

## UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO

### RED BIBLIOTECARIA MATÍAS

### DERECHOS DE PUBLICACIÓN

Basados en

El Reglamento de Graduación de la Universidad Dr. José Matías Delgado

Capítulo VI, Art. 46

**“Los documentos finales de investigación serán propiedad de la Universidad para fines de divulgación”**

Publicado bajo la licencia Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual de Creative Commons  
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/>



*Se permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra siempre que se especifique el autor y el nombre de la publicación y sin objetivos comerciales, y también se permite crear obras derivadas, siempre que sean distribuidas bajo esta misma licencia*

Para cualquier otro uso se debe solicitar el permiso a la Universidad



TESIS DOCTORAL.

**TRASPLANTE AUTÓLOGO DE HUESO CRANEAL CONSERVADO *IN VIVO* Y  
REIMPLANTADO UTILIZANDO PEGAMENTO BIOLÓGICO *VERSUS*  
CIANOACRILATO.**

**Autores:**

Manuel Eduardo Mendoza Ruano.

Juan José Menjivar Flores.

**Asesor:**

Dr. Francisco Sansivirini, M.D. Ph.D.

Escuela de Medicina, Universidad “Dr. José Matías Delgado”, La Libertad, El Salvador.

Enero 2009.

## **DEDICATORIAS.**

---

“A mi Madre, quien es la inspiración de mis ideas. Gracias, porque siempre estás ahí.

A mi Abuela, que imprimió paciencia y delicadeza.

A mi Abuelo, que me enseñó a ser fuerte y perseverante.

A mis Hermanos, que me acompañaron.

Y, a mis Pacientes, a quienes debo mi arte”.

-Dr. Manuel Eduardo Mendoza Ruano-.

“A Dios Todo Poderoso, el cual me ha dado la vida, el deseo y la vocación de ayudar a otros. A mis Padres, por darme aliento, enseñarme a ser paciente y a entregar el 100% en mi carrera. A mis Maestros, por ser la guía de luz en mi camino, no solo en conocimientos, sino por enseñarme a ser un mejor ser humano, y a hacer la diferencia en este mundo para tratar a los pacientes con dignidad y respeto. A mis Compañeros, por ser parte de mi vida. A la calidad de Asesor en esta tesis, sin él no hubiera sido posible esta investigación y este logro”.

-Dr. Juan José Menjivar Flores-.

*Hay hombres que luchan un día  
y son buenos.*

*Hay otros que luchan un año  
y son mejores.*

*Hay quienes luchan muchos años  
y son muy buenos.*

*Pero hay los que luchan toda la vida:  
esos son los imprescindibles.*

*-Bertolt Brecht-*

## **AGRADECIMIENTOS.**

---

- Al Dr. Francisco Sansivirini, por ser un excelente asesor, maestro y amigo. Y por brindarnos la guía necesaria para llevar a cabo esta investigación.
  
- Al Lic. Francisco Bosco Cortéz, por su grandiosa colaboración en la fabricación del pegamento biológico.
  
- Al Dr. Alfredo Galán, por su valiosa colaboración con el material quirúrgico utilizado.
  
- Al Dr. Víctor Jorge Saca, Presidente de Laboratorios VIJOSA, por colaborarnos con la donación de medicamentos que fueron necesarios en nuestra investigación.
  
- A los patólogos, Dr. Salvador López Hernández y Dr. Guillermo Martínez, por su valiosa ayuda en el análisis histopatológico.
  
- Al Dr. Víctor Segura Lemus, por su asesoría para el análisis de los resultados.
  
- Al Sr. Jeffrey Fernández, Gerente de ventas QUIRSA, por la donación de las materias primas indispensables para la fabricación del pegamento biológico.

## **ABREVIATURAS.**

---

- AMPc: Monofosfato de adenosina cíclico.
- B: Pegamento Biológico.
- C: Cianoacrilato.
- CBFA1: Factor de fijación de núcleos A1.
- FGF: Factor de crecimiento fibroblástico.
- GM – CSF: Factor Estimulante de las colonias de granulocitos – macrófagos.
- GMPc: Guanosín 3',5'-fosfato (cíclico).
- M: Muestra.
- M – CSF: Factor estimulante de las colonias de macrófagos.
- MO: Médula ósea.
- NO: Óxido nítrico.
- NADPH: Dinucleótido de nicotinamida y adenina.
- P1: Patólogo uno.
- P2: Patólogo dos.
- PDGF: Factor de crecimiento derivado de las plaquetas.
- PHRP: Hormona paratiroidea.
- SON: Óxido nítrico sintetasa.
- T: Tiempo.
- TGF –  $\beta$ : Factor transformador de crecimiento beta.
- TNF: Factor de necrosis tumoral.
- $\bar{X}$ : Media.

## ÍNDICE.

---

<b>INTRODUCCIÓN.</b>	<b>1</b>
<b>MARCO TEÓRICO.</b>	<b>4</b>
Conceptos Generales.	4
Aspectos Históricos.	5
Biología del injerto óseo.	6
Preservación de tejidos.	9
Fisiología.	12
Fisiopatología.	26
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.</b>	<b>40</b>
<b>OBJETIVOS.</b>	<b>42</b>
<b>HIPÓTESIS.</b>	<b>43</b>
<b>METODOLOGÍA.</b>	<b>44</b>
<b>CONSIDERACIONES ÉTICAS.</b>	<b>46</b>
<b>MÉTODOS Y TÉCNICA.</b>	<b>47</b>
<b>EVALUACIÓN PATOLÓGICA.</b>	<b>57</b>
<b>PRESUPUESTO.</b>	<b>60</b>
<b>CALENDARIO DE ACTIVIDADES.</b>	<b>62</b>
<b>RESULTADOS.</b>	<b>63</b>
<b>GRÁFICAS.</b>	<b>76</b>
<b>DISCUSIÓN.</b>	<b>87</b>
<b>CONCLUSIONES.</b>	<b>92</b>
<b>RECOMENDACIONES.</b>	<b>93</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.</b>	<b>94</b>

## **INTRODUCCIÓN.**

---

En el ámbito internacional no existen muchas revisiones acerca del trasplante autólogo de hueso craneal. Nunamaker *et al*,<sup>15</sup> y Movassaghi *et al*,<sup>17</sup> aseveran que la utilización de injerto autólogo fresco de calota craneana es superior a cualquier forma de craneoplastia, refiriéndose a la técnica de conservación del fragmento óseo en tejido celular subcutáneo; por ser éste preservado en un sitio donde es provisto de vascularidad, no es desvitalizado, ya que un hueso fresco que es separado de su aporte sanguíneo muere, a excepción de algunas células de periostio, endostio, médula ósea y osteocitos (0.2 mm de la superficie de hueso cortical). Por otro lado, la adición de un injerto autólogo que conserva el mismo tamaño y curvatura de la calota craneana disminuye la morbilidad de la intervención.

Existen algunos autores como Matsumoto *et al*,<sup>4</sup> y Cervio *et al*,<sup>16</sup> que han utilizado una técnica innovadora; al mezclar una cola de fibrina con polvo óseo y fragmentos óseos respectivamente, para reparar defectos óseos post-craniectomías.

En El Salvador, no hay estudios que demuestren que tipo de técnica de preservación de tejido óseo es mejor, a excepción de 2 estudios, realizados por Sansivirini *et al*,<sup>1, 2</sup> que demuestran que es mucho mejor conservar el injerto autólogo de calota craneana en tejido celular subcutáneo de abdomen y luego reimplantarlo, sobre la conservación en congelación, previa esterilización en autoclave del fragmento de calota.

En el campo neuroquirúrgico aún se desconoce el momento idóneo para realizar una craneoplastia, sobre todo al practicar una craniectomía descompresiva, como lo menciona Villanueva *et al*,<sup>43</sup> y a sabiendas que no se ha definido la técnica óptima para corregir defectos de calota craneana por lo difícil que resulta la reosificación, y la tasa de curación en el menor tiempo posible, es necesario establecer una técnica adecuada, segura y costeable para poder utilizarla en nuestro medio, que le permita a los pacientes, que adolezcan de alguna patología, como por ejemplo resecciones tumorales amplias,<sup>16,48</sup> reconstrucción de defectos óseos por trauma,<sup>48</sup> e infección de heridas severas,<sup>21</sup> en la cual



se necesite de un trasplante óseo, otra opción más asequible, que sea producida en el país y una técnica fácil de utilizar para los neurocirujanos.

En vista de establecer ventajas en la terapéutica neuroquirúrgica, siempre velando por el bienestar del paciente al cual se le ha realizado o se le realizará una craniectomía, se pretende comprobar las ventajas y desventajas entre dos diferentes pegamentos, a fin de verificar con cuál de ellos se logra una mejor reosificación y viabilidad de tejidos en los trasplantes autólogos de huesos craneales, logrando así el inicio de una posible alternativa innovadora en el manejo de la neurocirugía salvadoreña.

Considerando que las técnicas utilizadas en nuestro país son altamente costosas y requieren de bastante tiempo para reosificación y recuperación del paciente, como por ejemplo el uso de material de osteosíntesis, es prioritario el desarrollo de nuevas terapias neuroquirúrgicas efectivas, seguras y costeables.

En ésta investigación se utilizará lo demostrado por Sansivirini F *et al*<sup>1,2</sup> utilizando como almacenaje del trasplante, los propios tejidos del sujeto de experimentación, y luego buscando establecer la ventaja del método de trasplante autólogo de hueso utilizando pegamento biológico, a un grupo de experimentación, versus cianoacrilato con el segundo grupo.

Se realizará la experimentación en conejos machos, bajo los procedimientos quirúrgicos estandarizados internacionalmente, para comparar los resultados al reimplantar los tejidos óseos en los mismos sujetos de experimentación, estudiando la evolución clínica y haciendo el respectivo análisis histopatológico de los tejidos óseos nuevamente implantados, después de esperar el tiempo necesario para la correcta reosificación de éstos.

En el diseño metodológico se han considerado las limitaciones tecnológicas en nuestro medio y las diversas técnicas posibles que se realizan en la neurocirugía referente al trasplante óseo de calota craneana, ya que no existe en el país un protocolo escrito del

empleo de esta técnica, que pueda unificar criterios en los neurocirujanos, referente a este tema.

El objetivo final de este estudio es proveer al sistema de salud de El Salvador, con base experimental, una opción terapéutica costeable y real, dándole a los pacientes que requieran un trasplante de hueso una alternativa de tratamiento efectivo, seguro y accesible.

En cuanto a las limitantes del estudio se centraran en los aspectos económicos de la investigación; el tiempo, por ser un período de hasta 12 semanas, y el tamaño de la muestra de 14 conejos.

## **MARCO TEÓRICO.**

---

### **Conceptos Generales.**

El *injerto autólogo*, es el tejido de una persona que es trasplantado de una porción del cuerpo a otra. <sup>15</sup>

El *isoinjerto* es material que es tomado de un individuo y trasplantado en otro individuo genéticamente idéntico, como en el caso de los gemelos idénticos. En este caso tanto el donador como el receptor deben poseer el mismo genotipo. <sup>15</sup>

El *aloinjerto* (formalmente llamado *homoinjerto*), es tejido que es trasplantado de un individuo a otro de la misma especie. <sup>15</sup>

El *xenoinjerto* (formalmente conocido como *heteroinjerto*) es tejido que es tomado de un individuo y trasplantado a otro de especies diferentes. <sup>15</sup>

El injerto autólogo tiene algunas ventajas respecto al aloinjerto y xenoinjerto. El rechazo inmunológico no ocurre, el donante esta siempre disponible y la preservación prolongada es usualmente innecesaria en el caso del autotrasplante. Por estas razones el autotrasplante fue usado antes de manera más exitosa y más ampliamente por todas las especialidades quirúrgicas que otras formas de trasplante. <sup>5, 15</sup>

Sin embargo debemos también mencionar las desventajas del injerto autólogo, como por ejemplo en el caso de niños con defectos craneanos extensos, en algunas ocasiones su tratamiento se dificulta mucho por la cantidad de hueso disponible para el trasplante. Así mismo el hueso previamente congelado puede sufrir de resorción debido a las técnicas de esterilización que se utilizan (irradiación, autoclave). <sup>21</sup> Es por esto que no en todos los casos se puede emplear el injerto autólogo. <sup>5, 15</sup>

## **Aspectos Históricos.**

Autotrasplantes de hueso en la forma de defectos de trepanación fueron fundados en la Edad del Bronce (~ 2000 a. C.) por diferentes culturas alrededor del mundo. En 1809 Merrem reportó la recuperación de un autotransplante en cráneo de perro; experimentos subsecuentes han demostrado que la masa de hueso implantado de manera convencional no sobrevive a la operación. Todas menos las células más superficiales del injerto mueren de isquemia, causando resorción ósea y reemplazo.<sup>5, 15</sup>

Un número mayor de células sobreviven en el caso de hueso esponjoso, el cual tiene una estructura abierta que facilita la difusión de nutrientes y el crecimiento de osteoblastos y osteoclastos. El aporte local de sangre y las condiciones del receptor son cruciales para el éxito del implante de hueso convencional. Un extenso contacto con el hueso del receptor y una completa inmovilización contribuyen al éxito. Infección, cicatrización e irradiación de los tejidos usualmente son los causantes del fracaso.<sup>5, 15</sup>

Los trasplantes de hueso son usados para la reconstrucción de defectos esqueléticos mayores producidos por trauma, enfermedad o malformaciones congénitas.<sup>3, 12, 17, 21, 23, 26, 28, 33, 44</sup> Los injertos óseos pueden ser corticales o esponjosos, según su naturaleza.<sup>15</sup>

Hueso cortical es usado para suplementar artrodesis, y el hueso esponjoso es usado para llenar cavidades en otros huesos, así como el defecto que se mantiene después del curetaje de un quiste óseo. La reconstrucción de la mandíbula y cara después de cirugía radical para el cáncer o de trauma severo usualmente utiliza combinaciones de hueso y otros implantes de tejido para restablecer la función y forma. El hueso esponjoso es usualmente obtenido a partir de la cresta ilíaca, aunque también se encuentra en la metáfisis de los huesos largos. Implantes de hueso vascularizados, en los cuales el aporte primario de sangre a este, es preservado o inmediatamente reconstituido, evitan la resorción y mantienen el tamaño original y la fuerza estructural.<sup>5, 19</sup>

La gran oportunidad de éxito para un trasplante de hueso viable, es con un autoinjerto de hueso esponjoso o un autoinjerto de hueso cortical. Cualquiera de los dos deberá ser reconocido como del mismo receptor.<sup>15</sup>

### **Biología del injerto óseo.**

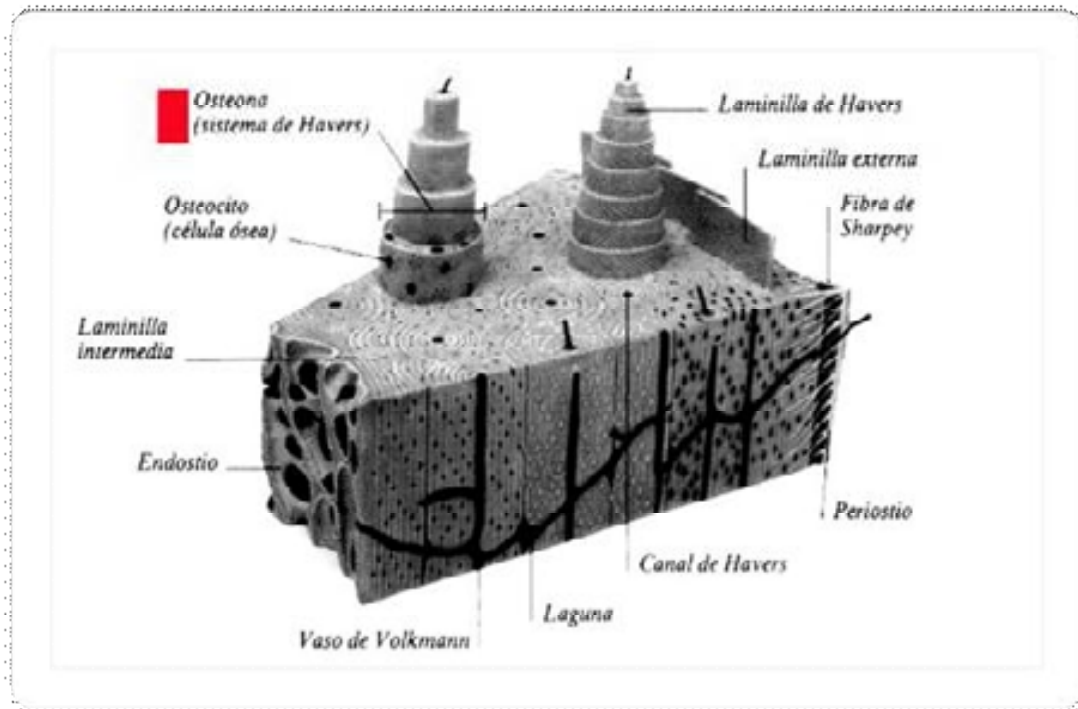
La actividad biológica del injerto es la suma de su actividad biológica inherente (células vivas y sus productos), de su capacidad para estimular la actividad biológica de los tejidos circundantes (mediante factores bioactivos presentes en la matriz) y su capacidad para apoyar el crecimiento del tejido del receptor.<sup>44</sup>

El hueso como tejido tiene una serie de propiedades que le hacen insustituible para una correcta cicatrización e incorporación del implante. Estas propiedades incluyen la osteogénesis, la reabsorción osteoclástica, la osteoinducción y la osteoconducción. La osteogénesis se refiere a la habilidad del hueso de regenerarse a sí mismo mediante la producción de nuevo hueso, función debida a los osteoblastos. La reabsorción osteoclástica es la capacidad de eliminar mineral óseo y está mediada por los osteoclastos.<sup>44</sup>

La osteoinducción es el reclutamiento de células mesenquimales del entorno, que se diferencian hacia células formadoras de hueso y de cartílago.<sup>15,44</sup>

Además este proceso representa una interacción celular en la cual las células mesenquimales no diferenciadas pueden diferenciarse en hueso. Esta producción de hueso requiere un medio ambiente que permite la formación de hueso, así como sustancias osteoestimulantes.<sup>15,44</sup>

La sustitución progresiva (el proceso de remodelado óseo por la resorción osteoclástica y la creación de nuevos canales vasculares con la formación de osteoblastos, lo cual da como resultado la formación de sistemas Haversianos), es el método por el cual un fuerte hueso cortical es formado a partir del material trasplantado.<sup>15</sup>



**Figura 1. Sistema de Havers.**

La osteoconducción, por último, hace referencia a la capacidad del injerto óseo de servir como molde o estructura para la incorporación de capilares, tejido perivascular y células osteoprogenitoras del receptor. Este molde es crítico para la remodelación del hueso y permite una sustitución gradual del injerto mediante la formación de hueso nuevo y la reabsorción del hueso del injerto.<sup>15,44</sup>

El injerto autólogo de hueso posee las cuatro propiedades descritas, mientras que los aloinjertos óseos procesados poseen capacidad osteoconductora y/o osteoinductora según la presentación, lo que ayuda a entender por qué los injertos autólogos cicatrizan y se incorporan más rápido que los aloinjertos óseos, ya que estos son rechazados por el sistema inmunitario del receptor y en general la revascularización es más lenta y la formación de hueso es menos extensa.<sup>15,44</sup>

La secuencia de los hechos biológicos que se suceden en la incorporación de los injertos óseos ha sido descrita por varios autores. Tras el implante quirúrgico hay una secuencia de hechos que se suceden en el sitio del implante: hemorragia, inflamación, revascularización

del tejido y sustitución y remodelación del injerto a partir de tejido generado *in situ*. El primer hecho en la incorporación de un injerto es la formación de un hematoma. El hematoma es particularmente rico en factores de crecimiento derivados de plaquetas así como otros factores de crecimiento y citocinas.<sup>6, 7, 44, 62</sup>

Durante este proceso, células mesenquimales de tipo fibroblastoide son atraídas al foco inflamatorio y entran en estrecho contacto con la matriz implantada. Sobre la base de esta interacción, a partir del quinto día, se produce una diferenciación de las células mesenquimales hacia condrocitos. Los condrocitos producen matriz cartilaginosa que a su vez es mineralizada. En pocos días, el injerto es recubierto por un estroma fibrovascular. Este tejido conectivo proporciona vasos sanguíneos derivados del receptor así como precursores osteogénicos. A medida que el injerto se va revascularizando, empieza el proceso de remodelación, que se caracteriza por una fase de activación, seguida de reabsorción y de nuevo formación ósea.<sup>6, 7, 44</sup>

El tipo más común de injerto óseo son los chips de esponjosa, generalmente cubos o pequeños fragmentos de hueso esponjoso, siendo su utilización más habitual el relleno de defectos óseos. Los chips de esponjosa se incorporan significativamente más rápido y más completamente que los segmentos de cortical ya que se revascularizan mejor. Los chips actúan como un sustrato sobre el cual el receptor crea nuevo hueso a la vez que el injerto es reabsorbido por el receptor.<sup>44</sup>

En neurocirugía el injerto autólogo de hueso es una técnica muy utilizada, sobre todo cuando se realizan craneotomías (resección de una parte de la bóveda craneana, con intención de tratar lesiones del cerebro y sus estructuras circundantes a través de dicha abertura, con posterior recolocación y fijación del fragmento óseo), o craniectomías descompresivas (resección de parte de la bóveda craneana con el objetivo de dar más espacio al cerebro y así aliviar la hipertensión endocraneana producida por diversas patologías como accidente vascular cerebral isquémico, trauma, tumores, hemorragia subaracnoidea, etc.). Su utilidad es muy importante ya que la obtención de dicho hueso es del mismo individuo, y de esta forma se evitan el rechazo tejido-huésped; es necesario que el hueso que se vaya a injertar sea estéril para evitar el riesgo de infección. En la actualidad

una de las técnicas que posee gran auge para esterilizar hueso en los bancos de tejido, es la irradiación.<sup>8, 9, 12, 17 18, 28, 33, 43</sup>

Cuando existen fracturas deprimidas del cráneo, deberá realizarse una craniectomía, para evitar futuras complicaciones, como por ej.: epilepsia postraumática, infecciones si hay, desgarro dural, etc. Posteriormente se realizará la reconstrucción del defecto óseo, el cual se llevará a cabo con cemento acrílico, cuando la evolución del paciente permita descartar cualquier riesgo de infección en la zona quirúrgica. Los cementos acrílicos tienen muchas ventajas por ser accesibles, fáciles de moldear y disponibles para reparar defectos óseos de gran tamaño, sin embargo el material acrílico es un cuerpo extraño y puede potenciar el riesgo de infección.<sup>8, 28</sup>

### **Preservación de tejidos.**

Los métodos más comunes de procesamiento son la congelación, la desmineralización-liofilización, la deshidratación con gamma-irradiación y la esterilización por calor. Estas técnicas disminuyen o eliminan la inmunogenicidad de los injertos óseos pero también disminuyen su actividad biológica al eliminar todas las células vivas del injerto. Además la coagulación de las proteínas dentro de los sistemas de Havers lleva a desnaturalización y no reconocimiento de estas, con subsecuente rechazo.<sup>15, 44</sup>

Otras técnicas utilizadas son la esterilización en autoclave a 121°C por 55 minutos y preservación en congelación a 0°C, y la esterilización con óxido de etileno a 55°C, 180 mBAR, durante 5 horas y luego preservación en congelación a 0°C por 7 días. El problema de esta técnica es que ha sido demostrado que es difícil mantener la viabilidad del tejido, ya que al introducirlo al autoclave recibe un trauma térmico que produce degeneración basófila de las células óseas y debilitación del hueso que facilita que este se fracture.<sup>1, 2, 10, 12, 18, 20, 24, 25</sup>

Existen dos métodos básicos para la preservación de órganos y tejidos, el almacenamiento simple por congelación y la perfusión continua. La mayoría de tejidos son preservados por



almacenamiento simple por congelación.<sup>12, 19, 23</sup> En cuanto a la perfusión continua es utilizada en algunos centros médicos de trasplante. El éxito de estos métodos de preservación es debido a dos principios: El primer principio es la *hipotermia*, el cual es una llave para la preservación de tejidos, aunque la temperatura ideal aún no es conocida, es comúnmente aceptado de 0° a 4°C, lo cual es apropiado para la mayoría de éstos. El segundo principio es el *uso de un adecuado preservante* (ya sea almacenamiento simple por congelación o perfusión continua). La adecuada preservación es aquella que satisface estos dos criterios.<sup>5</sup>

Así mismo existen métodos básicos para trasplante óseo; de los cuales podemos mencionar: Preservación en congelación, preservación en congelación con previa esterilización por autoclave,<sup>23, 31, 32</sup> preservación en congelación con previa esterilización por irradiación,<sup>23, 31, 32</sup> preservación en congelación con previa esterilización con oxido de etileno,<sup>23, 31, 32</sup> y la preservación *in vivo*.<sup>1, 2, 17</sup>

Primero, debe crear un ambiente físico que mantiene la viabilidad y la interrelación entre los componentes estructurales del tejido; los componentes y la solución deben contrarrestar que las células se edematicen por el frío, proveer un pH óptimo, proveer una concentración apropiada de electrolitos y agentes osmóticamente activos, y bien distribuidos a través del tejido. Segundo, la preservación ideal debe de mantener un apropiado ambiente bioquímico para el tejido. Este ambiente es creado por agentes que se agregan al preservante que va a suprimir reacciones no deseadas (uso de inhibidores metabólicos), suprimiendo la catálisis de metabolitos críticamente importantes, proveyendo substratos, y sustancias que aumentan la recuperación de la reperusión del tejido. Y finalmente, otro factor importante en la preservación del tejido es el daño causado por isquemia o por la reperusión misma. Sabemos que en la reperusión se inicia una cascada de eventos que llevan a la falla del tejido; uno de los eventos que podemos mencionar es la formación de radicales libres de oxígeno y la destrucción del tejido, inducción de agentes vasoconstrictores que conllevan a un pobre flujo hacia los órganos causando daño hipóxico o anóxico a los tejidos, así como también la activación de macrófagos circulantes y respuestas inflamatorias que destruyen el

tejido o causan una depresión metabólica del tejido, lo que conlleva a un edema de la célula y una pobre reperusión del tejido dañado.<sup>5</sup>

Es importante hacer mención que no existe nada peor que tener un injerto contaminado; la selección del donador debe de ser muy cuidadosa y necesaria para asegurar la esterilidad del tejido y prevenir la transmisión de enfermedades; así mismo es fundamental realizar toma de cultivos de todos los especímenes al momento de la colección y además realizar otra toma de cultivos al momento de la reimplantación, para así asegurarse el control de calidad.<sup>15</sup>

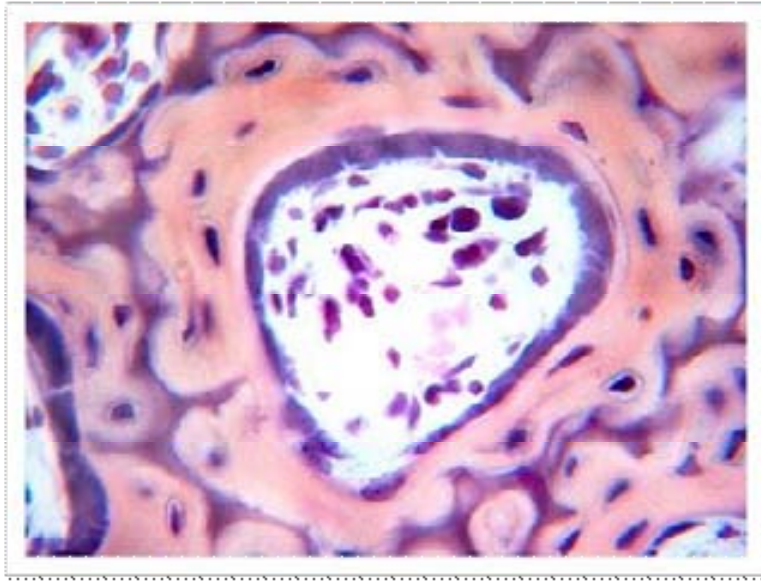
Segur *et al*,<sup>14</sup> hace énfasis que el equipo que manipule el tejido a ser trasplantado sea como máximo de 3 personas, para disminuir la frecuencia de contaminación bacteriana de los trasplantes óseos.<sup>14</sup>

En estudios pasados Sansivirini F. *et al*,<sup>1,2</sup> y Movassaghi K. *et al*,<sup>17</sup> demuestran las ventajas de la conservación *in vivo*, siguiendo el 2º principio de preservación de tejidos. Al guardar un fragmento de calota craneana de conejo en el tejido celular subcutáneo del abdomen, y un fragmento de calota craneana de humano en la pared abdominal respectivamente, cumpliendo de esta manera todos los requisitos antes mencionados y brindándole al tejido un mayor soporte vital al estar preservado en su mismo ambiente fisiológico.<sup>5</sup>

A su vez existen investigadores que en su afán de proveer un mejor ambiente al hueso al momento de reparar defectos de calota craneana, han tratado de incursionar en el campo de la neurocirugía administrando sustancias construidas a partir de biomateriales (fibrina, trombina, inhibidores de calicreinas, etc.), para promover una mejor reosificación al momento de hacer un reinjerto o reparar algún defecto craneal.<sup>1, 3, 16</sup>

## **Fisiología.**

El hueso es un tipo de tejido conjuntivo. Su peculiaridad estriba en que es uno de los pocos tejidos que se mineralizan en condiciones normales. Bioquímicamente, se caracteriza por una mezcla especial de matriz orgánica (35%) y de elementos inorgánicos (65%). La porción inorgánica, o hidroxapatita cálcica,  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ , es el mineral que otorga resistencia y dureza al hueso y donde se aloja el 99% del calcio, el 85% del fósforo y el 65% del sodio y el magnesio del cuerpo. La formación de cristales de hidroxapatita en el hueso consiste en un paso de líquido a sólido. El proceso implica la iniciación e inducción de la mineralización por acción de la matriz orgánica y está estrictamente regulado por numerosos factores, muchos de los cuales todavía se desconocen. La tasa de mineralización es variable, pero normalmente hay un intervalo de 12 a 15 días entre la formación de la matriz y su mineralización. El hueso no mineralizado se llama osteoide.<sup>7</sup>



