilar interna se liga junto con los plexos venosos pterigoideo y faríngeo. Las arterias temporal superficial y auricular posterior se preservan para la correcta vascularización del colgajo y del pabellón auricular.

El animal es colocado ahora en posición decúbito prono. El colgajo se disecciona en el plano subgaleal y a través de las incisiones en la órbita, la nariz y los labios. Se profundiza en estas incisiones y se cauterizan las arterias labiales. Posteriormente se seccionan los músculos elevador del labio superior, *nasolabialis* y maxilolabialis. La rama ZyO del nervio facial se incluye en el colgajo, al igual que el nervio IO y sus terminaciones en los folículos pilosos del bigote. La disección continúa después justo en el plano submucoso de la mucosa oral para incluir la arteria y vena facial en el colgajo (Figura 9-c).

La disección continúa por debajo de periostio del hueso zygoma para alcanzar el músculo masetero e incluir las ramas BL y MMs del nervio facial (Figura 9-c). La arteria facial y sus ramas se disecan del fondo adherente del masetero ligando las pequeñas ramas que a éste le da. En la región submentoniana se liga la rama de la arteria facial para el mentón. Se continúa proximalmente la disección de la arteria facial hasta llegar a su salida de la ACE. Se ligan y seccionan las arterias tiroidea superior, lingual y faríngea ascendente.

Después se prepara la VYE para su sección creando el pedículo vascular del colgajo, basado en la arteria carótida común (ACC) y su división a nivel de ACE en arteria facial y arteria temporal superficial, y en las venas VFA y VFP que confluyen en la VYE (Figura 9-a y Figura 10).

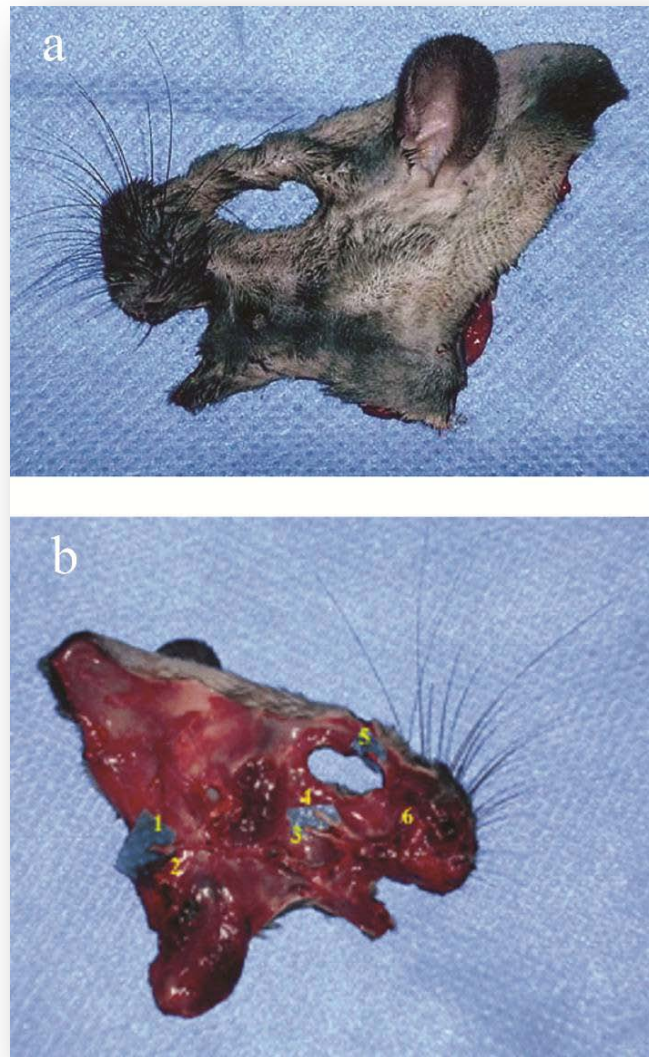


Figura 10: Colgajo hemifacial incluyendo la región mistacial. (a) Muestra una vista dorsal del colgajo hemifacial, incluyendo la región mistacial con los folículos de las vibrisas. (b) Muestra una visión volar del aloinjerto. 1: arteria carótida común; 2: vena yugular externa; 3: rama marginal mandibular superior; 4: nervio bucolabial; 5: nervio zgomático-orbitario; 6: región mistacial.

Preparación del receptor. Se eleva la piel del lado receptor a modo de injerto de piel total respetando la zona orbitaria y labial con márgenes de 4 y 2 mm respectivamente (Figura 9-c). La VYE se aísla ventral al músculo ECM y se prepara para anastomosis. Se desinserta el músculo ECM para exponer la ACC. Para evitar que se comprima la anastomosis y facilitar el procedimiento se sacrifica la mitad inferior del músculo ECM. Se deben respetar los nervios vago y frénico. Una vez creado el defecto se inserta el aloinjerto y se asegura mediante suturas de piel, reparando también el CAE con sutura absorbible de 5/0. Se realizan anastomosis término-laterales de la ACC con sutura de 10/0 y termino-terminal de la VYE con sutura 10/0 (Figura 9-d). Posteriormente reparan las ramas ZyO, BL, MMs del nervio facial mediante neurorrafia epineural con sutura 10/0. Por último se realizan las neurorrafias con preservando la anatomía fascicular del nervio infraorbitario (Figura 18). La cirugía termina con la sutura todo el colgajo utilizando material reabsorbible de 3/0 y en las regiones periorcular y peri-naso-oral con absorbible de 5/0, además de la administración de una dosis de fluidos de resucitación de 5 ml.

El animal se mantiene en asistido con manta térmica y aspiración laringo-traqueal durante una hora, para ser después aislado en una jaula de estabulación.



Figura 11: Neurorrafia del nervio infraorbitario.

Neurorrafia fascicular perineural del nervio infraorbitario.

3.4 Protocolo de inmunosupresión y valoración del rechazo.

El grupo III recibió tratamiento diario inmunosupresor con tacrolimus (Astellas, Pharma, Frankfurt, Alemania) durante todo el estudio. Se administró una pauta descendente comenzando con 8 mg/Kg/día en inyección subcutánea un día después del trasplante, hasta 2 mg/Kg/día al cabo de 2 semanas. Los animales fueron inspeccionados diariamente para comprobar daños o infección.

El rechazo agudo de los alotrasplantes de tejidos compuestos (ATC) en modelos experimentales tiene cierta similitud con el observado en humanos. El proceso de rechazo es indoloro y su inicio no ocurre con la observación de lesiones clínicas⁸. Hasta el momento, los estudios se han centrado en el rechazo sólo a nivel cutáneo, si bien otros compartimentos pueden verse afectados. La piel suele ser el primer compartimento afectado¹².

Los cambios clínicos que tienen lugar en los ATCs experimentales comienzan por eritema, seguido de edema y pérdida del vello. Después se produce la resolución del edema tras la caída del vello, para a continuación producir un exudado seroso, escarificación y necrosis seca⁸. Estos eventos suelen acompañarse de una caída en 5°C de la temperatura de una extremidad trasplantada, indicando una posible lesión isquémica acompañante¹⁵⁹.

Si bien existen múltiples escalas de rechazo publicadas, se han definido ciertos criterios comunes para diagnosticar el rechazo histológicamente. La tinción más utilizada para el diagnóstico ha sido la H-E¹⁶⁰. Entre las lesiones asociadas al rechazo se han encontrado vacuolización de las células de la lámina basal, progresando hasta ampollas y necrosis, pérdida de los folículos pilosos, epidermis engrosada, espongirosis, disqueratosis, infiltración linfocitaria, obliteración de los capilares dérmicos y necrosis cutánea¹⁶¹. El rechazo de los nervios periféricos contenidos en los ATCs incluye la presencia de infiltrados mononucleares, desechos de mielina, y pérdida de células de Schwann, mientras que la vascularización y vainas nerviosas permanecen intactas¹⁶².

La presencia de cambios clínicos que indicaran la presencia de rechazo agudo fue evaluada en todos los animales.

3.5 Valoración clínica, EDX e histológica.

Tras seis semanas los animales receptores fueron explorados clínicamente y mediante pruebas EDX. La exploración clínica consistió en evaluar la respuesta a la tracción de las vibrisas, asignando un valor a las respuestas de defensa o de huida como positivo y la falta de respuesta como negativo.

Las pruebas EDX fueron realizadas por un neurofisiólogo desconocedor del procedimiento de reparación nerviosa. Los animales fueron sedados con ketamina intraperitoneal (10 mg/Kg) para el estudio del nervio facial y de la musculatura mistacial mediante ECN motora y EEA en reposo y voluntarios.

Dado el limitado tamaño del animal se utilizaron electrodos de aguja en los ECN. Los ECN sensitivos no se realizaron debido al corto recorrido del nervio IO. Los ECN motora se realizaron tomando como punto de estimulación la salida del nervio facial a nivel del CAE con dos agujas monopolares separadas 3 mm entre el electrodo activo y el referencial. En la región mistacial se insertó percutáneamente una aguja receptora bipolar (Figura 15). La recepción tuvo lugar nivel de musculatura mistacial, incluyendo los músculos elevador del labio superior, *nasolabialis* y *maxillolabialis*. Durante el ECN se evaluó la aparición de PAMC del nervio facial, midiendo su duración y amplitud, así como los tiempos de latencia hasta el pico máximo del potencial (L1) y hasta el valle del potencial (L2). Los PAMC fueron filtrados, amplificados y analizados por el mismo equipo (Medelec Synergy T-EP EMG/EP, VIASYS, Dublin, OH, EE.UU.). Se valoró sólo la respuesta tras el estímulo a nivel del tronco facial. Para ello se estimuló en los dos puntos reseñados con una corriente entre 2 y 8 mA, con forma rectangular en impulsos de 100 μ s de duración. Se registraron las respuestas de la musculatura mistacial y también se obtuvieron registros contralaterales como valor normal.

Durante los EEA se insertó un electrodo en la región mistacial mientras que otro se tomó como referencia en la región orbitaria. Se observó la actividad

en reposo, asignando como valor positivo el registro de SE y como valor negativo la presencia de DA. Se esperó el tiempo necesario hasta que los animales presentaron signos del fin de la sedación (movimiento espontáneo) para tomar registros de actividad motora voluntaria. Durante la prueba de contracción voluntaria, los PUMV se clasificaron de acuerdo a un patrón visual en tres categorías: ausencia de actividad motora, actividad motora moderada y actividad motora normal (patrón de interferencia).

Transcurridas 8 semanas los receptores fueron sacrificados y la región masticatoria fue sometida a estudio histológico con tinción de H-E para evaluar la presencia del artefacto de neuroqueratina en alrededor de los axones del nervio IO.

3.6 Análisis estadístico.

Las variables cuantitativas se expresaron como media \pm desviación estándar y las variables cualitativas se anotaron como porcentaje. La duración y amplitud de los PAMC registrados en los lados trasplantados y en los lados normales en los mismos receptores se consideraron variables continuas relacionadas y fueron comparadas utilizando el test de Wilcoxon. Las medidas obtenidas en las hemicaras trasplantadas de los subgrupos III_a frente a las hemicaras trasplantadas del grupo III_b se consideraron variables continuas independientes y fueron comparadas utilizando el test de U-Mann-Whitney. Las diferencias en los PUMV en reposo y voluntario, las pruebas de sensibilidad y las observaciones histológicas de neuroqueratina de las caras trasplantadas fueron consideradas variables categóricas y se analizaron mediante el test exacto de Fisher. Se asignó el nivel de significancia estadística para una $P < 0,05$. El análisis estadístico se realizó utilizando el programa SPSS versión 13 para Windows.

4.RESULTADOS.

4.1 Supervivencia y seguimiento clínico.

El experimento se realizó a lo largo de 2 años en la Unidad de Investigación del Hospital Universitario La Fe bajo supervisión de un veterinario, y se contabilizaron un total de 450 horas de trabajo quirúrgico.

En el grupo I (estudio anatómico) se elevaron 24 colgajos hemifaciales que fueron inyectados con gelatina de bario por la ACC. Las radiografía mostraron la presencia de contraste en el trayecto de la arteria temporal superficial hasta el pabellón auricular y de la arteria facial hasta la región mistacial (Figura 12). Las disecciones confirmaron la presencia de las ramas BL, MMs y ZyO del nervio facial.

En el grupo II se trasplantaron 12 colgajos hemifaciales sin reparación vascular. Todos los aloinjertos sufrieron necrosis y los animales fueron sacrificados transcurrida una semana.

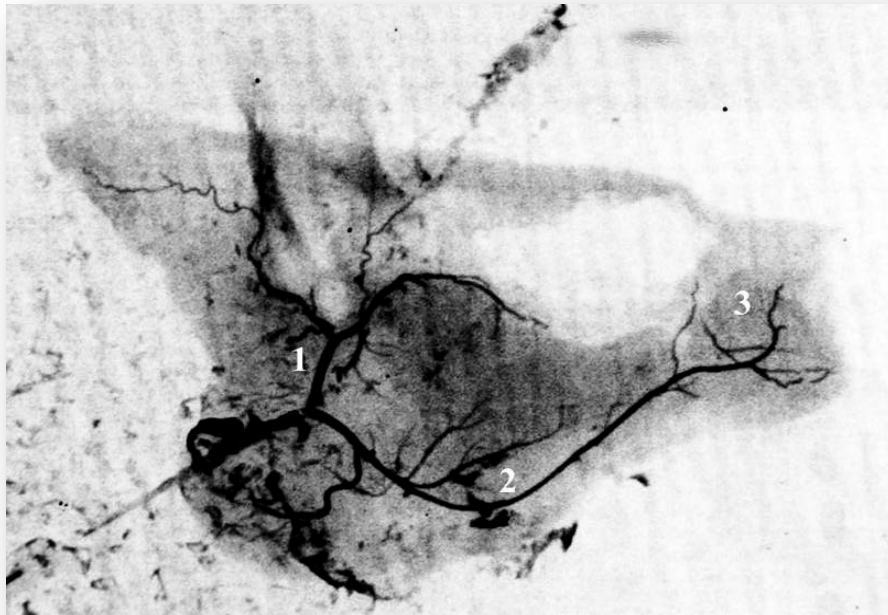


Figura 12: Angiografía de contraste del colgajo hemifacial. Tras la inyección de contraste de bario se demostró la vascularización del integumento facial, incluyendo: 1: arteria temporal superficial; 2: arteria facial; 3: continuación de la arteria facial hasta la región masticatoria. (Reproducido con permiso: Landin L, Cavadas PC, Gonzalez E, et al. Functional outcome after facial allograft transplantation in rats. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008;61:1034-43).

En el grupo III se realizaron un total de 24 aloinjertos hemifaciales, con una duración quirúrgica media de 7 h (rango 5 – 11) y tiempo medio de isquemia de 2.5 horas (rango 1,5 – 5). En el subgrupo III_a se realizaron 12 trasplantes hemifaciales sin reparación nerviosa. En el subgrupo III_b se realizaron 12 trasplantes con reparación nerviosa. La supervivencia global en el grupo III a 56 días fue del 75% (18 casos). Los animales fueron sacrificados electivamente en el día 56. La supervivencia de los animales se especifica en la Tabla 3. Las causas de fallecimiento más frecuentes fueron intraoperatorias (3 casos, 12,5%) e incluyeron hemorragia y aspiración. La causa postoperatoria más frecuente (3 casos, 12,5%) fue mal estado general. No se practicaron

necropsias. No se evidenciaron episodios de rechazo y tampoco se evidenció dificultad para la respiración ni alimentación. En el tercer día pos-trasplante los animales recobraron su rutina habitual de ingesta y juegos. Se observaron hematomas que no requirieron drenaje. En algunos casos se observaron episodios de desepitelización en la región periauricular que se resolvieron espontáneamente. El edema del colgajo se recuperó al cabo de 2 semanas. El vello se recuperó después de 30 días aproximadamente mostrando recuperación completa en el día 42 (Figura 14).

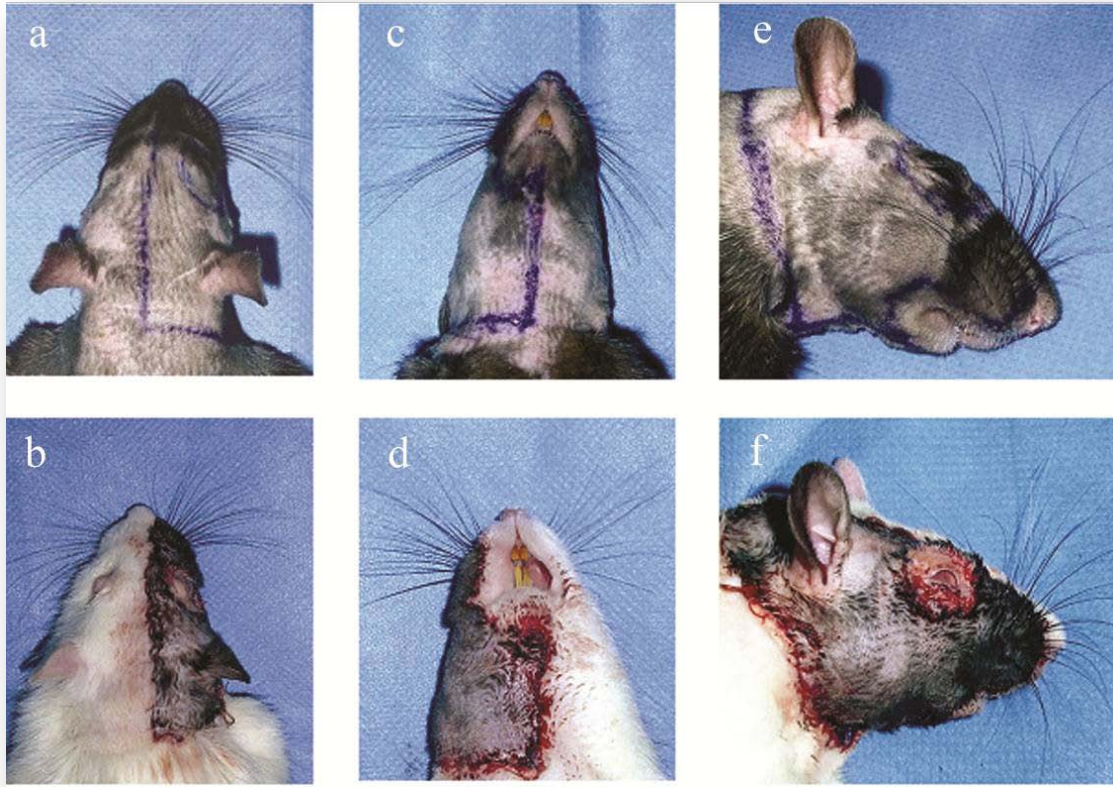


Figura 13: Diseño del colgajo hemifacial. La figura muestra el diseño del colgajo hemifacial visto desde las tres direcciones posibles. a, c y e muestran el diseño en el donante en visión dorsal, volar y lateral, respectivamente. b, d y e muestran el encaje del colgajo en el receptor y el aspecto postoperatorio inmediato.

