

Sección IV. Investigación y Ciencias Básicas

Injerto de cortical en polvo para el tratamiento de los defectos óseos estructurales (Estudio experimental en conejos)

Dr. Camilo Soto Montoya*, Dr. Andrés Restrepo Uribe**, Dr. Leonardo Trujillo Bahamón***, Dr. Rito Alfonso López Uribe****, Dra. María Consuelo París*****

Resumen

Este modelo experimental en conejos muestra la respuesta biológica de cicatrización de injertos de cortical en polvo para el tratamiento de defectos segmentarios menores en las diáfisis de radio, comparándola de manera aleatoria con un grupo control sin tratamiento y un grupo tratado con aloinjerto intercalar.

A las 12 semanas se evaluaron en términos de consolidación cada uno de los grupos mediante estudios de la pieza macroscópica, histopatología con coloración de hematoxilina eosina y análisis radiológicos de cada una de las piezas.

El grupo tratado con injertos de cortical en polvo presentó un proceso reparador más eficiente (P menor de 0.05) mostrando la formación de hueso que llenó completamente el defecto, recuperando la forma cilíndrica del radio; el análisis histopatológico reveló gran respuesta vascular con proliferación de fibroblastos, diferenciación hacia la línea osteoblástica con recuperación del contorno cortical y cavidad medular.

La línea de investigación continúa estudiando este comportamiento en tiempo mayor a las 12 semanas, sometiénolo al análisis biológico y biomecánico.

Introducción

El uso de los aloinjertos marca una pauta de gran utilidad en la práctica de cirugía ortopédica reconstructiva. El progreso de los bancos de hueso y tejidos ha impulsado la investigación hacia la búsqueda de subproductos y derivados, con el fin de dar soluciones más adecuadas y precisas a problemas específicos del sistema esquelético.

El injerto de cortical en polvo reúne como ventajas no sólo características relacionadas con la fácil obtención y aplicación sino también cualida-

des biológicas fundamentadas en un fuerte fenómeno de osteoinducción por ser la mayor fuente de proteína morfogénica ósea (PMO). Al ser colocado en el lecho receptor es rápidamente invadido por elementos vasculares, reclutando del proceso inflamatorio células multipotenciales del tejido conectivo perivascular, endostio y médula ósea que se diferencian hacia la línea osteoblástica.

La literatura mundial presenta la respuesta biológica de reparación que genera la PMO para el tratamiento de los defectos segmentarios menores* en diferentes modelos experimentales; no se han comparado esos resultados en términos específicos de consolidación a la respuesta que se presenta mediante el uso de injertos intercalares, método usado universalmente para tratar este tipo de problema.

Este modelo experimental en conejos tiene como propósito demostrar a las 12 semanas la eficacia del injerto de cortical en polvo para tratar defectos segmentarios en las diáfisis del ra-

* Instructor de Ortopedia, Hospital San Ignacio, Pontificia Universidad Javeriana.

** Ortopedista egresado de la Pontificia Universidad Javeriana.

*** Ortopedista egresado de la Pontificia Universidad Javeriana.

**** Ortopedista egresado de la Pontificia Universidad Javeriana.

***** Jefe Departamento de Morfología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana.

dio comparándolo de manera aleatoria con un grupo control sin tratamiento y otro tratado con injerto intercalar.

Formulando como hipótesis de trabajo que la consolidación a las 12 semanas de los defectos segmentarios de un centímetro en el tercio medio de la diáfisis del radio de conejos adultos, utilizando aloinjerto intercalar no es mejor que la presentada con injertos de cortical en polvo.

Materiales y métodos

Mediante un estudio experimental en 30* conejos machos raza Nueva Zelanda de 3 kilogramos de peso, maduros esqueléticamente se utilizó como técnica anestésica maleato de acepromazina 2 mg/kg. de peso asociado a ketamina 20 mg/kg. de peso por vía intramuscular, la profilaxis antibiótica se llevó a cabo con cefalotina 100 mg/kg. de peso dividido en dos dosis, 30 minutos preoperatorio y 2 horas posoperatorio; realizando en salas de cirugía experimental con técnicas de asepsia y antisepsia convencionales incisión anteroexterna del antebrazo, exponiendo el radio del conejo a través de la divulsión de los tendones del flexor carpi radialis y flexor digitorum profundus, se incidió el periostio creando un defecto segmentario de 1 cm. en el tercio medio de la diáfisis utilizando cortes transversos con cincel previas perforaciones con broca de 1 mm. de diámetro mediante aleatorización se dividieron en 3 grupos, cada uno de 10 conejos:

Grupo 1

Se realizó el defecto de la diáfisis sin colocar ningún tipo de injerto.