**Figura 2. Osteoide.**

Los componentes orgánicos son las células óseas y las proteínas de la matriz. Las células formadoras de hueso son las células osteoprogenitoras, los osteoblastos y los osteocitos. La génesis y estimulación de estas células están reguladas por citocinas y factores de crecimiento, como el factor de crecimiento (FGF), el factor de crecimiento derivado de las

plaquetas (PDGF); el factor de crecimiento afín a la insulina, y el factor transformador de crecimiento  $\beta$  (TGF-  $\beta$ ): <sup>7</sup>

Las células osteoprogenitoras son células madre (precursoras) mesenquimatosas pluripotenciales situadas cerca de todas las superficies óseas; bajo la acción de estímulos adecuados son capaces de dividirse y formar una descendencia que al diferenciarse da lugar a los osteoblastos. Se sabe que el factor de transcripción CBFA1 es esencial y específico para la diferenciación osteoblástica y que estimula la expresión del gen específico de los osteoblastos. La formación de los osteoblastos a partir de las células osteoprogenitoras es esencial para el crecimiento, la remodelación y la reparación óseas. <sup>7</sup>

Los osteoblastos se encuentran en la superficie del hueso, y sintetizan, transportan y organizan muchas proteínas de la matriz que se comentarán más adelante. También ponen en marcha el proceso de la mineralización. Poseen receptores en su superficie, con los que captan muchas hormonas (hormona paratiroidea, vitamina D y estrógenos) citocinas y factores de crecimiento, y proteínas de la matriz extracelular. En cuanto los osteoblastos quedan rodeados de matriz, se les conoce como osteocitos. <sup>7</sup>

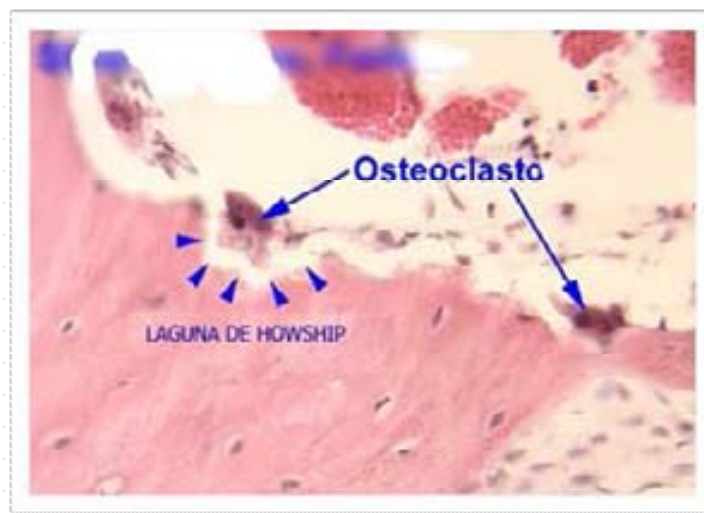


**Figura 3. Osteocito.**



Los osteocitos son las células osteoformadoras más numerosas del hueso; están empotrados en la masa ósea, pero se comunican entre sí y con las células de la superficie ósea a través de una intrincada red de túneles labrados en la matriz conocidos como canalículos. Las prolongaciones de los osteocitos atraviesan esos canalículos, y sus contactos mediante uniones de hendidura les permiten trasladar los sustratos y los potenciales de la membrana celular. Sus abundantes prolongaciones y su distribución por todo el tejido óseo convierten al osteocito en la célula principal de algunos procesos biológicos. Los osteocitos son capaces de detectar las fuerzas mecánicas y de incorporarlas a la actividad biológica, incluida la liberación de mediadores químicos por las vías de transmisión de señales con la intervención del monofosfato de adenosina cíclico (AMPC).<sup>7</sup>

El osteoclasto es la célula encargada de la reabsorción ósea y procede de las células progenitoras hematopoyéticas que producen también los monocitos y los macrófagos. Para que los osteoclastos se diferencien y maduren son esenciales algunas citocinas, como las interleucinas (IL)-1, IL-3, IL-6, IL-11, el factor de necrosis tumoral (TNF), el factor estimulante de las colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) y el factor estimulante de las colonias de macrófagos (M-CSF). El osteoclasto maduro multinucleado (con 6 a 12 núcleos) se forma por fusión de unos precursores mononucleares circulantes y está íntimamente unido a la superficie del hueso. Cuando los osteoclastos comienzan a funcionar, se unen a las proteínas de adhesión de la matriz, y labran en el hueso las lagunas de resorción de forma festoneada, donde a menudo residen, que se llaman lagunas de Howship.<sup>7</sup>



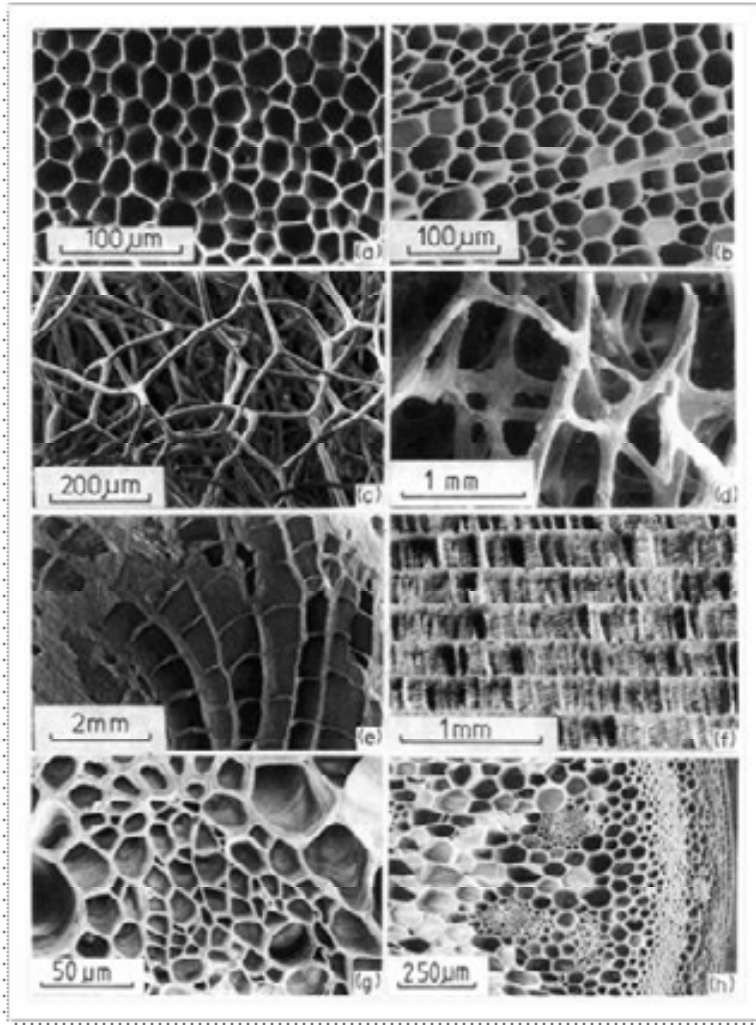
#### **Figura 4. Laguna de Howship formada por osteoclasto.**

La parte de la membrana del osteoclasto situada sobre la superficie de resorción contiene numerosas expansiones vellosas, conocidas como borde rizado, que sirve para aumentar la superficie de la membrana. El plasmalema que bordea esta región está especializado y cierra herméticamente el hueso para impedir que se escapen los productos de la digestión ósea. Este espacio extracelular autónomo es análogo a un lisosoma secundario, y el osteoclasto lo acidifica mediante una bomba de hidrógeno que solubiliza el mineral. El osteoclasto vierte también en este espacio muchas enzimas que sirven para descomponer las proteínas de la matriz en aminoácidos y para liberar y activar factores de crecimiento y enzimas (como la colagenasa) que los osteoblastos ya habían depositado anteriormente y que estaban unidas a la matriz.<sup>7</sup>

Así pues, cuando el hueso se descompone en sus unidades elementales, se libran sustancias que inician su renovación.<sup>7</sup>

Las proteínas del hueso son: el colágeno de tipo 1 y un grupo de proteínas no colágenas que proceden principalmente de los osteoblastos. El colágeno de tipo 1 forma la sustancia fundamental de la matriz y constituye el 90% de la porción orgánica del hueso. Los osteoblastos depositan el colágeno entretejido al azar, y conocido como hueso reticular (no laminar), o bien de una manera ordenada en capas, en el llamado hueso laminar. Normalmente, el hueso reticular se encuentra en el esqueleto fetal y se forma en las placas de crecimiento. Tiene como ventajas que se produce rápidamente, y que resiste por igual las fuerzas que se ejercen en cualquier dirección. En cambio, la presencia de hueso reticular en el adulto indica siempre la existencia de un proceso patológico, si bien no permite el diagnóstico de ninguna enfermedad concreta. Por ejemplo, cuando es necesario lograr una reparación estable y rápida como en el caso de una fractura, se forma hueso reticular, y esto mismo ocurre alrededor de los focos de infección y en la matriz de los tumores formadores de hueso. El hueso laminar, que sustituye gradualmente a hueso reticular durante el crecimiento, se deposita mucho más lentamente, y es más resistente que el hueso reticular. Existen cuatro clases de hueso laminar. Tres están solo en la cortical: circunferencial, concéntrico e intersticial. La cuarta clase, las laminas trabeculares, forman las trabéculas óseas, donde las laminas están orientadas paralelamente al eje mayor de la trabécula.<sup>7</sup>

Las proteínas no colágenas del hueso están unidas a la matriz y se dividen, según su función, en proteínas de adherencia, proteínas de captación del calcio, proteínas de mineralización, enzimas, citocinas y factores de crecimiento. De estas, solo la osteocalcina es exclusiva del hueso. Se puede medir en el suero y se utiliza como un marcador sensible y específico de la actividad osteoblástica. Las citocinas y los factores de crecimiento regulan la proliferación, maduración y metabolismo de las células óseas. Funcionalmente, son importantes porque sirven para trasladar las señales mecánicas y metabólicas a la actividad local de las células óseas y adaptarlas finalmente al esqueleto.<sup>7</sup>



**Figura 5. Estructura Ósea.** La sustancia ósea compacta predomina en el esqueleto apendicular y es adecuado para resistir la flexión, la torsión y el cizallamiento. La sustancia esponjosa se halla constituida por un entramado de tabiques que se orientan de forma paralela a las líneas de fuerza. Predomina en el esqueleto axial y es adecuado para resistir las fuerzas de compresión y tensión que se generan en esta región y para distribuir las fuerzas tal y como lo demuestra esta figura en la cual se ve el entramado en diferentes tamaños.



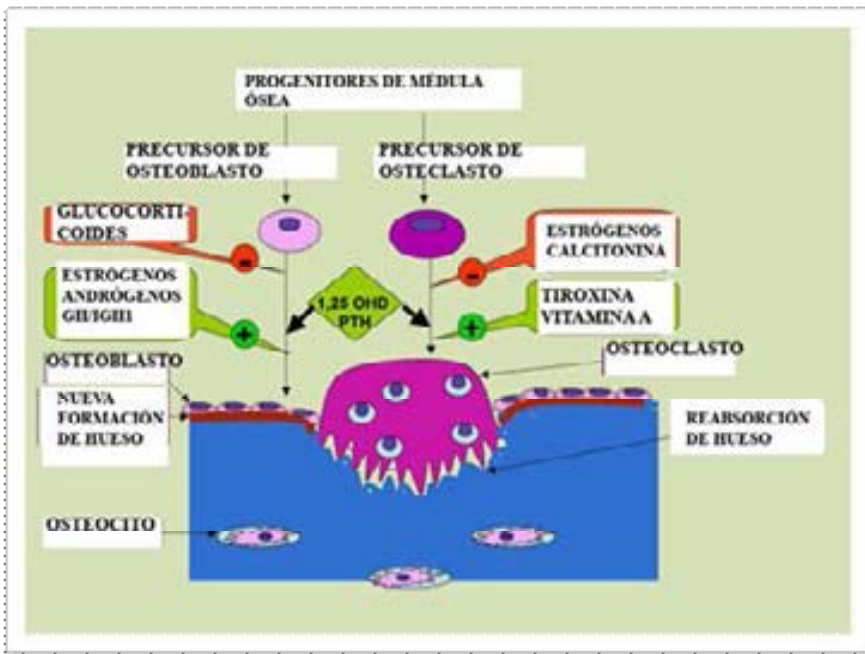
La fase inicial de la formación de hueso es la secreción de moléculas de colágeno (monómeros de colágeno) y sustancia fundamental (principalmente proteoglucanos) por los osteoblastos. Los monómeros de colágeno se polimerizan rápidamente para formar fibras de colágeno; el tejido resultante se convierte en osteoide, un material parecido al cartílago pero que difiere de este en que fácilmente precipitan en él sales de calcio. A medida que se forma el osteoide algunos de los osteoblastos quedan atrapados en el osteoide y entran en fase de reposo; entonces se denominan osteocitos. <sup>6</sup>

En pocos días tras la formación del osteoide, comienzan a precipitar sales de calcio sobre las superficies de las fibras colágenas. El precipitado aparece primero con intervalos a lo largo de cada fibra de colágeno, formando diminutos nidos que rápidamente se multiplican y crecen durante días o semanas para formar el producto final, los cristales de hidroxiapatita. <sup>6</sup>

Las sales de calcio que se depositan primero no son cristales de hidroxiapatita, sino compuestos amorfos (no cristalinos), constituidos por una mezcla de sales como  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , y otros. Después, por un proceso de sustitución y adición de átomos, o reabsorción y nueva precipitación, estas sales se convierten en cristales de hidroxiapatita en un período de semanas o meses. Sin embargo, un pequeño porcentaje puede continuar permanentemente en forma amorfa. Esto es importante, porque estas sales amorfas pueden reabsorberse rápidamente cuando existe una necesidad adicional de calcio en el líquido extracelular. <sup>6</sup>

No se sabe lo que hace que se precipiten en el osteoide sales de calcio. Una teoría sostiene que, en el momento de su formación, las fibras de colágeno están especialmente preparadas *a priori* para causar la precipitación de sales de calcio. Se supone también que los osteoblastos secretan una sustancia en el osteoide para neutralizar a un inhibidor (que se cree que es el pirofosfato) que normalmente impide la cristalización de la hidroxiapatita. Una vez neutralizado el pirofosfato, la afinidad natural de las fibras de colágeno por las sales de calcio determinaría la precipitación. <sup>6</sup>

El hueso está siendo continuamente depositado por los osteoblastos, y está siendo continuamente absorbido en la zona donde están activos los osteoclastos. Los osteoblastos se encuentran en las superficies externas de los huesos y en las cavidades óseas. En todos los huesos vivos existe un pequeño grado de actividad osteoblástica (aproximadamente, el 4% de todas las superficies en cualquier momento, en el adulto), de forma que por lo menos algo de hueso nuevo se está formando continuamente.<sup>6</sup>



**Figura 6. Metabolismo óseo.** Los osteoblastos se derivan de células madre mesenquimales, y los osteoclastos son el resultado de la diferenciación de sus precursores a partir de progenitores de médula ósea y su posterior evolución hasta osteoclastos maduros multinucleados.<sup>60</sup>

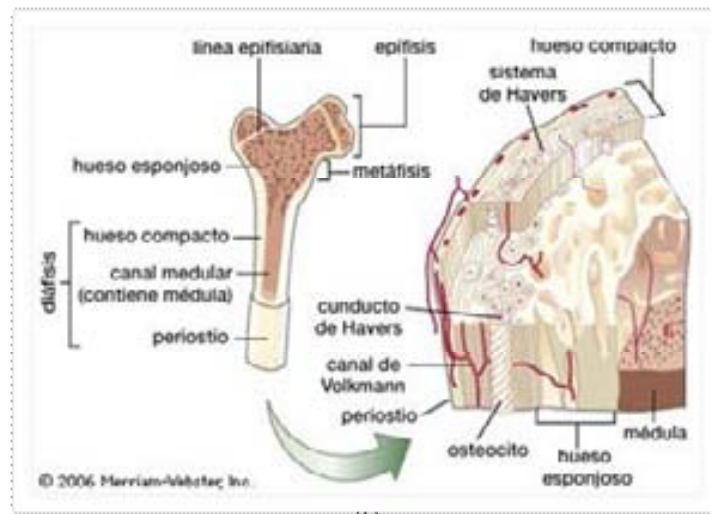
El hueso también está siendo continuamente absorbido por los osteoclastos, que son células fagocitarias, grandes, multinucleadas (con hasta 50 núcleos), derivadas de monocitos o células análogas de monocitos que se forman en la médula ósea. Los osteoclastos normalmente están activos en menos del 1% de las superficies óseas del adulto. Histológicamente la absorción de hueso se produce en la inmediata vecindad de los osteoclastos.<sup>6</sup>

Se cree que el mecanismo de ésta absorción es el siguiente: los osteoclastos emiten proyecciones análogas a vellosidades hacia el hueso, formando lo que se conoce como un borde fruncido contiguo al hueso. Las vellosidades secretan dos tipos de sustancias:

1. Enzimas proteolíticas, liberadas por los lisosomas de los osteoclastos.
2. Acido cítrico y láctico, liberados de las mitocondrias y vesículas secretoras.

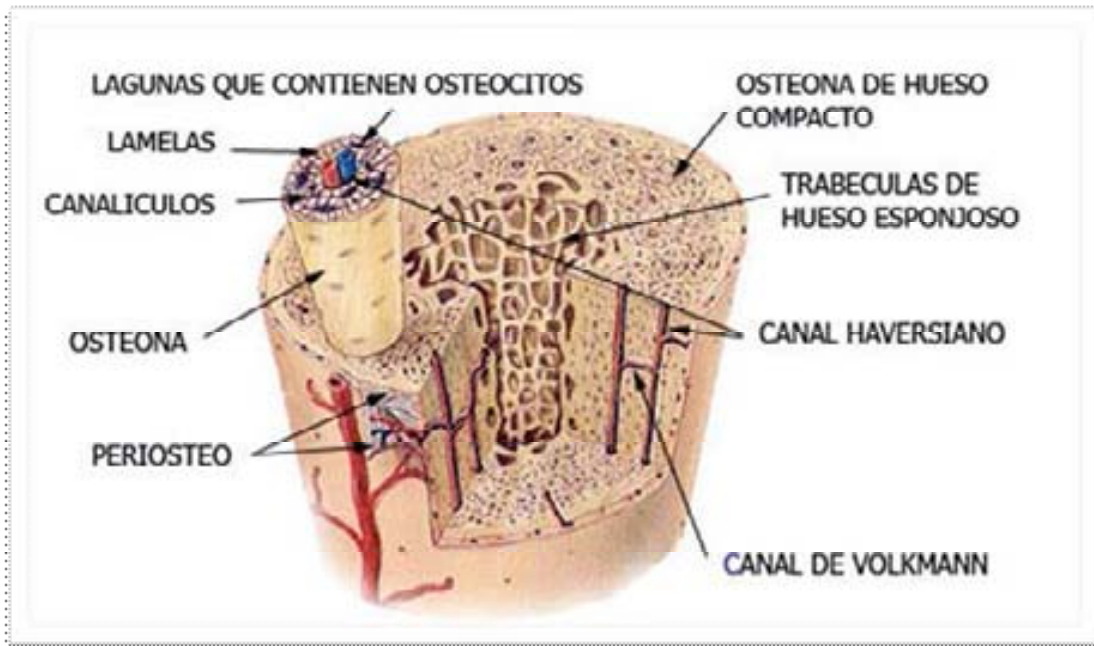
Las enzimas digieren o disuelven la matriz orgánica del hueso, y los ácidos disuelven las sales óseas. Las células osteocásticas también ingieren por fagocitosis diminutas partículas de matriz ósea y de cristales, terminando también por disolverlas y liberando los productos hacia la sangre. <sup>6</sup>

Normalmente, excepto en los huesos en crecimiento, las tasas de depósito y de reabsorción de hueso son iguales entre sí, de forma que la masa ósea total permanece constante. Los osteoclastos habitualmente se encuentran en forma de masas pequeñas pero concentradas, y una vez que comienza a desarrollarse una masa de osteoclastos suele fagocitar hueso durante unas 3 semanas excavando un túnel de entre 0.2 a 1 mm de diámetro y varios milímetros de longitud. Al cabo de este tiempo los osteoclastos desaparecen y en lugar de ellos el túnel es invadido por osteoblastos; entonces comienza a desarrollarse hueso nuevo. El depósito de hueso continúa durante varios meses, y el hueso nuevo se va depositando en sucesivas capas concéntricas (laminillas) en las superficies internas de la cavidad hasta que se llena el túnel. El depósito de hueso nuevo cesa cuando el hueso comienza a invadir los vasos sanguíneos que riegan el área (tal y como se observa en la figura 7). <sup>6</sup>



**Figura 7. Irrigación ósea.**

El canal a través del cual discurren estos vasos, denominado conducto de Havers, es por tanto lo único que queda de la cavidad original. Cada nueva área de hueso depositada de esta manera se denomina osteona.<sup>6</sup>



**Figura 8. Hueso compacto y esponjoso.**

La formación y modelación del hueso se lleva a cabo gracias a la activación de los osteoblastos y osteoclastos, y es el equilibrio entre estos dos permite que la masa total de hueso permanezca constante. Para el proceso de reosificación primero los osteoclastos digieren lentamente el hueso, hasta dejar una cavidad, luego los osteoblastos se activan, la cavidad es ocupada por ellos y se comienza a formar hueso nuevo. También casi de inmediato se forman nuevos osteoblastos a partir de células osteoprogenitoras, lo que permite que se desarrolle una masa voluminosa de tejido osteoblástico y matriz ósea nueva, seguida poco después por el depósito de sales de calcio. A este proceso, en condiciones patológicas (ej. en una fractura), o al realizar un trasplante de hueso, se le denomina callo óseo.<sup>6</sup>

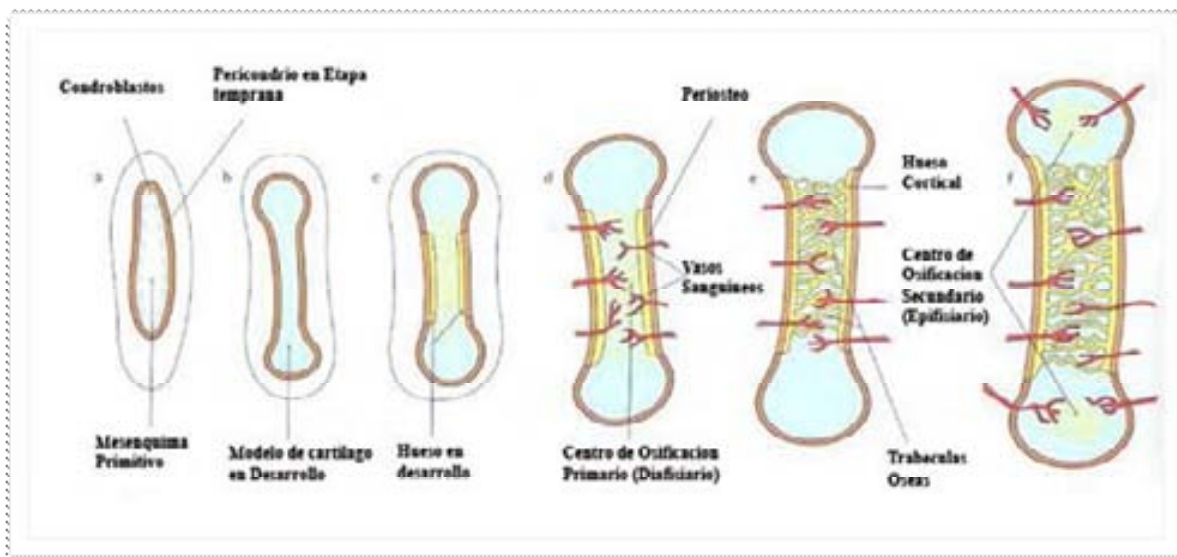
Los osteoblastos y los osteoclastos actúan coordinadamente y se consideran como la unidad funcional del hueso llamada *unidad multicelular básica*. Los procesos de formación y resorción del hueso están íntimamente acoplados, y del equilibrio entre ambos depende el volumen que alcanza la masa esquelética en todo momento. Cuando el esqueleto se desarrolla y aumenta de tamaño (modelación), predomina la formación de hueso. Cuando el esqueleto alcanza su madurez, la degradación y renovación óseas que permiten el mantenimiento del esqueleto se llama *remodelación*.<sup>7</sup>

La masa ósea máxima depende de varios factores, como el tipo de receptores de la vitamina D que se han heredado, el estado de nutrición, el grado de actividad física, la edad y el estado hormonal. La masa ósea máxima se alcanza al comienzo de la edad adulta y, en ese momento, cada año se recambia o remodela un 5 al 10% aproximadamente del esqueleto, y la cantidad de hueso formado y reabsorbido por las unidades multicelulares básicas se mantiene en equilibrio. Sin embargo, al comenzar el cuarto decenio de la vida, la cantidad de hueso que se reabsorbe supera al que se forma y comienza una disminución constante de la masa esquelética.<sup>7</sup>

Durante la formación y mantenimiento del sistema esquelético, los osteoblastos tienen a su cargo gran parte de la regulación local, ya que estos elementos no solo producen matriz ósea, sino que desempeñan también un papel importante mediando la actividad de los osteoclastos. Gran parte de los factores estimulantes primarios de la resorción ósea, como la hormona paratiroidea (PHRP), la IL-1 y el TNF, ejercen efectos mínimos o nulos sobre los osteoclastos. El osteoblasto posee receptores para esas sustancias, y hay pruebas que sugieren que, tras recibir una señal adecuada, el osteoblasto libera un mediador soluble que induce la resorción ósea osteoclástica. Las citocinas y los factores de crecimiento, especialmente el TGF- $\beta$ , que la matriz libera cuando es digerida, actúan como un circuito de retroalimentación y hacen que los osteoblastos sinteticen y depositen una cantidad equivalente de hueso nuevo en las lagunas de resorción. De esta forma, la formación y resorción óseas están relacionadas en el tiempo y en el espacio, y pueden ser reguladas por factores locales y generales.<sup>7</sup>

El modelo y la disposición estructural del esqueleto están regulados por genes de <<homeodominio>>. Su expresión induce la formación de condensaciones celulares localizadas de mesénquima primitivo en el sitio de los futuros huesos, y estos son los esbozos más tempranos del esqueleto. Durante la osificación endocondral, el mesénquima se diferencia primero en un tejido o esbozo cartilaginoso del futuro hueso. Seguidamente, hacia la octava semana de gestación, el cartílago del centro del esbozo se degrada, se mineraliza, y es eliminado por células del tipo de los osteoclastos.<sup>7</sup>

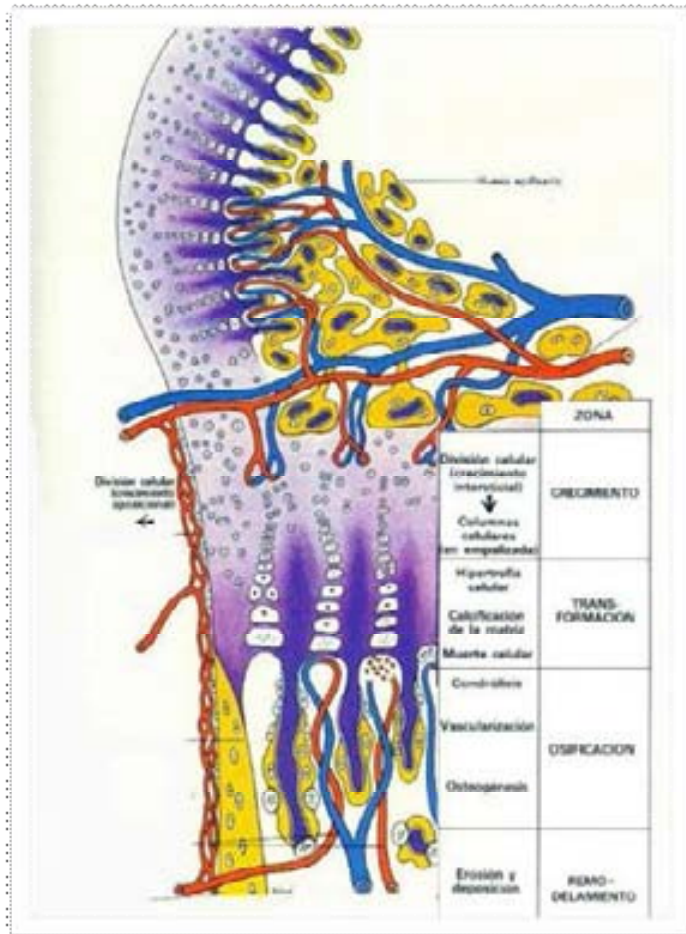
Este proceso, que avanza a lo largo del hueso, favorece la penetración de los vasos sanguíneos y de las células osteoprogenitoras, que a su vez, generan las células formadoras de hueso. Al mismo tiempo, el periostio diafisario del esbozo produce osteoblastos que depositan los inicios de la cortical ósea, región que se conoce como centro de osificación primaria. En la epífisis, se produce una serie de fenómenos similares que provocan la desaparición del cartílago (centro de osificación secundaria), de modo que una placa del modelo cartilaginoso queda atrapada entre los centros de osificación que están expandiéndose, y esta estructura se denomina fisis o placa de crecimiento. Los condrocitos alojados en su interior sufren una serie de fenómenos de proliferación, aumento de tamaño, maduración y necrosis y, finalmente, la matriz se mineraliza (tal y como lo demuestra la figura 9). Por último se ha visto que la PHRP tiene importancia para regular esta serie de fenómenos.<sup>7</sup>



**Figura 9. Osificación endocondral.**

La mineralización del cartílago es una señal para su resorción, y los puntuales restantes sirven de armazón para el depósito de hueso en su superficie. Estas estructuras forman la esponjosa ósea primaria. También se producen osificación endocondral en la base del cartílago articular y, gracias a estos mecanismos, los huesos crecen en longitud y las superficies articulares aumentan de diámetro. En cambio, los huesos aparecen por formación intramembranosa, como el cráneo y parte de las clavículas, se forman directamente por acción de los osteoblastos a partir de una capa de tejido fibroso derivada del mesénquima.<sup>7</sup>

