

## **Sección III Investigación y Ciencias Básicas**

# **Comportamiento Biológico de los Injertos Oseos Aloinjerto-Autoclavaje-Crioinjerto.**

\* Dr. Rito Alfonso López Uribe. \* Dr. Santiago Escandon Villota.  
\* Dr. German Salcedo Rodríguez. \*\* Dra. María Consuelo París de Rugeles.  
PREMIO DE INVESTIGACIÓN "JOSÉ VICENTE BERNAL" 1994.

### **Resumen**

*En el presente estudio buscamos encontrar si existe o no diferencia en el comportamiento biológico de los Injertos Oseos (Aloinjerto-Autoclavaje-Crioinjerto.) para el tratamiento de patología oncológica osteomuscular y el salvamento de extremidades. Se diseñó un estudio analítico experimental en el cual implementamos las tres diferentes técnicas de injertos en grupos iguales de conejos para luego evaluar mediante radiología e histología su comportamiento biológico en terminos de consolidación e incorporación. Como resultados obtuvimos una mejor respuesta con el Aloinjerto, seguido por el Autoclavaje con unos pésimos resultados cuando se utilizó el Crioinjerto. Por ello podemos recomendar el uso del Aloinjerto como la mejor opción en el caso de salvamento de extremidades seguida del Autoclavaje pero no poseemos fundamento para el uso del Crioinjerto.*

**Palabras Clave:** Injertos Oseos, Biología Osea.

### **Introducción**

En la literatura médica y más específicamente en la ortopédica existen múltiples reportes sobre la biología, biomecánica, indicaciones y resultados en la utilización de los aloinjertos. A nivel de la oncología músculoesquelética se han venido utilizando en forma indistinta los Aloinjertos, el Autoclavaje y la Criocirugía del segmento reseado, todos de aplicación en la cirugía de salvamento de extremidades.

El Autoclavaje consiste en llevar el segmento reseado en condiciones asépticas al Autoclave durante 10 minutos, a 135° Celsius y a 6.8 Kg. de presión (2 Megapascals).

La Criocirugía se basa en la inmersión del segmento reseado en nitrógeno líquido durante 10 minutos.

El objetivo fundamental de todas estas técnicas quirúrgicas es el de controlar el tumor y no el de reconstruir la extremidad, siendo éste un propósito adicional de la cirugía para oncología osteomuscular; estos procedimientos buscan la

necrosis del injerto, denaturalizar sus proteínas para lograr el control biológico del tumor y disminuir su inmunogenicidad.

No existe evidencia si el comportamiento biológico de los injertos masivos, tratados mediante Autoclavaje o Criocirugía, sea diferente al Aloinjerto del mismo tamaño.

Es de tener en cuenta que si el tumor compromete la superficie articular se puede asociar el injerto con un reemplazo articular, siendo en este caso el injerto soporte del implante.

### **Marco Teórico**

Los injertos existen desde épocas remotas, los óseos poseen diversidad de formas y aplicaciones y forman parte importante del armamentario en cirugía ortopédica y traumatología.

Dentro de sus múltiples aplicaciones está el dar solución a reconstrucciones del sistema esquelético, cura o reparación de fracturas, artrodesis, llenado de defectos cavitarios y las reconstrucciones en cirugía oncológica.

Ya la historia nos habla de los gemelos Cosme y Damián, quienes a manera de milagro researon una pierna, en un paciente con un tumor y le reimplantaron la de un moro muerto el mismo día.<sup>30</sup> El primer reporte de injertos óseos no es muy claro, pero parece corresponder dicho ho-

\* Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Medicina, Departamento de Ortopedia y Traumatología, Hospital Universitario de San Ignacio, Hospital Universitario de la Samaritana, Instituto Nacional de Cancerología.

\*\* Patóloga, Departamento de Morfología, Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Medicina.

nor al médico alemán Job Van Meeken en 1668. Posteriormente Mac Ewen reconstruyó con injertos de manera exitosa el húmero de un niño.<sup>11,24,45</sup> Ollier es el pionero de los injertos óseos autólogos y de sus propiedades biológicas, fue él quien afirmó que al realizar el injerto todos los componentes de éste eran viables, incluso los celulares. Barth contradujo a Ollier afirmando que los injertos óseos no poseen células viables, y sólo es el armazón estructural el que permite el crecimiento del nuevo hueso por parte de las células del receptor, negando la función de las células del donador. También introdujo el término «Creeping Substitution» que aún se utiliza y se refiere a todas las actividades reparadoras que se llevan a cabo en el hueso, para sustituir el hueso viejo y necrótico por hueso nuevo y viable.<sup>3, 24, 45</sup>

A diferencia de otros tejidos el hueso cura con hueso siendo esta una propiedad especial de este tejido.

Axhausen describió, tal como conocemos hoy día, el proceso de incorporación ósea, con la reabsorción osteoclástica del injerto necrótico y la formación osteoblástica del nuevo hueso.<sup>24,33</sup>

Poco conocemos acerca de la fase de activación en el proceso de reparación, pero al parecer existen factores locales y sistémicos que inician dicho proceso de remodelado, de hecho estos factores son humorales, stress mecánico, señales eléctricas, etc.

Los eventos histológicos de la incorporación de los injertos óseos han sido ampliamente descritos por investigadores del siglo pasado, existiendo algunas diferencias si dicho injerto es de esponjosa o de cortical, pero en términos generales todo ello depende de la velocidad de revascularización del injerto.

El hueso injertado es revascularizado si existe aporte sanguíneo pero si el injerto se encuentra necrótico tendrá un largo proceso de incorporación; esto nos explica la diferencia en la velocidad de incorporación del Aloinjerto y el Autoinjerto.