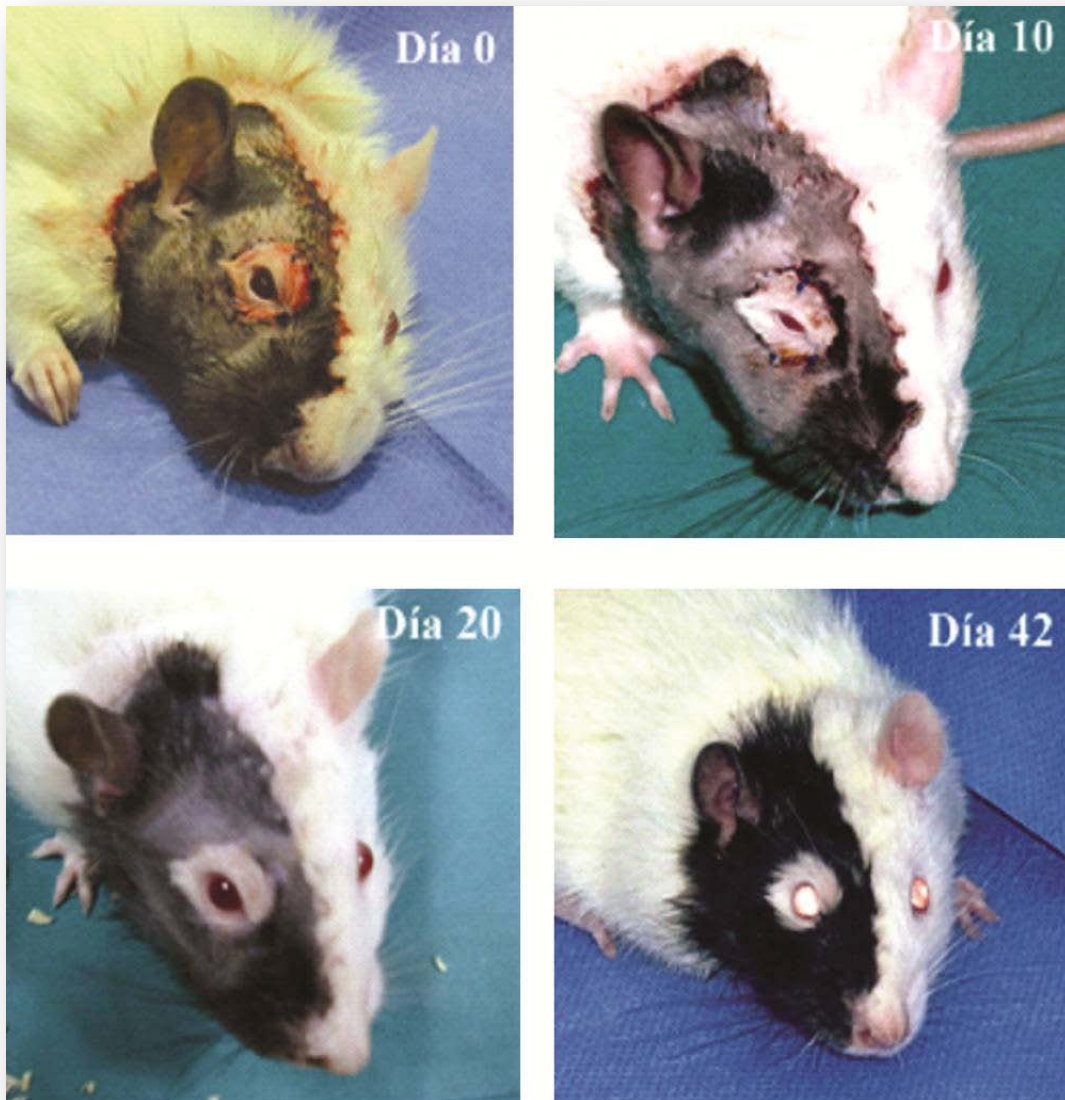


Figura 14: Aspecto de los aloinjertos hasta el día 42. Se muestra el aspecto postoperatorio inmediato en el día de la intervención. Transcurridos 10 días los animales presentaban todas las heridas cerradas y transcurridos 20 días se había producido epitelización completa con crecimiento del vello. En el día 42 el aspecto y calidad del vello fue excelente. (Traducido y modificado con permiso: Landin L, Cavadas PC, Gonzalez E, et al. Functional outcome after facial allograft transplantation in rats. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008;61:1034-43).



Figura 15: Pruebas EDX en los receptores de trasplante hemifacial.
(Reproducido con permiso: Landin L, Cavadas PC, Gonzalez E, et al. Functional outcome after facial allograft transplantation in rats. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008;61:1034-43).

4.2 Valoración clínica, EDX e histológica.

En los casos de trasplante hemifacial sin reparación nerviosa (III_a) se comprobó que la tracción del bigote no tenía ningún efecto en la conducta del animal, con ausencia de actitudes de defensa. En cambio los animales en los que se efectuó reparación nerviosa (III_b) presentaron respuestas de defensa a la tracción de los bigotes. La tracción de las vibrisas en los lados sanos produjo respuestas defensivas en todos los grupos.

En el EEA el subgrupo III_a mostró signos de DA, en forma de OPAs y PFs, mientras que el ECN motor evidenció la ausencia de PAMC del nervio facial. En el subgrupo III_b transcurridas seis semanas el EEA no mostró DA pero sí una moderada actividad motora voluntaria, como resultado de la suma de PUMVs. En el ECN se observaron PAMCs ligeramente tardíos y más alargados, pero de morfología similar a la normal. Las medidas recogidas para cada receptor se muestran en la Tabla 3, mientras que la Tabla 4 muestra los resultados desglosados y la Figura 16 muestra ejemplos de los registros obtenidos.

Tabla 3: Registros EDX en animales receptores transcurridas 6 semanas.

Sujeto (n°) (lado explorado)	ECN motores				EEA		Sensibilidad	Histología
	L1 (ms)	L2 (ms)	Duración (ms)	Amplitud (mV)	reposo	contracción		
25 – HN	1,36	2,7	1,34	5,2	SE	Normal	Defensa	NK +
25 – HT	0	0	0	0	DA	Ausente	Sin respuesta	NK -
26 – HN	1,29	2,73	1,44	5,4	SE	Normal	Defensa	NK +
26 – HT	0	0	0	0	DA	Ausente	Sin respuesta	NK -
27	Muerte intraoperatoria							
28 – HN	1,38	2,77	1,39	4,9	SE	Normal	Defensa	NK +
28 - HT	0	0	0	0	DA	Ausente	Sin respuesta	NK -
29 - HN	1,34	2,64	1,3	4,3	SE	Normal	Defensa	NK +
29 - HT	0	0	0	0	DA	Ausente	Sin respuesta	NK -
30	Falleció en el día 21							
31 – HN	1,1	2,5	1,4	4,4	SE	Normal	Defensa	NK +
31 – HT	0	0	0	0	DA	Ausente	Sin respuesta	NK -
32	Muerte intraoperatoria							
33 – HN	1,56	2,87	1,31	4,6	SE	Normal	Defensa	NK +
33 – HT	0	0	0	0	DA	Ausente	Sin respuesta	NK -
34 – HN	1,35	2,71	1,36	4,1	SE	Normal	Defensa	NK +
34 – HT	0	0	0	0	DA	Ausente	Sin respuesta	NK -
35	Falleció en el día 40							

36 – HN	1,28	2,61	1,33	3,9	SE	Normal	Defensa	NK +
36 – HT	0	0	0	0	DA	Ausente	Sin respuesta	NK -
37 - HN	1,46	2,8	1,34	3,8	SE	Normal	Defensa	NK +
37 - HT	0,98	3	2,02	1,2	SE	Moderada	Defensa	NK +
38 - HN	1,13	2,45	1,32	4,8	SE	Normal	Defensa	NK +
38 - HT	1	2,78	1,78	1,5	SE	Moderada	Defensa	NK +
39 - HN	0,8	2,13	1,33	3,9	SE	Normal	Defensa	NK +
39 - HT	1,13	3,34	2,21	1,8	SE	Moderada	Defensa	NK +
40	Muerte intraoperatoria							
41 - HN	1,06	2,33	1,27	4,6	SE	Normal	Defensa	NK +
41 - HT	0,82	2,79	1,97	1,5	SE	Moderada	Defensa	NK +
42 - HN	1,09	2,36	1,27	4,4	SE	Normal	Defensa	NK +
42 - HT	1,12	2,9	1,78	1,4	SE	Moderada	Defensa	NK +
43 - HN	0,75	2,1	1,35	3,7	SE	Normal	Defensa	NK +
43 - HT	0,69	3,56	2,87	1,5	SE	Moderada	Defensa	NK +
44 - HN	1,23	2,52	1,29	4,3	SE	Normal	Defensa	NK +
44 - HT	0,88	2,66	1,78	1,7	SE	Moderada	Defensa	NK +
45 - HN	0,9	2,21	1,31	4,7	SE	Normal	Defensa	NK +
45 - HT	0,91	3,78	2,87	1,5	SE	Moderada	Defensa	NK +
46	Falleció en el día 32							
47 - HN	1,07	2,41	1,34	5,2	SE	Normal	Defensa	NK +
47 - HT	1,23	3,76	2,53	1,3	SE	Moderada	Defensa	NK +

48 - HN	0,9	2,22	1,32	4,8	SE	Normal	Defensa	NK +
48 - HT	0,57	2,68	2,11	1,5	SE	Moderada	Defensa	NK +

ECN: estudio de conducción nerviosa; EEA: estudio con electrodos de aguja; L1 = pico; L2 = valle; HN: hemicara normal; HT: hemicara trasplantada; SE: silencio eléctrico; DA: denervación activa; NK: neuroqueratina. (Traducido y modificado con permiso: Landin L, Cavadas PC, Gonzalez E, et al. Functional outcome after facial allograft transplantation in rats. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008;61:1034-43).

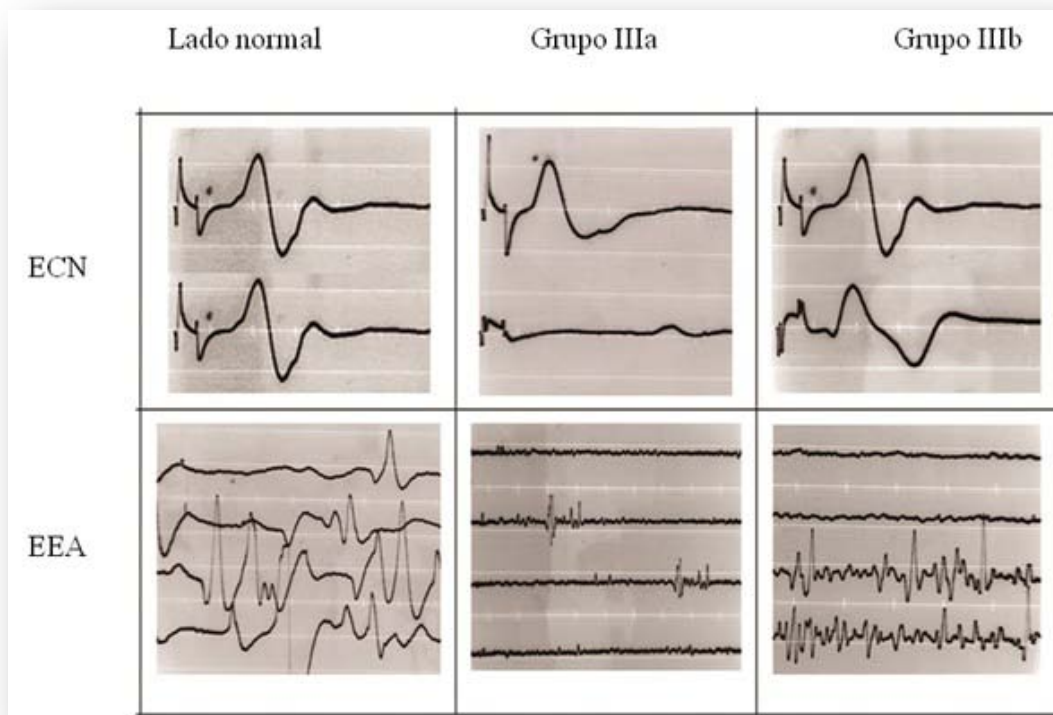


Figura 16: Resultados de las pruebas EDX. En la columna de la izquierda se muestran los hallazgos en el lado normal de los animales. Los estudios de conducción nerviosa (ECN) muestran comparativamente los hallazgos en el lado normal (arriba) y el lado trasplantado (abajo). En el ECN se observan potenciales de acción motores compuestos (PAMC) de morfología normal. En el grupo IIIa en el lado trasplantado no se observan PAMCs. En el grupo IIIb en cambio sí se observan PAMCs de menor amplitud y de mayor duración que en el lado normal. En cuanto a los estudios con electrodos de aguja (EEA), durante la fase de contracción voluntaria en el lado normal se obtuvo una señal de patrón de interferencia como resultado de la suma de potenciales voluntarios de unidades motoras (PVUM). En el grupo IIIa durante la contracción voluntaria se encontró silencio eléctrico con ondas positivas agudas (OPAs), mientras que en el grupo IIIb se encontró una suma moderada de PVUM, confirmando la contracción voluntaria de la musculatura mistacial. (Traducido y modificado con permiso: Landin L, Cavadas PC, Gonzalez E, et al. Functional outcome after facial allograft transplantation in rats. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008;61:1034-43).

Las biopsias mistaciales mostraron la entrada de fascículos nerviosos en los folículos de las vibrisas. Los fascículos en el subgrupo III_a no presentaron el artefacto de la neuroqueratina. Los fascículos en el subgrupo III_b mostraron predominio de zonas compactas, con alguna zona de vacuolización, pero en todos los casos mostraron la presencia de la neuroqueratina. Las imágenes de las biopsias por microscopía óptica aumentada $\times 400$ se reproducen en la Figura 17.

Tabla 4: Resumen de hallazgos clínicos, EDX e histológicos en grupo control y grupo de reinervación.

Prueba	III _a (n=8)		III _b (n=10)		P*	P†
	HN	HT	HN	HT		
ECN:						
Duración	1,35±0,05	0	1,31±0,03	2,19±0,42	0,005	<0,001
Amplitud	4,6±0,53	0	4,42±0,49	1,49±0,17	0,005	<0,001
EEA en reposo (%)						
SE	100	0	100	100	—	<0,001
DA	0	100	0	0		
EEA voluntario (%)						
Normal	100	0	100	0		
Moderado	0	0	0	100	—	<0,001
Ausente	0	100	0	0		
Sensibilidad (%)						
Defensa	100	0	100	100	—	<0,001
No responde	0	100	0	0		
Histología (%)						
NK+	100	0	100	100	—	<0,001
NK -	0	100	0	0		

Datos presentados en número n, media ± desviación estándar, ó % . * Hemicara normal frente a hemicara transplantada en el subgrupo III_b; † Hemicaras transplantadas III_a frente a III_b; HN: hemicaras normales; HT: hemicaras transplantadas; SE: silencio eléctrico; DA: denervación activa; NK: neuroqueratina. (Traducido y modificado con permiso: Landin L, Cavadas PC, Gonzalez E, et al. Functional outcome after facial allograft transplantation in rats. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008;61:1034-43).

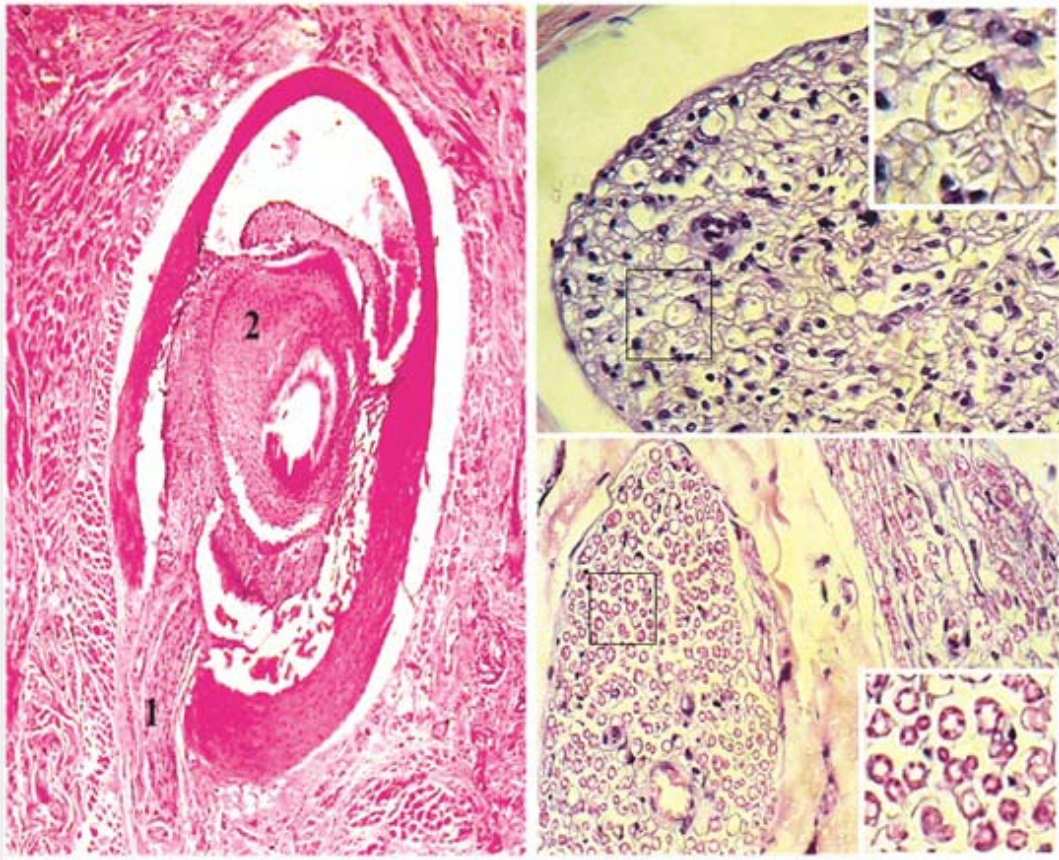


Figura 17: Hallazgos histológicos en el nervio infraorbitario después del trasplante. A la izquierda se observa la entrada de un fascículo nervioso (1) en un folículo de una vibrisa. Arriba a la derecha, se muestra un corte transversal de un nervio infraorbitario en un receptor del grupo III_a, en el que se observan los fascículos nerviosos vacíos. Abajo a la derecha puede apreciarse en la sección de un nervio infraorbitario de un receptor del grupo III_b la presencia del artefacto de neuroqueratina en el interior de los fascículos nerviosos. (Modificado con permiso: Landin L, Cavadas PC, Gonzalez E, et al. Functional outcome after facial allograft transplantation in rats. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008;61:1034-43).