El tejido óseo lo forman solo los osteoblastos. Cualquier aumento de tamaño posterior se obtiene por depósito de hueso nuevo sobre la superficie preexistente. Este mecanismo de crecimiento por aposición es esencial para comprender los aspectos que ofrecen el crecimiento y la modelación óseos.<sup>7</sup>



**Figura 10. Fases del recambio óseo.**

En el adulto, cerca de un 5 a 10% del tejido óseo es renovado anualmente. Esta cifra es superior en el joven e inferior en el anciano. El remodelado óseo se lleva a cabo mediante la acción sucesiva (acoplamiento) de osteoclastos y osteoblastos sobre una misma superficie ósea. Cada ciclo de remodelado consta de



tres fases: reabsorción, reposo o inversión y formación.<sup>59</sup>

### **Fisiopatología.**

El hueso goza de una capacidad singular para repararse así mismo reactivando el proceso que normalmente tiene lugar en la embriogénesis este proceso es una cascada exquisitamente regulada por la que pueden distinguirse fases de carácter histológico, bioquímico y biomecánico que se superponen. La finalización de cada etapa pone en marcha la siguiente y esta se consigue gracias a unas series de interacciones y comunicaciones entre los diversos elementos constituyentes, celulares y acelulares, de la zona que se está curando.<sup>7, 62</sup>

Inmediatamente después de una fractura la ruptura de los vasos sanguíneos produce un hematoma que ocupa la línea de fractura y rodea el área ósea lesionada. Este proporciona también una malla de fibrina, que ayuda a cerrar el foco de fractura y al mismo tiempo permite la llegada de células inflamatorias y el crecimiento de fibroblastos y nuevos capilares (tal y como lo demuestra la figura 11). Simultáneamente, la desgranulación de las plaquetas y las células inflamatorias que emigran al foco liberan factor crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor transformador del crecimiento  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), factor de crecimiento fibroblástico (FGF) e interleucinas (IL), que activan a las células osteoprogenitoras del periostio, la cavidad medular y los tejidos blandos circundantes y estimulan la actividad osteoblástica y osteoclasticas. De esa manera, hacia el final de la primera semana, el hematoma se está organizando, los tejidos vecinos se han propagado para producir la futura matriz y los extremos del hueso fracturado se están remodelando. Este tejido fusiforme todavía sin calcificar, llamado procallo o callo de tejido blando, sirve en parte para que los extremos óseos queden fijos aunque el hueso no posea todavía la rigidez estructural suficiente para soportar pesos.<sup>7, 62</sup>

A continuación, las células osteoprogenitoras activadas forman trabéculas subperiosticas de hueso no laminar dispuestas perpendicularmente al eje cortical y dentro de la cavidad medular. Las células mesenquimatosas activadas de los tejidos blandos que rodean al foco de fractura también pueden diferenciarse en condroblastos capaces de formar cartílago

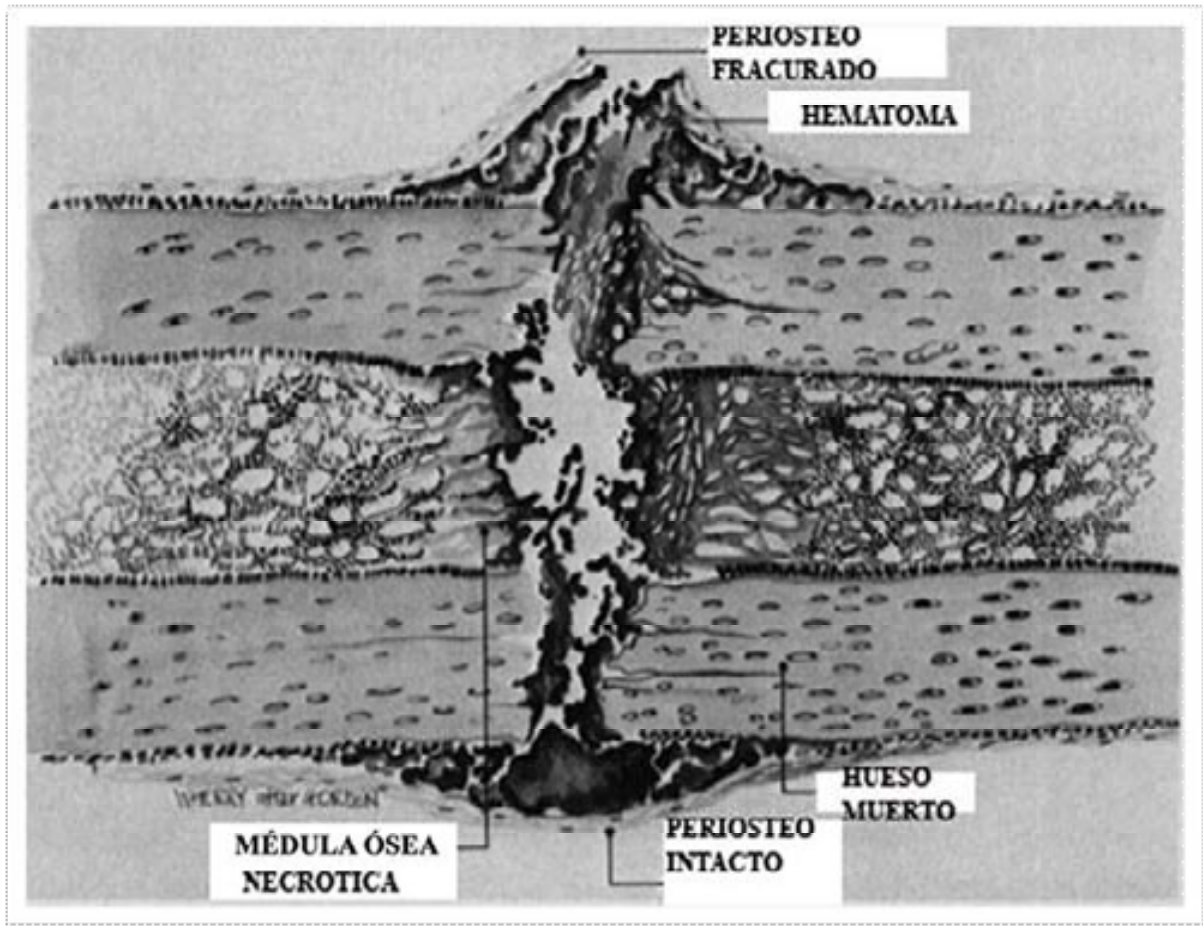
fibroso y hialino que envuelve al foco de fractura. Ahora bien, no todas las fracturas tienen cartílago como componente del callo.<sup>7, 62</sup>

En las fracturas no complicadas, el tejido alcanza su máximo desarrollo al final de la segunda o tercera semana y ayuda a estabilizar la fractura, pero todavía no es lo bastante resistente para soportar peso. A medida que el hueso reticular reactivo (intramedular y subperióstico) se aproxima al cartílago recién formado en el foco de fractura, el cartílago experimenta una osificación “encondral”, análoga a la que ocurre en la placa de crecimiento. De esta forma los extremos de hueso fracturado se fusionan gracias a un callo óseo, que cuando se mineraliza, aumenta en rigidez y resistencia hasta el punto de ser capaz de tolerar una carga o peso moderado.<sup>7, 62</sup>

En las primeras fases de la formación del callo se produce un exceso de tejido fibroso, de cartílago y de hueso.<sup>7, 62</sup>

Es importante hacer énfasis que, el último proceso que ocurre en la cascada de fenómenos de reparación ósea es el remodelado; se trata de un proceso de activación - reabsorción - formación, donde los osteoclastos se activan produciendo las lagunas de Howship, que serán repobladas por osteoblastos que expresan osteoide y cuando éste se calcifica se restaura la morfología ósea.<sup>7, 62</sup>

El proceso activación - reabsorción - formación se produce en un periodo de tiempo comprendido entre 3 y 6 meses.<sup>7, 62</sup>



**Figura 11. Fractura y reparación ósea.**

Es fácil que la serie de fenómenos que permiten la curación de una fractura se vean entorpecidos o incluso anulados. Así, es frecuente que las fracturas conminutas y con desplazamiento dejen alguna deformidad. Los fragmentos desvitalizados del hueso astillado tienen que reabsorberse y esto retrasa la curación, aumenta el tamaño del callo y exige mucho tiempo para remodelarse, lo que prácticamente equivale a una deformidad permanente. La consecuencia es que el callo puede quedar formado por tejido fibroso y cartílago, y esto perpetúa la inestabilidad y provoca retraso o falta completa de la unión o fusión ósea. Otro obstáculo serio para la curación es la infección del foco que es un riesgo. La infección hay que erradicarla si se quiere conseguir la función ósea. La reparación ósea también puede fracasar si hay concentraciones insuficientes de calcio o fósforo, déficit de vitaminas, infecciones generales, diabetes o insuficiencia vascular.<sup>7, 62</sup>

### **Anatomía patológica de la osteonecrosis.**

Los hallazgos anatomopatológicos de la necrosis ósea son similares independientemente de su causa; en los infartos medulares la necrosis es moteada y afecta al hueso esponjoso y a la médula. La cortical no suele afectarse por que las colaterales mantienen el riego sanguíneo. En los infartos subcondrales, se necrosan un fragmento triangular o cuneiforme de tejido cuya base está formada por la placa ósea subcondral, y su vértice corresponde al centro de la epífisis. El cartílago articular que recubre esa porción sigue viable porque se nutre a partir del líquido sinovial. El hueso muerto que se reconoce por sus lagunas vacías, está rodeado por adipocitos necróticos que a menudo se rompen y liberan sus ácidos grasos; estos, al combinarse con el calcio, forman jabones cálcicos que pueden persistir toda la vida. Durante el proceso curativo, los osteoclastos reabsorben las trabéculas necróticas; sin embargo, las que quedan sirven de armazón para el depósito de hueso nuevo vivo gracias a un proceso llamado sustitución progresiva. En los infartos subcondrales el ritmo de esta sustitución progresiva es demasiado lento para ser eficaz y por eso acaba produciéndose colapso de hueso esponjoso necrosado y desorganización del cartílago articular.<sup>7, 62</sup>

## Pegamentos.

### **Cianoacrilato.**

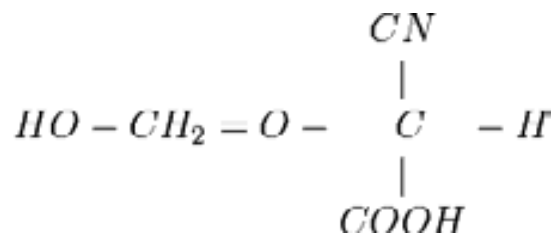
El nombre **cianocrilato** se utiliza para designar a un conjunto de sustancias usadas como adhesivos. Se emplea para reparaciones domésticas y en la industria. Los dos tipos de cianoacrilatos usados actualmente se distinguen por poseer un éster de metilo o de etilo en el monómero. <sup>49</sup>

El cianoacrilato es un adhesivo monocomponente. Fragua en pocos segundos mediante agua, que puede provenir de la humedad ambiente. Sin embargo, un exceso de agua (debido a una humedad ambiental o en las superficies de piezas demasiado grandes) puede estropear la unión. <sup>49</sup>

Se utilizó muy ampliamente como reemplazo de la sutura, pero su uso en este campo se ha visto reducido por ser más peligroso que esta última debido a infecciones y adherencias en lugares no deseados. <sup>49</sup>

Se comercializa bajo numerosos nombres comerciales como Pegaloca, Pegadit (en Colombia), pero quizá de ellos el más conocido es *superglue*. Este último pertenece a la empresa Loctite, que a su vez es una filial de Henkel. Otros más enfocados a la sustitución de la sutura en fines médicos son Dermabond y Traumaseal. <sup>49</sup>

El monómero del cianoacrilato es:



**Figura 12. Monómero de cianoacrilato.**

La reacción química que se produce durante el fraguado es:

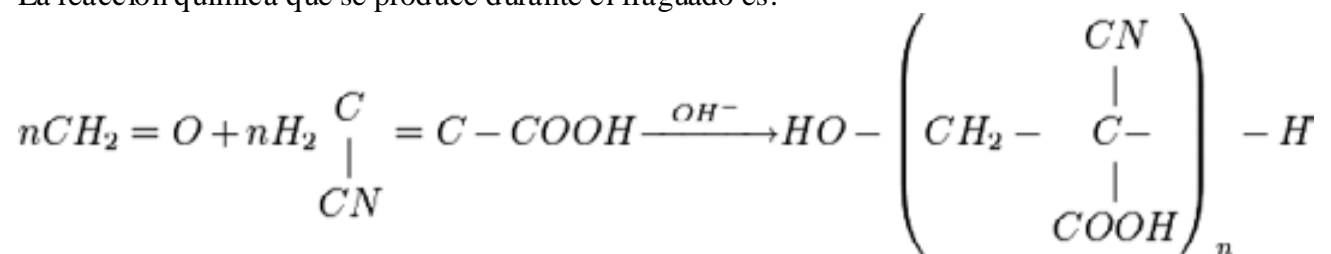


Figura 13.

Y se produce el siguiente polímero:

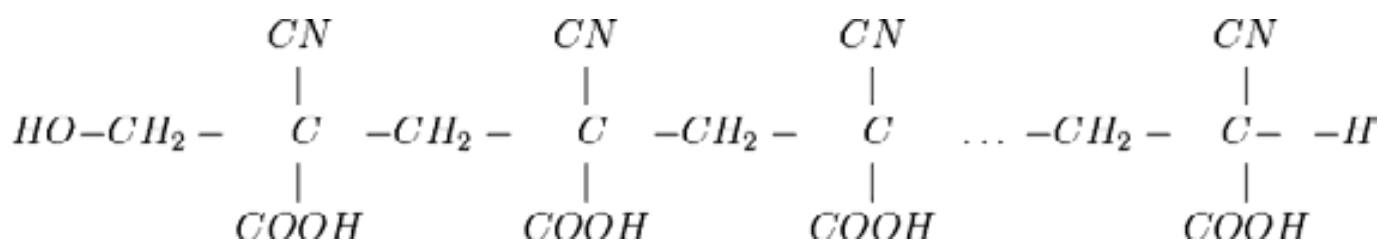


Figura 14.

El cianoacrilato se utiliza en electrónica, en usos domésticos y en medicina. En los usos domésticos se puede emplear para el pegado de metal con vidrio, algunos plásticos, porcelana, y cerámica unos con otros o entre ellos.<sup>49</sup>

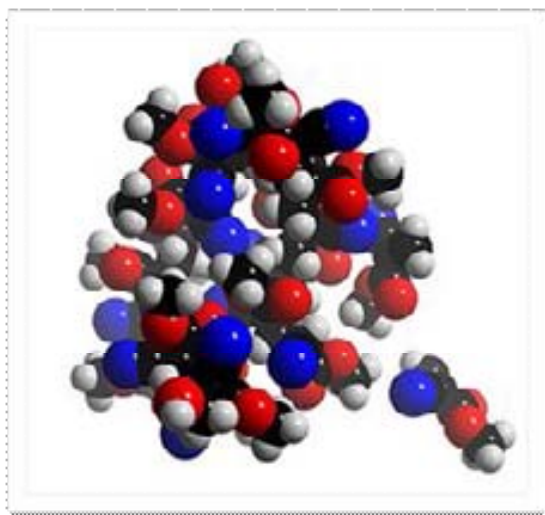


Figura 15. Estructura tridimensional del Cianoacrilato.

## Pegamento Biológico.

### Plasma:

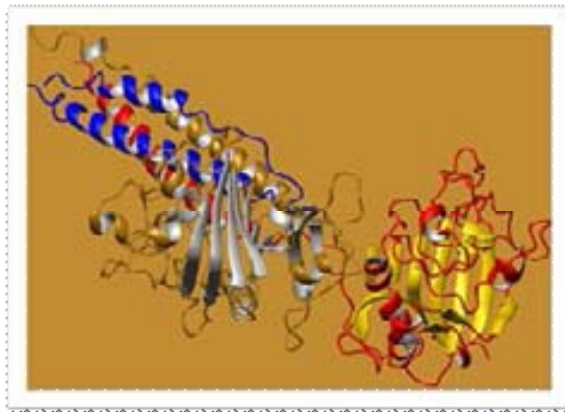
<i>Componente</i>	<i>%</i>
Agua	91-92
Proteínas (fibrinógeno, globulinas,, albúmina)	7-8
Otros solutos	1-2
Electrolitos ( $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ , $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$ , $\text{Cl}^-$ , $\text{HCO}_3^-$ , $\text{PO}_4^{3-}$ , $\text{SO}_4^{2-}$ )	
Sustancias nitrogenadas no proteicas (urea, ácido úrico, creatina, creatinina, sales de amonio)	
Alimentos (glucosa, lípidos, aminoácidos)	
Gases sanguíneos (oxígeno, dióxido de carbono, nitrógeno)	
Sustancias reguladoras (hormonas, enzimas)	

**Tabla 1. Composición del plasma.**

Como se indica, la mayor parte del plasma es agua, que actúa como solvente de diversos solutos, entre ellos proteínas, gases disueltos, electrolitos, sustancias nutritivas, materiales de desecho y sustancias reguladoras. Las proteínas representan las fracciones más grandes de los solutos.<sup>47</sup>

Las proteínas plasmáticas se componen principalmente de fibrinógenos, globulinas y albúminas.<sup>47</sup>

Los **fibrinógenos** son las proteínas de mayor tamaño, se sintetizan en el hígado e intervienen a la coagulación de la sangre.<sup>47</sup>

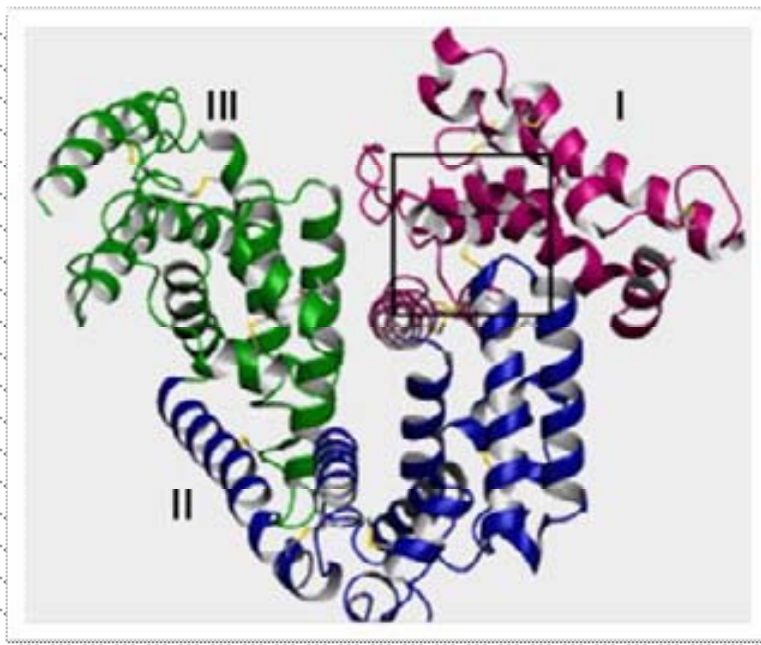


**Figura 16.**

**Estructura**

### **tridimensional del fibrinógeno.**

Las **albúminas**, también sintetizadas en el hígado, son las proteínas más pequeñas. Son las responsables de ejercer la principal presión osmótica sobre la pared de los vasos sanguíneos, (presión coloidosmótica). Si la albúmina escapa de los vasos, como ocurre cuando se filtra por el riñón hacia la orina, disminuye la presión osmótica de la sangre y se acumula líquido en los tejidos. <sup>47</sup>



**Figura 17. Estructura tridimensional de la albúmina**

Las **globulinas** incluyen las inmunoglobulinas, sin duda el principal componente de la fracción globulínica. Las inmunoglobulinas son anticuerpos, una clase de moléculas funcionales del sistema inmunitario secretada por las células plasmáticas. Las globulinas no inmunes son secretadas por el hígado e incluyen glucoproteínas como la fibronectina y otras moléculas intercambiables entre la sangre y los demás tejidos conectivos. <sup>47</sup>



### Gluconato de Calcio:

El Gluconato de Calcio es la sal cálcica del ácido glucónico, un producto de la oxidación de la glucosa y contiene 9.3% de calcio, que es cerca de un tercio del calcio en la forma de cloruro de calcio.<sup>56</sup>

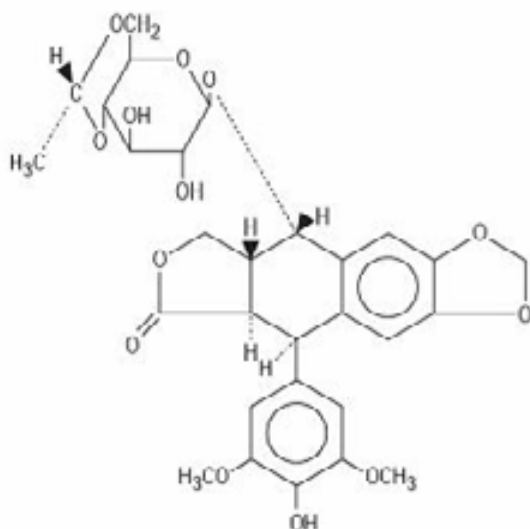
Su fórmula molecular es:  $C_{12}H_{22}CaO_{14}$ , con un peso molecular de 430.38.<sup>56</sup>

El 10% de la solución es supersaturada y estabilizada por la adición de tetrahidrato sacarato de calcio 0.46% (que suple el 6.2% de calcio). Cada mililitro (ml) de gluconato de calcio contiene 98 miligramos (mg) de monohidrato gluconato de calcio, 4.6 miligramos (mg) de tetrahidrato sacarato de calcio y agua. Cada mililitro (ml) provee 9.3 miligramos (mg) (0.465 mEq) de calcio.<sup>56</sup>

### Tween 80:

Polisorbato 80 (también conocido comercialmente como Tween 80, una marca registrada de ICI Américas, Inc.) es un surfactante no iónico y emulsificante derivado de sorbitán polietoxilado y ácido oleico, y se usa a menudo en los alimentos. Polisorbato 80 es viscoso, soluble en agua, color amarillo. Los grupos hidrofílicos en este tipo de compuestos son poliéteres también conocidos como grupos polioxietilenados, que son polímeros de óxido de etileno. En la nomenclatura de polisorbatos la designación numérica de polisorbato se refiere a los grupos, lipófilos en este caso, el ácido oleico.<sup>50</sup>

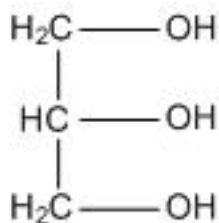
En su uso médico el Polisorbato 80 se utiliza como emulsionante en la fabricación de medicamentos para administración parenteral, sobre todo en el medicamento popular antiaritmico amiodarona, así como también se ha utilizado en aplicaciones bioquímicas, para aislar núcleos de células en medios de cultivos, y para el crecimiento del bacilo de la tuberculosis.<sup>50</sup>



**Figura 18. Estructura química del Tween 80.**

Glicerina anhidra:

La glicerina es un líquido viscoso incoloro, inodoro, higroscópico y dulce. Los términos glicerina o glicerol son utilizados indistintamente para referirse al compuesto; sin embargo, el nombre oficial IUPAC es propan-1, 2, 3-triol.<sup>51,52</sup>



**Figura 19. Estructura química de la Glicerina.**

Es un lípido simple que está formado por una molécula de propanotriol al que se unen por enlaces lipídicos tres moléculas de ácidos grasos; los grupos de hidróxidos (OH) son los responsables por su solubilidad en el agua.<sup>51, 52</sup>

Es higroscópico (absorbe agua del aire); se derrite a 17.8° C, su punto de ebullición con descomposición es a 290° C, y es miscible con agua y etanol. La glicerina puede ser quemada, sin embargo su combustión debe ser realizada a temperaturas mayores a su punto de ebullición, de lo contrario puede emitir gases tóxicos (acrolina), los cuales se forman entre los 200 y 300° C.<sup>51,52</sup>

#### *Aplicaciones Tradicionales:*

La glicerina tiene una amplia variedad de aplicaciones, tales como emulsionante, agente suavizador, plastificante, agente estabilizador y humectante para pastelería, heladería y tabaquería; en lociones corporales, enjuagues bucales e innumerables preparados farmacéuticos y cosméticos; como medio protector para congelamiento de glóbulos rojos, esperma, córneas y otros tejidos; en tintas de impresión, resinas de pinturas; mezclas anticongelantes; y como materia prima para la nitroglicerina.<sup>51,52</sup>

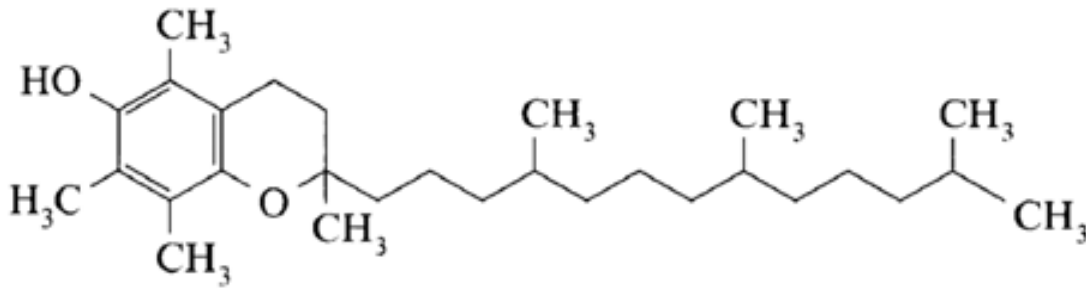
#### Vitamina E:

Es una vitamina liposoluble que actúa como antioxidante.<sup>57</sup>

La vitamina E es un antioxidante que protege el tejido corporal del daño causado por sustancias inestables llamadas radicales libres. Estos radicales pueden dañar células, tejidos y órganos, y se cree que juegan un papel en ciertas afecciones asociadas con el envejecimiento.<sup>57</sup>

Los radicales libres pueden dañar las células y contribuir al desarrollo de enfermedades cardiovasculares y cáncer.<sup>57</sup>

Otros usos que se le dan a la vitamina E es en aceites vegetales, ayuda a retrasar el tiempo en que los aceites se rancian.<sup>57</sup>



**Figura 20. Estructura química de la Vitamina E.**

Oxido Nítrico (NO):

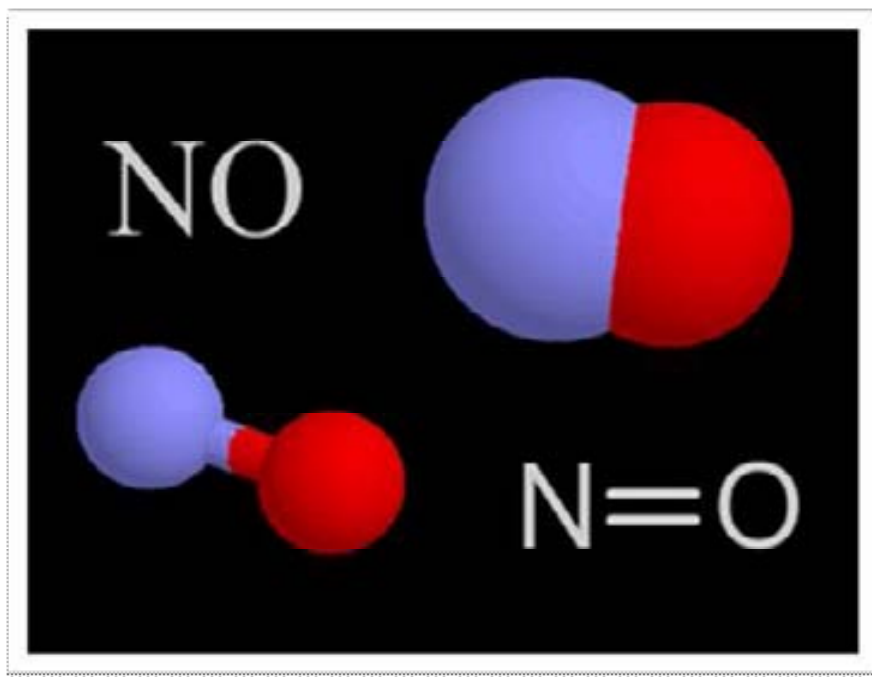
El NO es un mediador químico endógeno cuyo efecto predominante es la vasodilatación también llamado monóxido de nitrógeno o monóxido de mononitrógeno es producido en la naturaleza a partir de combustibles fósiles, siendo rápidamente oxidado a óxido nitroso.<sup>53,54</sup>

La molécula de NO está compuesta por un átomo de oxígeno y un átomo de nitrógeno. Carece de carga, lo cual le permite difundir libremente a través de las membranas celulares.<sup>53,54</sup>

El NO es el factor endógeno relajante del endotelio más importante, provocando dilatación del músculo liso vascular en respuesta a la estimulación celular endotelial. Es sintetizado en las células endoteliales por la enzima óxido nítrico sintetasa (SON), que utilizando como sustratos el fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADPH), y el oxígeno, convierte la L-arginina en NO y citrulina.<sup>53,54</sup>

Estímulos mecánicos como el flujo pulsátil y la tensión de rozamiento que éste provoca en la célula endotelial, unido a un rígido control de los niveles de ion calcio en el líquido extracelular, constituyen los patrones reguladores de la síntesis y liberación de NO en el endotelio. En las células endoteliales y en las neuronas, SON está presente de forma constitutiva y puede ser activado rápidamente por el incremento en la concentración citoplasmática de calcio en presencia de modulina.<sup>53,54</sup>

El calcio activa al SON que transforma la L-arginina en L-citrulina y óxido nítrico. Este último se difunde al músculo liso vascular, y activa a la guanilato ciclasa soluble, y aumenta los niveles de GMPc que provoca la relajación del tejido muscular.<sup>53,54</sup>



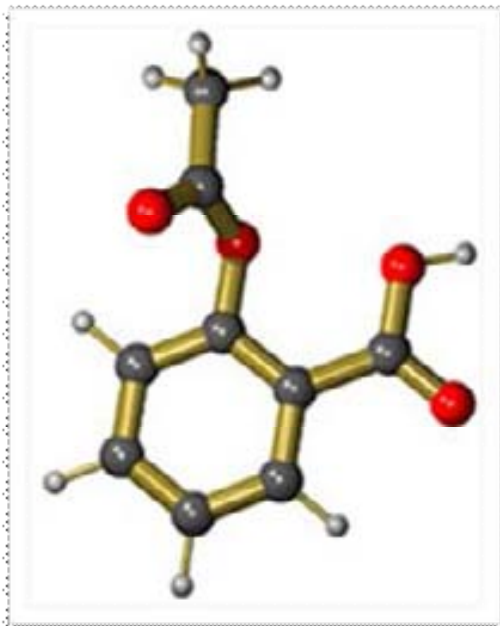
**Figura 21. Molécula de óxido nítrico.**

#### Ácido Acetil Salicílico:

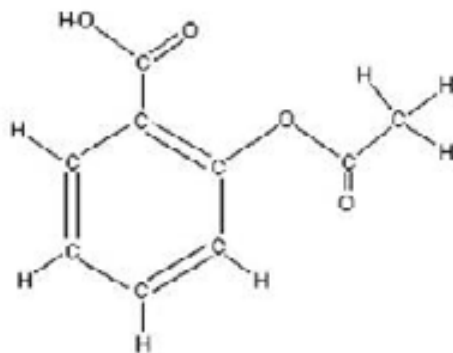
Es un éster acetilado del ácido salicílico. Su peso molecular: 180.2. Su proceso de síntesis consiste en tratar el ácido salicílico con anhídrido acético, en presencia de un poco de ácido sulfúrico que actúa como catalizador. Fue en 1897 cuando el químico alemán Félix Hoffman logró sintetizar, por primera vez, en forma pura y estable el ácido acetilsalicílico.<sup>55</sup>

Sus cristales son alargados, de sabor ligeramente amargo y de color blanquecino.<sup>55</sup>

Su eficacia terapéutica como analgésico y antiinflamatorio fue descrita en 1899 por el farmacólogo alemán Heinrich Dreser.<sup>55</sup>



**Figura 22. Estructura tridimensional del Ácido Acetil Salicílico.**



**Figura 23. Estructura química del Ácido Acetil Salicílico.**

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

---

En la actualidad, el hueso es el tejido más frecuentemente trasplantado y se aplica en intervenciones de especialidades como ortopedia, neurocirugía y cirugía maxilofacial.<sup>26</sup>

El trasplante autólogo de hueso es hoy en día el estándar de referencia para reconstrucción en cirugía craneofacial, especialmente en niños.<sup>4, 21, 44</sup>

El aloinjerto es un procedimiento comúnmente usado para la reconstrucción ósea, con lo cual se han descrito muy buenos resultados.<sup>4, 10, 11, 22, 44</sup> Aunque es importante conocer que los aloinjertos tienen ciertas desventajas en relación al trasplante autólogo de hueso como son el rechazo inmunológico, la transmisión de enfermedades, y su aceptación debido a problemas religiosos y sociales en algunas partes del mundo.<sup>27</sup> Una diferencia fundamental de los injertos alternativos como el aloinjerto es la ausencia que este tiene de un conglomerado viable de células osteoprogenitoras que si lo posee el injerto autólogo,<sup>26</sup> sin embargo no siempre es posible obtener hueso del mismo paciente.<sup>44</sup>

En la cirugía cráneo-maxilofacial, el cierre de grandes defectos craneales es difícil debido a la cantidad limitada de hueso autólogo disponible.<sup>4, 21</sup>

En la mayoría de hospitales en nuestro país la técnica utilizada no se encuentra estandarizada. En otros países usualmente lo que se utiliza es guardar el fragmento óseo extraído, en congelación previa esterilización.<sup>11, 12, 29, 30, 31, 32</sup> La dificultad de esto, como lo demuestran Shand *et al*,<sup>4</sup> es la reosificación después de colocar el nuevo injerto.