Grupo 2

Se coloca en el defecto un injerto segmentario de 1 centímetro de longitud obtenido de un radio de diámetro semejante, estos injertos fueron obtenidos dos semanas antes mediante el sacrificio de 3 conejos que cumplen los mismos criterios de inclusión según técnicas estándar del banco de huesos y tejidos para la obtención, procesamiento y preservación a -80 grados centígrados.

Grupo 3

Se colocó en el defecto injerto de cortical en polvo que fue obtenido dos semanas antes me-

dante el sacrificio de 3 conejos de los cuales se extrajeron segmentos de diáfisis de huesos largos que se desmineralizaron en ácido clorhídrico (HCl 0.6 N) a 2 grados centígrados durante 24 horas en proporción de 100 mililitros de solución ácida por gramo de hueso. Fueron posteriormente lavados en solución salina normal y fragmentados obteniendo el polvo de cortical.

La elección del radio obedece a su fácil acceso quirúrgico, mínima sobrecarga axial y obviar osteosíntesis o inmovilización gracias a su resistente membrana interósea.

La analgesia posoperatoria se realizó con dipirone 2.5 mg. intramuscular cada 6 horas por dos días.

A las 12 semanas los animales fueron sacrificados aplicando 35 milímetros de tiopental sódico y 60 mililitros de cloruro de potasio al 10% intravenosos. Obteniendo la pieza anatómica para ser analizada en términos absolutos de consolidación, mediante tres parámetros:

1. Estudio radiológico

Radiografías en proyección anteroposterior y lateral a 1 metro de distancia con 5 miliamperios y 30 kilovoltios determinando:

No consolidación: A la evidencia parcial o completa de la línea de la osteotomía junto con la no remodelación del hueso.

Consolidación: Sin evidencia de la línea de la osteotomía, remodelación de las corticales y el canal medular.

2. Estudio macroscópico

Describiendo en cada una de las piezas el proceso de cicatrización, la presencia de callo, la regularidad del contorno de la diáfisis del radio y el cubrimiento del defecto provocado.

3. Estudio histopatológico

Las piezas se fijaron en formol neutro al 10% durante 3 días, fueron descalcificadas durante una semana en ácido nítrico y ácido glacial acético, incluyéndolas luego en parafina para realizar cortes de 4 micras coloreándolas con hematoxilina y eosina, determinando:

No consolidación: Al observar patrones de rechazo al injerto por ruptura de vasos, vasculitis, respuesta inflamatoria persistente, reabsorción y no unión.

Consolidación: Presencia de invasión vascular, células inflamatorias típicas, osteoblastos, trabéculas, reconstrucción del contorno de corticales, remodelación de la cavidad medular.

Los resultados en términos de consolidación se recolectaron calculando el porcentaje del número de casos que presentaron consolidación con respecto al número de casos totales del subgrupo ($X/10$). Para determinar la asociación estadística se utilizaron tablas de contingencia o 2×2 que muestran para cada subgrupo si se logró o no la consolidación, realizando finalmente un análisis comparativo mediante el chi cuadrado y el test de Maentel y Haenzel.

Resultados

A las 12 semanas el defecto segmentario de 1 centímetro en la diáfisis del radio de los conejos mostró:

Grupo 1

Llamado también grupo control sin tratamiento en donde se instauró la formación de pseudoartrosis con presencia de tejido fibroso, reabsorción de los extremos del hueso. Las radiografías evidenciaron persistencia del defecto con obliteración del canal medular. La histopatología se caracterizó por la presencia de tejido fibroso inmaduro con orientación hacia la formación de cartílago. Véase Figura 1.