5.DISCUSIÓN.

Hasta finales del siglo XX las opciones terapéuticas en las lesiones faciales complejas (LFCs) se encontraban limitadas a las reconstrucciones con tejido autólogo. Tanto las técnicas clásicas como las nuevas técnicas de microcirugía presentaban limitaciones cosméticas y funcionales en sus resultados. La cirugía en los pacientes con LFCs se enfocaba hacia la cobertura de heridas, mientras que las secuelas cosméticas y funcionales tenían peor solución¹⁶³. El refinamiento de las técnicas de microcirugía, el avance de los conocimientos en inmunología y trasplante y de las terapias inmunosupresoras y la integración de los aspectos funcionales y cosméticos entre los objetivos de la reconstrucción han dado pie al desarrollo de una nueva disciplina denominada *trasplantología reconstructiva*. Este campo ha sido dominado por los trasplantes de manos desde el año 1998^{3,4,164-170}, si bien se han realizado otros tipos de trasplante, como el trasplante abdominal¹⁷¹⁻¹⁷³, de laringe^{174,175} y trasplante facial en los últimos años^{5,176-179}.

Las manifestaciones externas de las lesiones de tejidos blandos craneofaciales son dramáticas debido a la alteración de la apariencia. El principal objetivo en la reconstrucción de cabeza y cuello debe ser la reconstrucción *apropiada* de los pacientes. La "mejor" reconstrucción posible puede resultar técnicamente compleja y no tiene porqué ser la más adecuada para el paciente. Múltiples factores determinan la idoneidad de los procedimientos reconstructivos, incluyendo la edad del paciente, las características de su enfermedad de base, las características del defecto a reconstruir, los requerimientos de la reconstrucción y la fiabilidad de la reconstrucción¹⁶³.

La edad del paciente si bien no debe determinar la elección de la reconstrucción, debe ponernos en guardia frente a posibles morbilidades y sus implicaciones médicas. La enfermedad de base debe determinar el tipo de

reconstrucción a realizar; dado el caso, las enfermedades oncológicamente avanzadas no son compatibles con reconstrucciones seriadas complejas. En estos casos el objetivo es mantener la calidad de vida del paciente y que el paciente pueda permanecer acompañado por su familia el mayor tiempo posible, por lo que las reconstrucciones de un solo tiempo quirúrgico deben ser planteadas en primer lugar. Otro aspecto primordial es la fiabilidad de la reconstrucción ya que el fracaso de la misma podría acortar la limitada esperanza de vida que presentan algunos de estos pacientes.

Por contra las reconstrucciones seriadas pueden ser beneficiosas para pacientes con secuelas postraumáticas, tras quemaduras, tras lesiones benignas o en supervivientes de lesiones oncológicas antiguas. En todos estos casos el objetivo es alcanzar la mejor reconstrucción posible, si bien el proceso se alargaría más en el tiempo¹⁶³.

Es importante analizar el tipo de defecto en las reconstrucciones de cabeza y cuello ya que estas zonas son muy visibles y se esconden con dificultad. Las reconstrucciones con tejidos locales suelen ser las más favorables dada la similitud en color y textura de los tejidos. Los requerimientos de la reconstrucción pueden ser muy específicos como en el caso de defectos de párpados o labios, o bien complejos como de zonas tubulares como la faringe. Algunos defectos requieren la combinación de varios tejidos para su reconstrucción, como por ejemplo los defectos mandibulares. El color de la reconstrucción es de máxima importancia a la hora de decidir el tipo de reconstrucción. Las reconstrucciones mediante transferencia microvascular de tejidos distantes permiten reconstruir defectos complejos en un solo tiempo, pero presentan grandes limitaciones en cuanto a la compatibilidad del color (Figura 18)¹⁸⁰.

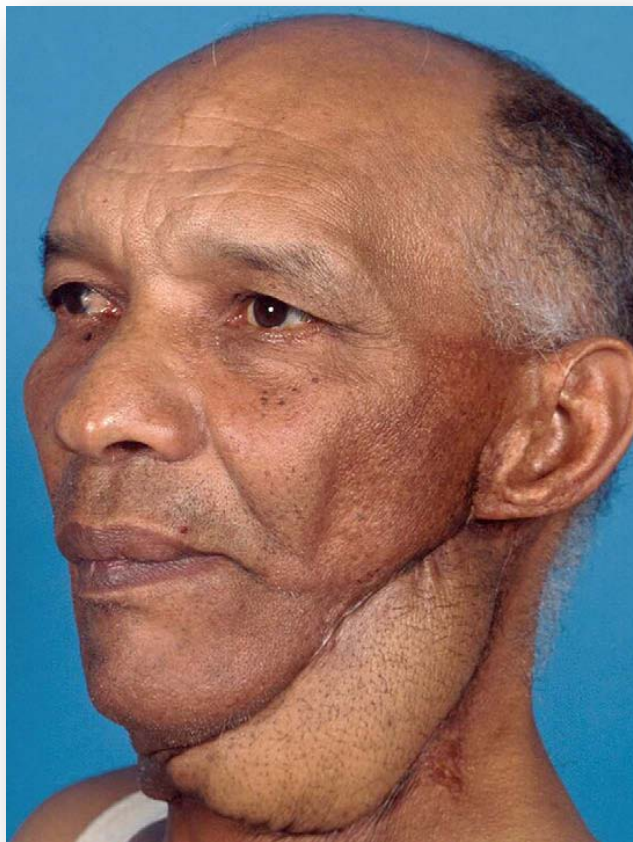


Figura 18: Importancia del color en la reconstrucción de UEFs. Resultado discordante en cuanto a tamaño, forma, color y textura en la reconstrucción de defecto en el cuello, 11 meses después de la intervención. (Reproducido con permiso: Mureau, MAM, Hofer, SOP. Maximizing results in reconstruction of the cheek. *Clin Plast Surg.* 2009;36; 461-76).

Millard fue el primero en definir las unidades estéticas faciales (UEFs) (Figura 19) y recomendó su reconstrucción con el tejido más parecido^{181,182}. Las UEFs incluyen la frente, los párpados superior e inferior, la nariz, los labios superior e inferior, las mejillas y el mentón. Por extensión se consideran UEFs los pabellones auriculares, el cuero cabelludo y la región cervical. La frente y las

mejillas se consideran unidades estéticas periféricas, son planas y su reconstrucción es más sencilla que otras unidades. Los cierres por segunda intención en frente y mejillas suelen tener mejor resultado cosmético que el uso de injertos, debido a la notoriedad de su posición y a la dificultad en la concordancia del color. La nariz, los labios y los párpados son unidades estéticas centrales y tienen en común que su contorno es muy complejo y difícil de reconstruir. Las alteraciones del tamaño, bordes, posición, simetría y proporción en estas unidades producen defectos muy visibles¹⁸³.

Las UEFs son adyacentes topográficamente y presentan cualidades parecidas en cuanto a color, textura, espesor y vello. Presentan además contornos tridimensionales que se pueden reconocer por márgenes bien delimitados y su definición se ampara en la observación de la normalidad¹⁸³. Las UEFs son relativamente constantes, aunque pueden presentar pequeñas variaciones en función de la edad, sexo, raza y diferentes expresiones faciales. Las UEFs no tienen relación con las arrugas, ni con las líneas de tensión. Las UEFs pueden presentar cambios en la calidad de la piel unas respecto de otras, así como dentro de sus propias subunidades. Sin embargo no es la calidad de la piel sino el contorno lo que define las UEFs. El contorno depende del esqueleto bien óseo o bien cartilaginoso que las soporta¹⁸³. Las alteraciones del color y la textura de las UEFs se pueden solucionar por medio del maquillaje, pero los defectos de contorno son más difíciles de solucionar, salvo para el caso de zonas donde crece abundante vello como el mostacho o el cuero cabelludo.

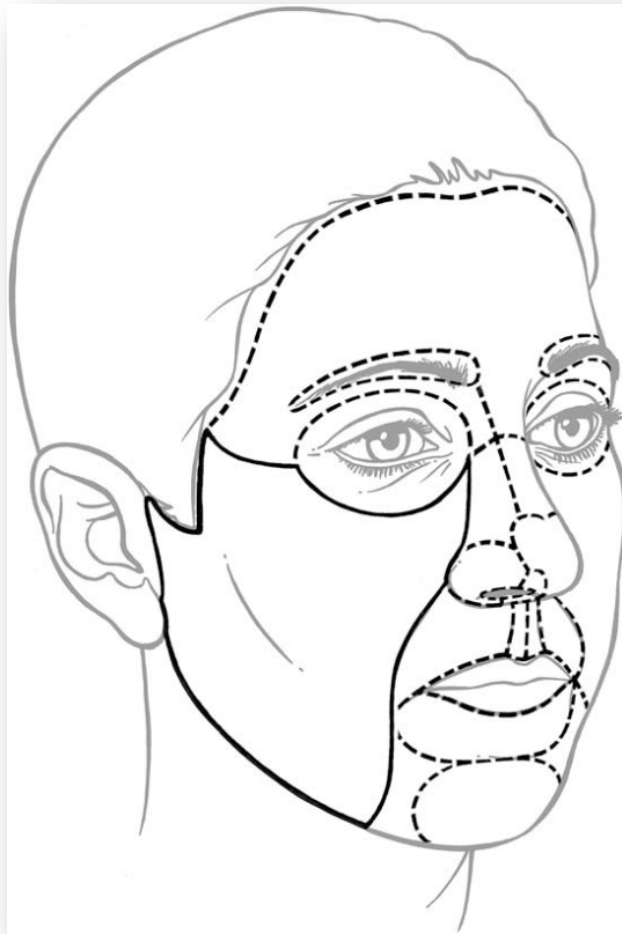


Figura 19: Unidades estéticas faciales. En la figura aparecen representadas las unidades estéticas nasales, labiales, palpebrales, frente, mejillas y mentón. (Reproducido con permiso: Hofer SO, Mureau MA. Improving outcomes in aesthetic facial reconstruction. *Clin Plast Surg* 2009;36:345-54).

Las LFCs que afectan a varias UEFs requieren de procedimientos complejos para su reconstrucción¹⁸⁴. Los defectos pueden incluir la cobertura cutánea, músculo, hueso u otras estructuras. La reconstrucción satisfactoria de este tipo de lesiones es a veces difícil de lograr. Las LFCs pueden incluir una o

varias UEFs como por ejemplo mejilla, labio y párpado. Cierta tipo de lesiones como la pérdida de la UEF del cuero cabelludo pueden generar una secuela muy deformante con un importante componente psicológico.

El procedimiento reconstructivo ideal debe recomponer los tejidos que faltan así como su función motora y sensitiva. Entre las opciones reconstructivas disponibles se encuentran las técnicas anaplastológicas¹⁸⁵, los injertos de piel¹⁸⁶⁻¹⁸⁸, los colgajos locales^{189,183}, las técnicas de expansión tisular^{187,190-194}, las transferencias de tejido libre¹⁹⁵⁻¹⁹⁷, las técnicas de prefabricación y prelaminación^{190,198-200} y el reimplante de unidades amputadas²⁰¹⁻²⁰⁵.

La reconstrucción anaplastológica por medio de prótesis faciales deben cumplir los requisitos de ser fácilmente aplicable, encajar cómodamente, permanecer indistinguible de los tejidos que le rodean y restaurar la apariencia cosmética casi con normalidad²⁰⁶. La reconstrucción por medio de prótesis ha mejorado notablemente en los últimos años debido a la introducción del material de silicona y la osteointegración como medio de anclaje. La duración media de una prótesis se encuentra entre 2 y 5 años y su coste a largo plazo es elevado debido a la necesidad de recambios, reparaciones y complicaciones derivadas del fallo en la osteointegración. Otra limitación importante es la falta completa de función, incluyendo sensibilidad y movimiento¹⁸⁵.

Para los defectos cutáneos que implican una superficie facial extensa se ha propuesto la reconstrucción con injertos de piel total y parcial. En estos casos cada UEF se cubre con una lámina de injerto de piel total estableciendo los límites cicatriciales entre cada lámina coincidentes con los límites entre cada unidad. Esta aproximación permite la reconstrucción simultánea de diversas unidades y permite mejores resultados cuando se reconstruyen UEFs de forma completa. Entre sus desventajas se incluyen cierto efecto parcheado, la morbilidad en la zona donante de piel, la posibilidad de limitaciones funcionales

en párpado (ectropión) o labios (microstomía) y la falta de concordancia de color del injerto respecto de la piel circundante^{186,187,207,208}.

Las técnicas de expansión de tisular utilizan tejidos adyacentes a la lesión, permitiendo una reconstrucción sensible con excelente relación de color y textura. Esta técnica constituye una alternativa razonable a los injertos de piel, alcanzando en ocasiones excelentes resultados estéticos^{192,193}. Sin embargo se limita a reconstruir sólo la cobertura cutánea, no permiten reconstruir defectos compuestos y se asocian a problemas durante la expansión, como la infección del material y la exposición de la prótesis expansora.

La transferencia microvascular de tejidos es una alternativa razonable cuando no existen tejidos adyacentes a la lesión suficientes para su reconstrucción o cuando la lesión involucra numerosas estructuras y gran extensión¹⁸². Los colgajos libres suponen una fuente valiosa de tejido sano para cubrir defectos complejos, recomponer los revestimientos oral y nasal, rellenar de volumen o reconstruir procesos ablativos²⁰⁹⁻²¹¹. Sus principales desventajas consisten en la falta de concordancia de color, la complejidad técnica de su ejecución y la limitación funcional de sus resultados²¹². La microcirugía ha servido para ampliar el abanico de las reconstrucciones ya que permite la transferencia de tejidos desde lugares distantes a las zonas de lesión. Tiene un menor coste económico hasta la recuperación completa en comparación con técnicas estadiadas^{50,51}, una más rápida recuperación y un beneficio psicológico tras la restauración de la imagen corporal⁵². La técnica microquirúrgica requiere de una preparación técnica específica y de un ambiente tecnológico adecuado. Además es necesario realizar un número mínimo de intervenciones de forma habitual para lograr mantener el nivel técnico. Dado que este tipo de intervenciones suele ser largas, se recomienda utilizar dos o hasta tres equipos simultáneos para minimizar la duración³⁰.



Figura 20: Reconstrucción autóloga de una lesión facial compleja con colgajo libre doble paraescapular expandido. La imagen muestra a la izquierda la situación preoperatoria y a la derecha el resultado final tras la transferencia del colgajo y múltiples cirugías menores de revisión. El caso ilustra la limitación estética y funcional de las reconstrucciones convencionales. (Reproducido con permiso: Birgfeld CB, Low DW. Total face reconstruction using a pre-expanded, bilateral, extended, parascapular free flap. *Ann Plast Surg.* 2006;56:565-8).

Los colgajos prefabricados y prelaminados permiten reconstrucciones con colgajos más finos que se adaptan mejor al defecto recomponiendo su estructura tridimensional, tamaño, color y textura. Los colgajos prefabricados se introdujeron en 1982 y consisten en un pedículo vascular implantado en un territorio cutáneo nuevo, dejando que madure durante un periodo de neovascularización. Seguidamente ese tejido puede ser elevado sobre el pedículo implantado y transferido mediante microcirugía^{190,200,210}. Los colgajos prelaminados se introdujeron en 1994 y se preparan utilizando tejidos u otros

dispositivos implantados en un territorio vascular con un pedículo definido, al cual se adhieren antes de realizar la transferencia microvascular. El colgajo prelaminado posee un eje vascular axial que soporta un bloque tisular de múltiples capas y transporta el revestimiento necesario para la reconstrucción^{199,200}. Entre las desventajas de los colgajos prefabricados y prelaminados se encuentran la limitación en la cantidad de tejidos disponible para la transferencia, la falta de concordancia en el color de la piel, la necesidad de realizar múltiples intervenciones y retoques hasta alcanzar el resultado final y las limitaciones funcionales²⁰⁰.

Por último las técnicas de reimplante permiten la reconstrucción inmediata en casos de amputación traumática. Sus resultados son superiores a todas las demás técnicas, si bien sólo en algunos casos se logra una restitución integral del individuo^{213,214}. Tiene como inconveniente el estrecho margen temporal en el que se pueden realizar.

Las técnicas anteriormente descritas han sido utilizadas en casos de reconstrucción sin requisitos funcionales (excepto para los reimplantes). Para el caso de una reconstrucción funcional de UEF críticas como pueden ser los labios o los párpados, donde se combinan tanto la sensibilidad como el movimiento fino, las opciones terapéuticas distan mucho de alcanzar los requerimientos funcionales necesarios, quedando limitadas en la mayoría de las ocasiones a reconstrucciones *estáticas*. El siguiente paso reconstructivo consistiría en el trasplante de UEFs con funciones *dinámicas* desde un donante cadáver con el objetivo de reconstruir los defectos complejos manteniendo la mejor concordancia de color, forma y complejidad estructural además de conseguir una recuperación funcional tanto sensitiva como motora que devolviera una apariencia normal al paciente en el menor tiempo posible. Los alotrasplantes de tejidos compuestos pueden suponer una alternativa reconstructiva para los casos de más difícil reconstrucción^{215,216}.