Gajiwala *et al*,<sup>11</sup> proponen un modelo de aloinjerto, previamente congelado y luego irradiado, para la reconstrucción de grandes defectos óseos causados por tumores. La dificultad de esta técnica es que el hueso al ser irradiado afecta sus propiedades, por lo que primero necesita ser rehidratado y luego se debe de estimular sus propiedades osteoinductivas por medio de un trasplante autólogo de médula ósea o hueso.<sup>12, 18, 21, 26, 27</sup>

A su vez Shand *et al*,<sup>4</sup> plantean que existen muchas técnicas para el procesamiento de injerto óseo (hueso fresco congelado, hueso seco congelado, matriz ósea desmineralizada, aloinjerto óseo sin antígeno autolisado, con o sin irradiación, hueso esterilizado por calor, esterilizado con ácido-etanol peracético, esterilización con óxido de etileno, etc.),<sup>4, 12, 13, 15, 18, 20, 23, 24, 29, 30, 31, 32, 33</sup> pero que el potencial osteoinductivo varía en cada una.

En el estudio de Matsumoto *et al*,<sup>3</sup> y Cervio *et al*,<sup>16</sup> promueven el uso de mezclas de colas de fibrina con polvo de hueso y fragmentos óseos respectivamente, y aseguran que tienen gran potencial osteoinductivo.

En neurocirugía, la falta de viabilidad de los trasplantes autólogos de huesos craneales establece una incapacidad limitante. Es por esto que en esta investigación se pretende comparar dos técnicas en uso en esta especialidad, para establecer las ventajas en la viabilidad de tejidos óseos y evolución clínica de los trasplantes autólogos conservados *in vivo* y reimplantados utilizando pegamento biológico *versus* cianoacrilato.

¿Existe alguna diferencia al utilizar injerto autólogo de calota craneana conservado *in vivo* y reimplantado con pegamento biológico, sobre el reimplantado con cianoacrilato?



## **OBJETIVOS.**

---

### **GENERAL.**

Comparar los resultados del trasplante autólogo de hueso craneal conservados *in vivo* y reimplantados con pegamento biológico versus la técnica de reimplantación utilizando cianoacrilato.

### **ESPECÍFICOS.**

- 1- Determinar las ventajas de la conservación *in vivo* y reimplantación utilizando pegamento biológico sobre la reimplantación con cianoacrilato, por medio del tiempo de evolución y el análisis histopatológico.
- 2- Determinar el grado de reosificación de acuerdo a la escala ósea de viabilidad para injertos autólogos de hueso, mediante el análisis histopatológico en cada uno de los grupos de experimentación.
- 3- Determinar si existen diferencias en el tiempo en la reosificación del injerto, en cada uno de los grupos de experimentación.
- 4- Establecer las diferencias desde el punto de vista económico de la conservación *in vivo* y reimplantación utilizando pegamento biológico sobre la reimplantación con cianoacrilato.

## **HIPÓTESIS.**

---

Los trasplantes autólogos de hueso craneal conservados en los tejidos del sujeto de experimentación (técnica de conservación *in vivo*) y reimplantados utilizando pegamento biológico tienen una mejor tasa de reosificación, viabilidad y evolución clínica, sobre los reimplantados con cianoacrilato.

## **METODOLOGÍA.**

---

Tipo de estudio: Experimental.

Población y muestra: Conejos neozelandeses, machos, sometidos a trasplante autólogo de hueso craneal. En total fueron 14 conejos, divididos en 2 grupos.

Criterios de inclusión: Conejos neozelandeses, machos, de 0.7 kilogramos (kg) mínimo.

Criterios de exclusión: Conejos que padezcan algún tipo de enfermedad o lesión al momento de la intervención, que fallezcan antes del tiempo establecido, que presenten infección en la herida quirúrgica.

Variabes: Viabilidad, reosificación y resorción.

<b>Variables</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Dimensiones</b>	<b>Indicadores</b>
<b>Viabilidad.</b>	Condición que hace posible el funcionamiento óseo, atendiendo a sus características propias.	Células vivas.  Vascularización.  Color.	Presencia de osteoblastos, osteoclastos, matriz ósea, osteocitos.  Presencia de capilares y laguna de Howship.  Color de médula ósea, de matriz ósea y de trabécula.
<b>Reosificación.</b>	Habilidad del hueso de regenerarse a sí mismo mediante la producción de hueso nuevo.	Células.	Presencia de osteoblastos y osteocitos.
<b>Resorción.</b>	Capacidad de eliminar mineral óseo.	Células.	Presencia de osteoclastos.
<b>Tiempo de reosificación.</b>	Tiempo que tarda el hueso en formar un callo óseo definitivo.	Semanas.	Presencia de viabilidad y reosificación completa al momento del análisis histopatológico.
<b>Económica.</b>	Relación costo/beneficio, entre el tipo de pegamento y el resto de variables.	Costo/Tiempo de reosificación.	Menor tiempo de reosificación.

**Tabla 2. Variables.**

## **CONSIDERACIONES ÉTICAS.**

---

Los conejos adultos sujetos a experimentación serán tratados según las normas éticas de la Declaración de Helsinki,<sup>35</sup> y la Animal Welfare Act,<sup>36</sup> por lo tanto deberá evitarse cualquier dolor o sufrimiento innecesario del animal, utilizando los anestésicos y analgésicos necesarios.<sup>37-42</sup>

Además, se les administrará dosis profiláctica de antibiótico intramuscular para evitar infecciones en la herida operatoria, que altere el resultado de la investigación y que exponga a sufrimiento del animal.

Todos los sujetos de experimentación tendrán disponible condiciones estables (alimentación y cobijo) antes, durante y después de terminado el estudio.

## MÉTODOS Y TÉCNICA.

---

### Muestra:

Los animales de experimentación se dividieron en 2 grupos. El grupo piloto fue incluido dentro del grupo 1 para efectos del análisis de los resultados, puesto que fueron 2 conejos que conservaron el injerto autólogo por 6 semanas.

**Grupo 1:** Conformado por 8 conejos a los cuales se les extrajo una muestra para estudio histopatológico del autotrasplante de hueso craneal a las 6 semanas de la reimplantación del injerto autólogo de hueso craneal. El grupo 1 estuvo conformado por 4 conejos con trasplante autólogo de hueso craneal conservado *in vivo* y reimplantado con pegamento biológico, y por 4 conejos con trasplante autólogo de hueso craneal conservado *in vivo* y reimplantado con cianoacrilato.

**Grupo 2:** Conformado por 6 conejos a los cuales se les extrajo una muestra para estudio anatomopatológico del autotrasplante de hueso craneal a las 12 semanas de la reimplantación del injerto autólogo de hueso craneal. El grupo 2 estará conformado por 3 conejos con trasplante autólogo de hueso craneal conservado *in vivo* y reimplantado con pegamento biológico, y por 3 conejos con trasplante autólogo de hueso craneal conservado *in vivo* y reimplantado con cianoacrilato.

Grupo 1		Grupo 2		
6 Semanas		12 Semanas		Total
B	C	B	C	
4	4	3	3	14

**Tabla 3. Tipo de pegamentos y semanas.**

B= Pegamento Biológico.

C=

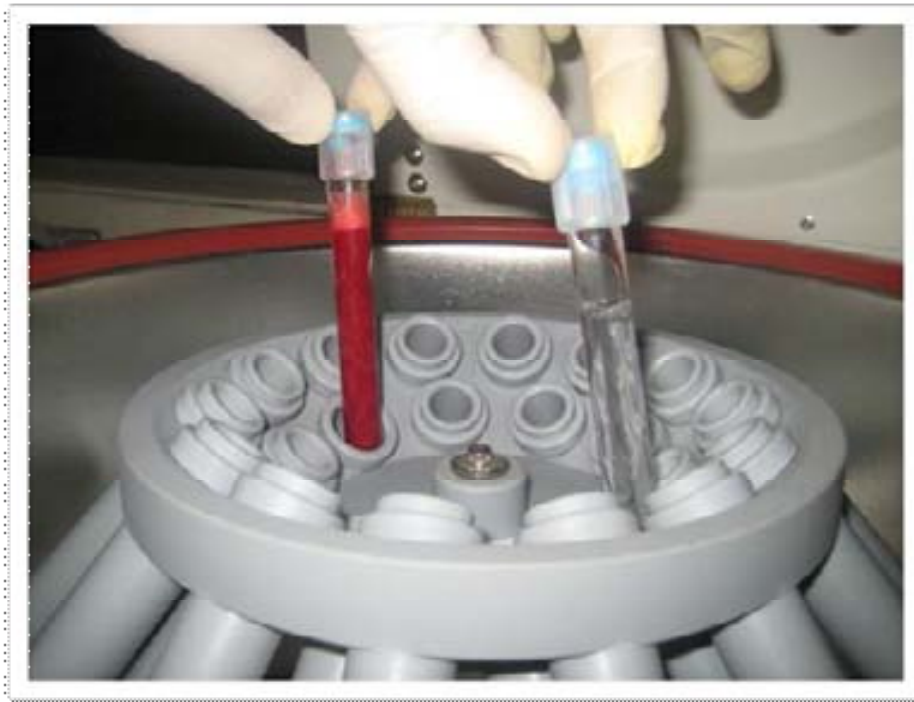
Cianoacrilato.

## Tipos de Pegamentos:

### **Pegamento biológico:**

Para la elaboración del pegamento biológico se hizo en base a dos grupos de sustancias, los cuales se denominaron **Componente A** y **Componente B**. El componente A estuvo conformado por sustancias liposolubles: Fibrinógeno (plasma sanguíneo), Vitamina E, Glicerina anhidra; y el componente B posee solo sustancias hidrosolubles: Tween 80, Ácido Acetil Salicílico, Oxido Nítrico y Gluconato de Calcio.

Se extrajo 3 ml de sangre de un conejo del grupo 1 y 2. Se colocó en tubos de ensayo y se sometió a centrifuga a aproximadamente 3500 revoluciones por minuto (rpm), durante 15 minutos, para obtener el plasma.<sup>61</sup> Una vez obtenido, se mezcló con el resto de los componentes, al momento de realizar el reimplante del injerto de hueso autólogo.



**Figura 24. Centrifuga con muestra de sangre.**

### **Pegamento Sintético:**

Cianoacrilato (Super Bonder®)

### **Preparación preoperatoria:**

El primer paso fue la previa selección del equipo de sutura y los materiales a utilizar durante el procedimiento como lo son gasas, campos, vasijas. Se utilizó un equipo quirúrgico individual para cada conejo. Luego de esto se realizó la esterilización del equipo de sutura y del resto de materiales a utilizar en autoclave.

Se realizó limpieza de la mesa de trabajo con Fenol al 5%.

El conejo se pesó en báscula. Se le administró antibiótico profiláctico intramuscular, con ceftriaxona a razón de 50 mg/Kg. de peso, 30 minutos antes de la intervención como dosis única.



**Figura 25. Administración de antibiótico profiláctico.** Esta imagen muestra el uso



de jeringa de 1 ml, la cual evita malestar en el animal de experimentación.

Se anestesió con solución **MS**<sup>®</sup> (Atropina 0.5 mg/ml [0.02 mg/Kg.] + Midazolam 15mg/3ml [0.3 mg/Kg.] + Ketamina 10 mg/ml [5 mg/Kg.]), por vía intraperitoneal (IP), de acuerdo al peso del conejo. En el transcurso de la intervención, se administró un refuerzo de Ketamina intramuscular a 2.5 mg/Kg. de peso, cada vez que fue necesario, para mantener anestesiado al animal.

Se realizó rasurado de cuero cabelludo y de región receptora del fragmento óseo que sirvió como injerto autólogo, a nivel abdominal. Se realizó asepsia y antisepsia con solución de yodo al 10%, y se infiltró anestesia local con Lidocaína al 2% en el sitio de la incisión.

### **Preparación operatoria:**

#### **1. Obtención de la calota craneana del conejo.**

Con bisturí No. 15, se realizó incisión en línea media craneal, disecando por planos piel, tejido celular subcutáneo, galea y periostio, hasta exponer un área de aproximadamente 2 x 2 cm de calota.



**Figura 26. Incisión en línea media craneal.** Técnica adecuada de incisión en línea media. Sujetando firmemente al animal de experimentación se debe de realizar una incisión de aproximadamente 4-5 cm de longitud y aproximadamente unos 1-2 mm de profundidad.



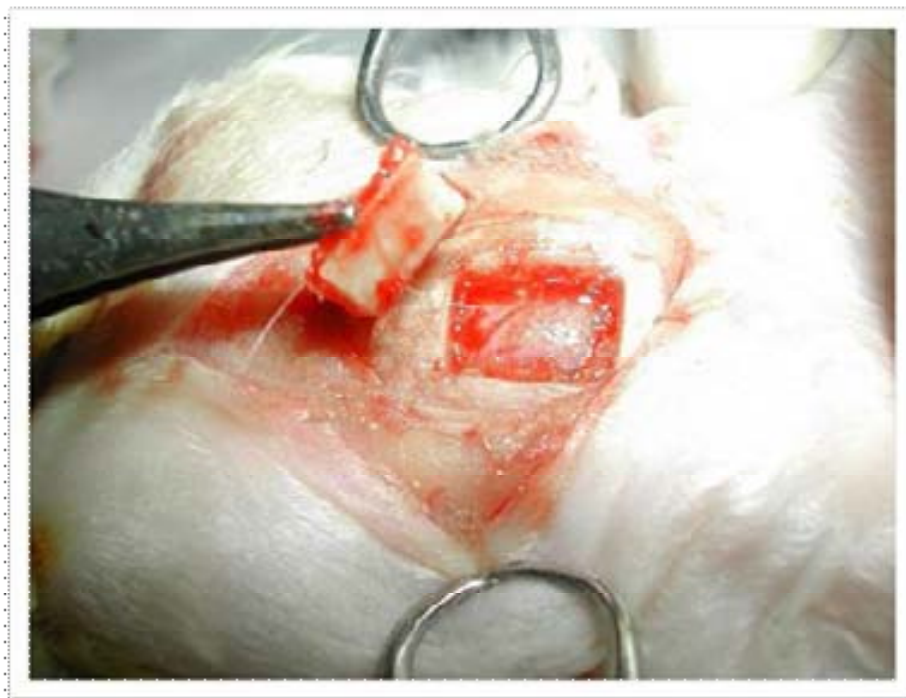
Con motor de alta velocidad y lavado continuo con Solución Salina al 0.9%, se realizó craniectomía en región parieto-occipital, de aproximadamente un tamaño de 0.5 x 0.3 cm, sin pasar la línea media craneal para no dañar el seno longitudinal superior y con extremo cuidado para no dañar la duramadre y tejido cerebral adyacente.



**Figura 27. Craniectomía en región parieto-occipital.**

La craniectomía se realiza con los discos de corte más finos los cuales poseen 15/16 de pulgada (2.4 cm), un grosor de .025" y un diámetro de la broca mm de 23.8 mm.<sup>58</sup>

Luego se extrajo el fragmento óseo de calota que se utilizó para realizar el injerto autólogo, y se colocó en recipiente con solución de ceftriaxona (1 g de ceftriaxona diluida en 3.5 ml de agua estéril).



**Figura 28. Extracción del fragmento óseo de calota craneana.**

Muy cuidadosamente se extrae el fragmento de calota craneana



evitando a toda costa el daño de la dura madre.

**Figura 29. Recipiente estéril con solución de ceftriaxona.** La solución de ceftriaxona le brinda al injerto óseo, protección contra agentes patógenos mientras este es manipulando.

Se realizó hemostasia rigurosa con Peróxido de Hidrógeno ( $H_2O_2$ ), y se cerró la herida quirúrgica en un solo plano con Vicryl® 4-0, puntos simples separados. Se utilizó el Vicryl®, ya que por ser material de sutura reabsorbible, evitó en el futuro anestesiarse de nuevo al animal para retirar los puntos de sutura.



**Figura 30. Cierre de herida quirúrgica con Vicryl® 4-0.**

## 2. Colocación del fragmento de calota craneana en región abdominal.

En ambos grupos se realizó incisión a nivel de la región abdominal inferior y lateral derecha, previo rasurado, asepsia y antisepsia con jabón yodado, y se infiltró anestesia local con Lidocaína al 2%. Se disecó tejido celular subcutáneo adyacente a piel, en dirección superior a la incisión, fabricando un nicho de aproximadamente 1.5 cm<sup>3</sup>, colocando en su interior el injerto autólogo de calota. Se verificó hemostasia con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y luego se suturó herida quirúrgica en 1 plano con Vicryl® 4-0 puntos simples separados.

El reimplante del injerto autólogo de calota en ambos grupos se realizó a los 15 días de su extracción, con la misma técnica descrita anteriormente, posicionándolo en el sitio donante.



**Figura 31.**  
**Fragmento óseo en**  
**tejido celular**  
**subcutáneo de**  
**abdomen.**

Esta imagen demuestra lo bien que se conserva el fragmento óseo a ser trasplantado en el

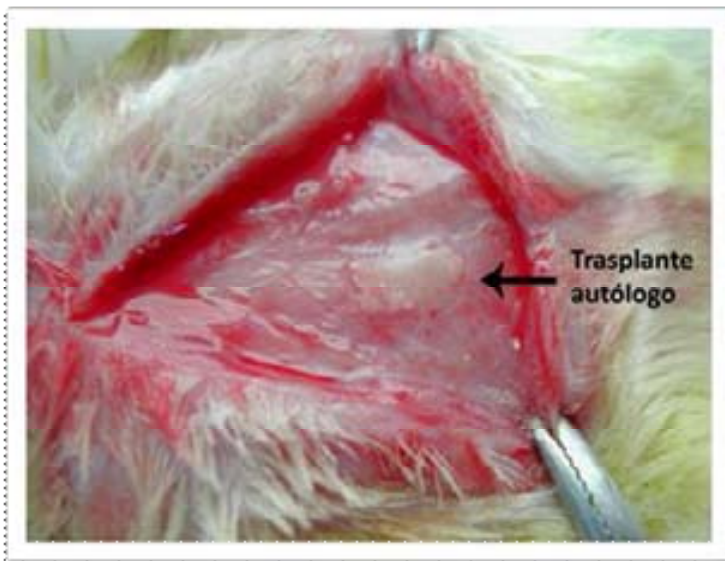
tejido celular subcutáneo.



**Figura 32. Colocación de reimplante.**

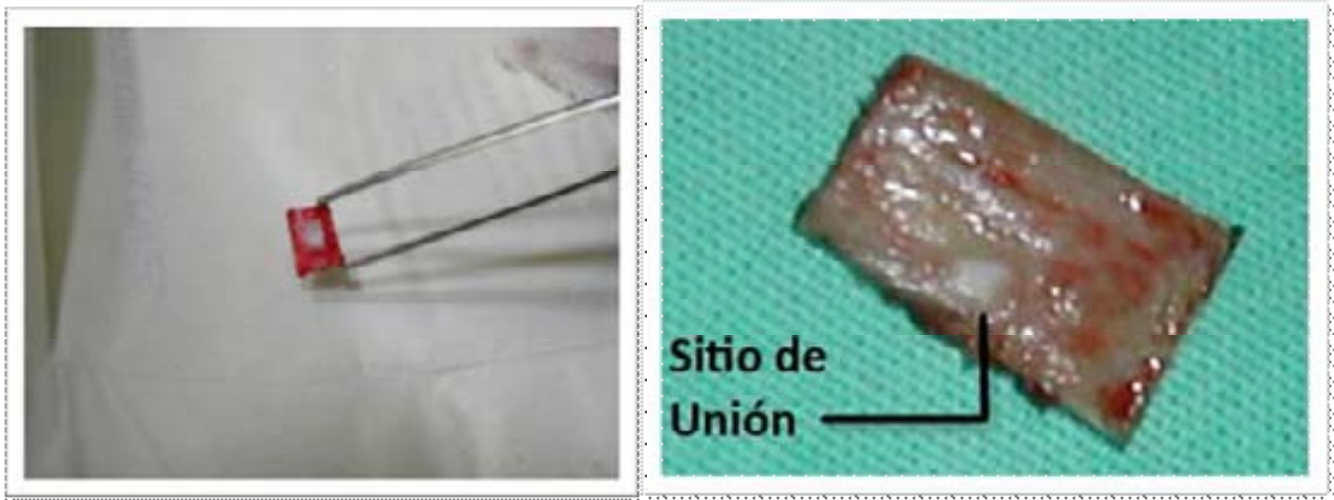
Se debe de identificar primero el sitio de la craniectomía original y luego colocar el fragmento óseo que se el cual se trasplantará, fijándolo ya sea con pegamento biológico o cianoacrilato.

Luego se esperó 6 y 12 semanas respectivamente para que, bajo las mismas condiciones de anestesia, asepsia y antisepsia descritas anteriormente, se extrajera una muestra de tejido óseo comprendiendo el sitio de unión entre el injerto autólogo de calota y la calota propiamente dicha, para su análisis histopatológico, comparando la reosificación, viabilidad y mineralización del injerto autólogo en ambos grupos.



**Figura 33. Trasplante autólogo.** Se puede observar perfectamente el

trasplante autólogo adherido a la calota craneana.



**Figuras 34 y 35. Muestra de Trasplante Autólogo.**

En esta imagen se ve el éxito de la unión del trasplante autólogo con el hueso normal del conejo.

En ambos grupos se cuantificó el tiempo quirúrgico de las intervenciones (este fue el tiempo transcurrido desde la administración de la anestesia intraperitoneal hasta la sutura completa de las heridas quirúrgicas); además se describieron las complicaciones quirúrgicas y post-quirúrgicas, así como la evolución clínica de los sujetos de experimentación a lo largo del estudio.

**Cuidado post operatorio:**

Se brindaron cuidados para evitar la hipotermia, canibalismo, y sufrimiento del sujeto de experimentación. Se utilizó Meloxicam 7.5 mg/5 ml a dosis de 0.2 mg/kg en dosis única para la analgesia post-quirúrgica.<sup>38</sup>

## **EVALUACIÓN PATOLÓGICA.**

---

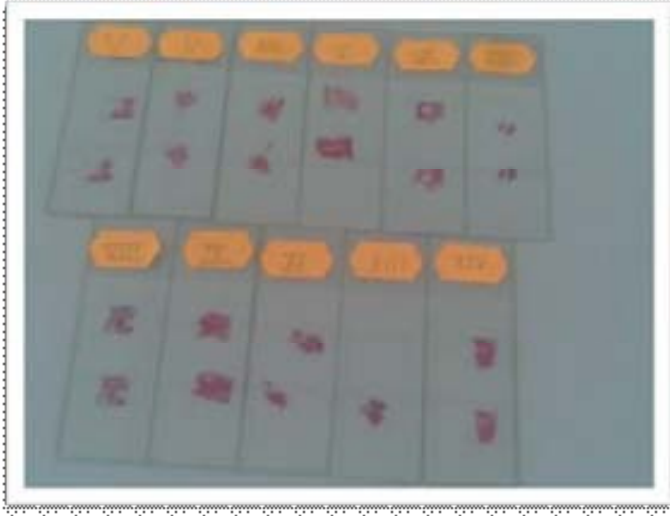
Una vez extraído el fragmento óseo, se depositó en frascos que contenían formol neutro amortiguado. Posterior a esto, fueron enviadas las muestras a patología, en donde se descalcificaron en una solución de ácido nítrico. Luego se continuó con el proceso del tejido, para finalmente obtener los bloques de parafina, que fueron cortados con micrótopo (Microm®), con cuchillas de alto perfil, para finalmente obtener dos laminas por cada una de las muestras.



**Figura 36. Frascos con muestras patológicas.** Los frascos contenían formol neutro amortiguado para preservar la muestra mientras era enviada al laboratorio de patología.

El siguiente paso fue colocarlas en laminillas para patología, que luego fueron teñidas con la técnica de Hematoxilina-Eosina, para finalmente ser observadas con microscopio (Nikon labophot®), con un binocular 10x, y oculares de 4x y 40x, para obtener campos de 40x y 400x respectivamente.





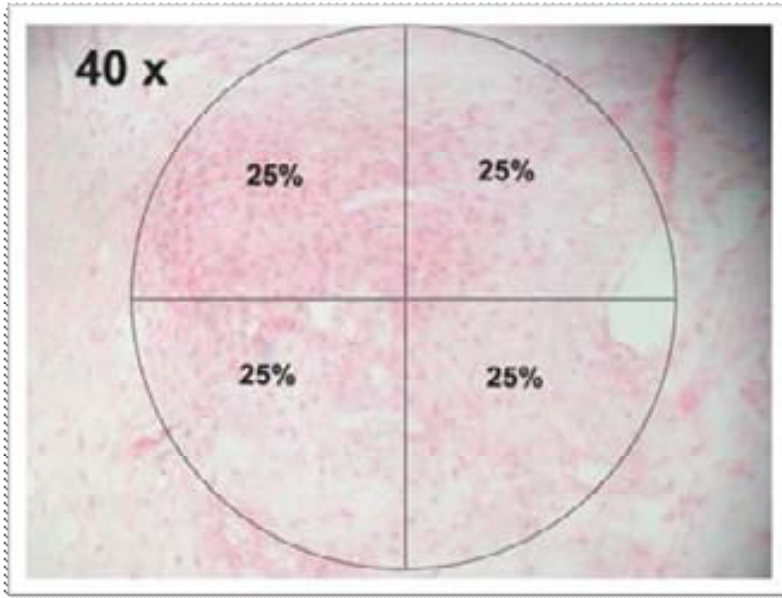
**Figura 37. Laminillas de patología.** Cada lámina contiene dos cortes de cada muestra, con tinción de Hematoxilina-Eosina.

Se realizó el análisis histopatológico, por dos patólogos, a través de una escala de viabilidad ósea original, para injertos autólogos, la cual fue diseñada en conjunto con ellos para el análisis.

Ninguno de los patólogos supo que muestra perteneció a que conejo, ni el tiempo, ni con que pegamento fue reimplantado. Esto nos ayudó a evitar el sesgo del estudio.