Los eventos iniciales son iguales para el injerto cortical o esponjoso, se forma un hematoma alrededor del injerto, sólo unas pocas células del injerto permanecen vivas; la necrosis del injerto causa una respuesta inflamatoria local,

la cual en unos días se torna en un estroma de tejido fibro-vascular, este tejido conjuntivo lleva además vasos y células osteoprogenitoras al injerto óseo.

La reparación ósea requiere de la invasión de yemas o botones vasculares, en el hueso cortical se realiza a través de canales preexistentes, como son los de Havers y Wolkmann. Estos canales se ensanchan por la actividad osteoclástica y acompañan a la respuesta neovascular, asociada a una reabsorción alrededor del injerto dando como resultado neto la porosidad y disminución de la masa ósea.

Eso es importante al tener en cuenta pues el injerto no puede soportar cargas, de acuerdo a su tipo y preparación, sin una adecuada fijación y protección.<sup>14</sup>

De hecho la incorporación de los injertos corticales, sólo se logra parcialmente pues persiste siempre un segmento de hueso necrótico, que no interfiere con su funcionalidad.

Se reconoce como fuente de osteogénesis a: El periostio, la cortical, el endostio y la médula, siendo el periostio el más activo de ellos y la cortical posee muy poca participación.

Para poder entender la respuesta biológica de los injertos óseos, debemos entender el proceso de incorporación de éstos. Dicha incorporación es similar al proceso de remodelado óseo que ocurre después de una fractura, y consta de varias etapas:

1. Proliferación de células osteoprogenitoras.
2. Diferenciación de osteoblastos.
3. Osteoinducción.
4. Osteoconducción.
5. Propiedades biomecánicas del injerto.

Las dos primeras ocurren a partir de la segunda semana, luego que las células indiferenciadas mesenquimales han invadido el injerto y se transforman en osteoblastos.

La osteoinducción es el estímulo dado al tejido para formar elementos osteogénicos; dentro de los elementos osteoinductores, existen múltiples factores humorales.<sup>11, 37</sup>



La osteoconducción es el proceso por medio del cual los vasos del huésped invaden el injerto, invasión que ocurre por los canalículos previos, y por ende el crecimiento vascular lleva consigo células perivasculares y osteoprogenitoras.<sup>11, 37</sup>

En cuanto a las propiedades biomecánicas del injerto, éstas no se alteran, hasta no ser invadido por los vasos sanguíneos y es allí cuando el hueso necrótico comienza a ser sustituido por nuevo hueso, perdiendo resistencia el injerto, la cual la recupera una vez esté estructurado el hueso.<sup>11, 37</sup>

Esto no sucede en el injerto de esponjosa que no posee reabsorción osteoclástica.

El Aloinjerto demora más en revascularizar, causa mayor respuesta inflamatoria y necrosis, comparado con el Autoinjerto; en cuanto al Autoclavaje y la Criocirugía son injertos autólogos necróticos. Se dice que la intensidad de esta respuesta inflamatoria depende de la respuesta inmunológica que cause el injerto, la cual es mayor en el Aloinjerto, a pesar de estar desnaturalizado.

La contribución celular del injerto a la incorporación es pobre, la mayor contribución del injerto es servir de espaciador biológico y facilitar la osteoinducción y la osteoconducción.

Los injertos se clasifican en:

**Autoinjerto:** Injerto o tejido obtenido del mismo paciente.

**Homo o Aloinjerto:** Tejido obtenido de diferente persona o ser, pero de la misma especie.

**Heterólogo o Xenoinjerto:** Tejido obtenido de diferente especie.

De todos ellos el más recomendado es el Heterólogo y ello se debe a dos razones básicas: La primera, el injerto heterólogo no estimula la producción ósea, y en segundo lugar genera gran reacción de rechazo.<sup>39</sup>

El injerto Autólogo es el más indicado cuando existen problemas de osteogénesis, como es el caso de las pseudoartrosis, pero su uso se limita cuando además debe realizar función de soporte.

Existen grandes diferencias entre los injertos de esponjosa y los de cortical, a grosso modo el injerto de esponjosa se revasculariza más rápido, no posee reabsorción osteoclástica inicial, lo cual le da fortaleza mecánica desde el comienzo; se sustituye o incorpora completamente, a diferencia del injerto de cortical que demora en ser revascularizado, posee reabsorción osteoclástica inicial que lo debilita y siempre será una mezcla de hueso viejo y necrótico junto al hueso nuevo y viable.

### Injerto de Hueso Esponjoso

Su incorporación se inicia con un proceso de revascularización más rápido, a las pocas horas ya existe invasión vascular, se crean anastomosis término-terminales entre el injerto y el huésped, a los dos días el injerto se halla cubierto totalmente de vasos y a las dos semanas está totalmente revascularizado.

Se cree que algunas células mesenquimales que sobreviven son las osteoprogenitoras. Al inicio existe una fase de aposición del nuevo hueso sobre el necrótico lo cual aumenta su radio, densidad y fortaleza, y luego de esto los osteoclastos reabsorben el hueso necrótico y el hueso retorna a su función normal.<sup>37</sup>

### Cortical

Es invadido por vasos sólo después de seis días y se revasculariza entre uno y dos meses. El retardo en la revascularización se cree sea debido a su textura, pues debe existir primero una reabsorción de su cortical, antes de la penetración de vasos, la cual ocurre por los canales de Haver's y Wolkmann y además por el endostio, esto hace pensar que la cortical sea una barrera a la invasión vascular.

Los injertos se debilitan en un 50%, de uno a seis meses POP y se normalizan después de dos años. En este período el hueso debe ser protegido, viendo cómo la mayor tasa de fracturas ocurre alrededor de los 18 meses POP.