Hasta el momento se han realizado 12 trasplantes faciales en humanos. En los casos publicados a largo plazo se ha demostrado la recuperación funcional, sensitiva o motora siempre y cuando fueron reparados los nervios correspondientes (Figura 21 y Tabla 5). Ninguno de los casos ha permanecido libre de rechazo agudo si bien en todos ellos se ha podido controlar¹⁷⁶⁻¹⁷⁹.

El primer caso de trasplante facial en el mundo fue realizado por un equipo combinado de cirujanos maxilofaciales (Bernard Devauchelle) y de nefrólogos (Jean Michel Dubernard) en Amiens, Francia¹⁷⁶. Se trataba de una paciente de 38 años de edad que había sufrido la pérdida de los labios, mentón, nariz y parte de las mejillas como resultado de un traumatismo por mordedura de perro. El aloinjerto se compuso de nariz, mejillas, labios y mentón, pediculados sobre los vasos faciales de forma bilateral y neurotizados por los nervios infraorbitario y mentoniano de forma bilateral y por el nervio facial izquierdo (rama mandibular). Se suturaron los músculos del aloinjerto a los muñones musculares de la receptora. La recuperación funcional comenzó a nivel sensitivo en la semana 10 y a nivel motor en la semana 16 y se confirmó la integración de la nueva cara en el córtex cerebral mediante resonancia magnética funcional. En la semana 56 postoperatoria se confirmó la presencia de expresión emocional y buena tolerancia psicológica al aloinjerto¹⁷⁷.

El segundo caso documentado de trasplante facial fue realizado en China en Abril de 2006. Se trató de un paciente que había perdido cuatro UEFs incluyendo labio superior, nariz párpados y mejilla. El paciente recibió un aloinjerto basado en los vasos faciales derechos compuesto por nariz, labio superior, mejilla, párpado inferior, huesos nasales, arco zigomático, pared orbitaria inferior y lateral, mucosa oral y glándula parótida. Además se incluyó el músculo temporal para relleno del seno maxilar derecho del receptor. El nervio facial no pudo ser reparado en la salida del agujero estilomastoideo. La recuperación motora fue nula mientras que la recuperación sensitiva apareció a

los 3 meses y la discriminación de temperatura a los 8 meses¹⁷⁹.

Tabla 5: Trasplantes faciales clínicos hasta 2008.

Caso	Defecto - UEF	Etiología	Seguimiento (días)	NR	IS	Rechazo (n°)	R S-M (semanas)	TPsc
Devauchelle ^{176,177}	TIF - 4	Trauma	540	Unilateral	TT	2	10 - 16	Si
Guo ¹⁷⁹	HF - 4	Trauma	720	No	TT	3	12 - No	¿?
Lantieri ¹⁷⁸	TIF - 5	Tumor	360	Bilateral	TT	2	12 - 24	Si

UEF: unidades estéticas faciales; TIF: tercio inferior facial; HF: hemifacial; NR: neurorrafia nervio facial; IS: inmunosupresión; TT: triple terapia (tacrolimus + MMF + prednisona); R S-M: recuperación sensitivo – motora; TPsc: tolerancia psicológica. ¿?: desconocido.

El tercer trasplante facial fue realizado en Francia en un paciente de 29 años de edad que padecía un neurofibroma plexiforme facial en el contexto de una neurofibromatosis tipo 1 que afectaba a los tercios medio e inferior de la región facial. La pieza de resección tumoral incluyó ambas mejillas, nariz, labios y mentón. Se respetaron la frente y ambas regiones periorbitarias, sólo inervadas en el lado izquierdo. El aloinjerto se revascularizó reparando ambas arterias carótidas externas y las venas tirolinguofaciales. Se repararon ambos nervios faciales e infraorbitarios pero no los submentonianos. La terapia inmunosupresora de mantenimiento incluyó triple terapia. Los primeros signos de recuperación sensitiva fueron registrados en el 3^{er} mes postoperatorio mientras que la actividad motora se recuperó a los 6 meses. La actividad mímica espontánea apareció a los nueve meses mientras que el reflejo de parpadeo apareció después del primer año y el paciente presentó buena adaptación psicológica al aloinjerto¹⁷⁸.

En resumen los resultados de los primeros trasplantes faciales clínicos fueron excelentes en los aspectos funcional y estético. En aquellos casos en los que se pudo realizar reparaciones nerviosas se logró un excelente retorno de la función motora y sensitiva. Todos los casos presentaron crisis de rechazo y necesitaron recibir tratamiento para las complicaciones derivadas del uso de fármacos inmunosupresores.



Figura 21: Trasplantes faciales realizados hasta 2007. A la izquierda, el primer caso realizado en Francia. En el centro, el caso realizado en China con excelente resultado de reconstrucción del labio superior, nariz y mejilla. A la derecha, caso realizado en Francia con excelente concordancia de tamaño y color. (Reproducidos con permiso, Devauchelle B, Badet L, Lengele B, et al. First human face allograft: early report. *Lancet* 2006;368:203-9; Guo S, Han Y, Zhang X, et al. Human facial allotransplantation: a 2-year follow-up study. *Lancet* 2008;372:631-8 y Lantieri L, Meningaud JP, Grimbert P, et al. Repair of the lower and middle parts of the face by composite tissue allotransplantation in a patient with massive plexiform neurofibroma: a 1-year follow-up study. *Lancet* 2008;372:639-45)

El primer antecedente experimental de trasplante facial en ratas y sus siguientes modificaciones fue publicado por Siemionow en 2003¹⁵⁵. Diferentes autores bajo su dirección pusieron a punto el modelo experimental de trasplante facial. El modelo consistió en un trasplante facial completo, que se

acompañó de altas tasas de mortalidad^{288,289}. En aquél trabajo se realizaron trasplantes faciales cruzando el CMH desde ratas Lewis-Brown-Norway (LBN) con haplotipo RT1ⁿ a ratas Wistar-Lewis (LEW) con haplotipo RT1^l. La vascularización del colgajo provenía de ambas arterias carótidas externas, anastomosadas termino-laterales a las arterias carótidas comunes del receptor. En todos los casos se utilizó como protocolo de inmunosupresión la Cs en dosis descendentes, logrando supervivencias de más de 300 días. Los colgajos incluyeron sólo el componente cutáneo mientras que los nervios facial e infraorbitario fueron desestimados. Algunas modificaciones vasculares creativas permitieron realizar trasplantes faciales completos con mejores tiempos quirúrgicos y menor mortalidad (55%, en comparación con el modelo previo 65%)¹⁵⁶. El modelo de trasplante evolucionó hacia el trasplante hemifacial, que se acompañaba de menor mortalidad dada la menor duración del procedimiento quirúrgico. En estos casos, los trasplantes fueron bien semialogénicos (LBN RT1ⁿ → LEW RT1^l) bien alogénicos (ACI RT1^a → LEW RT1^l) y se utilizó Cs en dosis descendentes para prevenir el rechazo del aloinjerto. Los animales sobrevivieron más de 400 días y se pudo demostrar por primera vez la presencia de quimerismo en sangre periférica en los animales trasplantados^{217,152}.

Más tarde se publicó el primer trasplante de subunidades faciales, en concreto el trasplante de pabellón auricular que además incluía la primera prueba de retorno funcional. Esta consistió en un test sensitivo realizado con pinzas quirúrgicas en los pabellones auriculares en ausencia de reparaciones nerviosas. El resultado fue negativo y la terapia inmunosupresora fue retirada a los 30 días¹⁵⁴.

Posteriormente se desarrolló el modelo de trasplante hemifacial acompañado de hueso craneal, vascularizado mediante la rama temporal media de la arteria maxilar interna a través del músculo temporal. Dicho modelo abrió las puertas a la reconstrucción de defectos complejos incluyendo segmentos

óseos, demostrando la viabilidad de un aloinjerto compuesto óseo para la reconstrucción de defectos en superficie y profundidad¹⁵⁸. Finalmente se describió el modelo de trasplante de maxilar superior, con resultados funcionales excelentes que mostraron crecimiento dentario y ausencia de rechazo inmunológico en sus componentes¹⁵⁷.

Todos los modelos se han acompañado de detalladas descripciones sobre disección vascular y diseño de los colgajos. La mayoría presentó grandes dificultades técnicas y elevadas tasas mortalidad. Un resumen de los modelos experimentales aparece detallado en la Tabla 6.

Existen también publicaciones sobre trasplante facial en otros modelos, incluyendo el conejo²¹⁸⁻²²⁰, cerdo²²¹, perro²²² y primates no humanos^{223,224}. Todos los modelos han insistido en los detalles técnicos e inmunosupresión para mantener los trasplantes libres de rechazo, con altas tasas de éxito. Los trasplantes faciales en primates no humanos se han realizado de forma heterotópica por motivos éticos y para evitar el sufrimiento a los animales. Pero en ningún caso se han evaluado los resultados funcionales del trasplante facial en primates no humanos²²⁴.

En resumen, los modelos experimentales de trasplante facial han demostrado la viabilidad de este procedimiento en ratas, aunque esta experiencia no ha estado carente de altas tasas de complicaciones y morbimortalidad hasta la puesta a punto de los modelos. Los modelos experimentales han evolucionado hacia el trasplante combinado de estructuras. Sin embargo hasta donde conocemos no se ha descrito la recuperación funcional tras el trasplante facial. Tan sólo un trabajo señaló la reparación del nervio auricular mayor sin lograr la recuperación sensitiva. El objetivo principal de nuestro trabajo fue evaluar el retorno de la función a una unidad sensitiva y motora en un modelo experimental de trasplante de unidad funcional facial en rata.

Tabla 6: Trabajos publicados en trasplante facial experimental.

Autor	Objetivo	Colgajo	IS	Protocolo	Supervivencia (días)	Duración (horas)	Mortalidad (%)
Ulusal et al. ¹⁵⁵	Técnica Tolerancia	Cara completa	Cs	16→2	>130	5,5	44
Siemionow et al. ¹⁵³	Tolerancia	Cara completa	Cs	16→2	>40	No especificado	62,5%
Demir et al. ²⁸⁹	Tolerancia	Hemicara	Cs	16→2	>170	3	0
Siemionow et al. ¹⁵²	Tolerancia	Hemicara	Cs	16→2	>196	3	0
Unal et al. ¹⁵⁶	Técnica	Cara completa	Cs	16→2	>45	5	55
Yazici et al. ¹⁵⁸	Técnica Tolerancia	Hemicara + cráneo	Cs	16→2	>90	No especificado	0
Ulusal et al. ¹⁵⁴	Técnica Tolerancia Funcionalidad	Pabellón auricular	Cs	16→0	>30	3,5	0
Yazici et al. ¹⁵⁷	Técnica Tolerancia Funcionalidad	Maxilar superior	Cs	16→2	105 (electivo)	No especificado	40

IS: inmunosupresión; Cs: ciclosporina; Protocolo: dosis inicial (mg/día) → dosis final (mg/día). (Traducido con permiso por el autor: Landin L, Cavadas PC, Gonzalez E, et al. Sensorimotor recovery after partial facial (mystacial pad) transplantation in rats. *Ann Plast Surg* 2009;63:428-35).

El tacrolimus fue introducido en el contexto experimental en 1989, encontrando tasas de supervivencia de aloinjertos de extremidad posterior en ratas tratadas con tacrolimus superiores a las ratas tratadas con Cs²²⁵. Simultáneamente, otros investigadores verificaron la dosificación de tacrolimus (0,2, 1, y 5 mg/Kg/día) necesaria para prevenir el rechazo de trasplantes de extremidad, alcanzando tasas de supervivencia de 15, 150 y 102 días respectivamente²²⁶. Estos resultados fueron confirmados posteriormente en múltiples series experimentales²²⁷. Ciertos estudios experimentales en ratas evidenciaron que el tacrolimus era capaz de incrementar la velocidad de retorno de la función tras el aplastamiento del nervio ciático y sección completa seguida de neurorrafia²²⁸. También se ha descrito que los animales tratados con tacrolimus presentaban mejor regeneración histológica que los controles o que aquellos tratados con Cs²²⁹.

El potencial del tacrolimus para aumentar la regeneración nerviosa se describió en el modelo de rata en el que la administración subcutánea diaria de tacrolimus se tradujo en un aumento de la tasa de regeneración axones sensoriales y del incremento del área axonal transversa después de lesiones de axotomía, en comparación con los controles^{230,231}. Los investigadores especularon que la aceleración de la reinervación resultó de una menor pérdida de brotes de regeneración axonal y demostraron que los conos de crecimiento axonal en ratas tratadas con tacrolimus reinervaron más los husos musculares que en los animales control²³⁰. El tiempo hasta el inicio recuperación funcional de la extremidad posterior fue más corta en los animales tratados con tacrolimus. Se demostró además que la aceleración de la regeneración ocurría con un ritmo máximo tras suministrar dosis de 5 mg/Kg/día de tacrolimus . Se observó una mayor regeneración de las fibras mielinizadas con grandes calibres axonales junto con una tasa de regeneración más rápida (demostrada por técnicas de seguimiento de radiomarcado) .

Recientemente se ha descrito un aumento de la síntesis de la molécula asociada al crecimiento de 43-KDa (GAP-43) en los axones en crecimiento tras una lesión axonal. Tanto la proteína de unión al tacrolimus (FK-BP) como GAP-43 están presentes en las neuronas de los ganglios nerviosos y núcleos motores centrales y se ha sugerido cierta asociación entre ambas. La presencia del tacrolimus incrementa los niveles de de GAP-43 y mejora el crecimiento del cono axonal tras la lesión del nervio periférico (Figura 22)²³². El tacrolimus se une a la proteína FK-BP y bloquea la vía de la calcineurina. La calcineurina pierde entonces su actividad fosfatasa y se produce el acúmulo de sustratos fosforilados. Entre ellos se encuentra la forma fosforilada del GAP-43 (GAP-43-P). El GAP-43-P incrementa la motilidad de los conos de crecimiento. Además la unión de tacrolimus y FK-BP produce un incremento de IP_3 y TGF- β que colaboran mejorando dicha movilidad. Los mecanismos moleculares por los que el tacrolimus favorece la regeneración se dibujan en detalle en la Figura 22.

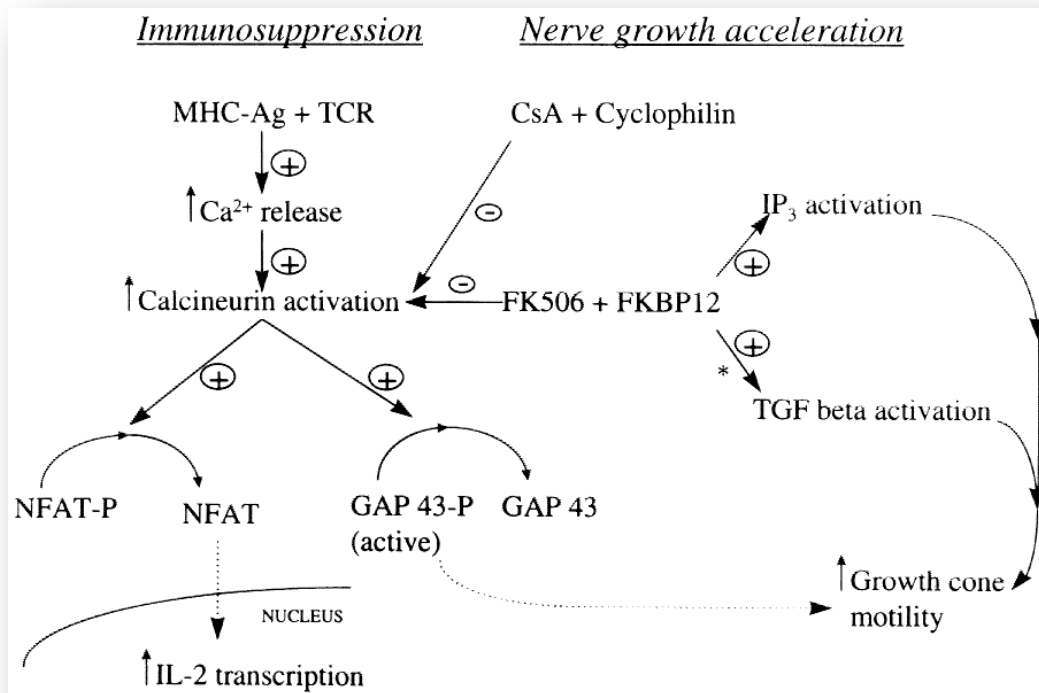


Figura 22: Relación del tacrolimus (FK506) con la molécula GAP-43 y el crecimiento axonal. El esquema representa la vía de la calcineurina y su relación con el crecimiento axonal. La calcineurina defosforila a la molécula GAP-43, que entonces se inactiva. Cuando la vía de la calcineurina se encuentra inhibida por tacrolimus, la GAP-43 permanece en su forma fosforilada (GAP-43-P), y colabora en el crecimiento de los conos axonales. Además, la unión de tacrolimus a la proteína FKBP-12 y la presencia de inositol trifosfato (IP₃) mejoran el crecimiento axonal. Immunosuppression: inmunosupresión; nerve growth acceleration: aceleración del crecimiento nervioso; MHC-Ag: complejo péptido-CMH; release: liberación; activation: activación; NF: factor nuclear; transcription: transcripción; GAP-43-P: molécula GAP-43 fosforilada; TCR: receptor de linfocito T; Growth cone motility: movimiento del cono de crecimiento. (Reproducido con permiso: Doolabh VB, Mackinnon SE. FK506 accelerates functional recovery following nerve grafting in a rat model. *Plast Reconstr Surg* 1999;103:1928-36).

La región mistacial de la rata parece la zona idónea para estudiar la sensibilidad y movimiento facial. Entre sus ventajas destaca la posibilidad de evitar la morbilidad asociada a la intervención sobre los párpados, los labios o la nariz, presentar una inervación motora y sensitiva fácilmente diferenciable e identificable y poseer una vascularización dependiente de la arteria facial, confirmada mediante estudios angiográficos²³³.