Grupo 2

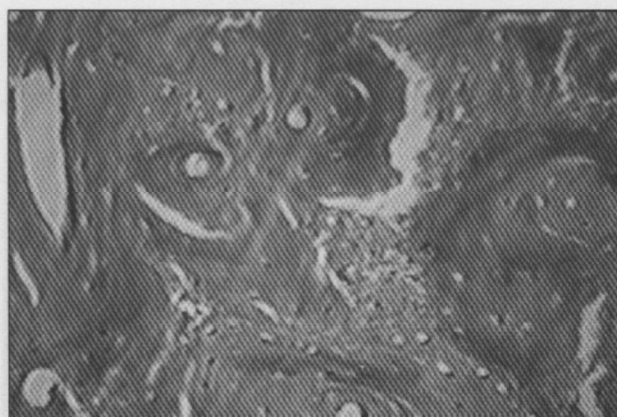
Defecto tratado con aloinjerto segmentario; se demostró macroscópicamente la diferenciación clara entre el segmento injertado y el lecho receptor, con grados variables e incompletos de consolidación. Radiológicamente, siempre se encontró evidencia parcial o completa de la osteotomía junto con remodelado incompleto de la cortical y la medular. Histológicamente encontramos unión fibrosa o fibrocartilaginosa, con diferentes grados de incorporación del aloinjerto representados por gran variabilidad de invasión vascular. Véase Figura 2.



a

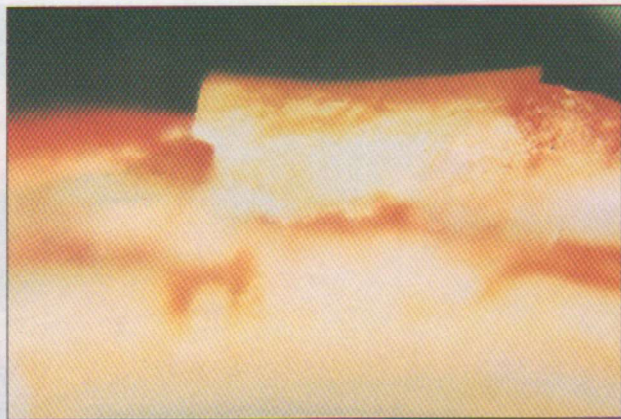


b



c

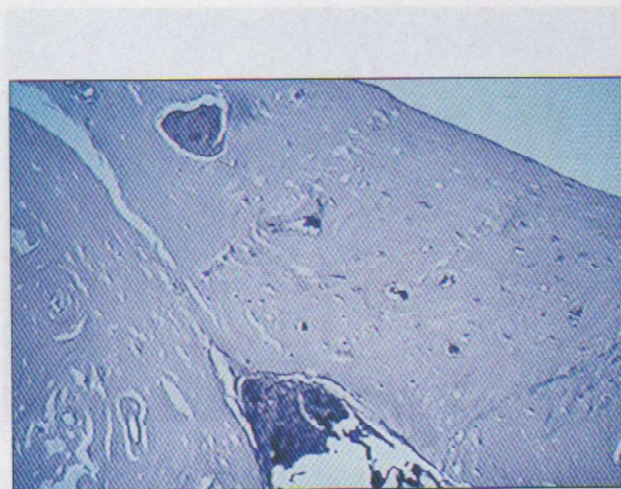
Fig. 1a, b, c.



a



b



c

Fig. 2a, b, c.

Grupo 3

Defecto tratado con aloinjerto de cortical en polvo, se obtuvo una respuesta cualitativa más eficaz, los especímenes macroscópicos mostraron la formación de hueso de contornos regulares que llenaron completamente el defecto, recuperando la forma cilíndrica del radio incluso formando sinostosis radio-cubital. Radiológicamente no se evidenció la línea de la osteotomía con remodelado de la cortical y canal medular. El análisis histológico, reveló en este grupo, gran respuesta vascular con proliferación de fibroblastos y diferenciación hacia la línea osteoblástica junto con la formación de matriz osteoide además de la recuperación del contorno cortical y cavidad medular. Véase Figura 3.



a



b

Fig. 3a, b.

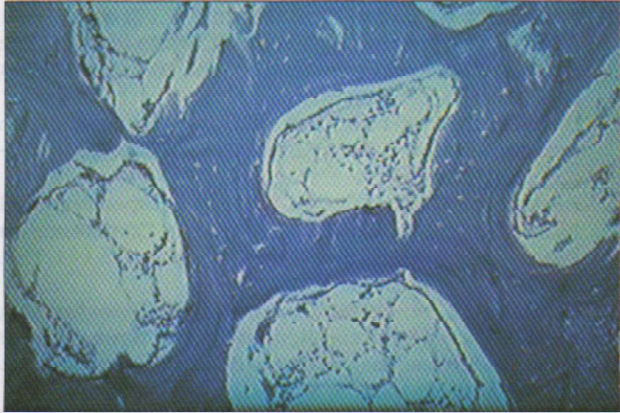


Fig. 3c.