### Aloinjerto:

En cuanto a la reparación del Aloinjerto difiere mucho de acuerdo a la técnica que se use para su preparación; el Aloinjerto es diferente al receptor en el locus de histocompatibilidad (HLA),

y este grado de disparidad es lo que viene a regular las respuestas de rechazo.

El Aloinjerto congelado posee menor respuesta inmune y no altera sus propiedades mecánicas; el injerto liofilizado disminuye aún más su inmunogenicidad pero se alteran sus propiedades biomecánicas, viéndose microfracturas por el proceso, el Aloinjerto posee una respuesta e incorporación más retardada y extensa.<sup>6</sup>

En 1971 se creó el banco de huesos en el Hospital de Massachusetts, reevaluando el uso y técnica de los injertos óseos, al punto de decidir que el injerto óseo debe ser un tejido muerto y para tal fin se idearon técnicas de congelar injertos a  $-70^{\circ}$  lo cual permitía su almacenamiento. Poco después le adicionaron la deshidratación al vacío, lo cual lo desnaturizaba perdiendo su capacidad inmunogenética, disminuyendo los rechazos y permitiendo su almacenamiento a temperatura ambiente.<sup>1, 3, 17, 26, 27, 28, 30</sup> Gracias a todo ello es actualmente el tejido más transplantado y según los reportes se superan los 100 injertos masivos al año en los E.E.U.U.<sup>26</sup>

De las dos grandes ventajas del uso de los Aloinjertos tenemos como primera que facilita la reconstrucción articular, pues no posee límite de talla, forma, tamaño, no sacrifica estructuras óseas normales, no causa morbilidad al sitio donante; La segunda es el poder conservar sus inserciones tendinosas y ligamentarias para luego realizar el anclaje en el paciente, todo ello dará función motora y estabilización articular siendo ésta la mayor ventaja sobre el implante metálico.<sup>2, 7, 30</sup>

La inmunidad celular es la encargada del rechazo de los Aloinjertos, la respuesta humoral es insignificante como respuesta primaria pero causa gran daño a injertos de piel secundarios. El hecho de hallar anticuerpos (Acs) circulantes no significa que existe rechazo al injerto, es más, cuando se halla el pico máximo de Acs circulantes se ha visto que coincide con la fase aposicional del nuevo hueso, con la disminución de la inmunidad celular.

El injerto liofilizado es de los más recientes avances tecnológicos en el uso de los injertos óseos; se cree su uso nació de la Segunda Guerra Mundial y se atribuye al médico alemán Kreutz, en sus estudios para lograr conservar la sangre, y sólo hasta 1951 logró aplicación clínica.<sup>25, 28</sup>

La técnica más utilizada es el congelamiento y la liofilización del injerto; en primera instancia se realiza un lavado con solución salina para lograr por barrido mecánico la eliminación de la mayor cantidad de células posibles, luego previos cultivos se congelan a temperaturas de  $-70^{\circ}$  a  $-170^{\circ}$  Celsius, y por último se deshidrata al vacío dejándole una humedad del 3 al 5%, no se puede extraer toda el agua pues se desnaturan sus proteínas perdiendo la estructura biológica normal del hueso, ésta lo hace poco útil en la práctica clínica.<sup>28</sup>

En algunos sitios del mundo se le obtiene en salas de cirugía bajo condiciones estériles, otros lo obtienen no estéril y luego lo esterilizan.

Si comparamos el Aloinjerto liofilizado con el congelado, vemos cómo el liofilizado se revasculariza más rápido, genera menor respuesta inmune, pero el proceso de deshidratación lo debilita al producir las fracturas en los microcristales por el proceso, sin embargo a largo plazo los dos poseen igual índice de fallas: fractura, retardo de consolidación, pseudoartrosis, infección o reabsorción completa del injerto.<sup>22, 26, 27, 28</sup>

En casos de ser injertos osteoarticulares, se protege el cartilago articular con gliceroal al 10% o dimetilsulfóxido, logrando con estas dos técnicas muy buenos resultados y un alto porcentaje de células viables en el injerto pese a su almacenamiento en frío por largo tiempo.<sup>30, 35, 36, 42</sup>

El ideal del Aloinjerto es su asimilación completa al huésped pero según estudios se ha demostrado que el injerto nunca presenta una total incorporación, por ello se utiliza como espaciador biológico que facilita la osteoinducción y la osteoconducción y por poseer proteína ósea morfogénica.<sup>1, 21, 28</sup>

### Criocirugía:

La Criocirugía asociada al curetaje de tumores óseos, va encaminada a disminuir la recurrencia debido a necrosis periférica causada por el nitrógeno líquido.

En el método de Marcove se pretende, mediante doble instilación de nitrógeno líquido con una duración de 5 minutos cada una, lograr el máximo de necrosis en la pared de la cavidad,



generalmente en hueso metafisiario. El efecto más dramático del nitrógeno se observa a nivel de la médula ósea, con una extensa necrosis de licuefacción, seguida de fibrosis progresiva, con mínima respuesta inflamatoria. Dentro de los mecanismos de necrosis celular se encuentran: el shock térmico, la deshidratación, el efecto tóxico del imbalance electrolítico, la desnaturalización de las proteínas celulares, la formación de cristales intracelulares con la lesión de la membrana y lesión microvascular.

En general, la formación de cristales intracelulares se considera el mecanismo más importante de necrosis celular. Se requieren temperaturas entre  $-21^{\circ}$  y  $-60^{\circ}$ Celsius para la formación de estos cristales, y a medida que la temperatura disminuye los cristales se deshacen, con lesión mecánica de la membrana celular, causando la muerte a la célula. En general el congelamiento rápido seguido de un retorno lento a la temperatura normal produce el máximo de necrosis tisular y celular. La repetición del procedimiento aumenta el índice de necrosis.