El presente estudio se plantea ante la ausencia de información respecto a la recuperación sensitiva y motora después de un trasplante facial. Su diseño pretende evaluar el efecto de la reparación de los nervios facial e IO sobre el retorno de la sensibilidad y el movimiento en un modelo experimental de trasplante facial bajo inmunosupresión con tacrolimus. Las investigaciones se enfocaron sobre la región mistacial por su importancia en la sensibilidad y movimientos de las vibrisas, mediante modificaciones técnicas en el diseño del trasplante hemifacial descrito por Demir y cols.²¹⁷.

Se anastomosaron la arteria carótida común y la vena yugular externa, y se repararon las ramas del nervio facial y el nervio IO. Los animales toleraron la ligadura unilateral de la vena yugular externa, así como el uso término-lateral de la arteria carótida común para la vascularización de los aloinjertos. En el grupo de trasplante (grupo III), la supervivencia fue del 75% al cabo de 8 semanas. El manejo de los animales en el contexto de trasplante facial y su supervivencia requirió esmerados cuidados intra y pos-operatorios, incluyendo manta térmica, aspirado traqueal intraoperatorio, resucitación con fluidos analgesia y profilaxis antibiótica pautadas durante 48 horas. Dada la complejidad del diseño y disección del aloinjerto, y la necesidad de reparaciones microvasculares y de neurorrafias y de un cuidadoso ajuste del colgajo al lecho receptor, los tiempos quirúrgicos fueron muy largos. La duración media del procedimiento fue de 7 horas, al menos 2 horas más que otros modelos¹⁵⁵. Por otra parte el propio modelo experimental exigió que los animales conservaran ciertas estructuras faciales vitales, como la nariz, los

labios y los párpados, con el fin de evitar padecimientos innecesarios, mejorar la supervivencia y guardar los principios de ética experimental (p.ej. ausencia de sufrimiento innecesario). Una vez superada la cirugía, la mayoría de los animales sobrevivieron sin complicaciones y con buena tolerancia para la inyección diaria de tacrolimus. Se utilizaron dosis descendentes de tacrolimus debido a su efecto inmunosupresor y a su efecto beneficioso añadido sobre la aceleración en la recuperación nerviosa^{229,230,234}. Dicho efecto se ha relacionado con la proteína GAP-43, que favorece el crecimiento axonal. La dosis de tacrolimus suministrada coincidió con la dosis óptima de tacrolimus para acelerar la regeneración nerviosa²³¹, y todos los aloinjertos se mantuvieron sin signos de rechazo clínico durante 8 semanas.

Una conclusión importante de trabajos previos en trasplante experimental de extremidades fue que el retorno de la función en los aloinjertos no difería en comparación con los autoinjertos, de lo que se deduce que el CMH no supone una barrera para el retorno funcional²³⁵. Existen ejemplos de retorno de sensibilidad en los trasplantes de extremidad inferior en ratas transcurridos 4 a 6 semanas y movimiento transcurridas 6 a 8 semanas. Los animales receptores fueron capaces de sostenerse sobre los cuartos traseros y de trepar verticalmente con deambulación normal en el 80% de los casos²³⁶. En nuestro caso, se realizaron pruebas clínicas y EDX transcurridas 6 semanas. Todos los animales en los que se reparó el nervio IO presentaron actitudes de defensa durante la tracción de los bigotes. En aquellos casos en los que no hubo reparación no se objetivaron respuestas, contrariamente a lo observado a la tracción del lado sano del mismo animal. Las pruebas EDX mostraron diferencias en función de la reparación nerviosa. La neurorrafia del nervio facial e IO condicionó la aparición de signos EDX de recuperación axonal. Los PAMC del nervio facial en los lados trasplantados con reparación nerviosa alcanzaron la morfología, la amplitud y la duración de la onda similares a las del lado normal ($P < 0,005$). Además el patrón interferencial moderado de PUMVs se encontró sólo tras la reparación nerviosa ($P < 0,001$). Por el contrario, aquellos

aloinjertos en los que no se repararon los nervios continuaron presentando DA como signo de LPA. Las biopsias mistaciales mostraron la presencia de abundantes fibras nerviosas permitiendo identificar los puntos de entrada de los fascículos del nervio IO en los folículos de las vibrisas. Todas las muestras del subgrupo III_a mostraron ausencia de neuroqueratina, mientras que todas las muestras del subgrupo III_b presentaron el artefacto de la neuroqueratina ($P < 0,001$), demostrando el crecimiento de los axones en el aloinjerto.

En suma los hallazgos clínicos, EDX e histológicos no pudieron confirmar el retorno de la función a los aloinjertos en los que no se realizaron reparaciones nerviosas, por lo que la H_0 quedó descartada. Sólo aquellos aloinjertos en los que se realizaron reparaciones nerviosas presentaron signos de retorno de la función sensitiva y motora, confirmando la H_1 .

Los estudios radiográficos con contraste confirmaron las descripciones clásicas sobre la vascularización facial. La arteria carótida externa emerge de la arteria carótida común, dividiéndose posteriormente en ramas temporal superficial y facial. La viabilidad del pabellón auricular depende la arteria temporal superficial (datos no publicados), mientras que la arteria facial nutre la región mistacial.²³⁷ En cuanto a los hallazgos anatómicos referentes al nervio facial, la distribución en la región mistacial correspondió a las ramas ZyO, BL y MMS, y por tanto se confirmó la distribución descrita por Dörfl en 1985, y cuya nomenclatura es más utilizada en la literatura de neurociencias²³⁸⁻²⁴⁰. Esta descripción es distinta a la descripción clásica que realizó Greene en 1935, en la que la musculatura mistacial se encontraba inervada por una rama motora para el músculo buccinador y dos ramas descendentes innominadas que emergían de la rama zigomática inferior, además de las ramas bucal y marginal mandibular¹⁴⁸.

Un número de publicaciones han confirmado con posterioridad los hallazgos de este estudio. En un modelo de trasplante hemifacial que incluía la región mistacial y la reparación de su inervación, las pruebas de sensibilidad

fueron sustituidas por exámenes EDX a nivel cortical. Los investigadores confirmaron la aferenciación mistacial post-trasplante de forma similar a nuestro estudio²⁴¹. En otro modelo experimental de trasplante de pabellón auricular en ratas, los investigadores mantuvieron la inmunosupresión durante 100 días y pudieron confirmar la presencia de sensibilidad en los pabellones auriculares tras la reparación del nervio auricular mayor²⁴². Nuestro grupo continuó trabajando sobre el trasplante funcional y describió una serie de trasplantes en los que los aloinjertos estuvieron constituidos exclusivamente por la región mistacial (Figura 24). Tal modificación permitió la ejecución de los trasplantes en tiempo quirúrgicos menores, logrando mayores porcentajes de supervivencia y demostrando de igual manera el retorno de la función a la región mistacial²⁴³.



Figura 23: Modelo de trasplante mistacial. Los experimentos presentados en este trabajo se continuaron con el desarrollo de nuevos colgajos (colgajo mistacial) y confirmaron nuevamente la recuperación funcional. (Reproducido con permiso: Landin L, Cavadas PC, Gonzalez E, et al. Sensorimotor recovery after partial facial (mystacial pad) transplantation in rats. *Ann Plast Surg* 2009;63:428-435).

El presente trabajo presenta algunas limitaciones que merecen ser analizadas. En primer lugar no existe estructura análoga a la región mistacial en la cara de los humanos, lo que limita traducción directa del modelo experimental al caso clínico. En segundo lugar si bien la reinervación de los colgajos se asoció significativamente a la reparación nerviosa, no debemos despreciar el efecto de reinervación espontánea que en más largo plazo podría tener lugar si los animales receptores hubieran sobrevivido más días. En tercer

lugar el presente trabajo fue diseñado para elucidar si las reparaciones nerviosas condicionan la recuperación funcional, sin pretender estudiar la calidad de la reinervación ni del movimiento de las vibrisas. Un periodo de 56 días de recuperación fue suficiente para la reinervación de las vibrisas, y modelos experimentales anteriores mostraron que periodos similares eran suficientes para la reinervación de trasplantes de extremidades²³⁶. Sin embargo es posible que periodos más largos de supervivencia pudieran mejorar la calidad de reinervación. En cuarto lugar de forma ideal la recuperación motora se expresaría en términos de movimiento de vibrisas medidos por cinematografía de alta velocidad¹⁴¹. La realización de dicho estudio resultó imposible debido a que muchas vibrisas se perdieron durante el periodo postoperatorio, probablemente debido al rascado. Además las nuevas vibrisas presentaron patrones alterados de orientación debido probablemente a la cicatrización subyacente. En quinto lugar si bien la tracción de los bigotes no ha sido validada con prueba de sensibilidad, este gesto nos ofrece una evidencia cualitativa de reinervación y pruebas similares han sido admitidas para su publicación¹⁵⁴. En sexto lugar la reinervación fue estudiada a nivel histológico mediante el signo indirecto del artefacto de neuroqueratina. Se trata de una tinción de H-E, sencilla de aprender y de bajo coste, si bien no alcanza el grado de sensibilidad de otras técnicas como la microscopía electrónica⁶⁹. En séptimo lugar el presente trabajo no pretende elucidar el efecto que el cruce del CMH tiene sobre la recuperación funcional de los aloinjertos. Estudios previos han mostrado que los trasplantes de patas alogénicas se reinervan tan bien como los trasplantes isogénicos²³⁵. En cualquier caso la comparación de la recuperación funcional entre trasplantes isogénicos y alogénicos no tiene fundamento clínico, ya que ante la posibilidad de elegir entre un reimplante (isogénico) y un trasplante (alogénico), el primero tiene la clara ventaja de no requerir medicación inmunosupresora.

Los hallazgos del presente trabajo tienen relevancia en el campo del trasplante facial. Los antecedentes experimentales de trasplante de mano en

cerdos y primates demostraron el retorno de la funcionalidad y justificaron su aplicación en humanos. Pero ésta no ha sido la norma en el trasplante facial²⁴⁴. Ciertos trabajos señalaron la posibilidad de trasplantar la mandíbula acompañada de mucosa y piel en primates no humanos²²³. Algunos modelos más recientes han logrado mostrar la posibilidad de realizar el trasplante facial, pero por motivos éticos, el procedimiento se realizó de forma ectópica sobre la región inguinal²²⁴. Para cuando los tres primeros trasplantes faciales clínicos fueron descritos, los modelos experimentales sólo habían demostrado la viabilidad del procedimiento y la posibilidad de incluir ciertos tejidos además de la piel, como hueso y dientes^{157,158}. Dado que los trasplantes de manos clínicos habían presentado un notable nivel de recuperación nerviosa, algunos grupos hipotetizaron que los trasplantes faciales no se diferenciarían de tal evolución^{164,245-247}. Al menos tres trasplantes faciales fueron realizados en humanos antes de tener la primera confirmación experimental de la recuperación funcional del trasplante facial descrita en el presente trabajo. Sin embargo los resultados clínicos no limitan la novedad de los datos aquí presentados sino que la complementan.

Los trasplantes faciales clínicos revisados han consistido en 4 ó 5 UEFs y todos los casos han demostrado el retorno de la función sensitiva y/o motora, según la reparación nerviosa realizada. La reparación de los nervios facial y trigémino se realizó siempre que fue técnicamente posible. Para el éxito de los procedimientos fueron importantes las características de la parte trasplantada, como su textura y color, la complejidad de las estructuras, como nariz, labios y párpados y en último lugar el retorno de la sensibilidad y de la actividad muscular, como en el caso del tono del esfínter oral¹⁷⁷. Los hallazgos del presente estudio y la revisión de casos clínicos no sólo confirman que el retorno funcional es posible, sino que resaltan la importancia de las reparaciones nerviosas en el aloinjerto para lograr el objetivo último de devolver al paciente una apariencia de normalidad.

El trasplante alogénico de UEFs amplía el número de opciones en la reconstrucción de LFCs. Presenta como ventajas la reconstrucción funcional en un solo tiempo quirúrgico con una restauración completa del defecto en el menor tiempo posible. Las pruebas de resonancia magnética funcional han demostrado la reintegración cortical del aloinjerto facial, facilitando su unificación en el área cognitiva y de relación del paciente²⁴⁸. Ninguno de estas ventajas puede ser alcanzada por medio de reconstrucciones anaplastológicas o mediante injertos o colgajos. Entre sus inconvenientes destacan la necesidad de suministrar mediación inmunosupresora al receptor de por vida, exponiéndole a riesgos infecciosos, metabólicos y oncológicos. El uso de los ATCs de forma generalizada en el futuro requerirá del desarrollo de nuevas terapias que permitan la tolerancia de los aloinjertos sin sacrificar los beneficios de un sistema inmunitario competente. Los ATCs tienen por inconveniente necesitar de un largo tiempo hasta que se logra una reinervación de calidad suficiente para lograr tono muscular y control voluntario. Por contra los trasplantes de órgano sólido inician su función fisiológica desde el momento mismo del trasplante. La fiabilidad de la reconstrucción con ATCs está aún por determinar. Algunos aloinjertos de mano cuentan ya con 10 años de supervivencia, mientras que al menos un receptor sufrió una crisis de rechazo que no se pudo controlar, siendo el aloinjerto amputado tras 8 meses (comunicación personal, Dr. W. Breidenbach). La cuestión sobre qué hacer en caso de un rechazo incontrolable del aloinjerto facial tiene difícil respuesta. La pérdida del aloinjerto facial en un caso se asoció al fallecimiento del receptor, si bien no puede imputarse como única causa ya que el paciente recibió simultáneamente aloinjertos en ambas manos⁵. La solución para la pérdida de un aloinjerto de este tipo sería una reconstrucción de la cobertura con colgajo microvascular expandido con claras limitaciones estéticas y funcionales²¹². La pérdida de un aloinjerto facial podría ser devastadora en un paciente con una lesión de por sí compleja, siendo ésta otra desventaja de este tipo de reconstrucción.

La reconstrucción facial alogénica tiene como candidato ideal al paciente joven, con lesión traumática, quemadura o secuela oncológica antigua, con limitaciones que le impidan una integración psicológica y social satisfactoria. La presencia de procesos oncológicos activos es una contraindicación absoluta para el trasplante. En cuanto al aspecto psicológico, los pacientes deben ser convenientemente evaluados con anterioridad al procedimiento. No se espera que el reconocimiento facial tenga lugar después de un trasplante facial de forma similar a la situación antes de la reconstrucción. El aspecto tras la reconstrucción ha sido estudiado extensamente en modelos de cadáver y en los trasplantes clínicos comentados en la introducción²⁴⁹. El resultado tras un trasplante facial es cuando menos un intermedio de apariencia entre el donante y el receptor. Los receptores de trasplante facial no han presentado problemas de reconocimiento ante un espejo. Además el reconocimiento personal no sólo ha dependido de la imagen sino también de la reintegración cortical tras la neurotización, ya que los receptores mostraron mayor satisfacción con el resultado tras la reinervación de los aloinjertos²⁵⁰.

La indicación de reconstrucción facial alogénica debe reservarse para aquellos pacientes en los que otros intentos reconstructivos fracasaron, o para aquellos casos en los que *a priori* se puede anticipar que el resultado funcional de la cirugía convencional no será satisfactorio. Sería cuestionable realizar intentos reconstructivos infructuosos por la vía convencional ya que se alargaría el sufrimiento del paciente, el número de intervenciones y el tiempo de tratamiento probablemente durante años. Se debe tener en cuenta la adaptación psicológica del paciente a la lesión, ya que este aspecto determinará los requerimientos de la reconstrucción que debemos indicar. Un paciente bien adaptado psicológica y socialmente a una secuela de LFC no se beneficiaría de una reconstrucción alogénica, ya que se vería expuesto a una serie de riesgos derivados de la inmunosupresión. En cambio en un paciente con requerimientos funcionales mayores y peor adaptación psicosocial, el beneficio de una reconstrucción alogénica compensaría los riesgos de la inmunosupresión.

El trasplante facial se encuentra todavía en sus inicios y despierta debates tanto médicos como éticos. Si bien la cara puede no ser un órgano necesario para salvar la vida sí resulta esencial para una mejor vida. Reducir esta parte vital del ser humano a la imagen sólo demuestra el desconocimiento del impacto que supone una desfiguración facial para el paciente y su entorno. La restauración de las funciones simbólicas y sociales de la cara mediante un trasplante facial puede suponer una nueva vida para su receptor. La mayor diferencia entre las reconstrucciones alogénicas y los trasplantes de órganos no esenciales como el riñón o el páncreas supone el grado de exposición del aloinjerto a la mirada ajena²⁵¹. Este hecho pone a los ATCs bajo la evaluación visual de extraños. Sin embargo, para una toma de decisiones que cumpla correctamente con la ética debemos conocer y mostrar los riesgos y beneficios del procedimiento a los posibles candidatos. Sobre ellos pesa la responsabilidad de decidir de forma autónoma la mejor opción para su reconstrucción de entre las disponibles en la actualidad.

6.CONCLUSIONES

La reparación de los nervios facial e infraorbitario de los aloinjertos faciales permitió el retorno de la sensibilidad y la actividad motora voluntaria. No se pudo confirmar el retorno de la función a los aloinjertos en los que no se realizaron reparaciones nerviosas, por lo que la H_0 quedó descartada. Sólo aquellos aloinjertos en los que se realizaron reparaciones nerviosas presentaron signos de reinervación, confirmando la H_1 .

En conclusión, la reparación del nervio facial y del nervio trigémino fue esencial para el retorno de la función motora y sensitiva en el contexto del trasplante facial experimental en ratas.

En cuanto a los objetivos secundarios:

1. Se confirmó mediante angiografía la distribución vascular del integumento facial
2. Las disecciones del nervio facial corroboraron la distribución y nomenclatura actual de las ramas del nervio facial.
3. El desarrollo del experimento permitió el entrenamiento experimental microquirúrgico durante 450 horas.