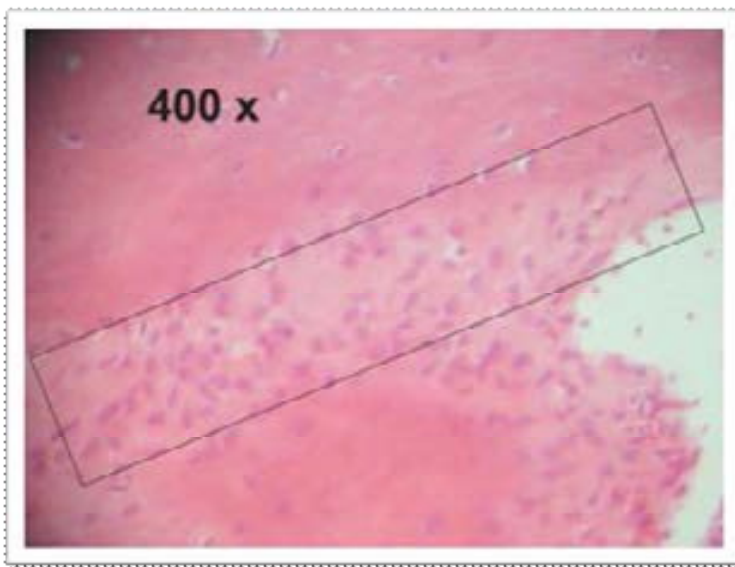
La escala ósea fue basada en las variables del estudio: viabilidad, reosificación y reabsorción; para obtener los siguientes parámetros de evaluación: tejido fibroso, tejido óseo, tejido osteoide, osteoblastos, osteoclastos, osteocitos y hallazgos propios del tejido (medula ósea, coloración, vascularidad, etc.).

En el caso del tejido fibroso, tejido óseo y tejido osteoide, fue evaluado en un campo de 40x, cada campo fue dividido en 4 cuadrantes, dándole un valor de 25% a cada cuadrante.



**Figura 38. Campo de 40x.** Se visualiza un campo de 40x, dividido en 4 cuadrantes, con un valor de 25% en cada cuadrante.

Para el conteo de células osteoblásticas, osteoclasticas y osteocitos, en un campo de 400x, en una zona rectilínea, en cada campo observado, se contabilizó de manera absoluta el número de células evidenciadas.



**Figura 39. Campo de 400x.** Se observa la zona rectilínea donde se contabilizan las células como los osteoblastos, osteoclastos y osteocitos.

**PRESUPUESTO.**

---

No.	Ítem	Cantidad.	Unidad	P. Unitario	P. Total
1	Conejos	12	c/u	\$7.00	\$84.00
2	Jaula	2	c/u	\$35.0	\$70.00
3	Alimento	300	Lbs.	\$0.50	\$150.00
4	Guantes	2	Ciento	\$6.86	\$13.72
5	Guantes Estériles	60	Pares	\$0.50	\$30.00
6	Jeringas 3cc	40	c/u	\$0.11	\$4.40
7	Jeringas 5cc	40	c/u	\$0.14	\$5.60
8	Jeringas 1cc	40	c/u	\$0.13	\$5.20
9	Frascos para muestra patológica	10	c/u	\$0.30	\$3.00
10	Vicryl 4-0	30	c/u	\$1.79	\$53.70
11	Papel empaque	20	Yardas	\$0.50	\$10.00
12	Papelería (Hoja tamaño carta, Papel Bond)	2	Resmas	\$3.75	\$7.50
13	Impresiones	3	Cartuchos de Tinta	\$40	\$120
14	Viáticos				\$300
15	Transporte (Gasolina)	100	Galones	\$4.50 c/Galón	\$450
16	Jabón yodado	2	c/u	\$4.57	\$9.14
17	Gasas estériles	1	ciento	\$4.38	\$ 4.38
18	Peróxido de Hidrogeno	3	c/u	\$2.26	\$6.78

19	Hoja de Bisturí N° 15	30	c/u	\$0.60	\$18.00
20	Meloxicam (7.5mg/5ml)	2	Frasco	\$15.00	\$30.00
21	Antibiótico (Ceftriaxona)	5	Frasco 1g	\$15.00	\$75.00
22	Ketamina	5	Vial 50cc	\$62.50	\$312.50
23	Midazolam 5mg/ml	10	Ampolla 3cc	\$7.45	\$74.50
24	Atropina 0.5 mg/dl	10	Ampolla 1cc	\$7.57	\$75.70
25	Oxido Nítrico	1	Frasco de 128 tabletas	\$30	\$30
26	Gluconato de Calcio en Polvo	2	Onza	\$0.78	\$1.56
27	Glicerina Anhidra	1	Litro	\$9.00	\$9.00
28	Vitamina E	1	Kilo	\$90.40	\$90.40
29	Acido Acetil Salicílico	1	Kilo	\$16.95	\$16.95
30	Tween 80	1	Kilo	\$16.95	\$16.95
31	Agua Destilada	1	Litro	\$2.54	\$2.54
32	Pegamento Super Bonder®	2	c/u	\$3.95	\$7.90
33	Discos de corte Dremel	1	36 Discos	\$0.16	\$5.95
34	Lidocaína 2%	5	Frasco 50ml	\$9.00	\$45.00
35	Solución Salina Normal	5	1000 ml	\$8.83	\$44.15
36	Laboratorio Patología (materiales)	-	-	\$130.00	\$130.00
37	Análisis anatomopatológico	-	-	\$0.00	\$0.00
	Total	-	-	-	\$2,313.52

**Tabla 4. Detalle del presupuesto general.**

## **CALENDARIO DE ACTIVIDADES.**

---

### **2008:**

**Enero-Mayo:** elaboración del protocolo.

**Junio-Julio:** recolección de materiales.

**Agosto-Noviembre:** implementación del protocolo y trabajo con los animales de experimentación.

**Noviembre:** análisis patológico.

**Diciembre:** finalización del proyecto y elaboración del documento final.

### **2009:**

**Enero:** entrega de documento final.

## **RESULTADOS.**

---

Se intervinieron 14 conejos, posterior al ser extraído el fragmento óseo de calota craneana para su análisis respectivo, los animales de experimentación se conservaron con vida.

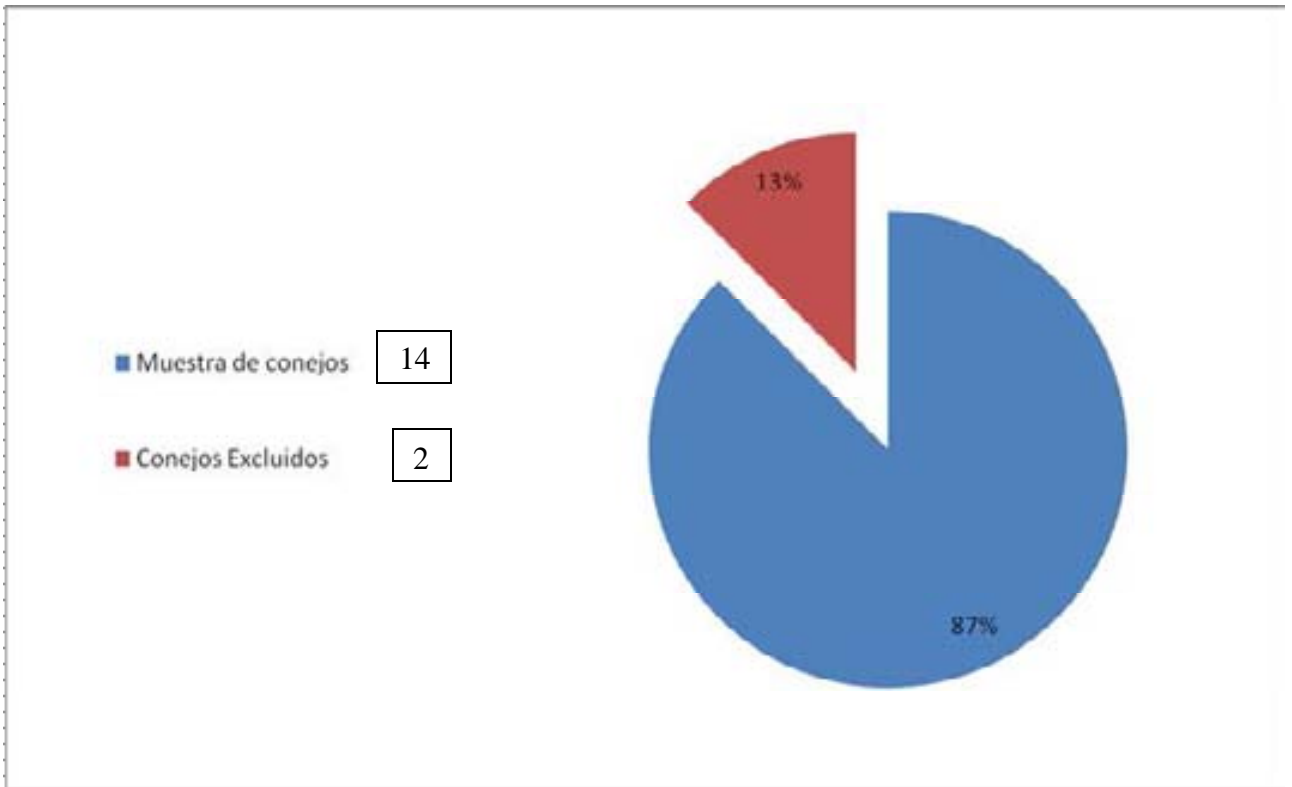
### **Grupo 1:**

8 conejos intervenidos a las 6 semanas, posterior a la reimplantación del fragmento óseo que sirvió como injerto autólogo. En 4 conejos se utilizó pegamento biológico y en los 4 restantes cianoacrilato. Un conejo fue excluido por presentar meningitis.

### **Grupo 2:**

6 conejos intervenidos a las 12 semanas, posterior a la reimplantación del fragmento óseo que sirvió como injerto autólogo. En 3 conejos se utilizó pegamento biológico y en los 2 restantes cianoacrilato. Un conejo fue excluido por presentar abombamiento de la dura madre, posterior a la primera intervención quirúrgica.

El conejo 11, que fue reimplantado utilizando cianoacrilato, al intervenirlo para extraer el fragmento óseo que iba a servir de muestra patológica, se evidenció que el fragmento original no había pegado, y se encontraba suspendido en tejido fibroso de la galea. Se extrajo ese fragmento, pero al ser una muestra tan reducida, no pudo ser procesada para su análisis histopatológico.



**Gráfica 1. Conejos que se excluyeron.**

Se excluyeron 1 conejo de cada grupo por diferentes motivos; estos dos conejos que se descartaron forman el 13% de la muestra total.

Muestra	Tipo de pegamento	Tiempo	Tejido Fibroso (40X)	Tejido Osteoide (40X)	Tejido Óseo (40X)	Osteoblastos (400X)	$\bar{x}$	Osteoclastos (400X)	$\bar{x}$	Osteocitos (400X)*	Otros hallazgos
1	B	6 sem	50%	+(1/4)	50%	32-38	35	1 a 2	1.5	29/-	Médula ósea Normal
2	B	6 sem	75%	+(3/4)	25%	32	32	1 a 2	1.5	58/51	Granulomas a cuerpo extraño con discreto infiltrado mononuclear periférico
3	B	6 sem	10%	+(0/4)	10%	0	0	0	0	66/54	Escaso tejido mieloidesin alteración
4	B	6 sem	25%	+(3/4)	75%	28-30	29	1 a 2	1.5	68/45	Médula ósea sin alteración.
5	C	6 sem	50%	+(3/4)	50%	32	32	1 a 2	1.5	62/-	No se observa médula ósea
6	C	6 sem	75%	+(3/4)	25%	28-30	29	1 a 2	1.5	54/52	Médula ósea normal periférica y en hueso nuevo. Granuloma a cuerpo extraño 40X.
7	C	6 sem	50%	+(2/4)	50%	28-30	29	1 a 2	1.5	62/-	No se observa médula ósea
8	B	12 sem	10%	+(1/4)	90%	28-30	29	1 a 2	1.5	75/45	Médula ósea sin alteración periférica y en hueso nuevo
9	B	12 sem	20%	+(3/4)	80%	32-34	33	1 a 2	1.5	80/47	Médula ósea normal
10	B	12 sem	10%	+(3/4)	90%	34-36	35	1 a 2	1.5	58/60	Médula ósea normal periférica
11	C	12 sem	0%	0	0%	0	0	0	0	0	-
12	C	12 sem	20%	+(3/4)	80%	24-28	26	1 a 2	1.5	72/-	Médula ósea escasa en tejido óseo nuevo

**Tabla 5. Resultados Patólogo 1. (P 1)**

(\*): Osteocitos: numerador, recuento en hueso nuevo; denominador, recuento en hueso normal de conejo.

(-): no se encontró hueso normal de conejo (muestra escasa).



Muestra	Tipo de pegamento	Tiempo	Tejido Fibroso (40X)	Tejido Osteoide (40X)	Tejido Óseo (40X)	Osteoblastos (400X)	$\bar{X}$	Osteoclastos (400X)	$\bar{X}$	Osteocitos (400X)*	Otros hallazgos
1	B	6 sem	60%	+(1/4)	40%	30-35	32.5	0 a 1	0.5	30/-	Médula ósea normal
2	B	6 sem	80%	+(3/4)	20%	30	30	1 a 2	1.5	58/50	Granulomas a cuerpo extraño con leve infiltrado inflamatorio crónico en la periferia
3	B	6 sem	10%	0	10%	0	0	0	0	67/53	Escaso tejido mieolide sin alteriación
4	B	6 sem	25%	+(3/4)	75%	20-28	24	1 a 2	1.5	68/45	Médula ósea normocelular.
5	C	6 sem	50%	+(3/4)	50%	30	30	1 a 2	1.5	60/-	No se observa médula ósea
6	C	6 sem	75%	+(3/4)	25%	20-25	22.5	1 a 2	1.5	53/51	Médula ósea normal periférica y en hueso neoformado. Granuloma a cuerpo extraño 40X.
7	C	6 sem	50%	+(2/4)	50%	28-30	29	1 a 2	1.5	62/-	No se observan elementos de médula ósea
8	B	12 sem	20%	+(1/4)	80%	25-30	27.5	0 a 1	0.5	73/42	Presencia de médula ósea en hueso neoformado
9	B	12 sem	25%	+(3/4)	75%	30-32	31	1 a 2	1.5	78/50	Médula ósea normal periférica
10	B	12 sem	20%	+(2/4)	80%	35-36	35.5	0 a 1	0.5	60/61	Médula ósea normal periférica
11	C	12 sem	0%	0	0%	0	0	0	0	0	-
12	C	12 sem	20%	+(3/4)	80%	25-26	25.5	1 a 2	1.5	73/-	Médula ósea escasa en hueso neoformado

**Tabla 6. Resultados Patólogo 2. (P 2)**

(\*): Osteocitos: numerador, recuento en hueso nuevo; denominador, recuento en hueso normal de conejo.

(-): no se encontró hueso normal de conejo (muestra escasa).

M	T	PEGAMENTO	TEJIDO FIBROSO (40X)			TEJIDO OSTEOIDE (40X)			TEJIDO OSEO (40X)			OSTEOBLASTOS (400X)			OSTEOCLASTOS (400X)			OSTEOCITOS (400X)*		
			P1	P2	$\bar{X}$	P1	P2	$\bar{X}$	P1	P2	$\bar{X}$	P1	P2	$\bar{X}$	P1	P2	$\bar{X}$	P1	P2	$\bar{X}$
1	6 sem	B	50%	60%	55%	25%	25%	25%	50%	40%	45%	35	33	34	2	1	1.5	$\frac{29}{0}$	$\frac{30}{0}$	$\frac{29.5}{0}$
2	6 sem	B	75%	80%	78%	75%	75%	75%	25%	20%	22%	32	30	31	2	2	2	$\frac{58}{51}$	$\frac{58}{50}$	$\frac{58}{50.5}$
3	6 sem	B	10%	10%	10%	0%	0%	0%	10%	10%	10%	0	0	0	0	0	0	$\frac{66}{54}$	$\frac{67}{53}$	$\frac{66.5}{53.5}$
4	6 sem	B	25%	25%	25%	75%	75%	75%	75%	75%	75%	29	24	27	2	2	2	$\frac{68}{45}$	$\frac{68}{45}$	$\frac{68}{45}$
5	6 sem	C	50%	50%	50%	75%	75%	75%	50%	50%	50%	32	30	31	2	2	2	$\frac{62}{0}$	$\frac{60}{0}$	$\frac{61}{0}$
6	6 sem	C	75%	75%	75%	75%	75%	75%	25%	25%	25%	29	23	26	2	2	2	$\frac{54}{52}$	$\frac{53}{51}$	$\frac{53.5}{51.5}$
7	6 sem	C	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	29	29	29	2	2	2	$\frac{62}{0}$	$\frac{62}{0}$	$\frac{62}{0}$

**Tabla 7. Datos Conjuntos Grupo 1.**

- M= Muestra.
- T= Tiempo.
- P1 = Patólogo 1.
- P2= Patólogo 2.
- $\bar{X}$  = Media.
- (\*): Osteocitos: numerador, recuento en hueso nuevo; denominador, recuento en hueso normal de conejo.

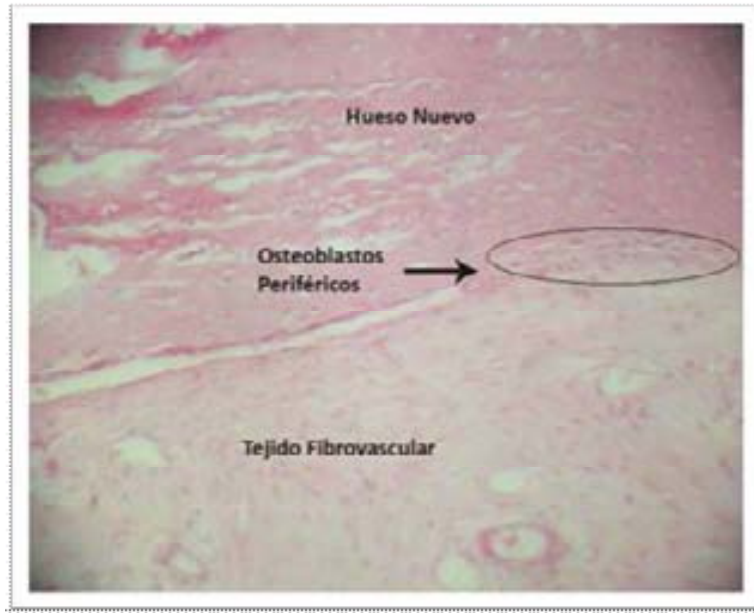
M	T	PEGAMENTO	TEJIDO FIBROSO (40X)			TEJIDO OSTEOIDE (40X)			TEJIDO OSEO (40X)			OSTEOBLASTOS (400X)			OSTEOCLASTOS (400X)			OSTEOCITOS (400X)*		
			P1	P2	$\bar{X}$	P1	P2	$\bar{X}$	P1	P2	$\bar{X}$	P1	P2	$\bar{X}$	P1	P2	$\bar{X}$	P1	P2	$\bar{X}$
8	12sem	B	10%	20%	15%	25%	25%	25%	90%	80%	85%	29	28	29	2	1	1.5	$\frac{75}{45}$	$\frac{73}{42}$	$\frac{74}{43.5}$
9	12sem	B	20%	25%	22%	75%	75%	75%	80%	75%	78%	33	31	32	2	2	2	$\frac{80}{47}$	$\frac{78}{50}$	$\frac{79}{48.5}$
10	12sem	B	10%	20%	15%	75%	75%	75%	90%	80%	85%	35	36	36	2	1	1.5	$\frac{58}{60}$	$\frac{60}{61}$	$\frac{59}{60.5}$
11	12sem	C	0	0	0	0%	0%	0%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	12sem	C	20%	20%	20%	75%	75%	75%	80%	80%	80%	26	26	26	2	2	2	$\frac{72}{0}$	$\frac{73}{0}$	$\frac{72.5}{0}$

**Tabla 8. Datos conjuntos grupo 2.**

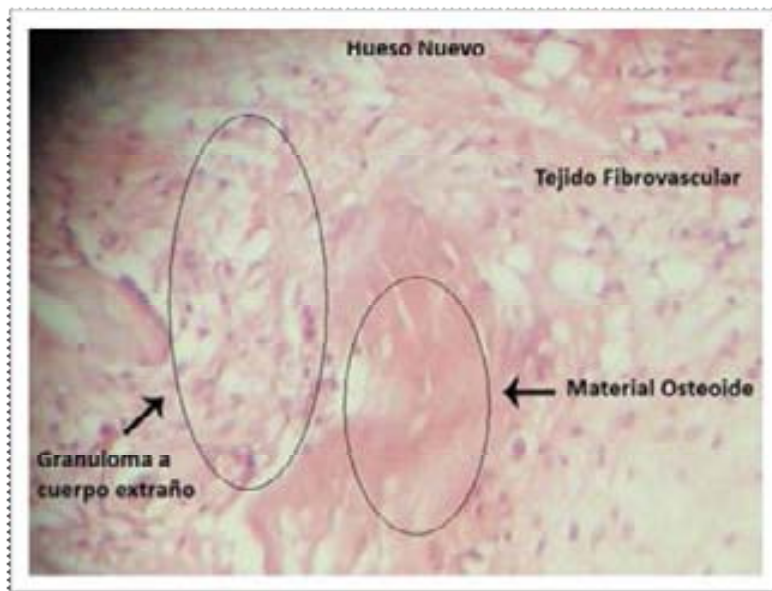
- M= Muestra.
- T= Tiempo.
- P1 = Patólogo 1.
- P2= Patólogo 2.
- $\bar{X}$  = Media.
- (\*): Osteocitos: numerador, recuento en hueso nuevo; denominador, recuento en hueso normal de conejo.

**Otros Hallazgos:**

Los siguientes hallazgos son complementarios a los descritos anteriormente en las tablas proporcionadas por los patólogos.



**Figura 40. Conejo 1.** Médula ósea normal. Hueso nuevo – osteoblastos periféricos y tejido fibrovascular.



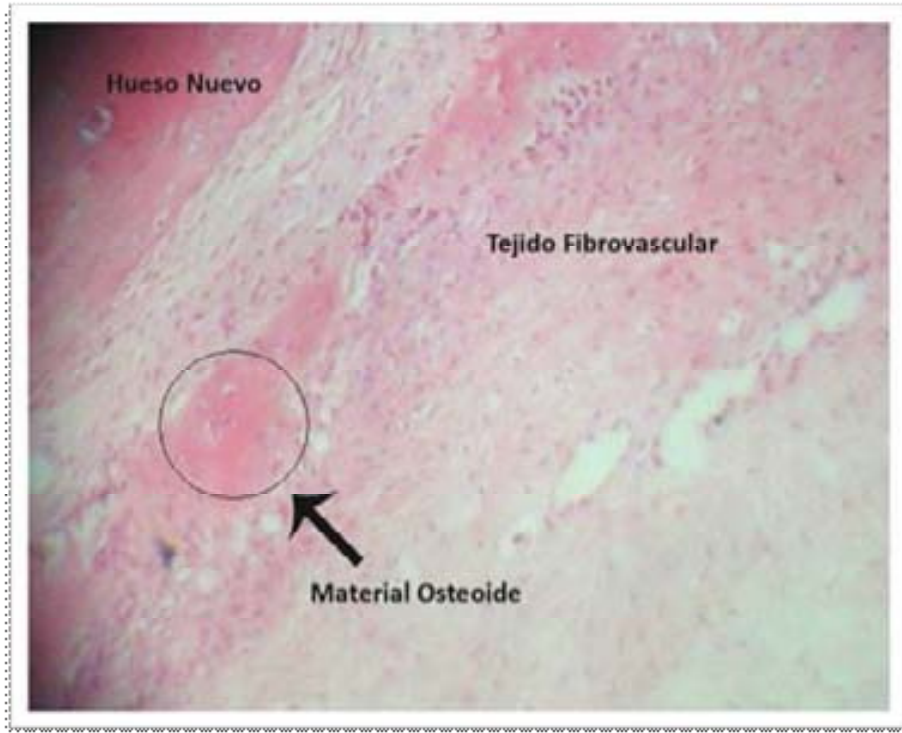
**Figura 41. Conejo 2.** Hueso nuevo. Material osteoide y tejido fibrovascular. Granulomas a cuerpo extraño con discreto infiltrado mononuclear periférico.



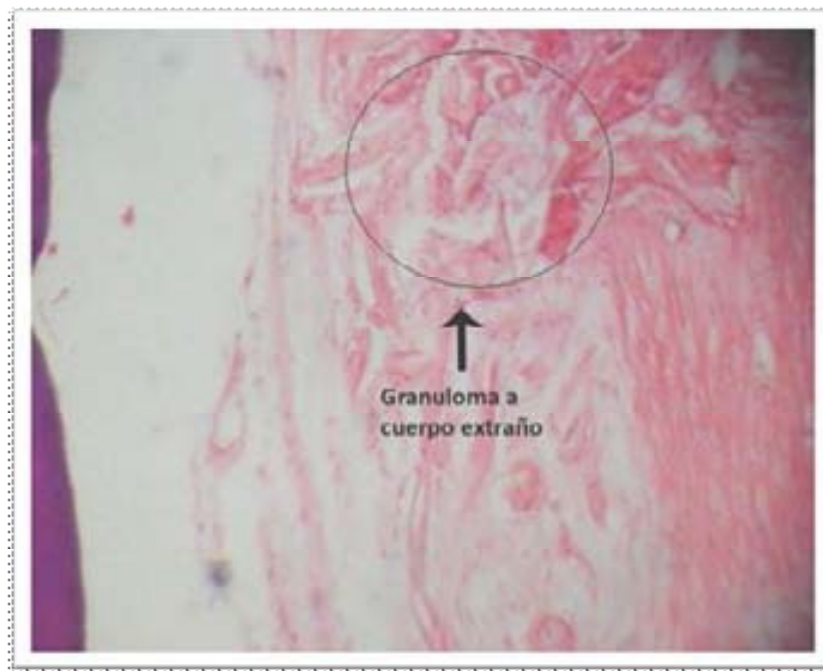
**Figura 42. Conejo 3.** Hueso maduro con tejido mieloide (escaso) sin alteración y tejido fibrovascular.



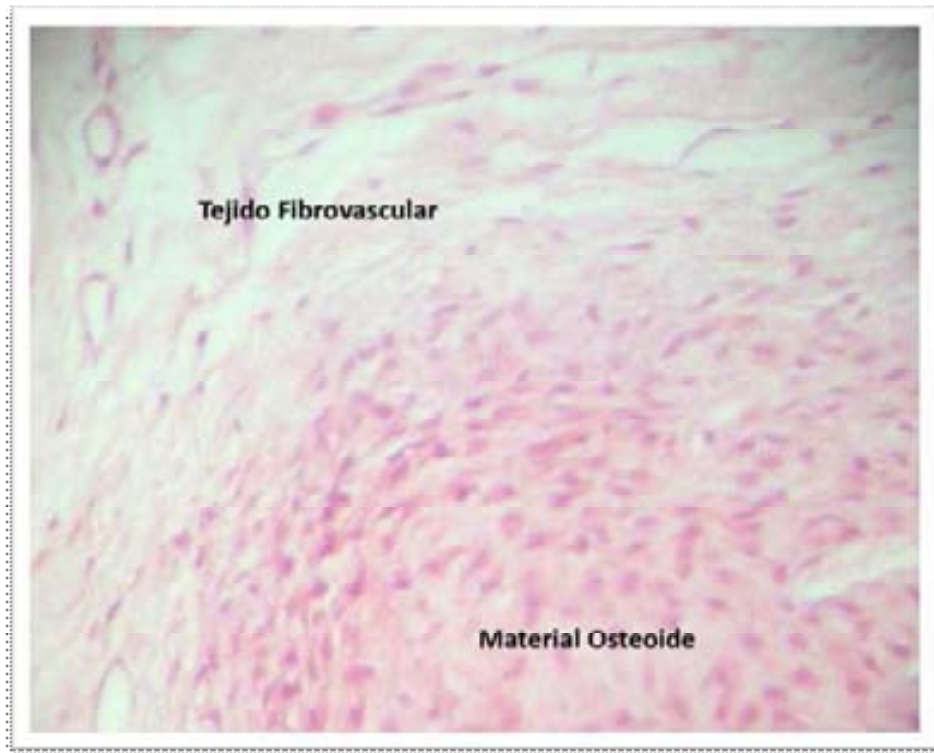
**Figura 43. Conejo 4.** Hueso nuevo maduro con médula ósea normal. Médula ósea sin alteración.



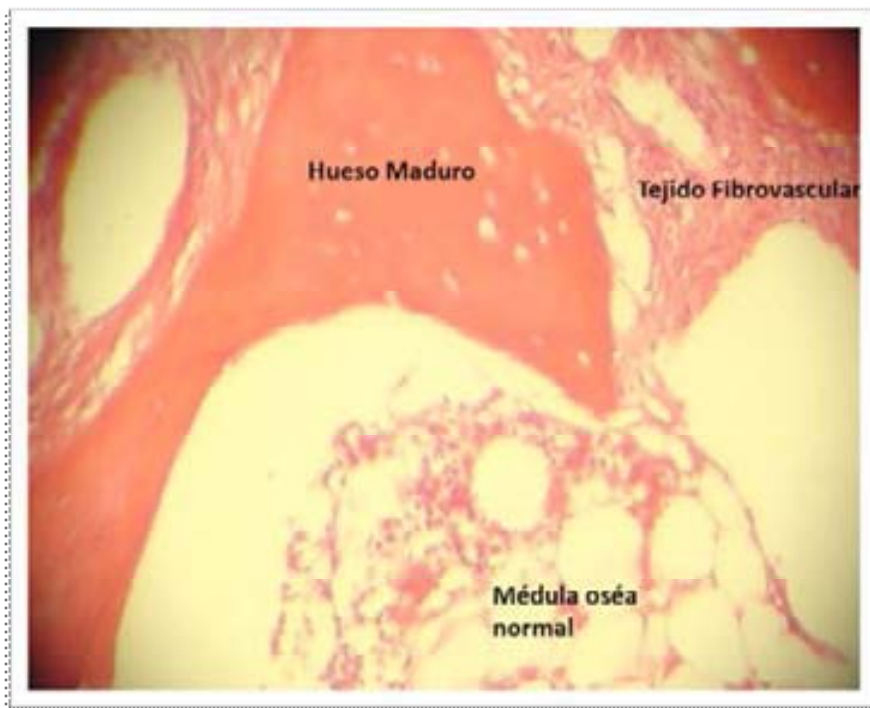
**Figura 44. Conejo 5.** Hueso nuevo. Tejido fibrovascular colagenizado y material osteoide. No se observa médula ósea.