A través de la zona congelada hay muy poca evidencia de neovasculatura, se observan vasos trombosados. En la periferia existe una calcificación amorfa y formación cartilaginosa que en forma lenta (7 a 8 semanas) muestra alguna tendencia hacia la formación ósea endocranal y la aposición sobre las trabéculas necróticas.

Existe una gran diferencia en la sobrevivencia del tejido osteoblástico y el cartílago al nitrógeno líquido: esta mayor resistencia del cartílago articular probablemente se deba a que el líquido sinovial actúa como un agente crioprotector, o que la lesión microvascular afecta más a los osteoblastos que requieren aporte sanguíneo.

En el Instituto Nacional de Cancerología se utilizó en algunos casos seleccionados, la resección del segmento comprometido por el tumor, la remodelación del mismo y la inmersión en nitrógeno líquido por diez minutos, luego de lo cual se colocó nuevamente en la extremidad y se realizó su osteosíntesis adecuada.

Al parecer no existe un parámetro claro de cuándo usar Autoclavaje o Criocirugía, los resultados a simple vista son similares con cualquiera de las dos técnicas. Debido a esta razón se inició el presente trabajo para establecer las diferentes ventajas y desventajas de una y otra técnica.

## Autoclavaje

No existen muchos reportes sobre el uso del injerto llevado al Autoclave y recolocado en el paciente en la cirugía de salvamento de extremidades. Se ha visto como en caso de sarcomas de bajo grado de malignidad y en algunos de alto grado seleccionados, esta técnica de seguridad es una alternativa a la amputación y no debemos olvidar que la meta es el control del tumor y no reconstruir la extremidad.

En esta técnica se reseca el tumor con márgenes previos de seguridad oncológica dados por Rx, TAC, RNM, Gamagrafía, etc. Se es muy claro que en caso de no establecer los márgenes se recomienda la amputación.

Cuando se ha utilizado esta técnica asociada a quimio o radioterapia, como era de esperar, existe un retardo en la incorporación del injerto, aumenta el índice de infección, con el consiguiente fracaso del injerto.

En los seguimientos se ha visto consolidación radiológica a los 12 meses POP, mucho más rápida en los casos que se acompañó con injertos de esponjosa y por ello creemos se deba hacer esto de rutina.

Como ya se indicó, el hueso resecado se lleva al Autoclave por 10 minutos a  $135^{\circ}$  y a una presión de 6.8 kg. Se ha visto que los injertos que más fallan no tienen relación con los grados de temperatura, pero sí con el tiempo que se sometieron a ella. Observando reabsorción completa del injerto que se llevó al Autoclave por 30 minutos, y retardó en la consolidación de aquellos que se llevaron por más de 10 minutos, se recomienda un tiempo de 7 a 10 minutos.<sup>8,18, 22</sup>

Dentro de la técnica si existe necesidad de reinsertar tendones o músculos, estas reinsertaciones se protegen por 6 a 8 semanas. En casos de reconstrucciones de fémur o tibia se permite el apoyo parcial protegido al 3er. o 5o. día POP, y protegido por 12 semanas en total. En casos de reconstrucciones de pelvis sólo se permite el apoyo una vez consolide el injerto radiológicamente, en promedio 5 meses.

## Justificación

El uso de los Aloinjertos está ampliamente respaldado por la literatura médica, sin embar-

go, dadas las condiciones de infraestructura de nuestros hospitales y muchos a nivel internacional, es muy difícil disponer permanentemente de esta opción por lo cual se han utilizado otras alternativas en la cirugía de salvamento en oncología músculoesquelética, como son el Autoclavaje y la Criocirugía; queremos, por ello demostrar cómo el uso del Autoclavaje o Criocirugía son una alternativa de tratamiento en el salvamento de extremidades para los sarcomas de bajo grado de malignidad, con resultados comparables al Aloinjerto. Todo ello para hallar las bondades del Autoclavaje y la Criocirugía para así respaldar su uso.

### Procedimiento

#### Hipótesis

El Autoclavaje y la Criocirugía son dos técnicas de preparación de injertos óseos que poseen menor capacidad de incorporación y consolidación al ser comparados con el Aloinjerto.

#### Objetivos

Confirmar o discontinuar la probabilidad del uso del Autoclavaje o la Criocirugía como métodos alternos al Aloinjerto en el caso de salvamento de extremidades.

Estandarizar una técnica quirúrgica, anestésica, radiológica e histopatológica a nivel experimental para realizar este trabajo y que pueda servir de base para futuros trabajos.

#### Materiales y Métodos

Se trata de un trabajo analítico experimental.

#### Población a Estudio

La población a estudio está constituida por 30 conejos, raza Nueva Zelandia, peso de 2000 g., machos y que hallan completando su madurez esquelética.

#### Muestra

Los 30 conejos se dividirán en 3 grupos:

- 10 Conejos -- Aloinjerto.
- 10 Conejos -- Autoclavaje.
- 10 Conejos -- Criocirugía.

#### Criterios de Inclusión

- 1 - Peso de 2000 gramos.
- 2 - Edad (madurez esquelética)
- 3 - Raza Nueva Zelandia.
- 4 - Sexo masculino.
- 5 - Técnica Qx, radiológica, anestésica, preparación de injertos estandarizada.

#### Criterios de Exclusión

- 1 - Fractura previa del hueso escogido.
- 2 - Infección clínica en el POP.
- 3 - Muerte del conejo.

#### Efectividad

Esperamos lograr tasas de consolidación del 85%.