Análisis estadístico

Tabla 1

Distribución por grupos de especímenes consolidados

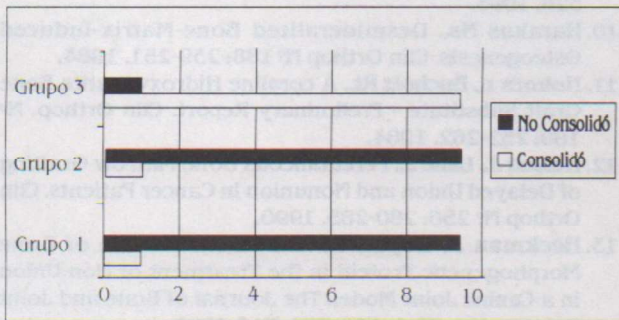
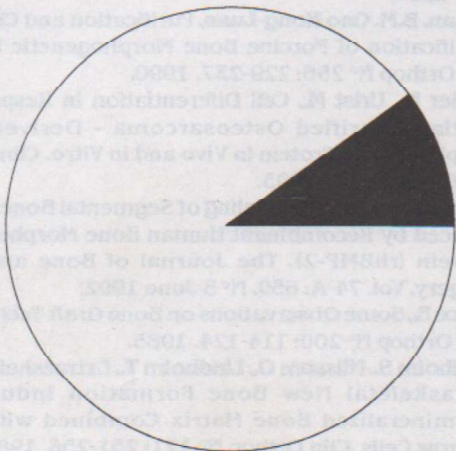
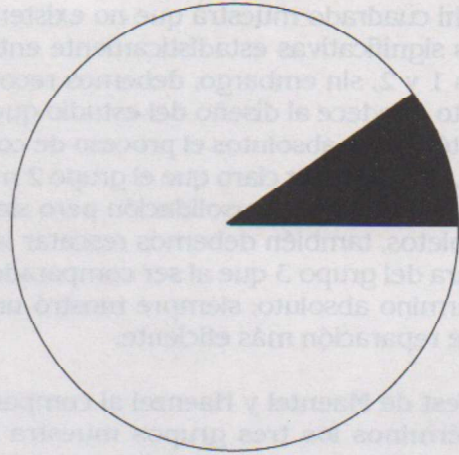


Tabla 2

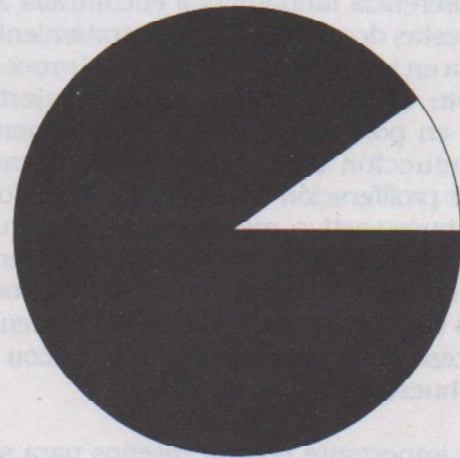
Frecuencias de consolidación por grupos



GRUPO 1
Consolidación 10% No consolidación 90%



GRUPO 2
Consolidación 10% No consolidación 90%



GRUPO 3
Consolidación 90% No consolidación 10%

Tabla 3

Diferencias comparativas entre dos y tres grupos
Consolidación por grupos

	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	TOTAL
Consolidó	1	1	9	11 36.7%
No consolidó	9	9	1	19 63.3%
Total	10 33.3%	10 33.3%	10 33.3%	30 100%

Chi-Square	Valor	DF	Significamces
Pearson	18.37320	2	.00010
Tasa de significanza	19.92449	2	.0005
Mantel Haenzel Test			
Asociación Lineal	13.32057	1	.00026

El chi cuadrado muestra que no existen diferencias significativas estadísticamente entre los grupos 1 y 2, sin embargo, debemos reconocer que esto obedece al diseño del estudio que evalúa en términos absolutos el proceso de consolidación, debe quedar claro que el grupo 2 mostró grados variables de consolidación pero siempre incompletos, también debemos rescatar la ventaja clara del grupo 3 que al ser comparado bajo este término absoluto, siempre mostró un proceso de reparación más eficiente.