7. BIBLIOGRAFÍA.

Bibliografia

1. Mueller R. Facial Trauma: Soft Tissue Injuries. In: Mathes S, ed. Plastic Surgery. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier; 2006:1-45.
2. Jones TR, Humphrey PA, Brennan DC. Transplantation of vascularized allogeneic skeletal muscle for scalp reconstruction in a renal transplant patient. *Transplantation* 1998;65:1605-10.
3. Dubernard JM, Owen E, Herzberg G, et al. Human hand allograft: report on first 6 months. *Lancet* 1999;353:1315-20.
4. Petruzzo P, Lanzetta M, Dubernard JM, et al. The international registry on hand and composite tissue transplantation. *Transplantation* 2008;86:487-92.
5. Gordon CR, Siemionow M, Papay F, et al. The world's experience with facial transplantation: what have we learned thus far? *Ann Plast Surg* 2009;63:572-8.
6. Conolly BW, Benanzio, M. Cosmas and Damian Revisited. In: Lanzetta M, Dubernard JM, eds. Hand Transplantation. 1st ed. Milano: Springer-Verlag; 2007:3-11.
7. Jensen JN, Mackinnon SE. Composite tissue allotransplantation: a comprehensive review of the literature--part 1. *J Reconstr Microsurg* 2000;16:57-68.
8. Goldwyn RM, Beach PM, Feldman D, Wilson RE. Canine limb homotransplantation. *Plast Reconstr Surg* 1966;37:184-95.

9. Doi K. Homotransplantation of limbs in rats. A preliminary report on an experimental study with nonspecific immunosuppressive drugs. *Plast Reconstr Surg* 1979;64:613-21.
10. Lee WP, Rubin JP, Bourget JL, et al. Tolerance to limb tissue allografts between swine matched for major histocompatibility complex antigens. *Plast Reconstr Surg* 2001;107:1482-90.
11. Hettiaratchy S, Melendy E, Randolph MA, et al. Tolerance to composite tissue allografts across a major histocompatibility barrier in miniature swine. *Transplantation* 2004;77:514-21.
12. Lee WP, Yaremchuk MJ, Pan YC, Randolph MA, Tan CM, Weiland AJ. Relative antigenicity of components of a vascularized limb allograft. *Plast Reconstr Surg* 1991;87:401-11.
13. Mathes DW, Randolph MA, Solari MG, et al. Split tolerance to a composite tissue allograft in a swine model. *Transplantation* 2003;75:25-31.
14. Daniel RK, Egerszegi EP, Samulack DD, Skanes SE, Dykes RW, Rennie WR. Tissue transplants in primates for upper extremity reconstruction: a preliminary report. *J Hand Surg Am* 1986;11:1-8.
15. Stark GB, Swartz WM, Narayanan K, Moller AR. Hand transplantation in baboons. *Transplant Proc* 1987;19:3968-71.
16. Hovius SE, Stevens HP, van Nierop PW, Rating W, van Strik R, van der Meulen JC. Allogeneic transplantation of the radial side of the hand in the rhesus monkey: I. Technical aspects. *Plast Reconstr Surg* 1992;89:700-9.

17. Gordon CR SJ, Black KS, Hewitt CW. The evolution of Composite Tissue allotransplantation: the twentieth century realization of "Cosmas and Damian". In: Hewitt C, Lee, WPA, ed. Transplantation of Composite Tissue Allografts. New York: Springer; 2008:13-26.
18. Jones JW, Gruber SA, Barker JH, Breidenbach WC. Successful hand transplantation. One-year follow-up. Louisville Hand Transplant Team. *N Engl J Med* 2000;343:468-73.
19. Lee WP, Mathes DW. Hand transplantation: pertinent data and future outlook. *J Hand Surg Am* 1999;24:906-13.
20. Muller JS, Petrova S, Kiefer R, et al. Synaptic congenital myasthenic syndrome in three patients due to a novel missense mutation (T441A) of the COLQ gene. *Neuropediatrics* 2004;35:183-9.
21. Baumeister S, Dragu A, Jester A, Germann G, Menke H. [The role of plastic and reconstructive surgery within an interdisciplinary treatment concept for diabetic ulcers of the foot]. *Dtsch Med Wochenschr* 2004;129:676-80.
22. Baumeister S, Kleist C, Dohler B, Bickert B, Germann G, Opelz G. Risks of allogeneic hand transplantation. *Microsurgery* 2004;24:98-103.
23. Mathew JM, Ruiz P. Immunopathology of Organ Transplantation. In: Ruiz P, ed. Transplantation Pathology. 1st ed. New York: Cambridge University Press; 2009:1-25.
24. Medawar PB. The behaviour and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits: A report to the War Wounds Committee of the Medical Research Council. *J Anat* 1944;78:176-99.

25. Medawar PB. A second study of the behaviour and fate of skin homografts in rabbits: A Report to the War Wounds Committee of the Medical Research Council. *J Anat* 1945;79:157-76 4.
26. Kirk AD. Immunology of Transplantation. In: Norton JA, Randal Bollinger R, Chang AE, et al., eds. Surgery: Basic Science and Clinical Evidence. 1st ed. New York: Springer; 2000:1403-29.
27. Bach F, Hirschhorn K. Lymphocyte Interaction: A Potential Histocompatibility Test in Vitro. *Science* 1964;143:813-4.
28. Campbell RD, Trowsdale J. Map of the human MHC. *Immunol Today* 1993;14:349-52.
29. Parham P, Ohta T. Population biology of antigen presentation by MHC class I molecules. *Science* 1996;272:67-74.
30. Doyle C, Strominger JL. Interaction between CD4 and class II MHC molecules mediates cell adhesion. *J Immunol* 2010;184:5935-8.
31. Halloran PF, Broski AP, Batiuk TD, Madrenas J. The molecular immunology of acute rejection: an overview. *Transpl Immunol* 1993;1:3-27.
32. Schlitt HJ, Raddatz G, Steinhoff G, Wonigeit K, Pichlmayr R. Passenger lymphocytes in human liver allografts and their potential role after transplantation. *Transplantation* 1993;56:951-5.
33. Zhou P, Hwang KW, Palucki DA, et al. Impaired NF-kappaB activation in T cells permits tolerance to primary heart allografts and to secondary donor skin grafts. *Am J Transplant* 2003;3:139-47.

34. Dai Z, Nasr IW, Reel M, et al. Impaired recall of CD8 memory T cells in immunologically privileged tissue. *J Immunol* 2005;174:1165-70.
35. Zecher D, Li Q, Oberbarnscheidt MH, et al. NK cells delay allograft rejection in lymphopenic hosts by downregulating the homeostatic proliferation of CD8+ T cells. *J Immunol* 2010;184:6649-57.
36. Marengere LE, Waterhouse P, Duncan GS, Mittrucker HW, Feng GS, Mak TW. Regulation of T cell receptor signaling by tyrosine phosphatase SYP association with CTLA-4. *Science* 1996;272:1170-3.
37. Clipstone NA, Crabtree GR. Identification of calcineurin as a key signalling enzyme in T-lymphocyte activation. *Nature* 1992;357:695-7.
38. Clipstone NA, Crabtree GR. Calcineurin is a key signaling enzyme in T lymphocyte activation and the target of the immunosuppressive drugs cyclosporin A and FK506. *Ann N Y Acad Sci* 1993;696:20-30.
39. Crabtree GR, Clipstone NA. Signal transmission between the plasma membrane and nucleus of T lymphocytes. *Annu Rev Biochem* 1994;63:1045-83.
40. Crabtree GR. Contingent genetic regulatory events in T lymphocyte activation. *Science* 1989;243:355-61.
41. Grunicke HH. Coordinated regulation of Ras-, Rac-, and Ca²⁺-dependent signaling pathways. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2009;19:139-69.
42. Schreiber SL, Crabtree GR. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Immunol Today* 1992;13:136-42.
43. Bram RJ, Crabtree GR. Calcium signalling in T cells stimulated by a cyclophilin B-binding protein. *Nature* 1994;371:355-8.

44. Ho S, Clipstone N, Timmermann L, et al. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Clin Immunol Immunopathol* 1996;80:40-5.
45. Plas DR, Johnson R, Pingel JT, et al. Direct regulation of ZAP-70 by SHP-1 in T cell antigen receptor signaling. *Science* 1996;272:1173-6.
46. Winslow MM, Neilson JR, Crabtree GR. Calcium signalling in lymphocytes. *Curr Opin Immunol* 2003;15:299-307.
47. Riegel JS, Corthesy B, Flanagan WM, Crabtree GR. Regulation of the interleukin-2 gene. *Chem Immunol* 1992;51:266-98.
48. Crabtree GR. Calcium, calcineurin, and the control of transcription. *J Biol Chem* 2001;276:2313-6.
49. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 2005;175:5-14.
50. Nagata S, Suda T. Fas and Fas ligand: lpr and gld mutations. *Immunol Today* 1995;16:39-43.
51. Baldwin WM, 3rd, Pruitt SK, Brauer RB, Daha MR, Sanfilippo F. Complement in organ transplantation. Contributions to inflammation, injury, and rejection. *Transplantation* 1995;59:797-808.
52. Mosmann TR, Li L, Hengartner H, Kagi D, Fu W, Sad S. Differentiation and functions of T cell subsets. *Ciba Found Symp* 1997;204:148-54.
53. Baumeister S, Endermann T, Charpian S, et al. A biotin derivative blocks parasite induced novel permeation pathways in Plasmodium falciparum-infected erythrocytes. *Mol Biochem Parasitol* 2003;132:35-45.

54. Crabtree GR, Schreiber SL. SnapShot: Ca²⁺-calcineurin-NFAT signaling. *Cell* 2009;138:210e.
55. Clipstone NA, Fiorentino DF, Crabtree GR. Molecular analysis of the interaction of calcineurin with drug-immunophilin complexes. *J Biol Chem* 1994;269:26431-7.
56. Mihatsch MJ, Kyo M, Morozumi K, Yamaguchi Y, Nিকেleit V, Ryffel B. The side-effects of ciclosporine-A and tacrolimus. *Clin Nephrol* 1998;49:356-63.
57. Bottiger Y, Brattstrom C, Tyden G, Sawe J, Groth CG. Tacrolimus whole blood concentrations correlate closely to side-effects in renal transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol* 1999;48:445-8.
58. Green MD, Michaels MG. Tacrolimus: effects and side effects. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:372-3.
59. Adamson LA, Huang WC, Breidenbach WC, et al. A modified model of hindlimb osteomyocutaneous flap for the study of tolerance to composite tissue allografts. *Microsurgery* 2007;27:630-6.
60. Jeng SF, Kuo YR, Wei FC, Su CY, Chien CY. Reconstruction of extensive composite mandibular defects with large lip involvement by using double free flaps and fascia lata grafts for oral sphincters. *Plast Reconstr Surg* 2005;115:1830-6.
61. Sunderland S. Nerves and nerve injuries. 2d ed. Edinburgh ; New York: Churchill Livingstone; 1978.

62. Muller JS, Abicht A, Burke G, et al. The congenital myasthenic syndrome mutation RAPSN N88K derives from an ancient Indo-European founder. *J Med Genet* 2004;41:104.
63. Maggi S, Lowey J, Mackinnon S. Pathophysiology of nerve injury. *Clin Plast Surg* 2003;30:109-26.
64. Lutz MB, Kurts C. Induction of peripheral CD4+ T-cell tolerance and CD8+ T-cell cross-tolerance by dendritic cells. *Eur J Immunol* 2009;39:2325-30.
65. Kimura J. Electrodiagnosis in diseases of nerve and muscle. 4rd ed. New York: Oxford University Press; 2001.
66. Sunderland S. The anatomy and physiology of nerve injury. *Muscle Nerve* 1990;13:771-84.
67. Snyder SH, Sabatini DM. Immunophilins and the nervous system. *Nat Med* 1995;1:32-7.
68. Kaneda M, Nagashima M, Mawatari K, et al. Growth-Associated Protein43 (GAP43) Is a Biochemical Marker for the Whole Period of Fish Optic Nerve Regeneration. *Adv Exp Med Biol* 2010;664:97-104.
69. Hudak PL, Amadio PC, Bombardier C. Development of an upper extremity outcome measure: the DASH (disabilities of the arm, shoulder and hand) [corrected]. The Upper Extremity Collaborative Group (UECG). *Am J Ind Med* 1996;29:602-8.
70. Fu SY, Gordon T. The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration. *Mol Neurobiol* 1997;14:67-116.

71. Henderson CE, Camu W, Mettling C, et al. Neurotrophins promote motor neuron survival and are present in embryonic limb bud. *Nature* 1993;363:266-70.
72. Johnson EO, Charchanti A, Soucacos PN. Nerve repair: experimental and clinical evaluation of neurotrophic factors in peripheral nerve regeneration. *Injury* 2008;39:37-42.
73. Boyd JG, Gordon T. Neurotrophic factors and their receptors in axonal regeneration and functional recovery after peripheral nerve injury. *Mol Neurobiol* 2003;27:277-324.
74. Terenghi G. Peripheral nerve regeneration and neurotrophic factors. *J Anat* 1999;194:1-14.
75. Fu SY, Gordon T. Contributing factors to poor functional recovery after delayed nerve repair: prolonged axotomy. *J Neurosci* 1995;15:3876-85.
76. Martini R. Expression and functional roles of neural cell surface molecules and extracellular matrix components during development and regeneration of peripheral nerves. *J Neurocytol* 1994;23:1-28.
77. Letourneau PC, Shattuck TA, Roche FK, Takeichi M, Lemmon V. Nerve growth cone migration onto Schwann cells involves the calcium-dependent adhesion molecule, N-cadherin. *Dev Biol* 1990;138:430-42.
78. Haugen PK, Letourneau PC. Interleukin-2 enhances chick and rat sympathetic, but not sensory, neurite outgrowth. *J Neurosci Res* 1990;25:443-52.

79. Letourneau PC, Shattuck TA. Distribution and possible interactions of actin-associated proteins and cell adhesion molecules of nerve growth cones. *Development* 1989;105:505-19.
80. Lankford KL, Letourneau PC. Evidence that calcium may control neurite outgrowth by regulating the stability of actin filaments. *J Cell Biol* 1989;109:1229-43.
81. Letourneau PC, Pech IV, Rogers SL, Palm SL, McCarthy JB, Furcht LT. Growth cone migration across extracellular matrix components depends on integrin, but migration across glioma cells does not. *J Neurosci Res* 1988;21:286-97.
82. Williams LR, Longo FM, Powell HC, Lundborg G, Varon S. Spatial-temporal progress of peripheral nerve regeneration within a silicone chamber: parameters for a bioassay. *J Comp Neurol* 1983;218:460-70.
83. Yu WM, Chen ZL, North AJ, Strickland S. Laminin is required for Schwann cell morphogenesis. *J Cell Sci* 2009;122:929-36.
84. Yu WM, Yu H, Chen ZL, Strickland S. Disruption of laminin in the peripheral nervous system impedes nonmyelinating Schwann cell development and impairs nociceptive sensory function. *Glia* 2009;57:850-9.
85. Uziyel Y, Hall S, Cohen J. Influence of laminin-2 on Schwann cell-axon interactions. *Glia* 2000;32:109-21.
86. Mackinnon SE, Dellon AL, O'Brien JP. Changes in nerve fiber numbers distal to a nerve repair in the rat sciatic nerve model. *Muscle Nerve* 1991;14:1116-22.

87. Chen Q, Chen TJ, Letourneau PC, Costa Lda F, Schubert D. Modifier of cell adhesion regulates N-cadherin-mediated cell-cell adhesion and neurite outgrowth. *J Neurosci* 2005;25:281-90.
88. Gehler S, Gallo G, Veien E, Letourneau PC. p75 neurotrophin receptor signaling regulates growth cone filopodial dynamics through modulating RhoA activity. *J Neurosci* 2004;24:4363-72.
89. Letourneau PC. Cell-substratum adhesion of neurite growth cones, and its role in neurite elongation. *Exp Cell Res* 1979;124:127-38.
90. Letourneau PC. Chemotactic response of nerve fiber elongation to nerve growth factor. *Dev Biol* 1978;66:183-96.
91. Kao SC, Wu H, Xie J, et al. Calcineurin/NFAT signaling is required for neuregulin-regulated Schwann cell differentiation. *Science* 2009;323:651-4.
92. Hall S. Axonal regeneration through acellular muscle grafts. *J Anat* 1997;190:57-71.
93. Kuo YR, Wang FS, Jeng SF, Lutz BS, Huang HC, Yang KD. Nitrosoglutathione promotes flap survival via suppression of reperfusion injury-induced superoxide and inducible nitric oxide synthase induction. *J Trauma* 2004;57:1025-31.
94. Kuo YR, Wu WS, Jeng SF, et al. Activation of ERK and p38 kinase mediated keloid fibroblast apoptosis after flashlamp pulsed-dye laser treatment. *Lasers Surg Med* 2005;36:31-7.

95. Hsieh CH, Jeng SF, Chen SH, Wei FC. Folded free vascularized fibular grafts for the reconstruction of combined segmental bone defects of distal tibia and fibula. *J Trauma* 2004;56:437-9.
96. Kuo YR, Jeng SF, Wang FS, et al. Flashlamp pulsed dye laser (PDL) suppression of keloid proliferation through down-regulation of TGF-beta1 expression and extracellular matrix expression. *Lasers Surg Med* 2004;34:104-8.
97. Aird RB, Naffziger HC. The pathology of human striated muscle following denervation. *J Neurosurg* 1953;10:216-27.
98. Nikolaou PK, Macdonald BL, Glisson RR, Seaber AV, Garrett WE, Jr. Biomechanical and histological evaluation of muscle after controlled strain injury. *Am J Sports Med* 1987;15:9-14.
99. Garrett WE, Jr., Seaber AV, Boswick J, Urbaniak JR, Goldner JL. Recovery of skeletal muscle after laceration and repair. *J Hand Surg Am* 1984;9:683-92.
100. Lin TS, Jeng SF, Wei FC. Temporary placement of plantar heel skin in the thigh with subsequent transfer back to the heel using free anterolateral thigh myocutaneous flap as a carrier: case report. *J Trauma* 2005;58:193-5.
101. Krishnamurti A, Kanagasuntheram R, Vij S. Failure of reinnervation of Pacinian corpuscle after nerve crush. An electron microscopic study. *Acta Neuropathol* 1973;23:338-41.
102. Mackel R, Kunesch E, Waldhor F, Struppler A. Reinnervation of mechanoreceptors in the human glabrous skin following peripheral nerve repair. *Brain Res* 1983;268:49-65.