#### Técnica Anestésica

En cada uno de los miembros del estudio se utilizó la siguiente técnica anestésica.

- Tranquilán (maleato de acepromazina) 2 mg. por kg.
- Ketalar (ketamina) 20 mg. por kg.

Se aplicó la droga por vía intramuscular y en caso de requerir refuerzo se utilizó la dosis inicial.

#### Técnica Quirúrgica

El procedimiento se realizó en las salas de cirugía experimental de la Universidad Javeriana, con las técnicas de cirugía convencional, se realizó una incisión anteroexterna del antebrazo, se expuso el radio del conejo a través de la divulsión de los tendones del *flexor carpi radialis* y el *flexor digitorum profundus*, se incidió el periostio y se levantó. A continuación se creó un defecto de 2 cms en su tercio medio, utilizando cortes transversos con cincel, previas perforaciones con broca de 1 mm.

Se realizó profilaxis con antibiótico, Cefalotina 100 mg. por kg. en dos dosis 10 minutos pre quirúrgico y dos horas POP.

Una vez obtenido el injerto intercalar se le dió su preparación de Autoclavaje o Criocirugía, si era un Aloinjerto éstos ya se habían preparado previamente al sacrificar dos conejos 4 sema-





Figura 1. Radiografía en la cual se ve un Aloinjerto segmentario en el radio de un conejo una semana postoperatoria. No hay variación en la posición del injerto. Este Aloinjerto segmentario es de igual tamaño al segmento resecado previamente.

nas antes; teniendo al injerto preparado se recolocó en el defecto, fijándolo sólo con el periostio y tejidos blandos. Inicialmente se inmovilizó la extremidad con yeso por 1 semana. Ver figura 1. (Rx 1 semana POP).

### Evaluación

#### 1 - Técnica Radiológica

Se practicaron estudios radiográficos, a la decimasegunda semana POP, utilizando la siguiente técnica: A un metro de distancia, equipo convencional, con 5 miliamperios y 30 kilovoltios y así se determinaron sólo dos posibilidades.

- 1 Consolidación del injerto  
No evidencia de la osteotomía.  
Remodelado de corticales.  
Remodelado del canal medular.
- 2 No consolidación del injerto.  
Evidencia de la osteotomía parcial o completa.  
No remodelado del hueso.

#### 2 - Técnica Histológica

Las muestras de hueso obtenidas de cada grupo, una vez obtenida la radiología y sacrificado el animal, se descalcificaron dejando el material 1 semana en ácido nítrico y ácido glacial acético, para su inclusión en parafina y luego poder realizar cortes transversales de 4 micras en los dos

extremos de unión del injerto y a mitad de éste. Posteriormente se coloreó con Hematoxilina y Eosina.

Los parametros de evaluación son:

- I - Consolidación :  
Unión ósea.
- II - No consolidación:  
Rechazo (ruptura de vasos, vasculitis, respuesta inflamatoria persistente, reabsorción y no unión).  
Unión fibrosa.  
Unión cartilaginosa.

Basándonos en estudios previos y en un modelo piloto previamente desarrollado logramos encontrar el tiempo promedio en que consolidaba el hueso del conejo, además de implementar todas las técnicas experimentales que usamos en el desarrollo del trabajo.

### Resultados

Se presentaron dos muertes en el POP, en la primera semana y segunda semana, uno de ellos con signos muy claros de infección. Ambos conejos se reemplazaron de inmediato por conejos similares y se les realizó la técnica de injerto que les correspondía.

No se presentó ningún caso de infección tardía y el yeso se retiró a la segunda semana postoperatorio.

#### Al tomar los Controles Radiológicos se Obtuvieron:

- Aloinjertos - 7 consolidaciones radiológicas.  
- 3 consolidaciones parciales.
- Autoinjerto - 9 consolidaciones radiológicas.  
- 1 consolidación parcial.
- Crioinjerto - 4 consolidaciones radiológicas.  
- 6 consolidaciones parciales.

Todos los casos de no consolidación eran consolidaciones parciales, se hallaron signos francos de consolidación pero con retardo de ella o pseudoatrosis en uno de sus extremos. Ver figuras 2 y 3.(Consolidación total y parcial).





Figura 2. Radiografía que demuestra como el injerto (Crioinjerto) consolidó alguno en uno de sus extremos pero no en el otro. 12 semanas postoperatorio.



Figura 3. En esta radiografía se demuestra una consolidación completa en los bordes del injerto (Aloinjerto).

Posterior a esto, se obtuvo el porcentaje de consolidación para cada grupo y en tablas de 2 x 2 se realizó la asociación estadística para así obtener el riesgo relativo, aplicar el test de Fisher corregido y por último hallar la significancia estadística que fue:

a) ALOINJERTO VS. AUTOCLAVAJE :

P = 0.29

No hallando en este grupo significancia estadística, su causa es el tamaño de la muestra pues se requeriría de 64 conejos por grupo para darle validez epidemiológica, más no clínica.

b) ALOINJERTO VS CRIOINJERTO.

P = 0.18

Al igual que el grupo anterior no posee significancia estadística por igual razón, cada grupo requeriría de 44 conejos.

c) AUTOCLAVAJE VS CRIOINJERTO.

P = 0.028

Se halló significancia estadística, con un poder del 80%, confirmando la mayor capacidad de consolidación del Autoclavaje con respecto al Crioinjerto.

Una vez tomadas las radiografías se sacrificó el animal y se obtuvo la pieza macroscópica. Ver fig. 4. (Foto de la pieza).