**Figura 45. Conejo 6.** Granuloma a cuerpo extraño. (40X)

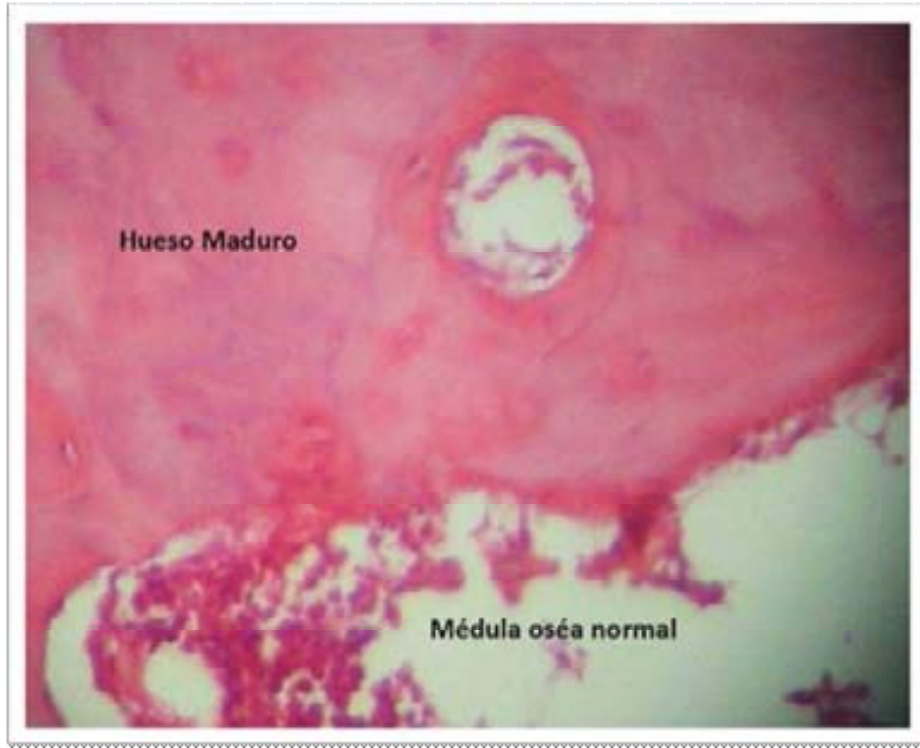


**Figura 46. Conejo 7.** Matriz ósea con tejido fibrovascular y material osteoide.  
No se observa Médula ósea.



**Figura 47. Conejo 8.** Hueso nuevo maduro con médula ósea normal y tejido fibrovascular.





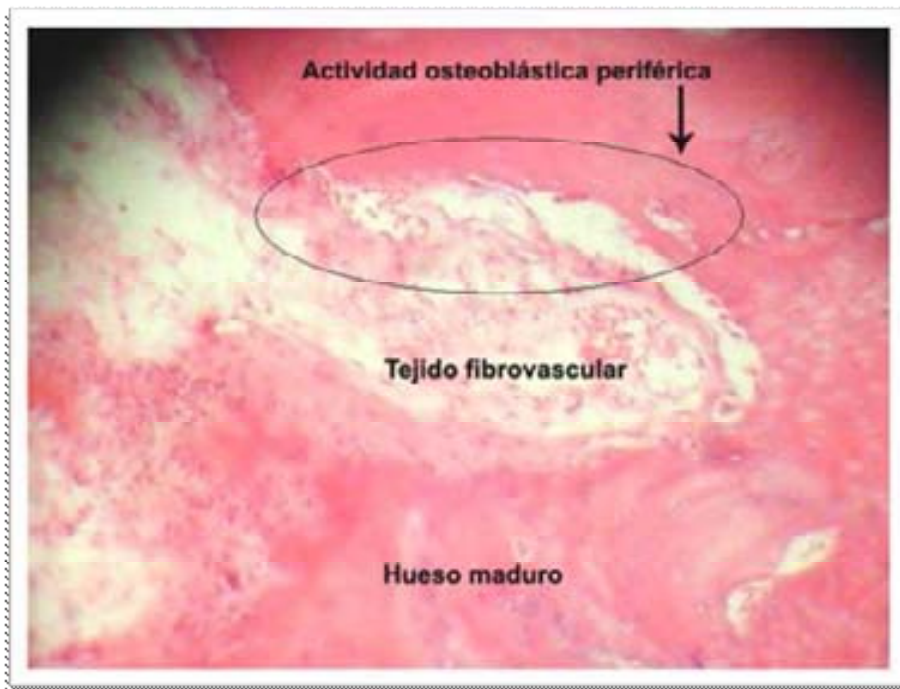
**Figura 48. Conejo 9.** Hueso maduro y Médula ósea normal.



**Figura 49. Conejo 10.** Hueso nuevo con espículas óseas, actividad osteoblástica periférica, tejido fibrovascular y granuloma a cuerpo extraño. Médula ósea normal periférica.

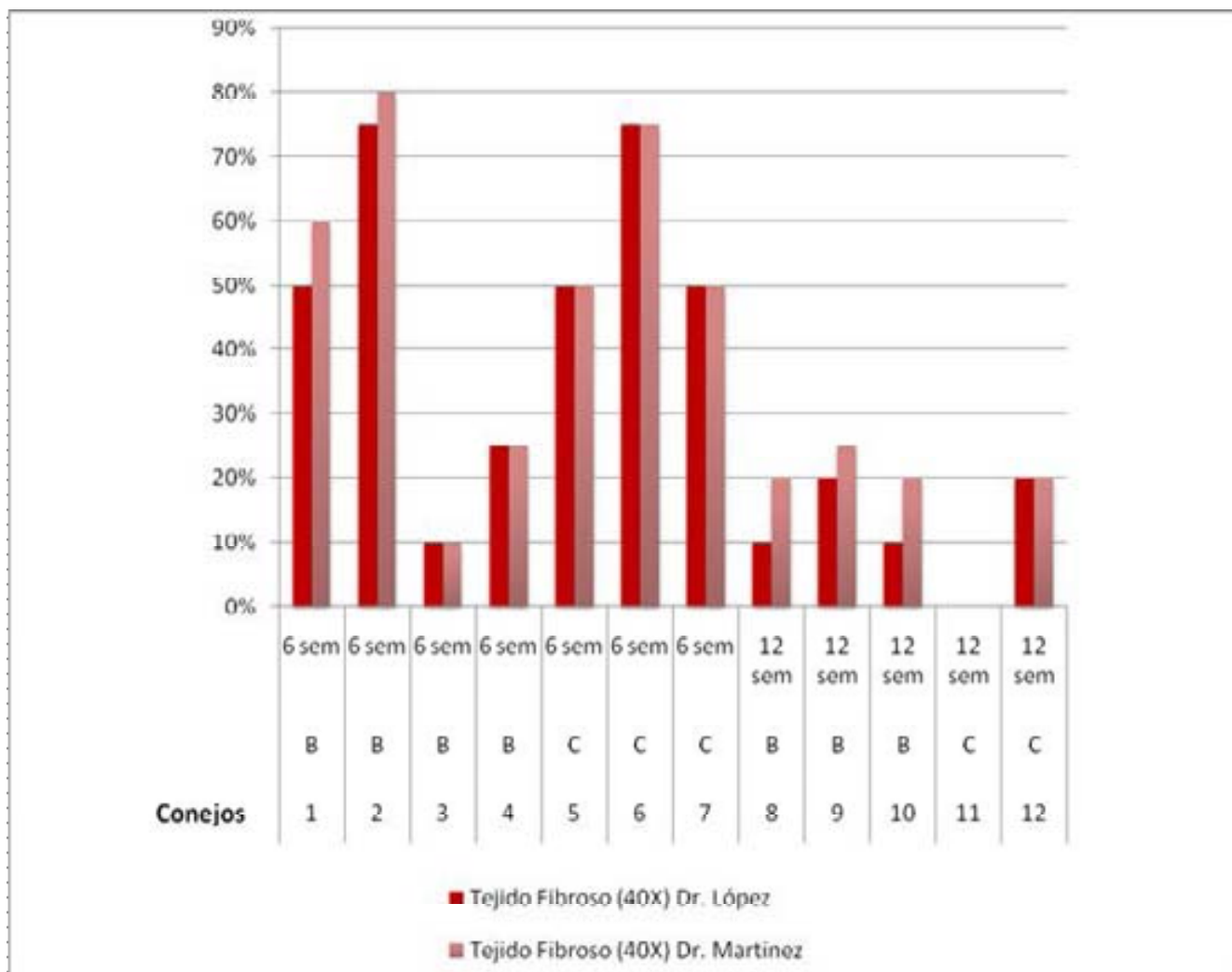


**Figura 50. Conejo 11. Muestra no procesada.**



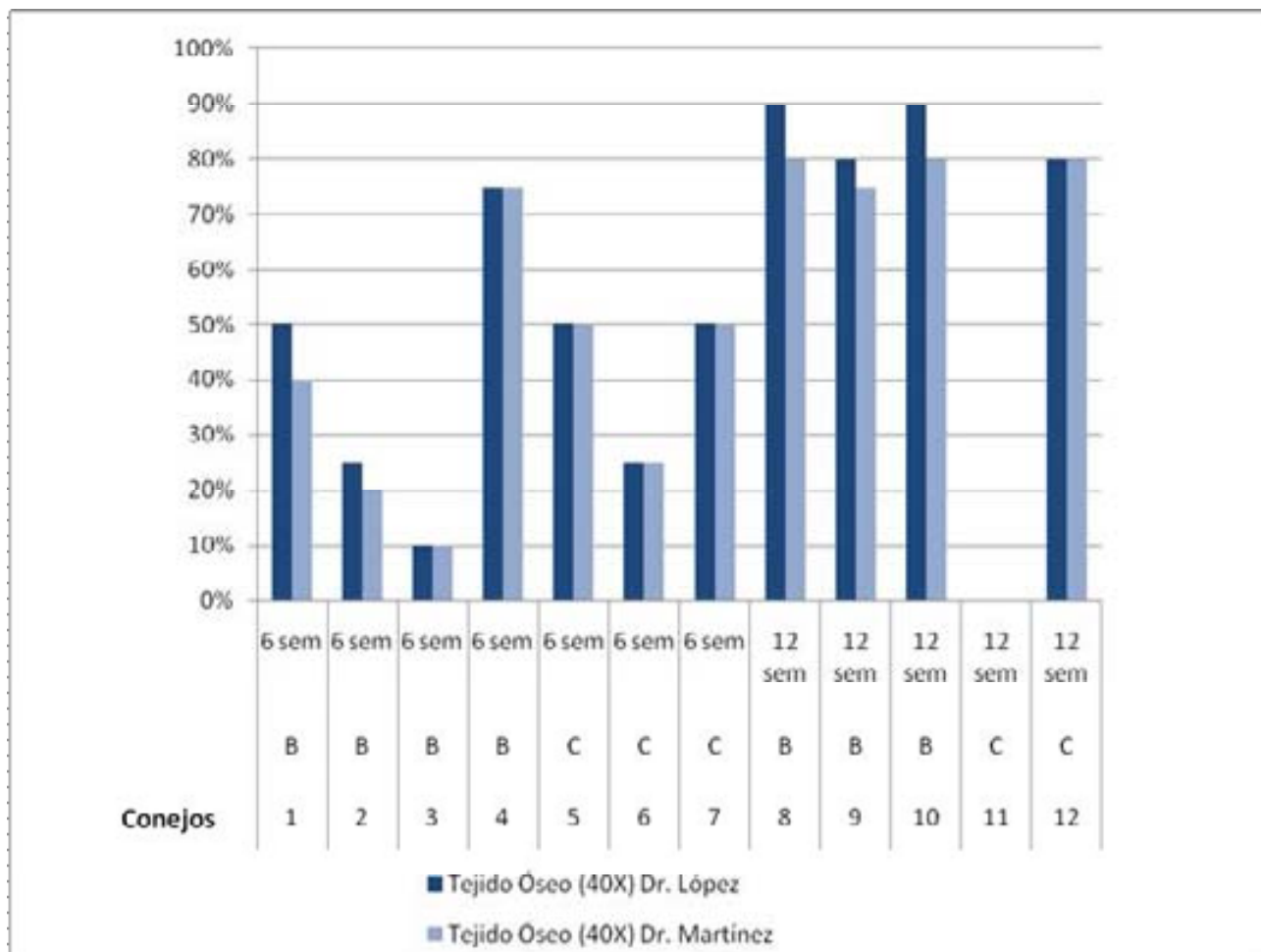
**Figura 51. Conejo 12. Hueso maduro con actividad osteoblástica periférica y tejido fibrovascular. Médula ósea escasa en tejido óseo nuevo.**

## GRÁFICAS.



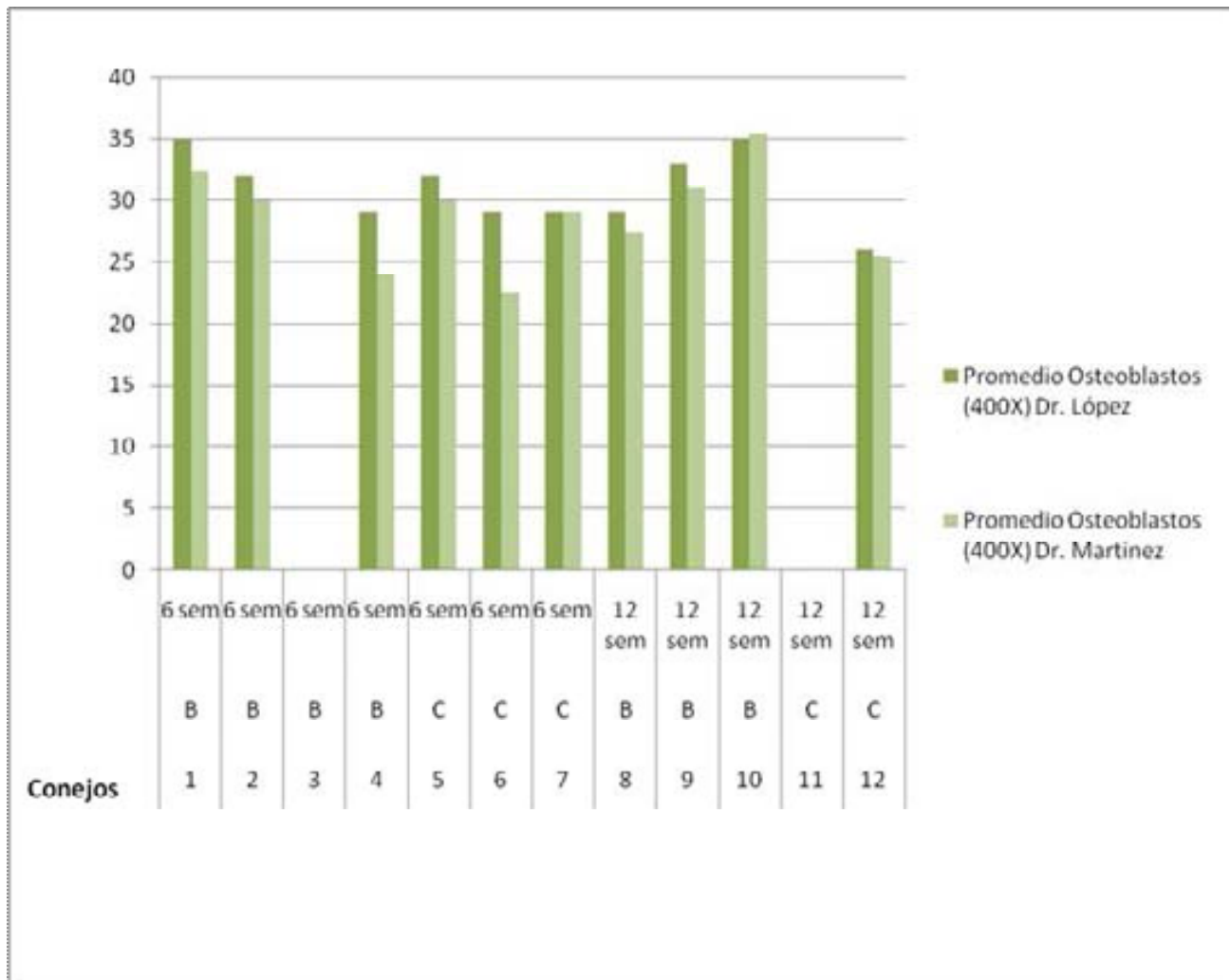
**Gráfica 2. Comparación Tejido Fibroso Dr. López – Dr. Martínez.**

Se observa que la relación de los valores entre ambos patólogos es muy similar en la mayoría de conejos. Por otro lado se observa menor cantidad de tejido fibroso en los conejos a los cuales se les intervino a las 12 semanas de poseer el injerto. No se observa mayor diferencia de un pegamento a otro.



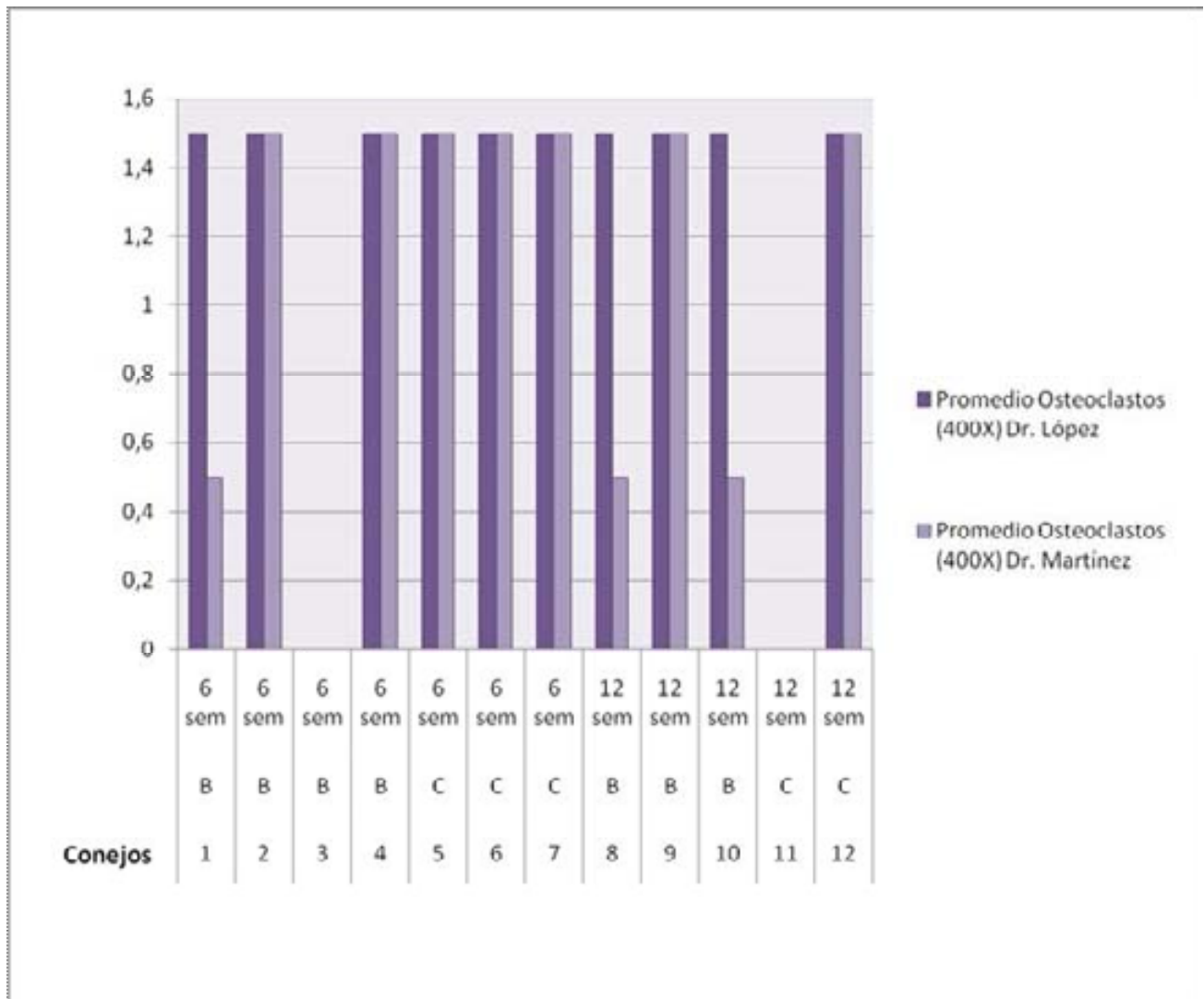
**Gráfica 3. Comparación Tejido Óseo Dr. López – Dr. Martínez.**

En el grupo de conejos de 6 semanas, se observa que ambos patólogos coinciden de forma similar en la cantidad de tejido óseo encontrado. Para el caso de los conejos de 12 semanas podemos identificar que si existe leve variación entre un patólogo y otro, observamos que hay mayor cantidad de tejido óseo en los conejos de 12 semanas que en los de 6 semanas. No se observa mayor diferencia de un pegamento a otro.



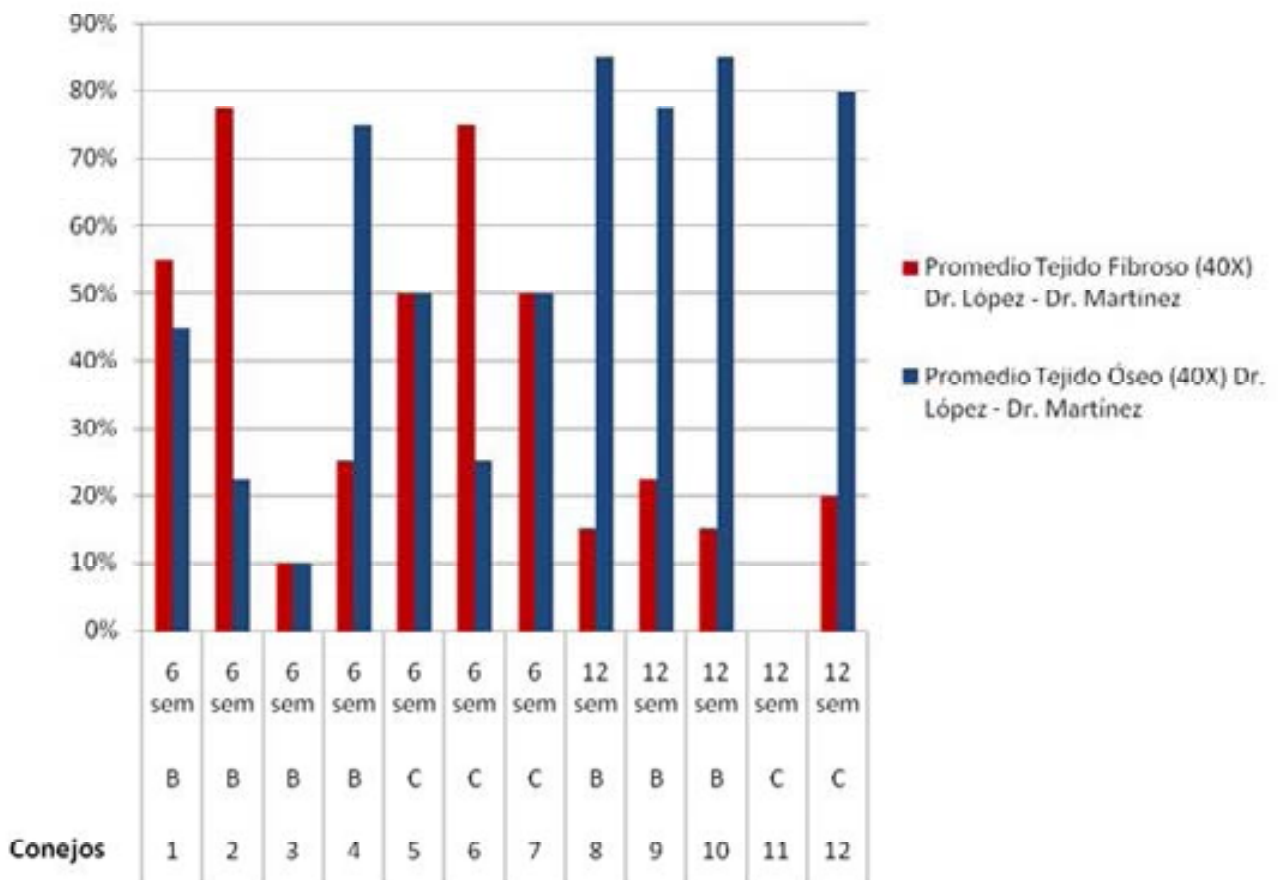
**Gráfica 4. Comparación promedio de Osteoblastos Dr. López – Dr. Martínez.**

Ambos patólogos coinciden en la cantidad de osteoblastos en cada conejo, además podemos observar que ninguno de los dos evidenció osteoblastos en los conejos 3 y 11. Sin embargo la cantidad de osteoblastos es muy similar en ambos grupos de conejos, sin importar el tiempo que poseyeron el autoinjerto de calota craneana. No se observa mayor diferencia de un pegamento a otro.



**Gráfica 5. Comparación promedio de Osteoclastos Dr. López – Dr. Martínez.**

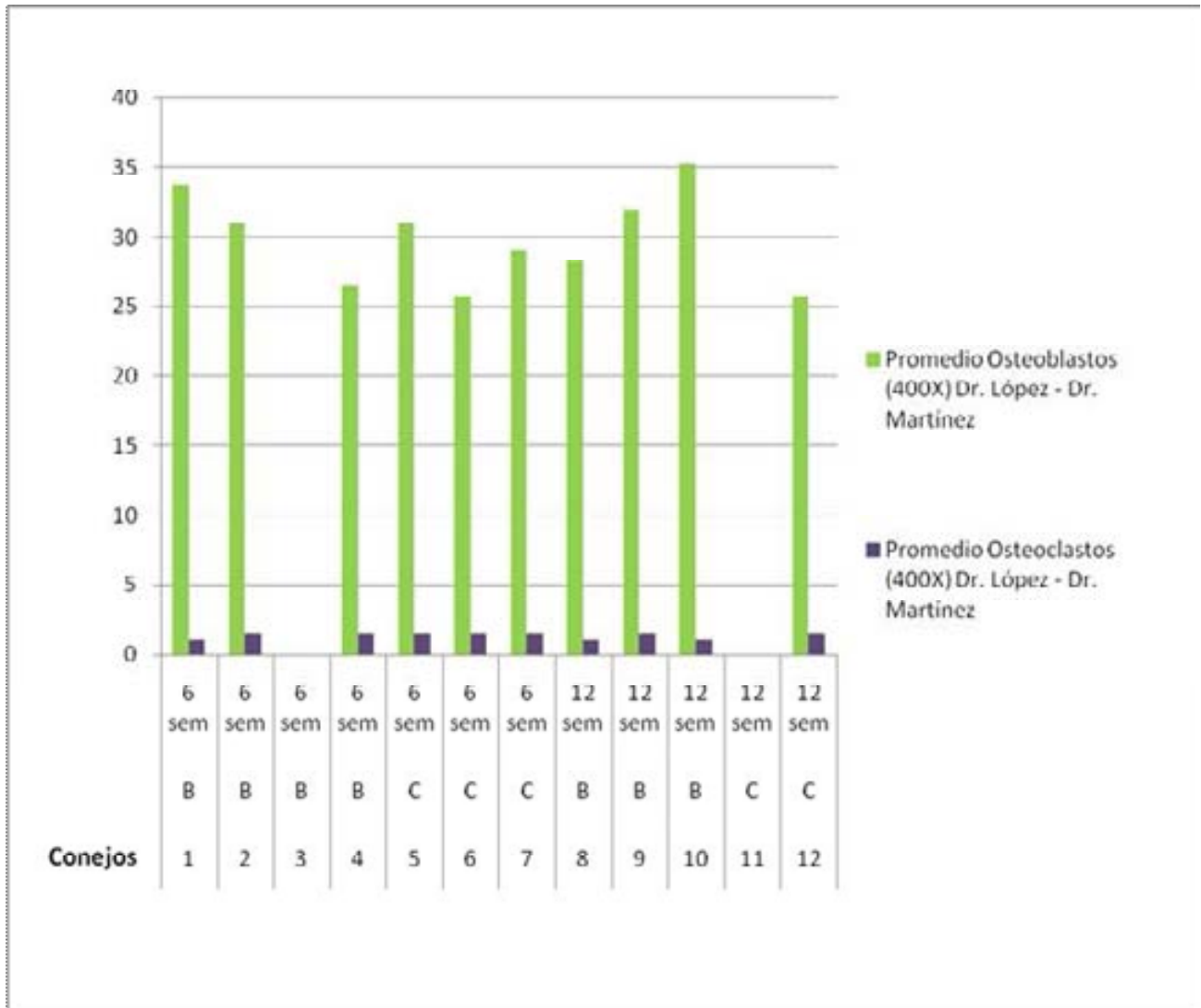
Al igual que en el gráfico anterior, ambos patólogos asemejan mucho sus resultados de la cantidad de osteoclastos, excepto en los conejos 1, 8 y 10; teniendo en cuenta que la diferencia absoluta era de un osteoclasto, ya que la mayoría de conejos presentaba entre 1 a 2 osteoclastos en un campo de 400x. En los conejos 3 y 11 no se reportan células. De la misma manera apreciamos que no hay diferencia en el tiempo tampoco. No se observa diferencia de un pegamento a otro.



**Gráfica 6. Comparación entre el Promedio de Tejido Fibroso Dr. López – Dr. Martínez y el Promedio de Tejido Óseo Dr. López – Dr. Martínez.**

Al obtener un promedio de los valores de cada patólogo en las variables de tejido fibroso y tejido óseo y realizar una comparación entre ambos, observamos que en los conejos que fueron intervenidos a las 6 semanas la cantidad de tejido fibroso es mayor o igual que la de tejido óseo. Distinto es el caso de los conejos intervenidos a las 12 semanas, en donde si se

observa una marcada diferencia en la cantidad de tejido óseo evidenciado, contra la cantidad de tejido fibroso. No se observa mayor diferencia de un pegamento a otro.