El Test de Maentel y Haenzel al comparar en esos términos los tres grupos muestra significativamente (P menor de 0.05) la ventaja del proceso reparador en el grupo 3 tratado con injerto de cortical en polvo.

La diferencia fundamental encontrada al enfrentar estas dos alternativas de tratamiento, se presenta en la respuesta biológica del proceso de curación; en el grupo tratado con injerto de cortical en polvo obedeciendo al fenómeno de osteoinducción se provocó gran respuesta vascular, proliferación de osteoblastos con formación de hueso activo, mientras que en el grupo 2 tratado con aloinjerto intercalar respondiendo a fenómenos de osteoconducción se generaron respuestas vasculares que invadían el segmento en un proceso continuo de incorporación con mezclas de hueso necrótico y viable.

Será importante realizar diseños para seguir evaluando la respuesta del aloinjerto de cortical en polvo, en términos mayores a las 12 semanas, analizando el comportamiento biomecánico de la misma y asociando su uso a sustancias transportadoras y conectoras como colágeno o médula ósea.

Creemos que es equivocado llegar a proponer el uso aislado de aloinjerto de cortical en polvo para el tratamiento de los defectos segmentarios y que éste remplace completamente los aloinjertos intercalares; pero si postulamos su uso como coadyuvante de la osteoinducción en el tratamiento de fracturas complejas, pseudoartrosis y cirugía reconstructiva.

Bibliografía

1. **Aspenberg P., Withhjer J.**, Pulverized Bone Matrix as an Injectable Bone Graft in Rabbit Radius Defects. *Clin Orthop.* 206: 261-269. Mayo 1986.
2. **Buchhardt H.**, The Biology of Bone Grafts Repair. *Clin Orthop.* 170: 28-41. 1993.
3. **Buchharct H., Jones H., Enncking W.**, Freeze-Dried Allogenie Segmental Cortical-Bone Grafts in Dogs. *The Journal of Bone and Joint Surgery.* Vol. 60-A: 1082-1090 N° 8. 1978.
4. **Burwell R.**, The Function of Bone Marrow in the Incorporation of a Bone Graft. *Clin Orthop.* 200: 125-131. 1985.
5. **Burwell R.G., Laender G.**, Current Perspectives and Future Directions. The 1983 Invitational Conference on Osteocondral Allografts. *Clin Orthop.* 197: 141-157. 1987.
6. **Centrella M., Mc Carthy T., Carnalis E.**, Transforming Growth Factor-Beta and Remodeling of Bone. *Current Concepts Review. The Journal of Bone and Joint Surgery.* Vol. 73-A: 1418-1428 N° 9. 1991.
7. **Chapman M.**, Bone Grafting. Chapter 7. *Operative Orthopaedics.* Michael W. Chapman. Edited by J.B. Lippincott 1988.
8. **Friedlander G.**, The Bone Grafts Current Concepts Review. *The Journal of Bone and Joint Surgery.* Vol. 69-A: 786-790. June 1987.
9. **Gerhart T., Kriz M., Henning G.**, Healing Segmental Femoral Defects in Sheep Using Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein. *Clin Orthop* N° 293: 317-326. 1993.
10. **Harakas Ns.**, Desmineralized Bone-Matrix-Induced Osteogenesis. *Clin Orthop* N° 188: 239-251. 1984.
11. **Holmes r., Buchholz Rt.**, A coralline Hidroxyapatite Bone Graft Substitute - Preliminary Report. *Clin Orthop.* N° 188: 252-262. 1984.
12. **Healed J., Lane J.**, Percutaneous Bone Marrow Grafting of Delayed Union and Nonunion in Cancer Patients. *Clin Orthop* N° 256: 280-285. 1990.
13. **Heckman J., Boyan B., Abbott J.**, The Use of Bone Morphogenetic Protein in the Treatment of Non-Union in a Canine Joint Model. *The Journal of Bone and Joint Surgery.* Vol. 73-A: 751-763. N° 5 1991.
14. **Jergersen H., Chua J., Kao R.**, Age Effects on Bone Induction by Desmineralized Bone Powder. *Clin Orthop* N° 268: 253-259. 1991.
15. **Köhler Pr., Kreieberg A.**, Incorporation of Autoclaved Autogenic Bone Supplemented with Allogenie Desmineralized Bone Matrix. *Clin Orthop* N° 218: 247-258. 1987.
16. **Ko Lan, B.M. Gao Hong-Luan.**, Purification and Chemical Modification of Porcine Bone Morphogenetic Protein. *Clin Orthop* N° 256: 229-237. 1990.
17. **Kübler N., Urist M.**, Cell Differentiation in Response to Partially Purified Osteosarcoma - Derived Bone Morphogenetic Protein in Vivo and in Vitro. *Clin Orthop* N° 292: 321-327. 1993.
18. **Lane J., Wang E.**, The Healing of Segmental Bone Defects Induced by Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein (rhBMP-2). *The Journal of Bone and Joint Surgery.* Vol. 74-A: 659. N° 5 June 1992.
19. **Lance E.**, Some Observations on Bone Graft Technology. *Clin Orthop* N° 200: 114-124. 1985.
20. **Lindholm S., Nilsson O., Lindholm T.**, Extraeskeletal and Intrasketal New Bone Formation Induced by Desmineralized Bone Matrix Combined with Bone Marrow Cells. *Clin Orthop* N° 171: 251-256. 1982.
21. **Lovell T.P., Dawson E.G.**, Augmentation of Spinal Fusion with Bone Morphogenetic Protein in dogs. *Clin Orthop* N° 243: 266-274. 1989.
22. **Mankin H., Doppelt S.**, Clinical Experience with Allograft Implantation. *Clin Orthop* N° 174: 69-86. 1983.