Al estudio histológico hallamos :

a) ALOINJERTO :

Todos, excepto un caso, poseían unión ósea, lo cual indica consolidación desde el punto de vista histológico. Al no poder diferenciar claramente cual es el injerto y cual es el huésped,

vemos cómo se incorporó dicho injerto en gran porcentaje. Para nosotros en forma subjetiva y promediando campos del microscopio nos dio más del 80% de incorporación. Ver figura 5 y 6 (Unión ósea).

b) AUTOCLAVAJE :

El 60% presentó unión ósea y los 4 restantes unión fibrocartilaginosa. Existe una clara delimitación entre el huésped y el injerto, lo cual nos habla de una menor incorporación. En las uniones predominó el cartilago. No se hallaron signos de rechazo. Ver figura 7. (Unión fibrocartilaginosa).

c) CRIOINJERTO:

Sólo un caso presentó unión ósea al estudio histológico, 6 casos unión fibrocartilaginosa y 3 casos unión fibrosa. En ellos predominó la unión por tejido fibroso. No existe rechazo. Ver figura 8. (Unión fibrosa)

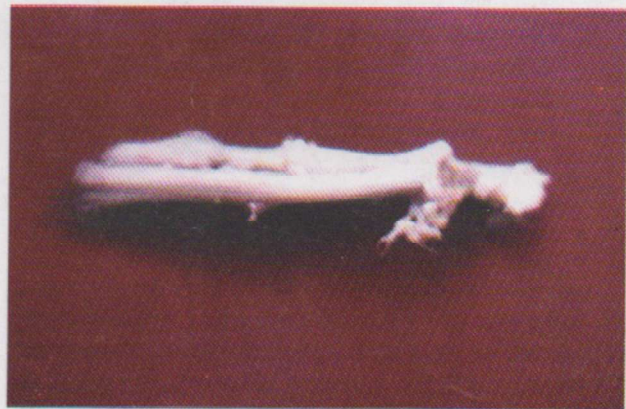


Figura 4. Pieza quirúrgica obtenida a las doce semanas postoperatorio en donde se observa consolidación completa del aloinjerto.



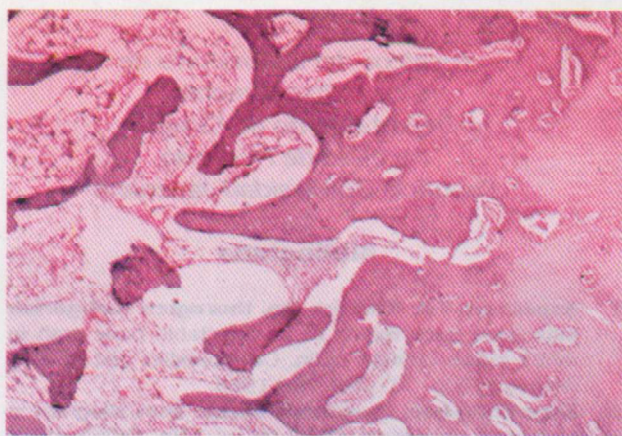


Figura 5. Corte histológico del Aloinjerto el cual muestra unión ósea e incorporación del mismo. (x 10).

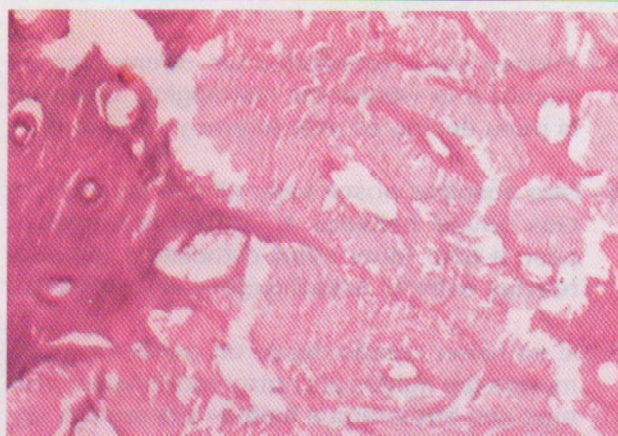


Figura 6. Corte histológico del Aloinjerto observándose unión ósea, interdigitación de trabéculas, engrosamiento de los vasos e incorporación del injerto. (x 40).



Figura 7. Unión fibrocartilaginosa obtenida de un espécimen de Autoclavaje muy bien definida, que comprende el 40% de las uniones de este injerto. (x 10).

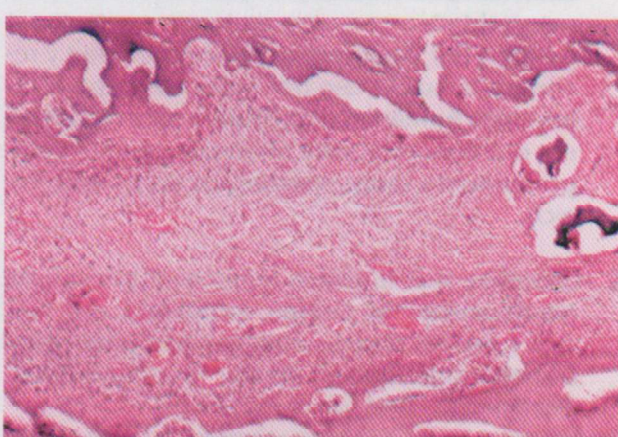


Figura 8. Unión fibrosa del Crioinjerto que comprende el 30% de sus uniones; un 60% es fibrocartilaginosa y sólo un 10% es unión ósea. (x 10)

A estos valores también se les sacó el porcentaje de consolidación, su asociación estadística en tablas de contingencia 2 x 2 y luego de calcular el riesgo relativo se aplicó el test de fisher corregido para obtener la significancia estadística así.

a) ALOINJERTO VS AUTOCLAVAJE:

P = 0.00003

Posee significancia estadística con un poder del 80 %, lo cual demuestra la mejor capacidad de consolidación e incorporación del Aloinjerto comparado con al Autoinjerto.

b) ALOINJERTO VS CRIOINJERTO:

P = 0.0005

Posee significancia estadística con un poder del 80%. Lo cual demuestra la mejor capacidad de consolidación e incorporación del Aloinjerto comparado al Crioinjerto.

c) AUTOCLAVAJE VS CRIOINJERTO:

P = 0.02

Demostando una vez más su validez estadística y clínica, con un poder del 80% y concluyendo cómo posee mejor capacidad de incorporación y consolidación el Autoclavaje al compararse con el Crioinjerto.