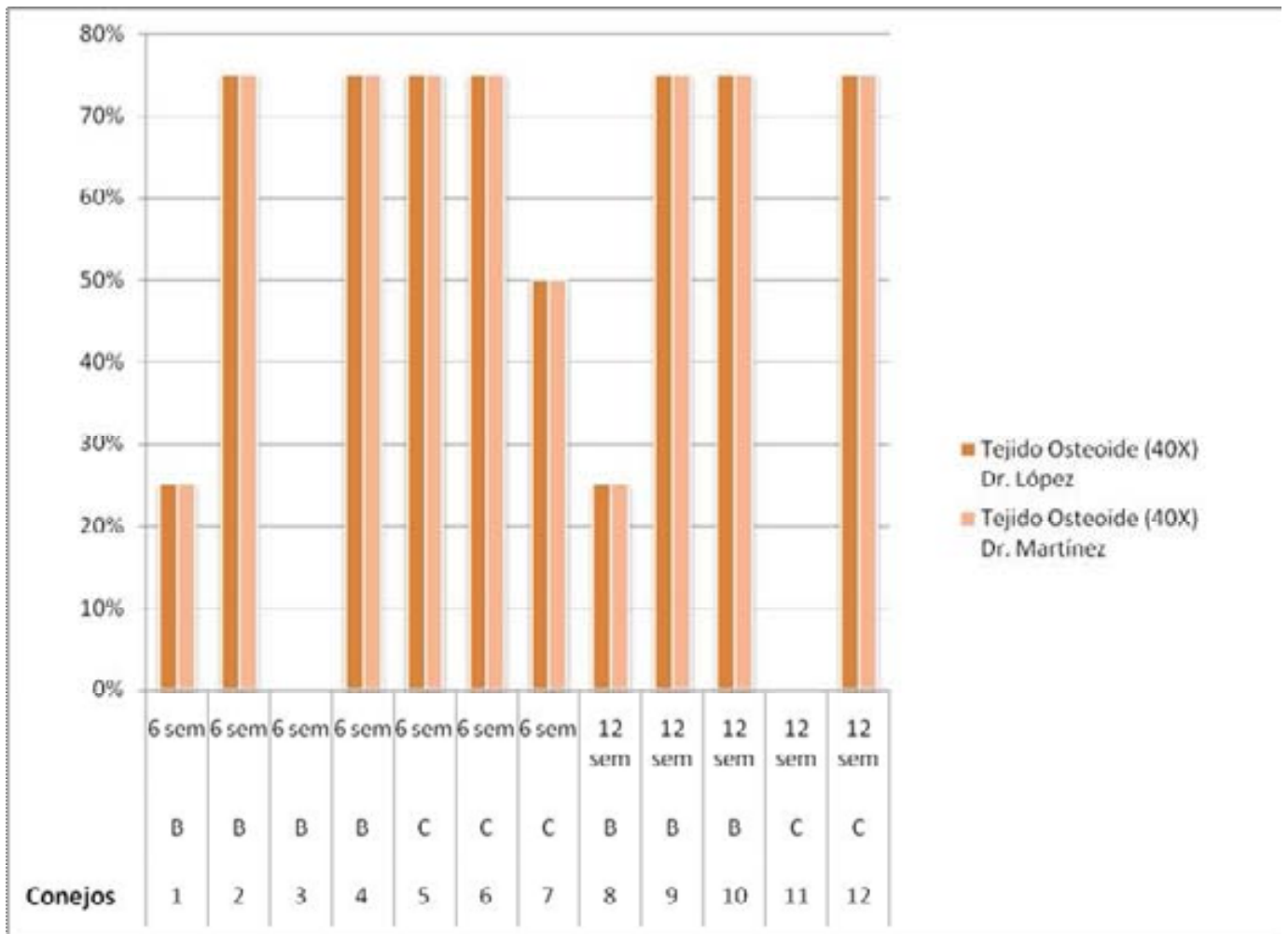


**Gráfica 7. Comparación entre el Promedio de Osteoblastos Dr. López – Dr. Martínez y el Promedio de Osteoclastos Dr. López – Dr. Martínez.**

Observamos que la cantidad de osteoblastos evidenciados por cada patólogo, es mayor que la cantidad de osteoclastos, en donde no se observa mayor diferencia en el tiempo, ni de un pegamento a otro. En los conejos 3 y 11 no se reportan células.

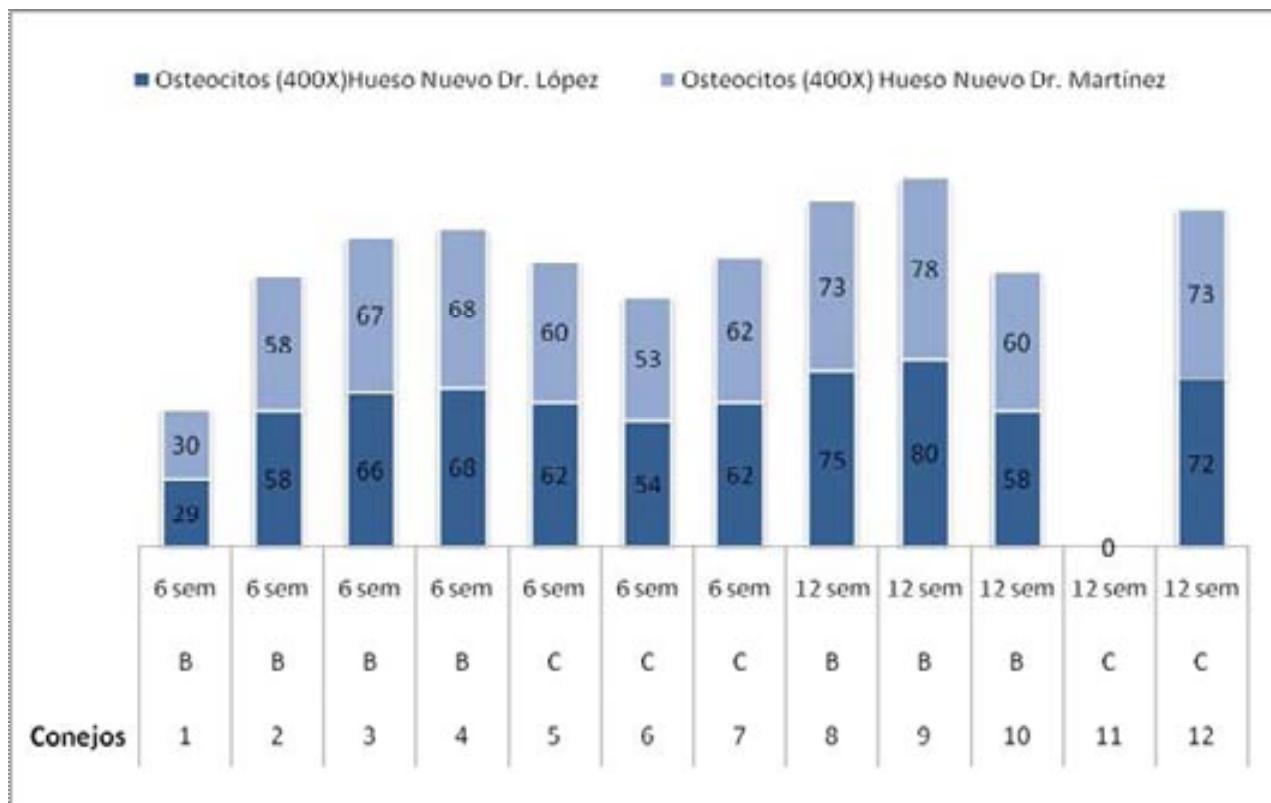






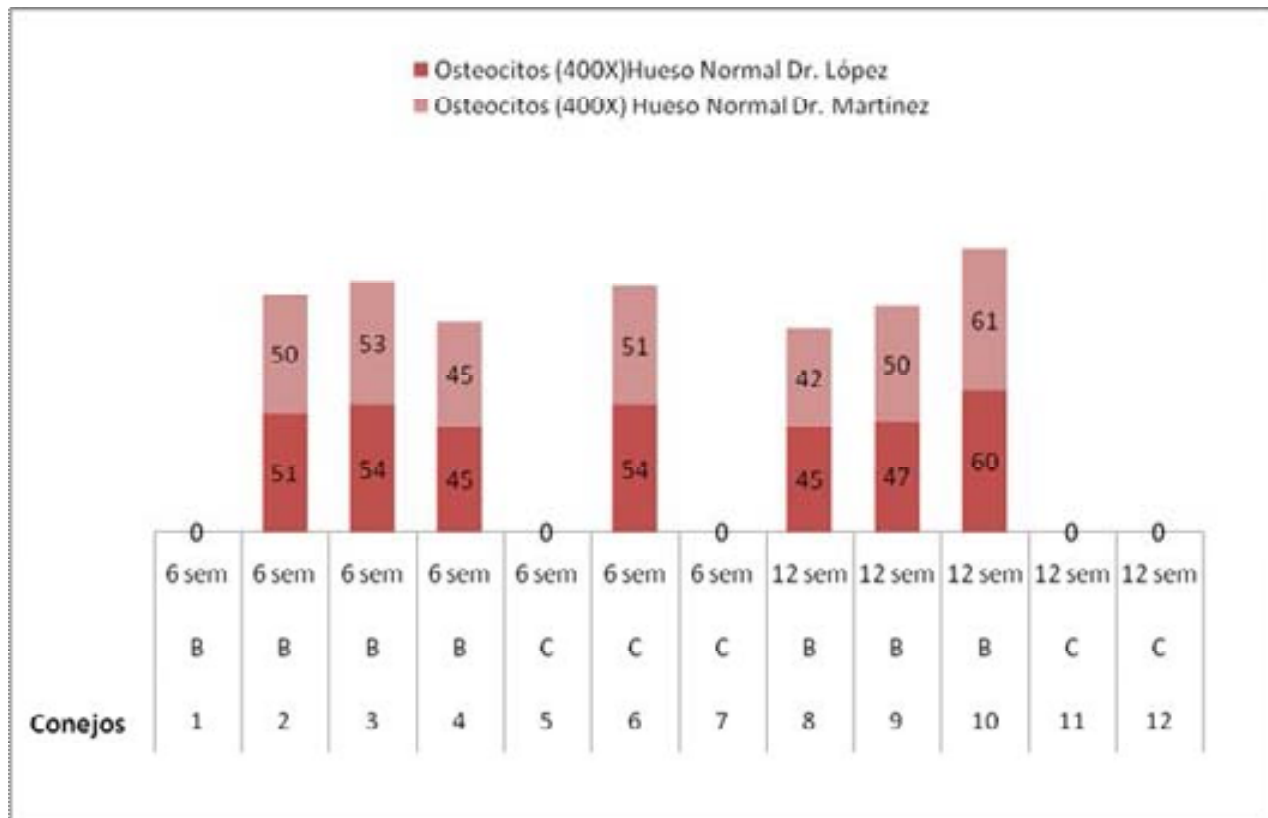
**Gráfica 8. Comparación de Tejido Osteoide Dr. López – Dr. Martínez.**

Respecto al tejido osteoide observamos que ambos patólogos concuerdan exactamente con los porcentajes para cada conejo. Cabe mencionar que los dos patólogos reportaron los resultados en base a cruces, en una escala de una a cuatro cruces, siendo cada cruz 25%. No hay mayor diferencia entre un pegamento y otro.



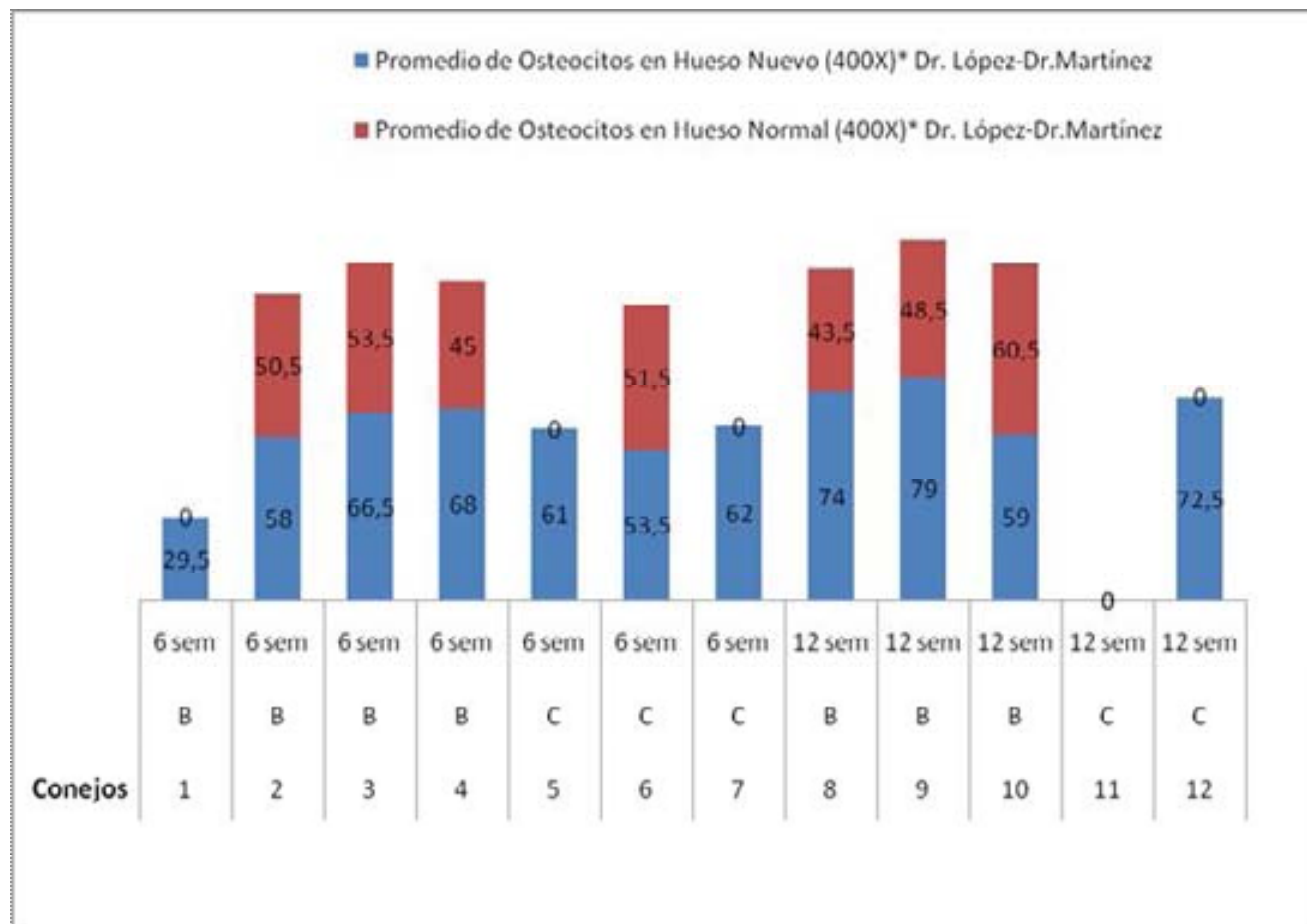
**Gráfica 9. Comparación de Osteocitos en Hueso Nuevo Dr. López- Dr. Martínez.**

Del hueso nuevo, observamos que ambos patólogos reportan datos muy similares en la cantidad de osteocitos, la variación de uno a otro es mínima, de una a dos células. La diferencia está en el tiempo de cada conejo. Los que conservaron el injerto autólogo por 12 semanas presentan más cantidad de osteocitos que los de 6 semanas. No hay mayor diferencia entre un pegamento y otro.



**Gráfica 10. Comparación de Osteocitos en Hueso Normal Dr. López- Dr. Martínez.**

Del hueso normal podemos apreciar que en los conejos 1, 5, 7, 11 y 12, no se reportan osteocitos, ya que en estas muestras el hueso normal que sirvió de control era muy escaso. En los conejos donde si se reportan osteocitos en hueso normal observamos en los resultados entre patólogos, una variación mínima.



**Gráfica 11. Comparación entre los promedios de Osteocitos en Hueso Nuevo y Hueso Normal Dr. López – Dr. Martínez.**

Observamos en todos los conejos, sin importar el tiempo de evolución, que el hueso nuevo es mayor que el normal. Pero en los conejos que conservaron el injerto autólogo por 12 semanas apreciamos que la cantidad de osteocitos en hueso nuevo es mayor que los conejos de 6 semanas. Aquí evidenciamos también que si existe una diferencia entre un pegamento y otro, aunque es mínima, porque la variación solo es de 2 a 7 células más, en los conejos a los cuales se les aplicó pegamento biológico, contrario a los que se les aplicó cianoacrilato. Esto lo podemos ver en cada grupo de tiempo.

## DISCUSIÓN.

---

En las gráficas anteriores hemos apreciado que los patólogos que realizaron el análisis histopatológico, coinciden en la mayor cantidad de datos, lo que nos indica que no hay sesgo en el análisis histopatológico. Ninguno de los dos sabía cual muestra correspondía a que conejo, ni con que pegamento había sido realizado el injerto con hueso autólogo.

El presente trabajo de investigación ha empleado los principios de fisiología, farmacología, fisiopatología y biología de trasplante óseo en cuanto a la osificación, preservación de tejidos y formación del callo óseo. Al realizarles una craniectomía a los animales de experimentación, preservando el injerto autólogo en estos mismos (subcutáneo) utilizando la técnica de conservación *in vivo* expuesta por Sansivirini F. *et al*,<sup>1,2</sup> y Movassaghi K. *et al*,<sup>17</sup> y luego empleando sustancias osteoestimulantes (pegamento biológico) versus cianoacrilato para realizar el trasplante autólogo, comparando la evolución en el tiempo de la reosificación y de los pegamentos empleados.

En ambos grupos de investigación se comparan los mismos parámetros los cuales son actividad osteogénica, dada por la relación osteoblastos-osteoclastos; la proporción tejido fibroso-tejido óseo y su relación con el tiempo, y la relación osteocitos en hueso nuevo - hueso normal.

Según el tiempo de evolución que cada autoinjerto permaneció en los conejos, 6 y 12 semanas respectivamente, hemos notado que hay diferencias en los porcentajes de tejido fibroso y tejido óseo. Esto se puede interpretar que, a mayor tiempo que el fragmento de calota craneana, que sirvió como autoinjerto, permaneció en el animal de experimentación, la posibilidad de regeneración ósea es mayor, ya que el tejido óseo que se evidencia formado a las 6 semanas sirve de base para que se forme hueso *de novo*, por lo que, los animales a los cuales se les intervino a las 12 semanas presentan menor cantidad de tejido fibroso y mayor cantidad de tejido óseo.

Esta propiedad se la debemos a que el fragmento que sirvió de autoinjerto se conservó en un medio fisiológico, donde obtenía todos los nutrientes necesarios para su preservación, y al momento de reinjertarlo, al mantener las características propias del hueso, favoreció el crecimiento de hueso nuevo, que le permitió adherirse a la calota craneana de mejor forma.

A continuación se detalla más a fondo cada grupo de investigación.

### **Grupo 1:**

En este grupo se evidencia una clara actividad osteogénica en los sujetos de experimentación determinada por la cantidad de osteoblastos ( $\bar{X}=25$  células) presentes versus la baja actividad de osteoclastos ( $\bar{X}=1.64$  células). Así mismo, el tejido osteoide presente ( $\bar{X}=54\%$ ), y la cantidad de osteocitos ( $\bar{X}=59.9/28.6$ ) también lo demuestran.

Sin embargo debido a la proporción de tejido fibroso abundante ( $\bar{X}=49\%$ ); contra la proporción de tejido óseo presente ( $\bar{X}=40\%$ ), y la presencia del tejido osteoide ( $\bar{X}=54\%$ ), así como también la de los osteocitos ( $\bar{X}=59.9/28.6$ ) se hace constar, que el hueso no ha completado su madurez ósea definitiva, debido a la evolución del tiempo en la reosificación (6 semanas).

Es importante hacer énfasis que cuando se produce una fractura ósea (en nuestro caso quirúrgica), se forma tejido de granulación por medio de una cascada de eventos celulares y de moléculas de señal; la maduración de este tejido se produce en varias semanas hasta que se forma el *callo óseo*, que más tarde será sustituido por hueso fibroso inmaduro, presente en todos los animales de experimentación y predominante en este grupo, y posteriormente es sustituido por hueso lamelar.<sup>7</sup>

En el conejo 3, en el cual no se reportaron células osteoblásticas, ni osteoclasticas, fue porque el patólogo no las pudo evidenciar en ningún campo del microscopio.

En cuanto a los conejos 2 y 6 se evidenciaron granulomas a cuerpo extraño. En el conejo 2 se utilizó pegamento biológico. Esta reacción a cuerpo extraño puede ser dada por los componentes químicos del pegamento biológico o por la reacción que estos hayan causado al mezclarlos o por la cirugía en sí. Por lo que no se puede llegar a la conclusión definitiva de este hallazgo, sin un ulterior estudio minucioso.

Por último en el conejo 6, la reimplantación del trasplante fue hecha con cianoacrilato. Este por ser material sintético esta propenso a presentar reacción inflamatoria y rechazo.

### **Grupo 2:**

Este grupo al igual que el anterior mantiene actividad osteogénica marcada ( $\bar{X}$  =25 células vs  $\bar{X}$  =1.6 células). Aunque existe una clara diferencia en cuanto al grupo anterior, esta se encuentra dada por la relación tejido fibroso - tejido óseo la cual se invierte ( $\bar{X}$  =14% versus  $\bar{X}$  =66%), siendo la de mayor proporción la de la cantidad de tejido óseo en este grupo de experimentación. Esta diferencia marcada se le atribuye al tiempo de evolución que se estipuló para la reosificación, el cual fue el doble (12 semanas). Para el caso del conejo 11 la muestra no pudo ser procesada por patología. Y el conejo 10 presentó granuloma a cuerpo extraño.

Sin embargo, debido a la cantidad del tejido osteoide ( $\bar{X}$  =55%) y a la cantidad de osteocitos presentes ( $\bar{X}$  =56.9/30.5), podemos observar que no solo hay diferencia en el tiempo, sino que también de un pegamento a otro, ya que la cantidad de células es mayor a las 12 semanas, y aunque es mínima, la cantidad de células es mayor en los conejos que se utilizó pegamento biológico.

Podemos sugerir a partir de esto, que la mezcla de pegamento biológico favorece la reosificación, a mayor tiempo de evolución.

Empleando el antecedente de Sansivirini F. *et al*,<sup>1, 2</sup> se logro demostrar que al utilizar cianoacrilato como pegamento del injerto óseo post-craniectomía se obtiene una actividad



osteogénica. Pero se comprueba lo expuesto por el mismo autor, además de los autores Matsumoto K. *et al*,<sup>3</sup> y Cervio A. *et al*,<sup>16</sup> que al emplear un pegamento biológico hecho a base de fibrina se puede obtener una mejor respuesta de reosificación en el tejido óseo trasplantado post-craniectomía.

Por lo que en nuestro caso ambos pegamentos permiten que el autoinjerto se adhiera de manera segura a la calota craneana. Por otro lado, podemos evidenciar el poder osteoinductivo de la técnica de conservación de tejidos *in vivo*, demostrada por Sansivirini F. *et al*,<sup>1,2</sup> y Movassaghi K. *et al*,<sup>17</sup> y en una muy leve medida, del pegamento biológico.

Sin embargo no se pudo observar diferencias histopatológicas entre uno y otro pegamento, que sean estadísticamente significativas. ¿Entonces donde radican sus diferencias? El cianoacrilato es fácil de obtener, fácil de aplicar, tiene un precio accesible (\$3.95), y permite que el tejido de calota craneana se adhiera de forma segura, sin embargo también existe el riesgo de toxicidad y de rechazo por ser un cuerpo extraño,<sup>2</sup> aunque no se evidencio toxicidad con ninguno de los dos pegamentos.

El pegamento biológico al utilizar las mismas sustancias del animal de experimentación, al ser una sustancia autóloga, disminuye el riesgo de reacción de cuerpo extraño y por las propiedades de las sustancias que lo conforman favorece a la regeneración ósea, al brindarles condiciones celulares idóneas al tratar de disminuir la inflamación y aumentar la oxigenación del tejido a través de vasodilatación premeditada.

Esto lo conseguimos gracias a la mezcla realizada por medio de la obtención del plasma sanguíneo, el cual al combinarlo con el gluconato de calcio, el cual sirve de catalizador de la cascada de la coagulación, permite que la protrombina pase a trombina, esta a su vez, que el fibrinógeno se convierta en fibrina, y así se forme un coágulo de fibrina. Además gracias a la vasodilatación causada por la acción del óxido nítrico, permitió mayor afluencia de sangre a la zona, lo que contribuyó a brindar mayor oxigenación y favorecer a que se formara más rápidamente el hematoma que iba a rodear el tejido del injerto, necesario para la formación de hueso nuevo. Así mismo, el Ácido Acetil Salicílico, utilizado para brindar

acidez al medio e inhibir temporalmente el grado de inflamación, contribuyó a aumentar la vasodilatación y a disminuir el proceso inflamatorio causado por la fractura quirúrgica.

Aunque esto último está sujeto a nuevas investigaciones, ya que en este experimento no podemos llegar a una conclusión estadísticamente significativa porque la muestra utilizada no es lo suficientemente grande para determinarlo, ni tampoco podemos determinar con exactitud las reacciones causadas por la mezcla de los componentes del pegamento biológico, sin realizar un análisis químico de tal.

En cuanto al precio del pegamento biológico, la inversión inicial y el proceso de fabricación es mayor que la del cianoacrilato. Sin embargo al final, para obtener 15 ml de pegamento biológico, sumando los costos de las cantidades exactas requeridas para lograrlo, resulto en \$3.31.

## CONCLUSIONES.

---

- El grado de reosificación obtenido en el grupo 1 varía del grupo 2 en cuanto al tiempo, siendo mayor en este último.
- El potencial osteoconductor de los dos pegamentos utilizados en la investigación fueron similares.
- El costo estimado de 15 ml de pegamento biológico (\$3.31), es menor al de 5 g de cianoacrilato (Súper Bonder®). (\$3.95)
- La evolución clínica de los animales de experimentación fue igual tanto en los que se utilizó cianoacrilato, como pegamento biológico.
- El número de tamaño de la muestra, no es el adecuado para demostrar significancia estadística en el experimento, ya que es difícil llevar a cabo una investigación de este tipo por las limitantes económicas, y de infraestructura, que existen en nuestra Universidad.
- La técnica de conservación de tejidos *in vivo* contribuye favorablemente a la preservación en un medio fisiológico, y a su vez al injerto del autotrasplante.
- El trasplante de hueso autólogo es una técnica válida y asequible para defectos óseos, y evita el rechazo inmunológico.

## RECOMENDACIONES.

---

- Continuar nuevas investigaciones en este campo, utilizando la técnica de conservación de tejidos *in vivo* y trasplante autólogo de hueso, con pegamento biológico.
- Experimentar comparando ambos pegamentos, empleando como mínimo 15 conejos por grupo, y con un tiempo de evolución no menor a 12 semanas de posesión del injerto autólogo trasplantado.
- Investigar a profundidad el pegamento biológico, para observar su comportamiento *in vitro* e *in vivo*, para poder determinar si es un factor crucial en la osteoinducción de hueso nuevo, al momento de realizar trasplantes óseos.
- Aunque durante el estudio no se evidencio toxicidad con ninguno de los dos pegamentos, determinar en futuras investigaciones las propiedades farmacológicas y tóxicas, de cada uno de estos.
- Diseñar nuevos estudios para comprobar la utilización de una cola de fibrina en otros tejidos diferentes al hueso, como músculo, piel, vasos sanguíneos y nervios.
- Realizar ulteriores investigaciones comparando diferentes técnicas de trasplante (autoinjerto *vrs* aloinjerto), utilizando la misma técnica de conservación de tejidos *in vivo*, y el pegamento biológico.
- Brindar mayor apoyo a los estudiantes para realizar este tipo de investigaciones, por parte de la universidad, e instituciones relacionadas con la salud.

•

## **BIBLIOGRAFÍA.**

---

1. Sansivirini F., Segura V., Rodríguez V., Sotello D., González R., Mendoza M., et al. Estudio experimental en Conejos comparando la viabilidad del injerto autólogo del hueso craneal conservado *in vivo versus* la conservación en congelación previa esterilización en autoclave. Libro de resúmenes Congreso Latinoamericano de Neurocirugía (CLAN) 2004, P 82.
2. Sansivirini F., Segura V., Rodríguez V., Sotello D., González R., Mendoza M., et al. Estudio experimental en conejos comparando la re-osificación en injertos autólogos de calota usando pegamento biológico previa esterilización con óxido de etileno *versus* cianoacrilato previa esterilización en autoclave. Libro de resúmenes (CLAN) 2004, P 83.
3. Matsumoto K, Kohmura E, Kato A, Hayakawa T. Restoration of small bone defects at craniotomy using autologous bone dust and fibrin glue. *Surg Neurol* 1998; 50:344–6.
4. Shand J. M., A. A. C. Heggie, A. D. Holmes, W. Holmes: Allogeneic bone grafting of calvarial defects: an experimental study in the rabbit. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2002; 31: 525–531.
5. Sabiston D. C., Jr., M.D., et al., *Textbook of Surgery: The Biological Basis of Modern Surgical Practice*, 15th Edition, 1997; XII: 497-499; XX: 455-456.
6. Guyton A. C., M.D., et al., *Tratado de Fisiología Medica*, 10ª Edición, 2001; 79:1082-1087.
7. Cotran R. S., M. D., Kumar V., M.D., Path F. R. C..., Collins T., M.D., Ph.D. *Robbins Patología Estructural y Funcional*, 6ª Edición, 2000, 28:1260-1263, 1274-1276.
8. J. Vaquero, *Neurología Quirúrgica*, Vol. II, 1988; XXIV: 326-327.
9. Varela-Hernández A., Cerron V., Herrera O., Infante J., García-Calzada J., F. Casares, et al. Hipertensión endocraneal. *REV NEUROL* 2002; 34(12): 1152-1161.