23. **Makley J.**, The Use of Allografts to Reconstruct Intercalary Defects of Long Bones. Clin Orthop N° 137: 58-75. 1985.
24. **Muthukumaran N, Reddi A.H.**, Bone-Matrix Induced Local Bone Induction. Clin Orthop N° 200: 159-164. 1985.
25. **Nakahara H, Takaoka K.** Periosteal Bone Formation. Clin Orthop N° 239: 299-305. 1989.
26. **Nathanson Mark A.**, Bone Matrix-Directed Chondrogenesis of Muscle in Vitro. Clin Orthop N° 200: 142-158. 1985.
27. **Prolo Donald, Rodrigo Juan.** Contemporary Bone graft and Surgery. Clin Orthop N° 200: 323. 1985.
28. **Stevenson S, Horowitz M.**, The response to Bone Allografts. Current Concepts Review.). The Journal of Bone and Joint Surgery. Vol. 74-A: 939-949. N° 6 1992.
29. **Takaoka K, Hashimoto J, Masashi M.**, Purification and Charecterization of Bone-Inducing Protein from a Murine Osteosarcoma. Clin Orthop N° 292: 329-337. 1993.
30. **Tiedeman J.J, Huurman W.W., Connolly J.F., Strates B.F.**, Healing of a Large Nonossifyng Fibroma after Grafting with Bone Matrix and Marrow; Report of a Case. Clin Orthop N° 265: 302-April 1991.
31. **Tiedeman J. J., Huurman W.W., Connolly J.F., Strates B.F.**, Treatment of Nonunion by Percutaneous Injection of Bone Marrow and Desmineralized Bone Matrix. An experimental Study in Dogs. Clin Orthop N° 268: 294-302. 1991.
32. **Urist M., Johnson E.**, Autogenic Cancellous Bone Grafts in Extensive Segmental Ulnar Defects in Dogs. Effects of Xenogenic Bovine Bone Morphogenetic Protein Without and With Interposition of Soft Tissues and Interruption of Blood Supply. Clin Orthop N° 243: 243-254. June 1989.
33. **Urist Marshall**, The Nature of Bone Morphogenetic Protein (BMP) Fractions Derived from Bovine Bone matrix Gelatin. Clin Orthop N° 171: 213. 1982.
34. **Uribe Jalme, Navas José, Carrillo Germán, Morales Mauricio**, Injertos de médula ósea asociados a aloinjertos de corticoesponjosa. Trabajo de promoción. Universidad Javeriana. Agosto 1990.