**Conclusiones**

- 1 - Desde el punto de vista radiológico, 6 Crioinjertos, 3 Aloinjertos y 1 Autoclavaje se hallaron con evidencia parcial de la línea de osteotomía y por ello se clasificaron en el grupo de no consolidación.
- 2 - Al análisis histológico se halló consolidación dada por unión ósea en 9 Aloinjertos, 6 Autoclavajes y sólo en 1 Crioinjerto.



- 3 - Poseen valor estadístico las diferencias en cuanto a la valoración histológica, que vale la pena decirlo es más segura y confiable.
- 4 - Para nosotros posee valor clínico las diferencias obvias halladas al control radiológico, pese a sólo tener valor estadístico las diferencias entre el Autoclavaje y el Crioinjerto.
- 5 - De no haber creado desde un comienzo parámetros tan rígidos al control radiológico creemos que hubieramos hallado diferencias significativas.
- 6 - Con todo ello podemos concluir como la mejor alternativa de tratamiento para salvamento de extremidades, en caso de lograr controlar el tumor a los Aloinjertos, poseen utilidad y recomendamos el uso del Autoclavaje pero no tenemos fundamento científico para recomendar el Crioinjerto, este último de pésimo comportamiento tanto radiológico como histológico.
- 7 - Creemos que nuestras técnicas experimentales de anestesia, cirugía, radiología, etc, son una base de futuras aplicaciones para otros trabajos que utilicen similar modelo animal. Ver figura 9. (Tabla de conclusiones)

Conclusiones Consolidación		
RX		HISTOLOGÍA
90%	AUTOCLAVAJE	60%
70%	ALOINJERTO	90%
30%	CRIOINJERTO	10%
Injertos Oseos		

### Agradecimientos

Leonardo I. Trujillo Bahamon  
Residente II  
Ortopedia y Traumatología  
Hospital San Ignacio

Banco de Huesos  
Hospital de San Ignacio  
Departamento de Ortopedia y Traumatología  
Facultad de Medicina  
Dr. Camilo Soto M.  
Dr. José Navas S.

Técnicos del Laboratorio de  
Cirugía Experimental  
Departamento de Cirugía  
Facultad de Medicina  
Pontificia Universidad Javeriana

### Bibliografía

1. **Aspenberg Per, Wittbjer Jan, thorngren Karl-göran:** pulverized bone matrix as an injectable bone graft in rabbit radius defects. Clin. Orthopaedics and Related Research. 206: 261-269. May 1986.
2. **Borja Francisco, Mnymeh Walid:** Bone allografts in salvage of difficult hip arthroplasties. Clin. Orthopaedics and Related Research. 197: 122-130. July 1985.
3. **Burchardt Hans:** The biology of bone graft repair. Clin. Orthopaedics and Related Research. 170: 28-41, April 1983.
4. **Burchardt Hans, Jones Hardin, Glowczewskie Franz, Rodner Charles, Enneking William:** Freeze-Dried allogeneic segmental cortical-bone grafts in dogs. J. Bone and Joint Surgery. 60A. N8: 1082-1090. December 1978.
5. **Burwell Geoffrey, Friendlaender Gary, Mankin Henry:** Current perspectives and future directions. Clin. Orthopaedics and Related Research. 197. 141-159. July 1985.
6. **Czitrom Andrei, Axelrod Terry, Fernandez Bernard:** Antigen presenting cells and bone allotransplantation. Clin Orthopaedics and Related Research. 197:27-31. July 1985.
7. **Campbell's:** Cirugía ortopédica. Séptima Edición. 1989
8. **Dick Harold, Mailinin Theodore, Mnymeh Walid:** Massive allograft implantation following radical resection of high-grade tumors requiring adjuvant chemotherapy treatment. Clin. Orthopaedics and Related Research. 197: 87-94. July 1985.
9. **Doppelt Samuel, Tomford William, Lucas Alan, Mankin Henry:** Operational and functional aspects of a hospital bone bank. J. Bone and joint surgery. Vol. 63A. No. 8: 1472-1481. December 1981.
10. **Enneking William, Dunham William:** Resection and reconstruction for primary neoplasm involving the innominate bone. J. Bone and joint surgery. Vol. 60A. No. 6: 731-746. September 1978.
11. **Friendlaender Gary:** Currents concepts review bone grafts. J. Bone and Joint Surgery. 69A: 786-790. June 1987.
12. **Friendlaender Gary:** Immune response to osteochondral allografts. Clin. Orthopaedics and Related Research. No. 170: 58-67. April 1986.
13. **Gross A., Mc kee N., Prtizker K., Langer F.:** Reconstruction of skeletal deficits at the knee. Clin. Orthopaedics and Related Research. 170: 97-101. April 1986.
14. **Gross A., Lavoie Mitch, Mc Dermott Patrick, Marks Paul:** The use allografts bone in revision of total hip arthroplasty. Clin. Orthopaedics and Related Research. 196: 114-121. July 1985.
15. **Goldberg Victor, Heiple Kingsburg:** Experimental hemi joint and wole joint transplation. Clin. Orthopaedics and Related Research. 170: 43-53. April 1983.
16. **Hanaoka Hideya, Yabe Hiroo, Bun Hirosh:** The origin of the osteoclast. Clin. Orthopaedics and Related Research. 99-211. February 1989.
17. **Harrington Kevin:** The use of hemipelvic allografts or autoclaved grafts for reconstruction after wide resections