103. Robinson LR. Traumatic injury to peripheral nerves. *Muscle Nerve* 2000;23:863-73.
104. Wilbourn AJ. The electrodiagnostic examination with peripheral nerve injuries. *Clin Plast Surg* 2003;30:139-54.
105. Seivak MO, J., Fernandez, J.M. Positive manifestations of nerve fiber dysfunction: clinical, electrophysiologic, and pathologic correlates. In: Brown WF, Botton, C.F., ed. *Clinical Electromyography*. Boston: Butterworth-Heinemann; 1993:117-47.
106. Brown WF, Bolton CF, Aminoff MJ. *Neuromuscular function and disease: basic, clinical and electrodiagnostic aspects*. Philadelphia: W.B. Saunders; 2002.
107. Lederman RJ. Nerve conduction studies. In: Levin KH, Lüders, H.O., ed. *Comprehensive Clinical Neurophysiology*. Philadelphia: WB Saunders; 2002:89-111.
108. Wilbourn AJ. Nerve conduction studies. Types, components, abnormalities, and value in localization. *Neurol Clin* 2002;20:305-38.
109. Ferrante MA, Wilbourn AJ. The utility of various sensory nerve conduction responses in assessing brachial plexopathies. *Muscle Nerve* 1995;18:879-89.
110. Mitsumoto H, Wilbourn AJ. Causes and diagnosis of sensory neuropathies: a review. *J Clin Neurophysiol* 1994;11:553-67.
111. Wilbourn AJ. Sensory nerve conduction studies. *J Clin Neurophysiol* 1994;11:584-601.

112. Brown WF, Doherty TJ, Chan M, Andres A, Provost SM. Human motor units in health and disease. *Muscle Nerve Suppl* 2000;9:7-18.
113. Wilbourn AJ, Ferrante, M.A. Clinical electromyography. In: Joynt RJ, Griggs, R.C., ed. Baker's Clinical Neurology. Philadelphia: LWW; 2000:7592-8248.
114. Baumeister S, Germann G, Giessler G, Dragu A, Sauerbier M. [Reconstruction of burned extremities by free flap transplantation]. *Chirurg* 2004;75:568-78.
115. Khouri RK. Avoiding free flap failure. *Clin Plast Surg* 1992;19:773-81.
116. Khouri RK. Free flap surgery. The second decade. *Clin Plast Surg* 1992;19:757-61.
117. Acland R. New instruments for microvascular surgery. *Br J Surg* 1972;59:181-4.
118. Buncke HJ. Microsurgery--retrospective. *Clin Plast Surg* 1986;13:315-8.
119. Lutz BS, Wei FC, Machens HG, Rhode U, Berger A. Indications and limitations of angiography before free-flap transplantation to the distal lower leg after trauma: prospective study in 36 patients. *J Reconstr Microsurg* 2000;16:187-91.
120. Rumbolo PM, Cooley BC, Hanel DP, Gould JS. Comparison of the influence of intraluminal irrigation solutions on free flap survival. *Microsurgery* 1992;13:45-7.
121. Fawcett DW. Sistemas Vasculares Snguíneo y Linfático. In: Fawcett DW, ed. Tratado de Histología. 1ª ed. Madrid: WB Saunders; 1994:369-84.

122. Lohman R, Siemionow M, Lister G. Advantages of sharp adventitial dissection for microvascular anastomoses. *Ann Plast Surg* 1998;40:577-85.
123. Evans GR, Gherardini G, Gurlek A, et al. Drug-induced vasodilation in an in vitro and in vivo study: the effects of nicardipine, papaverine, and lidocaine on the rabbit carotid artery. *Plast Reconstr Surg* 1997;100:1475-81.
124. Thomson JG, Kim JH, Syed SA, Reid MA, Madsen J, Restifo RJ. The effect of prolonged clamping and vascular stasis on the patency of arterial and venous microanastomoses. *Ann Plast Surg* 1998;40:436-41.
125. Futran ND, Stack BC, Jr. Single versus dual venous drainage of the radial forearm free flap. *Am J Otolaryngol* 1996;17:112-7.
126. Castellino F, Germain RN. Cooperation between CD4+ and CD8+ T cells: when, where, and how. *Annu Rev Immunol* 2006;24:519-40.
127. Gurlek A, Kroll SS, Schusterman MA. Ischemic time and free flap success. *Ann Plast Surg* 1997;38:503-5.
128. Suominen S, Asko-Seljavaara S. Free flap failures. *Microsurgery* 1995;16:396-9.
129. Calhoun KH, Tan L, Seikaly H. An integrated theory of the no-reflow phenomenon and the beneficial effect of vascular washout on no-reflow. *Laryngoscope* 1999;109:528-35.
130. Millesi H. The nerve gap. Theory and clinical practice. *Hand Clin* 1986;2:651-63.
131. Mackinnon SE. Surgical management of the peripheral nerve gap. *Clin Plast Surg* 1989;16:587-603.

132. Clark WL, Trumble TE, Swiontkowski MF, Tencer AF. Nerve tension and blood flow in a rat model of immediate and delayed repairs. *J Hand Surg Am* 1992;17:677-87.
133. Watchmaker GP, Lee G, Mackinnon SE. Intra-neural topography of the ulnar nerve in the cubital tunnel facilitates anterior transposition. *J Hand Surg Am* 1994;19:915-22.
134. Rosberg HE, Carlsson KS, Hojgard S, Lindgren B, Lundborg G, Dahlin LB. Injury to the human median and ulnar nerves in the forearm--analysis of costs for treatment and rehabilitation of 69 patients in southern Sweden. *J Hand Surg Br* 2005;30:35-9.
135. Dorfl J. The musculature of the mystacial vibrissae of the white mouse. *J Anat* 1982;135:147-54.
136. Haidarliu S, Ahissar E. Spatial organization of facial vibrissae and cortical barrels in the guinea pig and golden hamster. *J Comp Neurol* 1997;385:515-27.
137. Mehta SB, Kleinfeld D. Frisking the whiskers: patterned sensory input in the rat vibrissa system. *Neuron* 2004;41:181-4.
138. Schiffman HR, Lore R, Passafiume J, Neeb R. Role of vibrissae for depth perception in the rat (*Rattus norvegicus*). *Anim Behav* 1970;18:290-2.
139. Gustafson JW, Felbain-Keramidas SL. Behavioral and neural approaches to the function of the mystacial vibrissae. *Psychol Bull* 1977;84:477-88.
140. Guic-Robles E, Valdivieso C, Guajardo G. Rats can learn a roughness discrimination using only their vibrissal system. *Behav Brain Res* 1989;31:285-9.

141. Carvell GE, Simons DJ. Biometric analyses of vibrissal tactile discrimination in the rat. *J Neurosci* 1990;10:2638-48.
142. Carvell GE, Simons DJ. Task- and subject-related differences in sensorimotor behavior during active touch. *Somatosens Mot Res* 1995;12:1-9.
143. Harvey MA, Bermejo R, Zeigler HP. Discriminative whisking in the head-fixed rat: optoelectronic monitoring during tactile detection and discrimination tasks. *Somatosens Mot Res* 2001;18:211-22.
144. Gottschaldt KM, Vahle-Hinz C. Merkel cell receptors: structure and transducer function. *Science* 1981;214:183-6.
145. Dorfl J. The innervation of the mystacial region of the white mouse: A topographical study. *J Anat* 1985;142:173-84.
146. Vaquero C, Gonzalez Perera J, Rodriguez Toves LA, Diago MV, Verrier A. Manual de Microcirugía Experimental en la Rata. Valladolid: Universidad de Valladolid; 1988.
147. Howard JC. The major histocompatibility complex of the rat: a partial review. *Metabolism* 1983;32:41-50.
148. Greene E. Anatomy of the rat. Philadelphia: The American Philosophical Society; 1935.
149. Poveda R, Planas E, Pol O, Romero A, Sanchez S, Puig MM. Interaction between metamizol and tramadol in a model of acute visceral pain in rats. *Eur J Pain* 2003;7:439-48.

150. Laird JM, Roza C, Olivar T. Antinociceptive activity of metamizol in rats with experimental ureteric calculosis: central and peripheral components. *Inflamm Res* 1998;47:389-95.
151. Rees MJ, Taylor GI. A simplified lead oxide cadaver injection technique. *Plast Reconstr Surg* 1986;77:141-5.
152. Siemionow M, Demir Y, Mukherjee A, Klimczak A. Development and maintenance of donor-specific chimerism in semi-allogenic and fully major histocompatibility complex mismatched facial allograft transplants. *Transplantation* 2005;79:558-67.
153. Siemionow M, Gozel-Ulusal B, Engin Ulusal A, Ozmen S, Izycki D, Zins JE. Functional tolerance following face transplantation in the rat. *Transplantation* 2003;75:1607-9.
154. Ulusal AE, Ulusal BG, Hung LM, Wei FC. Establishing a composite auricle allotransplantation model in rats: introduction to transplantation of facial subunits. *Plast Reconstr Surg* 2005;116:811-7.
155. Ulusal BG, Ulusal AE, Ozmen S, Zins JE, Siemionow MZ. A new composite facial and scalp transplantation model in rats. *Plast Reconstr Surg* 2003;112:1302-11.
156. Unal S, Agaoglu G, Zins J, Siemionow M. New surgical approach in facial transplantation extends survival of allograft recipients. *Ann Plast Surg* 2005;55:297-303.
157. Yazici I, Carnevale K, Klimczak A, Siemionow M. A new rat model of maxilla allotransplantation. *Ann Plast Surg* 2007;58:338-44.

158. Yazici I, Unal S, Siemionow M. Composite hemiface/calvaria transplantation model in rats. *Plast Reconstr Surg* 2006;118:1321-7.
159. Black KS, Hewitt CW, Fraser LA, et al. Composite tissue (limb) allografts in rats. II. Indefinite survival using low-dose cyclosporine. *Transplantation* 1985;39:365-8.
160. Buttemeyer R, Jones NF, Min Z, Rao U. Rejection of the component tissues of limb allografts in rats immunosuppressed with FK-506 and cyclosporine. *Plast Reconstr Surg* 1996;97:139-48.
161. Hovius SE, van Adrichem LN, van der Heijden PM, Vuzevski VD, van Strik R, van der Meulen JC. Postoperative monitoring of allogeneic limb transplantation in rats. *Ann Plast Surg* 1988;21:559-65.
162. Kuroki H, Ikuta Y. Nerve regeneration of vascularized rat limb allograft and functional recovery of long-term graft survivals treated by short course of FK 506 or cyclosporine. *Transplant Proc* 1995;27:348-50.
163. Neligan PC. Principles of Reconstruction. In: Neligan PC, Wei F-C, eds. *Microsurgical Reconstruction of the Head and Neck*. St. Louis: Quality Medical Publishing; 2010:129-34.
164. Dubernard JM, Petruzzo P, Lanzetta M, et al. Functional results of the first human double-hand transplantation. *Ann Surg* 2003;238:128-36.
165. Schneeberger S, Ninkovic M, Gabl M, et al. First forearm transplantation: outcome at 3 years. *Am J Transplant* 2007;7:1753-62.

166. Schneeberger S, Landin L, Kaufmann C, et al. Alemtuzumab: key for minimization of maintenance immunosuppression in reconstructive transplantation? *Transplant Proc* 2009;41:499-502.
167. Landin L, Cavadas PC, Nthumba P, Ibanez J, Vera-Sempere F. Preliminary results of bilateral arm transplantation. *Transplantation* 2009;88:749-51.
168. Landin L, Cavadas PC, Ibanez J, Roger I, Vera-Sempere F. CD3+-mediated rejection and C4d deposition in two composite tissue (bilateral hand) allograft recipients after induction with alemtuzumab. *Transplantation* 2009;87:776-81.
169. Cavadas PC, Landin L, Ibanez J. Bilateral hand transplantation: result at 20 months. *J Hand Surg Eur Vol* 2009;34:434-43.
170. Schneeberger S, Landin L, Jableki J, et al. Achievements and challenges in composite tissue allotransplantation. *Transpl Int* 2011;10.1111/j.432-2277.011.01261.x.
171. Levi DM, Tzakis AG, Kato T, et al. Transplantation of the abdominal wall. *Lancet* 2003;361:2173-6.
172. Cipriani R, Contedini F, Santoli M, et al. Abdominal wall transplantation with microsurgical technique. *Am J Transplant* 2007;7:1304-7.
173. Selvaggi G, Levi DM, Cipriani R, Sgarzani R, Pinna AD, Tzakis AG. Abdominal wall transplantation: surgical and immunologic aspects. *Transplant Proc* 2009;41:521-2.

174. Strome M, Stein J, Esclamado R, et al. Laryngeal transplantation and 40-month follow-up. *N Engl J Med* 2001;344:1676-9.
175. Lorenz RR, Hicks DM, Shields RW, Jr., Fritz MA, Strome M. Laryngeal nerve function after total laryngeal transplantation. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;131:1016-8.
176. Devauchelle B, Badet L, Lengele B, et al. First human face allograft: early report. *Lancet* 2006;368:203-9.
177. Dubernard JM, Lengele B, Morelon E, et al. Outcomes 18 months after the first human partial face transplantation. *N Engl J Med* 2007;357:2451-60.
178. Lantieri L, Meningaud JP, Grimbert P, et al. Repair of the lower and middle parts of the face by composite tissue allotransplantation in a patient with massive plexiform neurofibroma: a 1-year follow-up study. *Lancet* 2008;372:639-45.
179. Guo S, Han Y, Zhang X, et al. Human facial allotransplantation: a 2-year follow-up study. *Lancet* 2008;372:631-8.
180. Ngo K, Goldstein D, Neligan P, Gilbert R. Colorimetric evaluation of facial skin and free flap donor sites in various ethnic populations. *J Otolaryngol* 2006;35:249-54.
181. Millard DR, Jr. Preservation of natural landmarks in unilateral cleft lip. *J Am Med Assoc* 1959;169:133-4.
182. Hofer SO, Mureau MA. Improving outcomes in aesthetic facial reconstruction. *Clin Plast Surg* 2009;36:345-54.

183. Menick FJ. The Nasal Defect - Understanding the Challenge. In: Nasal Reconstruction. 1st ed. Philadelphia: Elsevier; 2009:13-53.
184. Remensnyder JP, Donelan, M.B. Reconstruction of the Head and Neck. In: Herndon D, ed. Total Burn Care. New York: WB Saunders; 2002:656-89.
185. Baumeister SP, Ofer N, Kleist C, et al. Comparison of six methods for the assessment of ischemia-reperfusion injury in skeletal muscle following composite tissue allotransplantation. *J Reconstr Microsurg* 2004;20:253-9.
186. Atabay K, Celebi C, Cenetoglu S, Baran NK, Kiyamaz Z. Facial resurfacing in xeroderma pigmentosum with monoblock full-thickness skin graft. *Plast Reconstr Surg* 1991;87:1121-5.
187. Bauer BS, Vicari FA, Richard ME, Schwed R. Expanded full-thickness skin grafts in children: case selection, planning, and management. *Plast Reconstr Surg* 1993;92:59-69.
188. Ergun SS, Cek DI, Demirkesen C. Is facial resurfacing with monobloc full-thickness skin graft a remedy in xeroderma pigmentosum? *Plast Reconstr Surg* 2002;110:1290-3.
189. Bakhach J, Conde A, Demiri E, Baudet J. The reverse auricular flap: a new flap for nose reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 1999;104:1280-8.
190. Khouri RK, Ozbek MR, Hruza GJ, Young VL. Facial reconstruction with prefabricated induced expanded (PIE) supraclavicular skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 1995;95:1007-15.
191. Chen W, Issazadeh S, Sayegh MH, Khoury SJ. In vivo mechanisms of acquired thymic tolerance. *Cell Immunol* 1997;179:165-73.

192. Chun JT, Rohrich RJ. Versatility of tissue expansion in head and neck burn reconstruction. *Ann Plast Surg* 1998;41:11-6.
193. MacLennan SE, Corcoran JF, Neale HW. Tissue expansion in head and neck burn reconstruction. *Clin Plast Surg* 2000;27:121-32.
194. Sakurai H, Takeuchi M, Fujiwara O, et al. Total face reconstruction with one expanded free flap. *Surg Technol Int* 2005;14:329-33.
195. Serletti JM, Tavin E, Moran SL, Coniglio JU. Total lower lip reconstruction with a sensate composite radial forearm-palmaris longus free flap and a tongue flap. *Plast Reconstr Surg* 1997;99:559-61.
196. Disa JJ, Liew S, Cordeiro PG. Soft-Tissue reconstruction of the face using the folded/multiple skin island radial forearm free flap. *Ann Plast Surg* 2001;47:612-9.
197. Lydaki E, Bolonaki I, Stiakaki E, et al. Immediate free flap mandibular reconstruction in osteosarcoma of the mandible in childhood. *Pediatr Hematol Oncol* 2000;17:335-40.
198. Khouri RK, Upton J, Shaw WW. Principles of flap prefabrication. *Clin Plast Surg* 1992;19:763-71.
199. Pribaz JJ, Weiss DD, Mulliken JB, Eriksson E. Prelaminated free flap reconstruction of complex central facial defects. *Plast Reconstr Surg* 1999;104:357-65.
200. Pribaz JJ, Fine NA. Prefabricated and prelaminated flaps for head and neck reconstruction. *Clin Plast Surg* 2001;28:261-72.

201. Thomas A, Obed V, Murarka A, Malhotra G. Total face and scalp replantation. *Plast Reconstr Surg* 1998;102:2085-7.
202. Wilhelmi BJ, Kang RH, Movassaghi K, Ganchi PA, Lee WP. First successful replantation of face and scalp with single-artery repair: model for face and scalp transplantation. *Ann Plast Surg* 2003;50:535-40.
203. Sabapathy SR, Venkatramani H, Bharathi RR, D'Silva J. Technical considerations in replantation of total scalp avulsions. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2006;59:2-10.
204. Cavadas PC. Supramicrosurgical ear replantation: case report. *J Reconstr Microsurg* 2002;18:393-5.
205. Chen IC, Wan HL. Microsurgical replantation of avulsed scalps. *J Reconstr Microsurg* 1996;12:105-12.
206. Wolfaardt J, Sugar A, Wilkes G. Advanced technology and the future of facial prosthetics in head and neck reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2003;32:121-3.
207. Baumeister SE, Alte D, John U. [Medical services utilisation: which role does social support play?--Results from the Study of Health in Pomerania (SHIP)]. *Gesundheitswesen* 2004;66:175-9.
208. Paletta CE, Pokorny JJ, Rumbolo PM. Skin Grafts. In: Mathes S, ed. *Plastic Surgery*. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier; 2006:293-316.
209. Stamatopoulos C, Panayotou P, Tsirigotou S, Ioannovich JD. Use of free flaps in the aesthetic reconstruction of face and neck deformities. *Microsurgery* 1992;13:188-91.

210. Upton J, Ferraro N, Healy G, Khouri R, Merrell C. The use of prefabricated fascial flaps for lining of the oral and nasal cavities. *Plast Reconstr Surg* 1994;94:573-9.
211. Kuzon WM, Jr., Jejurikar S, Wilkins EG, Swartz WM. Double free-flap reconstruction of massive defects involving the lip, chin, and mandible. *Microsurgery* 1998;18:372-8.
212. Birgfeld CB, Low DW. Total face reconstruction using a pre-expanded, bilateral, extended, parascapular free flap. *Ann Plast Surg* 2006;56:565-8.
213. Graham B, Adkins P, Tsai TM, Firrell J, Breidenbach WC. Major replantation versus revision amputation and prosthetic fitting in the upper extremity: a late functional outcomes study. *J Hand Surg Am* 1998;23:783-91.
214. Kleinert JM, Graham B. Macroreplantation: an overview. *Microsurgery* 1990;11:229-33.
215. Siemionow M, Ozmen S, Demir Y. Prospects for facial allograft transplantation in humans. *Plast Reconstr Surg* 2004;113:1421-8.
216. Landin L, Cavadas PC, Carrera A, Fontdevila J, Navarro C. Human face/scalp alloflap harvesting technique. *Plast Reconstr Surg* 2007;119:1114-5.
217. Demir Y, Ozmen S, Klimczak A, Mukherjee AL, Siemionow M. Tolerance induction in composite facial allograft transplantation in the rat model. *Plast Reconstr Surg* 2004;114:1790-801.
218. Xudong Z, Shuzhong G, Yan H, Datai W, Yunzhi N, Linxi Z. A hemifacial transplantation model in rabbits. *Ann Plast Surg* 2006;56:665-9.

219. Nie C, Yang D, Li N, Liu G, Guo T. Establishing a new orthotopic composite hemiface/calvaria transplantation model in rabbits. *Plast Reconstr Surg* 2008;122:410-8.
220. Randzio J, Kniha H, Gold ME, et al. Growth of vascularized composite mandibular allografts in young rabbits. *Ann Plast Surg* 1991;26:140-8.
221. Kuo YR, Shih HS, Lin CC, et al. Swine hemi-facial composite tissue allotransplantation: a model to study immune rejection. *J Surg Res* 2009;153:268-73.
222. Bermudez LE, Santamaria A, Romero T, Caldero DF. Experimental model of facial transplant. *Plast Reconstr Surg* 2002;110:1374-5.
223. Gold ME, Randzio J, Kniha H, et al. Transplantation of vascularized composite mandibular allografts in young cynomolgus monkeys. *Ann Plast Surg* 1991;26:125-32.
224. Silverman RP, Banks ND, Detolla LJ, et al. A heterotopic primate model for facial composite tissue transplantation. *Ann Plast Surg* 2008;60:209-16.
225. Kuroki H, Ikuta Y, Akiyama M. Experimental studies of vascularized allogeneic limb transplantation in the rat using a new immunosuppressive agent, FK-506: morphological and immunological analysis. *Transplant Proc* 1989;21:3187-90.
226. Arai K, Hotokebuchi T, Miyahara H, et al. Prolonged limb allograft survival with short-term treatment with FK-506 in rats. *Transplant Proc* 1989;21:3191-3.

227. Jensen JN, Mackinnon SE. Composite tissue allotransplantation: a comprehensive review of the literature--Part II. *J Reconstr Microsurg* 2000;16:141-57.
228. Doolabh VB, Mackinnon SE. FK506 accelerates functional recovery following nerve grafting in a rat model. *Plast Reconstr Surg* 1999;103:1928-36.
229. Lee M, Doolabh VB, Mackinnon SE, Jost S. FK506 promotes functional recovery in crushed rat sciatic nerve. *Muscle Nerve* 2000;23:633-40.
230. Gold BG, Kato K, Storm-Dickerson T. The immunosuppressant FK506 increases the rate of axonal regeneration in rat sciatic nerve. *J Neurosci* 1995;15:7509-16.
231. Wang MS, Zeleny-Pooley M, Gold BG. Comparative dose-dependence study of FK506 and cyclosporin A on the rate of axonal regeneration in the rat sciatic nerve. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;282:1084-93.
232. Lyons WE, George EB, Dawson TM, Steiner JP, Snyder SH. Immunosuppressant FK506 promotes neurite outgrowth in cultures of PC12 cells and sensory ganglia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:3191-5.
233. Landin L, Cavadas PC. The mystacial pad flap: a functional facial flap in rats. *Ann Plast Surg* 2006;56:107-8.
234. Jost SC, Doolabh VB, Mackinnon SE, Lee M, Hunter D. Acceleration of peripheral nerve regeneration following FK506 administration. *Restor Neurol Neurosci* 2000;17:39-44.
235. Song YX, Muramatsu K, Kurokawa Y, et al. Functional recovery of rat hind-limb allografts. *J Reconstr Microsurg* 2005;21:471-6.

236. Lanzetta M, Ayrout C, Gal A, et al. Experimental limb transplantation, part II: excellent return of function and indefinite survival after withdrawal of immunosuppression. *Transplant Proc* 2004;36:675-9.
237. Popesko P, Rajtova V, Horaik JC. A colour atlas of the anatomy of small laboratory animals. [London]: Saunders; 2002.
238. Semba K, Egger MD. The facial "motor" nerve of the rat: control of vibrissal movement and examination of motor and sensory components. *J Comp Neurol* 1986;247:144-58.
239. Carvell GE, Miller SA, Simons DJ. The relationship of vibrissal motor cortex unit activity to whisking in the awake rat. *Somatosens Mot Res* 1996;13:115-27.
240. Carvell GE, Simons DJ, Lichtenstein SH, Bryant P. Electromyographic activity of mystacial pad musculature during whisking behavior in the rat. *Somatosens Mot Res* 1991;8:159-64.
241. Washington KM, Solari MG, Sacks JM, et al. A model for functional recovery and cortical reintegration after hemifacial composite tissue allotransplantation. *Plast Reconstr Surg* 2009;123:26-33.
242. Ulusal BG, Ulusal AE, Wei FC. Long-term outcomes of composite auricle as a neurosensorial facial subunit allotransplant. *Ann Plast Surg* 2009;62:311-6.
243. Landin L, Cavadas PC, Gonzalez E, Caballero-Hidalgo A, Rodriguez-Perez JC. Sensorimotor recovery after partial facial (mystacial pad) transplantation in rats. *Ann Plast Surg* 2009;63:428-35.

244. Landin L, Cavadas PC, Gonzalez E, Rodriguez JC, Caballero A. Functional outcome after facial allograft transplantation in rats. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008;61:1034-43.
245. Farina D, Pozzo M, Lanzetta M, Enoka RM. Discharge variability of motor units in an intrinsic muscle of transplanted hand. *J Neurophysiol* 2008;99:2232-40.
246. Lanzetta M, Pozzo M, Bottin A, Merletti R, Farina D. Reinnervation of motor units in intrinsic muscles of a transplanted hand. *Neurosci Lett* 2005;373:138-43.
247. Owen ER, Dubernard JM, Lanzetta M, et al. Peripheral nerve regeneration in human hand transplantation. *Transplant Proc* 2001;33:1720-1.
248. Siemionow M, Mendiola A. Methods of assessment of cortical plasticity in patients following amputation, replantation, and composite tissue allograft transplantation. *Ann Plast Surg* 2010;65:344-8.
249. Siemionow M, Agaoglu G. The issue of "facial appearance and identity transfer" after mock transplantation: a cadaver study in preparation for facial allograft transplantation in humans. *J Reconstr Microsurg* 2006;22:329-34.
250. Lengele BG. Current concepts and future challenges in facial transplantation. *Clin Plast Surg* 2009;36:507-21.
251. Izawa A, Sayegh MH, Chandraker A. The antagonism of calcineurin inhibitors and costimulatory blockers: fact or fiction? *Transplant Proc* 2004;36:570-3.

8.RESUMEN.

Introducción: Hasta el momento se han descrito modelos experimentales en rata que abordan el trasplante de cara completa, el trasplante hemifacial, el trasplante auricular y el trasplante hemifacial con hueso temporal. Sin embargo, no existen datos sobre la recuperación funcional tras el trasplante facial. La región mistacial (vibrisas o bigotes) de la rata es la principal unidad sensitivo-motora de la región facial de la rata, y sobre ella se centra el presente trabajo.

Objetivo: estudiar la recuperación funcional del trasplante hemifacial que incluya la subunidad funcional mistacial en ratas.

Material y método: Veinticuatro colgajos hemifaciales fueron trasplantados cruzando el complejo mayor de histocompatibilidad desde ratas Lewis-Brown-Norway (RT1ⁿ) a ratas Wistar-Lewis (RT1), bajo monoterapia de inmunosupresión con tacrolimus (8 mg/Kg/día, en pauta descendente hasta 2 mg/Kg/día tras 2 semanas). El grupo I (n = 12) constituyó el grupo de estudio anatómico. El grupo II (n = 12) fue el grupo de aloinjerto hemifacial no vascularizado. El grupo III (n = 24) fue el grupo de aloinjerto hemifacial vascularizado. En el subgrupo IIIa (n = 12) se procedió al trasplante sin reparación nerviosa, mientras que en el grupo IIIb (n = 12) se procedió a la reparación de la rama infraorbitaria del nervio trigémino y de las ramas bucolabial, marginal mandibular superior y zigomático-orbitaria del nervio facial. Se realizaron pruebas de recuperación clínica y electrodiagnóstico después de 6 semanas. Los animales fueron sacrificados transcurridas 8 semanas y se tomaron biopsias de la región mistacial.

Resultados: En el grupo I se ensayó la disección del colgajo hemifacial y se obtuvieron angiografías que demostraron la vascularización facial y mistacial. Todos los aloinjertos no vascularizados del grupo II sufrieron necrosis. En los grupos III de trasplante, cada procedimiento requirió una media de 7 horas (rango 5 – 11), con una supervivencia del 75% de los especímenes (18 casos) hasta 8 semanas sin signos de rechazo. En el subgrupo IIIb se encontró

recuperación clínica y electrodiagnóstica en la 6ª semana, y las biopsias mostraron recuperación de los fascículos nerviosos en la 8ª semana.

Conclusiones: El colgajo hemifacial puede ser trasplantado incluyendo la región mistacial sin compromiso para la supervivencia del receptor. Los especímenes en los que se realizó la reparación nerviosa (subgrupo IIIb) presentaron recuperación clínica, electrofisiológica e histológica. Hasta donde conocemos, esta es la primera evidencia de recuperación funcional después de un trasplante hemifacial en ratas.

9. ANEXOS.

9.1 Publicaciones y premios derivados de la presente memoria.

Publicaciones:

1. Landin L, Cavadas PC, Gonzalez E, Caballero-Hidalgo A, Rodriguez-Perez JC. Sensorimotor recovery after partial facial (mystacial pad) transplantation in rats. *Ann Plast Surg.* 2009;63:428-35.
2. Landin L, Cavadas PC, Gonzalez E, Rodriguez-Perez JC, Caballero-Hidalgo A. Functional facial allograft transplantation in rats. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2008;61:1034-43.
3. Landin L, Cavadas PC, Carrera A, Fontdevila J, Navarro C. Human face/scalp alloflap harvesting technique. *Plast Reconstr Surg.* 2007;119:1114-5.
4. González-García A, Landín-Jarillo L, Piqueras del Rey C. Recuperación funcional del trasplante hemifacial en ratas. *Rev Neurol* 2007;45:389-92.
5. Landin L, Cavadas PC. The mystacial pad flap. A functional facial flap in rats. *Ann Plast Surg.* 2006;56:107-8.

Premios

1. Accésit del Premio Mentor de Residentes de la Sociedad Española de Cirugía Plástica, Reparadora y Estética, en el XLII Congreso Nacional, Pamplona, Mayo de 2006.
2. Premio Mentor de Residentes de la Sociedad Valenciana de Cirugía Plástica, Reparadora y Estética. Valencia, Octubre de 2005.

9.2 Notas, permisos y derechos de autor.

El presente trabajo ha sido ejecutado en el Centro de Investigación del Hospital Universitario La Fe de Valencia y ha contado con la aprobación del comité de ética experimental, certificando el cumplimiento de la normativa vigente en experimentación animal, y con la aprobación de la comisión de investigación de la Fundación para la Investigación del Hospital Universitario La Fe en el acta nº 3/2005 del 17/Junio/2005, con registro de salida nº 385 del 8 de Julio de 2005.

No existe relación comercial ni financiera entre el presente trabajo, su autor y colaboradores y los productos que en él se enumeran. La medicación inmunosupresora fue suministrada de forma gratuita por Fujisawa Healthcare, Inc. (ahora Astellas Pharma, Inc).

Todas las imágenes y tablas no originales contenidas en la presente tesis se publican con permiso de las editoriales propietarias de sus derechos de autor. Los derechos para su uso en esta tesis han sido cedidos por *Rightslink* con los siguientes números de licencia: 2495920485969; 2494821293303; 2492041403035; 2494811404803; 2494811328068; 2494811463490; 2494850883103; 2490410979978; 2485331074129; 2485361109853; 2491760526207; 2490410205076; 2512390211306 excepto para los derechos cedidos por *The Massachusetts Medical Society*, con número RY - 2011 – 0941 y los cedidos por vía telemática y sin número de licencia por John Wiley & Sons Ltd.

Luis Landín Jarillo

C/ Bugarvilla 6, 2, 2ºB

28036 Madrid

España

Telf.: +34 687558433

e-mail: landinsurgery@gmail.com

Tesis doctoral cerrada en Madrid, España, con fecha lunes, 13 de junio de 2011.

10. ÍNDICE DE TÉRMINOS.

A

activación mitogénica de la kinasa Ras-Rac

vía de · 26

actividad espontánea · 48

actividad insercional · 48

alogénico · 15

aloinjerto · 15

aloinjertos de tejidos compuestos · 16

Amplitud · 47

Area · 48

ATC · *Véase* aloinjertos de tejidos compuestos

B

Bernard Devauchelle · 114

C

CD4 · 29

CD8 · 29

célula presentadora de antígeno · 25

regeneración nerviosa · 36

células dendríticas · 25

células NK · 29

ciclosporina · 18

vía de la calcineurina · 27

cirugía microvascular · 51

citocromo P450 IIIA · 32

citokinas · 29

regeneración nerviosa · 36

CMH · *Véase* complejo mayor de

histocompatibilidad

colgajos · 16

colgajos prefabricados · 112

colgajos prelaminados · 113

columnas de Büngner · 36, 37

complejo calcineurina-calmodulina · 32

complejo CD3 · 26

complejo mayor de histocompatibilidad · 23, 29

regeneración nerviosa · 36

cono de crecimiento · 37

CPAs · *Véase* célula presentadora de antígeno

Curva de aprendizaje · 51

D

degeneración walleriana · 34, 37

denervación activa · 48

Duración · 47

E

EDX · *Véase* pruebas electrodiagnósticas

endotelio vascular · 25
estudios de conducción nerviosa · 42, 43
examen con electrodos de aguja · 42, 48
expansión tisular · 110

F

filopodios · 37

G

GAP-43 · 121, 124
genotipo · 24
granzyma · 29
grupos experimentales · 73

H

Hanno Millesi · 56
haplotipo · 24
heterocigótica · 23
HLA · Véase human leukocyte antigen
homocigótico · 23
homoinjerto · 15
human leukocyte antigen · 24

I

imbibición serosa · 15
inhibidores de la calcineurina · 19, 31
injerto · 15

injertos de piel · 109
inmunología del trasplante · 28

J

Jean Michel Dubernard · 20, 114
Joseph Murray · 18

K

Kazuteru Doi · 18

L

laminina · 36
Latencia · 47
lesión axonal · 50
lesión de aloinjerto · 29
lesiones faciales complejas · 14, 104
linfocito B · 25
LPA · Véase lesión por pérdida axonal

M

microcirugía · 16, 51
modelo de la triple señal · 31
monocitos
 lesión de aloinjerto · 29

N

neurofibromatosis tipo 1 · 115

neuroqueratina · 59, 86

neurorrafia · 56

neurotrofismo · 38

neurotropismo · 38

O

ondas positivas agudas · 48

P

patrón de interferencia · 49

perforina · 29

potencial de acción del nervio sensitivo · 44

potencial de acción muscular compuesto · 44

potenciales de fibrilación · 48

potenciales voluntarios de la unidad motora · 49

Procedimiento del trasplante · 75

proteína-quinasa C

vía de · 26

prótesis faciales · 109

pruebas electrodiagnósticas · 42, 85

lesión por bloqueo de conducción · 43

lesión por pérdida axonal · 43

R

Ramón y Cajal · 34

receptor de los linfocitos T · 24, 26

Rechazo de aloinjertos · 29

rechazo inmunológico · 23

región mistacial · 60

RLT · Véase receptor de linfocitos T

Robert Goldwyn · 18

RT1 · 66

S

San Cosme y San Damián · 17

semialogénico · 16

señales intracelulares · 26

silencio eléctrico · 48

singénico · 16, 24

T

tacrolimus · 32, 83, 120

vía de la calcineurina · 27

tenascina · 36

test de Wilcoxon · 87

test exacto de Fisher · 87

test U-Mann-Whitney · 87

transferencia microvascular · 110

trasplante · 15

trasplante facial experimental · 70, 119

trasplantes faciales clínicos · 114, 129

trasplantología reconstructiva · 104

túnica adventicia · 53

U

unidades estéticas faciales · 106

V

Velocidad de conducción · 47

via de la calcineurina · 27, 31, 38

vibrisas · 60, 61