- of malignant tumor's of the pelvis. *J. Bone and Joint Surgery*. 74A. No. 3: 331-341. March 1992.
18. **Harrington Kevin, Johnston James, Kaufer Herbert, Luck James, Moore Tillmann:** Limb salvage and prosthetic joint reconstruction for low-grade and selected high-grade sarcomas of bone after wide resection and replacement by autoclaved autogenetic grafts. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 211:180-214. October 1986.
  19. **Johnson:** Reconstruction of the pelvic ring following tumor resection. *Journal Bone and joint surgery*. Vol. 60A. No. 6: 747-751. September 1978.
  20. **Kandell R., Gross A., Canel A., McDermott G., Langer F., Pritzker P.:** Histopathology of failed osteoarticular shell allografts. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 196: 101-109. July 1985.
  21. **Kenzora John:** The osteocyte living drying, dead. *J. Bone and Joint Surgery*. Vol.54A. No.5: 1126. July 1972.
  22. **Köhler Peter, Kreicbergs Andris:** Incorporation of autoclaved autogenic bone supplemented with allogeneic demineralized bone matrix. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 218: 246-258. May 1987.
  23. **Lexer Erich:** Joint transplantation. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 197: 4-10. July 1985.
  24. **Macewen William:** The growth of bone. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 170: 5-14. April 1983.
  25. **Makley John:** The use of allografts to reconstruct intercalary defects of long bones. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 137: 59-75. July 1985.
  26. **Malinin Theodore, Martínez Octavio, Brown Mark:** BAnking of massive osteoarticular and intercalary bone allografts 12 years' experience. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 197: 44-57. July 1985.
  27. **Malinin Theodore:** Memorandum osteoarticular bone allograft. *Tissue Banks*. University of Miami. School of Medicine. January 1989.
  28. **Malinin Theodore:** Freeze-dried tissue allograft in surgery. 677-689. *Tissue Banks*. University of Miami. School of Medicine. 1989.
  29. **Malinin Theodore, Warner Joseph, Pita Julio, lo Hilda:** Hypothermic storage and criopreservation of cartilage. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 197: 15-26. July 1985.
  30. **Mankin Henry, Doppelt Samuel, Tomford William:** Clinical experience with allograft implantation. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 170: 68-84. April 1983.
  31. **Mankin Henry, Doppelt Samuel, Sullivan Robin, Tomford William:** Osteoarticular and intercalary allograft transplantation in the management of malignant tumor of bone. *Cancer*. Vol 50: 613-630. August 15, 1982.
  32. **Mc Dermott, Langer F., Pritzker K., Gross A.:** Fresh small fragment osteochondral allografts. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 196: 96-101. July 1986.
  33. **Mckibbin B.:** The biology of fracture healing in long bones. *J. Bone and joint surgery*. 66B. No. 2: 150-162. May 1978.
  34. **Meyers Marvin, Jones Richard, Bucholz Robert, Wenger Dennis:** Fresh autogenous grafts and osteochondral allografts for the treatment of segmental collapse in osteonecrosis of the hip. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 170: 106-112. April 1983.
  35. **Meyers Marvin:** Resurfacing of the femoral head with fresh osteochondral allografts. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 196: 110-113. July 1985.
  36. **Mnaymneh Walid, Malinin Theodore, Markley John, Dick Harold:** Massive osteoarticular allografts in the reconstruction of extremities following resection of tumors not requiring chemotherapy and radiation. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 197: 76-87. July 1985.
  37. **Pelker Richards, Friendlaender Gary, Markham Thomas:** Biomechanical properties of bone allografts. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 170. April 1983.
  38. **Nakaham Harohiko, Takaoka Kunio, Koezoka Masahiro, Suramoto Kazoumi, Tsuda Takayoki, Ono Keiro:** Periosteal bone formation elicited by partially purified bone morphogenetic protein. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 212-220. February 1989.
  39. **Salama B.:** Xenogenic grafting in humans. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 170: 113-121. April 1983.
  40. **Shafer John, Fiel Greg, Golberg Victor, Davy Dwight:** Fate of vascularized and non vascularized autografts. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 196: 32-43. July 1985.
  41. **Steel Howard:** Partial or complete resection of the hemipelvis. *J. Bone and joint surgery* Vol 60A. No. 16: 719-730. September 1978.
  42. **Tomford William, Doppelt Samuel, Mankin Henry, Friendlaender Gary:** Bone bank procedures. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 170: 15-21. April 1983.
  43. **Tomford William, Duff Gregory, Mankin Henry:** Experimental Freeze-preservation of chondrocytes. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 197: 11-14. July 1985.
  44. **Uribe Jaime, Navas José, Carrillo Germán, Morales Mauricio, Garcés María, Latorre Julio:** Injertos de médula osea asociados a homoinjertos d corticoesponjosa. Agosto 1990.
  45. **Urbaniak James, Black Kyle:** Cadaveric elbow allografts. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 196: 131-140. July 1985.
  46. **Weiland Andrew, Moore Rossell, Rollin Daniel:** Vascularized bone autografts. *Clin. Orthopaedics and Related Research*. 170: 88-95. April 1986.
  47. **White Augustus, Panjabi Manohar, Southwick Wayne:** The four biomechanical stages of the fractures repair. *J. bone and joint surgery*. Vol. 59A. No. 2: 188-192. March 1977.