10. Smith Andrew H., MD, Bach Bernard R., Jr., MD, and Bush-Joseph Charles A., MD: Allograft for revision ACL reconstruction: The Rush Experience. *Sports Med Arthrosc Rev* 2005; 13:86–92.
11. Gajiwala Lobo, AgarwaM. I, A. Puri, D’Lima C. & Duggal A.: The use of irradiated allografts in reconstruction of tumor defects – the Tata Memorial Hospital experience. *Cell and Tissue Banking* 4: 125–132, 2003.
12. Moreno José, Forriol Francisco: Effects of preservation on the mechanical strength and chemical composition of cortical bone: an experimental study in sheep femora, *Biomaterials* 23 (2002) 2615–2619.
13. Shin S., Yano H., Fukunaga T., Ikebe S., Shimizu K., Kaku N., et al: Biomechanical properties of heat-treated bone grafts, *Arch Orthop Trauma Surg* (2005) 125: 1–5.
14. Segur Josep M., Suso Santiago, Garcia Sebastian, Combalia Andres, Farinas Oscar & Llover Antoni: The procurement team as a factor of bone allograft contamination, *Cell and Tissue Banking* 1: 117–119, 2000.
15. Nunamaker D. M. and Rhinelander F. W.: Bone Grafting, Textbook of Small Animal Orthopaedics, International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA, (1-Jan-1985).
16. Cervio Andrés, Urbina, Pirolo Claudio Gustavo, Fuster Cristian, Morello Fernando: Craneoplastia suboccipital retrosigmoidea con hueso autólogo y Tissucol® en cirugía resectiva de neurimomas vestibulares, *Rev.Argent. Neuric.* 2004; 18: 171.
17. Movassaghi Kiya, M.D., D.M.D., Halen Jon Ver, M.D., Ganchi Parham, M.D., Ph.D., Sepi Amin-Hanjani, M.D., Mesa John, M.D., Yaremchuk Michael J., M.D.: Cranioplasty with Subcutaneously Preserved Autologous Bone Grafts, *Plast. Reconstr. Surg.* 117: 202, 2006.
18. Fleith S., Ponche A., Bareille R., Amedee J., Nardin M.: Effect of several sterilisation techniques on homogeneous self assembled monolayers, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 44 (2005) 15–24.
19. Salai Moshe, Brosh Tamar, Keller Natan, Perelman Marina, Dudkiewitz Israel: The effects of prolonged cryopreservation on the biomechanical properties of bone allografts: A microbiological, histological and mechanical study, *Cell and Tissue Banking* 1: 69–73, 2000.

20. Terragno R., Cerda N., Lopez O., Valdes I.: Esterilización con oxido de etileno, Bol. AAM 163, 2004.
21. Lenz Jan-Hendrik, Henkel Kai-Olaf, Hingst Volker, von Versen Rudiger, Gundlach Karsten K.H.: Reconstruction of the frontal calvarian continuity in a child using a freeze-preserved autogenous bone graft, *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* (2003) 31, 154–158.
22. Steinberg Ely L., Luger Elhanan, Zwas Tila and Katznelson Alexander: Very long-term radiographic and bone scan results of frozen autograft and allograft bone grafting in 17 patients (20 grafts) a 30- to 35-year follow-up, *Cell and Tissue Banking* 5: 97–104, 2004.
23. Měřička Pavel: Brief history of the tissue bank, Charles University Hospital, Hradec Králové, Czech Republic, *Cell and Tissue Banking* 1: 17–25, 2000.
24. Actis A. B., Obwegeser J. A., Ruperez C.: Influence of Different Sterilization Procedures and Partial Demineralization of Screws Made of Bone on their Mechanical Properties, *Journal of biomaterial applications* Volume 18 — January 2004, 193.
25. Fantner Georg E., Birkedal Henrik, Kindt Johannes H., Hassenkam Tue, Weaver James C., Cutroni Jacquelin A., *et al.*: Influence of the degradation of the organic matrix on the microscopic fracture behavior of trabecular bone, *Bone* 35 (2004) 1013– 1022.
26. Kruyt M., Dhert W., Oner C., C. Blitterswijk van, Verbout A., Bruijn J.: Osteogenicity of autologous transplants in the goat. Vol. 77, 504–509, No. 4, February 27, 2004.
27. Manabe Jun, MD, PhD, Ahmed Adel Refaat, MD, DMSc, Kawaguchi Noriyoshi, MD, PhD, Matsumoto Seiichi, MD, PhD, and Kuroda Hiroshi, MD, PhD: Pasteurized Autologous Bone Graft in Surgery for Bone and Soft Tissue Sarcoma. *Clin Orthop* 2004; 419:258–266.
28. Sheikh Bassem Y., MD, FRCS: Simple and safe method of cranial reconstruction after posterior fossa craniectomy. *Surgical Neurology* 65 (2006) 63– 66.
29. Pruss Axel, Baumann Barbara, Seibold Michael, Kao Moujahed, Tintelnot Kathrin, Rudiger von Versen, *et al.*: Validation of the Sterilization Procedure of Allogeneic

- Avital Bone Transplants Using Peracetic Acid–Ethanol. *Biologicals* (2001) 29, 59-66.
30. Vastel L., Meunier A., Siney H., Sedel L., Courpied J.-P.: Effect of different sterilization processing methods on the mechanical properties of human cancellous bone allografts. *Biomaterials* 25 (2004) 2105–2110.
  31. Navas José & Soto Camilo: The Colombian experience in tissue banking: The bone and tissue bank of the Cosmos and Damian Foundation, Bogota. *Cell and Tissue Banking* 4: 157–161, 2003.
  32. Gajiwala A. Lobo: Tissue banking in India: Gamma-irradiated allografts. *Cell and Tissue Banking* 4: 203–211, 2003.
  33. Vakis Antonis, Koutentakis Dimitris, Karabetsos Dimitris, Kalostos George: Use of polytetrafluoroethylene dural substitute as adhesion preventive material during craniectomies. *Clinical Neurology and Neurosurgery* xxx (2005) xxx–xxx.
  34. Actis A. B., J. Obwegeser A., Ruperez C.: Volume Variations of Bone Tissue after Undergoing Different Physical and Chemical Treatments. *Journal of biomaterial applications* Volume 17 — July 2002, 71.
  35. World Medical Association Declaration of Helsinki, Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, Adopted by the 18th WMA General Assembly, Helsinki, Finland, June 1964, and amended by the 29th WMA General Assembly, Tokyo, Japan, October 1975, 35th WMA General Assembly, Venice, Italy, October 1983, 41st WMA General Assembly, Hong Kong, September 1989, 48th WMA General Assembly, Somerset West, Republic of South Africa, October 1996 and the 52nd WMA General Assembly, Edinburgh, Scotland, October 2000, Note of Clarification on Paragraph 29 added by the WMA General Assembly, Washington 2002, Note of Clarification on Paragraph 30 added by the WMA General Assembly, Tokyo 2004, Document 17.C.
  36. The Congress, Animal Welfare Act as Amended (7 USC, 2131-2156).
  37. Office of Laboratory Animal Welfare, National Institutes of Health, Public Health Policy on Humane Care and Use of Laboratory Animals.



38. Office of Laboratory Animal Care, Guidelines for Anesthesia and Analgesia in Rodents and Rabbits Revised January 2006 Approved by the Animal Care and Use Committee January 2006.
39. All-University Committee on Animal Use and Care Michigan State University East Lansing, Michigan, Guidelines for the use of Anesthetics, Analgesics and Tranquilizing agents, 3<sup>rd</sup> Edition, 2005.
40. Portland Veterans Affairs Medical Center Subcommittee on Animal Studies (PVAMC SAS), Animal Care and Use Guidelines for Anesthesia, Analgesia and Tranquilization, August, 2002.
41. American Veterinary Medical Association, AVMA Guidelines on Euthanasia, June 2007.
42. All-University Committee on Animal Use and Care Michigan State University East Lansing, Michigan, Guidelines for Euthanasia, 2<sup>nd</sup> Edition, 2002.
43. Villanueva P. et al: Craniectomía descompresiva, Cuadernos de Neurocirugía, Universidad Católica de Chile, Vol. XXV, 2001, <http://escuela.med.puc.cl/publ/cuadernos/2001/13.html>
44. Benito J. C., Puig A. G., La respuesta inmunitaria en el trasplante de aloinjertos óseos, *Inmunología* 19: 148-155, 2000.
45. Langman, T.W. Sadler, Ph.D. Embriología médica con orientación clínica, 9<sup>a</sup> Ed., 2004; 8: 181-186.
46. James D. Fix. Ph.D. High Yield Neuroanatomy, 1<sup>st</sup> Ed., 1995, 2:7-8.
47. Ross M., Ph. D.; Romrell L., Ph. D.; Kaye G., Ph. D., Histología: Texto y Atlas Color, 3<sup>o</sup> Ed., Panamericana 1998, 8:148-167. 9:186-187.
48. Vanaclocha V., Bazan A., Saiz-Sapena N., Paloma V., Idoate M.: Use of Frozen Cranial Vault Bone Allografts in the Repair of Extensive Cranial Bone Defects. *Acta Neurochir (Wien)* (1997) 139:653-660.
49. Loctite Corporation U.S.A., Loctite: Laboratory Data Sheet Product 190848, Industrial Products, Dic. 2000. <http://es.wikipedia.org/wiki/Cianoacrilato>.
50. Sigma product information. Product number p 4780, ICI Americas Inc. 10/03.
51. Gustav Heess Hojas de seguridad según 91/155/CEE, Oleochemische Erzeugnisse, Seit 1897.

52. <http://www.cun.es/areadesalud/medicamentos/piel/emolientes-y-protectores-dermatologicos/glicerol-via-topica/>
53. Beatriz Sánchez Hernández, Lic. Mecanismo de acción del óxido nítrico en el Organismo y su acción como agente terapéutico. Revista Mexicana de Enfermería Cardiológica Vol. 11, 2003, Numero 2, 72-76.
54. [http://es.wikipedia.org/wiki/%C3%93xido\\_n%C3%ADtrico](http://es.wikipedia.org/wiki/%C3%93xido_n%C3%ADtrico)
55. [http://www.aspirina.com/aspirinaProf/default\\_aspirina.htm](http://www.aspirina.com/aspirinaProf/default_aspirina.htm)
56. <http://www.rxlist.com/calcium-gluconate-drug.htm>
57. <http://www.euroresidentes.com/Alimentos/vitaminas/vitamina-e.htm>
58. <http://www.dremel.com/ess/AttachmentsAndAccessories/Pages/AttachmentsDetail.aspx?pid=409>.
59. <http://www.quiromasaje.jarcia.net/Atlas/Huesos%20Generalidades.htm>.
60. Ferrer Cabañate J, Tovar I Martínez: Osteoprotegerina y Sistema RANKL/RANK ¿el futuro del metabolismo óseo? Anales de Medicina Interna 2002 vol. 19, N<sup>o</sup> 8, pág. 385-388.
61. Cecilia M. Cortijo. Dra., María M. Zambrano. T.M: Manual de Procedimientos de Laboratorio en Técnicas Básicas de Hematología. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. 2005. Serie de normas técnicas N<sup>o</sup> 40. pág.46.
62. Luis J. Huaroto. Dr., Lesiones traumáticas, Ortopedia y Traumatología. [http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtualData/Libros/Medicina/cirugia/Tomo\\_II/pdfs/cfase07.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtualData/Libros/Medicina/cirugia/Tomo_II/pdfs/cfase07.pdf)

# TRASPLANTE AUTÓLOGO DE HUESO CRANEAL CONSERVADO *IN VIVO* Y REIMPLANTADO UTILIZANDO PEGAMENTO BIOLÓGICO *VERSUS* CIANOACRILATO.

**Autores:**

Manuel Eduardo Mendoza Ruano.  
Juan José Menjivar Flores.

**Asesor:**

Dr. Francisco Sansivirini, M.D. Ph.D.



# INTRODUCCIÓN.

- ▶ La utilización de injerto autólogo fresco de calota craneana es superior a cualquier forma de craneoplastia (conservación *in vivo*).<sup>1,2</sup>
- ▶ En El Salvador, solo hay dos estudios que demuestran que tipo de técnica de preservación de tejido óseo es mejor.<sup>3, 4</sup>



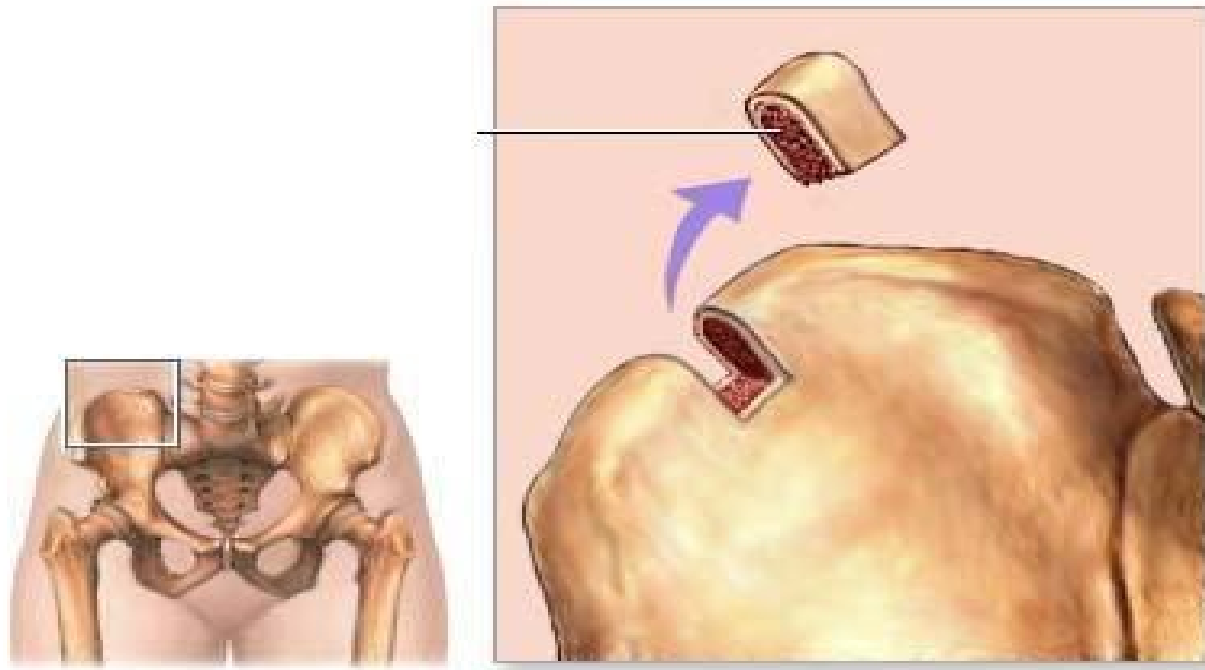
1. Nunamaker *et al*: Bone Grafting, Textbook of Small Animal Orthopaedics, (1-Jan-1985).
2. Movassaghi *et al*: *Plast. Reconstr. Surg.* 117: 202, 2006.
3. Sansivirini *et al*: Libro de resúmenes Congreso Latinoamericano de Neurocirugía (CLAN) 2004, P 82.
4. Sansivirini *et al*: Libro de resúmenes (CLAN) 2004, P 83.

- ▶ Proveer al sistema de salud de El Salvador una opción terapéutica costeable y real, basada experimentalmente.
- ▶ Limitantes:



# MARCO TEÓRICO.

- ▶ **Conceptos Generales.**<sup>1, 4</sup>
  - Injerto autólogo.



1. Nunamaker *et al*: Textbook of Small Animal Orthopaedics, (1-Jan-1985).  
4. Sabiston *et al*: 15th Edition, 1997; XII: 455-456.

- Isoinjerto.
- Aloinjerto.
- Xenoinjerto.



- Ventajas del injerto autólogo sobre el aloinjerto y el xenoinjerto. <sup>1, 4</sup>



## ▶ Aspectos Históricos.

- Edad de Bronce (~ 2000 a. C.).
- 1809, Merrem.
- Trasplantes de hueso para reconstrucción de defectos esqueléticos por trauma, enfermedad o malformaciones congénitas. 2, 5, 6, 7



2. Movassaghi *et al*: *Plast. Reconstr. Surg.* 117: 202, 2006.
5. Matsumoto *et al*: *Surg Neurol* 1998; 50:344-6.
6. Moreno *et al*: *Biomaterials* 23 (2002) 2615-2619.
7. Lenz *et al*: *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* (2003) 31, 154-158.



# Biología del injerto oseo.

- ▶ Propiedades óseas. <sup>8</sup>
  - Osteogénesis.
  - Reabsorción osteoclástica.
  - Osteoinducción.
  - Osteoconducción.
- ▶ El injerto autólogo posee las 4 propiedades.

# Fisiopatología:

- ▶ Secuencia de hechos biológicos en la incorporación de injertos óseos. 8, 9, 10, 11

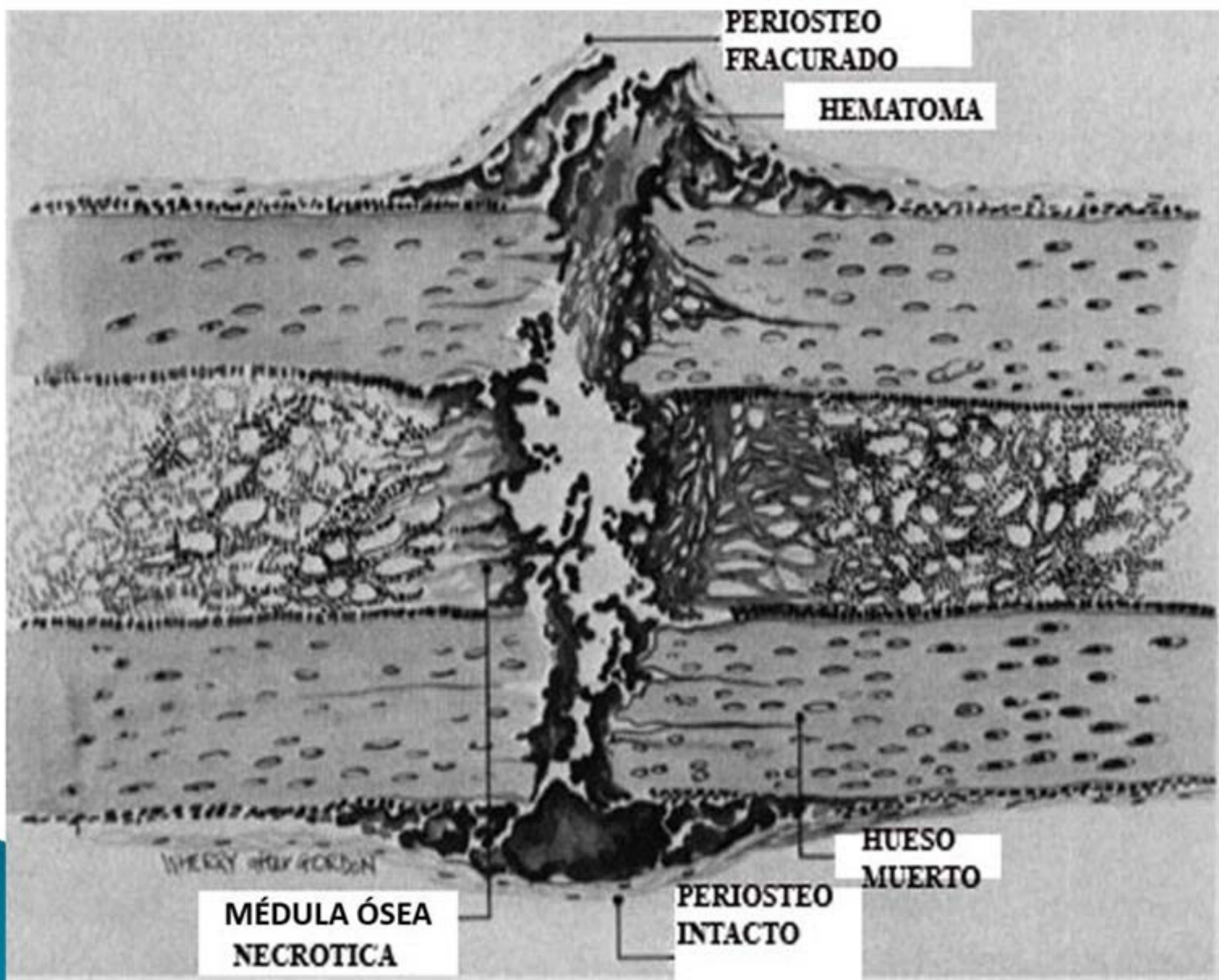
8. Benito *et al*: Inmunología 19: 148-155, 2000

9. Guyton Tratado de Fisiología Médica, 10ª Edición, 2001; 79:1082-1087.

10. Robbins Patología Estructural y Funcional, 6ª Edición, 2000, 28:1260-1263, 1274-1276.

11. Huaroto *et al*:

[http://sisbib.unmsm.edu.pe/Biblioteca/Datos/Libros/Medicina/cirugia/Tomo\\_II/pdfs/clase07.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/Biblioteca/Datos/Libros/Medicina/cirugia/Tomo_II/pdfs/clase07.pdf)



PERIOSTEO  
FRACURADO

HEMATOMA

HUESO  
MUERTO

MÉDULA ÓSEA  
NECROTICA

PERIOSTEO  
INTACTO

- ▶ **Preservación de tejidos.** 2, 3, 4, 6, 12, 13, 14
  - Congelación
  - Desmineralización-liofilización
  - Deshidratación con gamma-irradiación
  - Esterilización por calor.
  
- ▶ Preservación *in vivo*.
  
- ▶ Peor temor: contaminación del tejido. 1, 15

2. Movassaghi *et al*: *Plast. Reconstr. Surg.* 117: 202, 2006.

3. Sansivirini *et al*: Libro de resúmenes Congreso Latinoamericano de Neurocirugía (CLAN) 2004, P 82.

4. Sansivirini *et al*: Libro de resúmenes (CLAN) 2004, P 83.

6. Moreno *et al*: *Biomaterials* 23 (2002) 2615-2619.

12. Smith *et al*: *Sports Med Arthrosc Rev* 2005; 13:86-92.

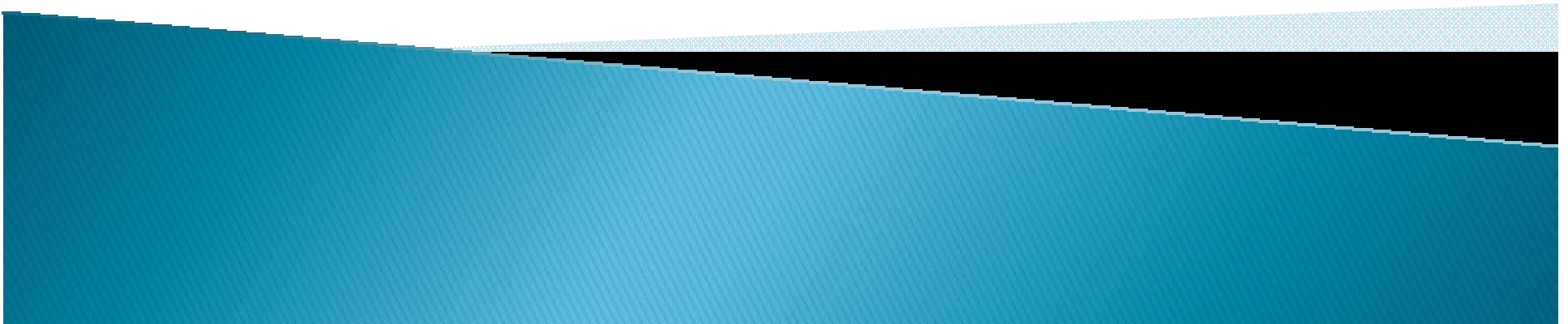
13. Fleith *et al*: *Composites and Surfaces B: Biointerfaces* 44 (2005) 15-24.

14. Terragno *et al*: *Bol. AAM* 62, 2004.

15. Segur *et al*: *Cell and Tissue Bank* 1: 117-119, 2000.

# PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

¿Existe alguna diferencia al utilizar injerto autólogo de calota craneana conservado *in vivo* y reimplantado con pegamento biológico, sobre el reimplantado con cianoacrilato?



# OBJETIVOS.


## GENERAL.

- ▶ Comparar los resultados del trasplante autólogo de hueso craneal conservados *in vivo* y reimplantados con pegamento biológico versus la técnica de reimplantación utilizando cianoacrilato.



# OBJETIVOS.

## ESPECÍFICOS.

- ▶ Determinar ventajas de la utilización del pegamento biológico sobre el cianoacrilato, según el tiempo de evolución.
  - ▶ Determinar el grado de reosificación, mediante el análisis histopatológico, en cada grupo.
  - ▶ Determinar si existen diferencias en el tiempo, en la reosificación del injerto.
  - ▶ Establecer las diferencias económicas de la utilización del pegamento biológico *vrs.* cianoacrilato.
- 

# HIPÓTESIS.

Los trasplantes autólogos de hueso craneal conservados en los tejidos del sujeto de experimentación (técnica de conservación *in vivo*) y reimplantados utilizando pegamento biológico tienen una mejor tasa de reosificación, viabilidad y evolución clínica, sobre los reimplantados con cianoacrilato.



# METODOLOGÍA.

- ▶ Tipo de estudio: Experimental.
- ▶ Criterios de inclusión: Conejos neozelandeses, machos. 0.7 kilogramos (kg) mínimo.
- ▶ Criterios de exclusión: Enfermedad o lesión al momento de la intervención, fallecimiento, infección en la herida quirúrgica.
- ▶ Variables: Viabilidad, reosificación y resorción.

# MÉTODOS Y TÉCNICA.

Grupo 1		Grupo 2		
6 Semanas		12 Semanas		Total
B	C	B	C	
4	4	3	3	14

B= Pegamento Biológico.  
C= Cianoacrilato.

# Tipos de Pegamentos:



- ▶ Pegamento Sintético:
  - Cianoacrilato (Super Bonder®).
  - Cianoacrilato.
    - Adhesivo monocomponente.
    - Usos:
      - Doméstico.
      - Industrial.
      - Medicina.

# Pegamento Biológico.



# Componente A.



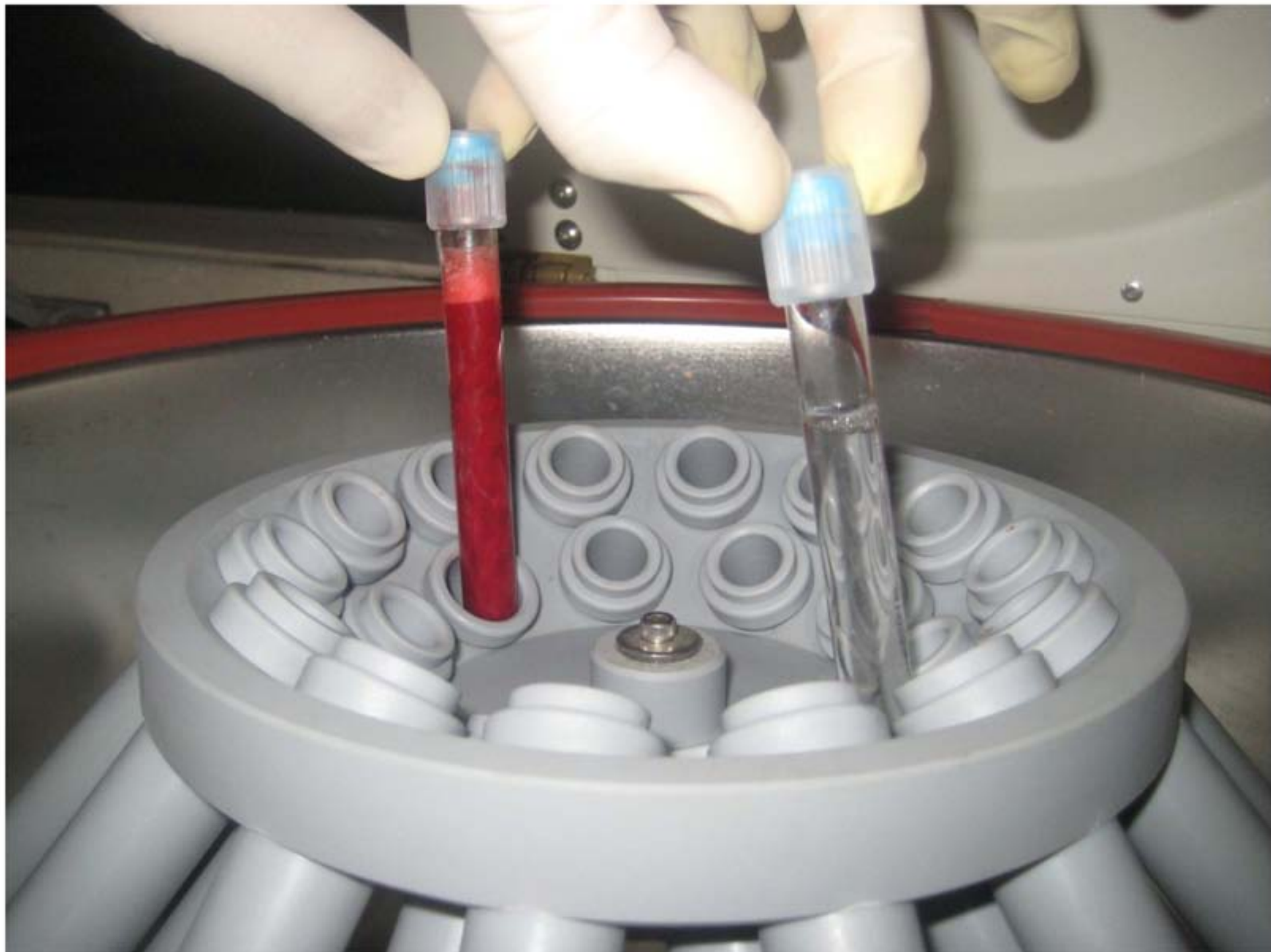
- Plasma.



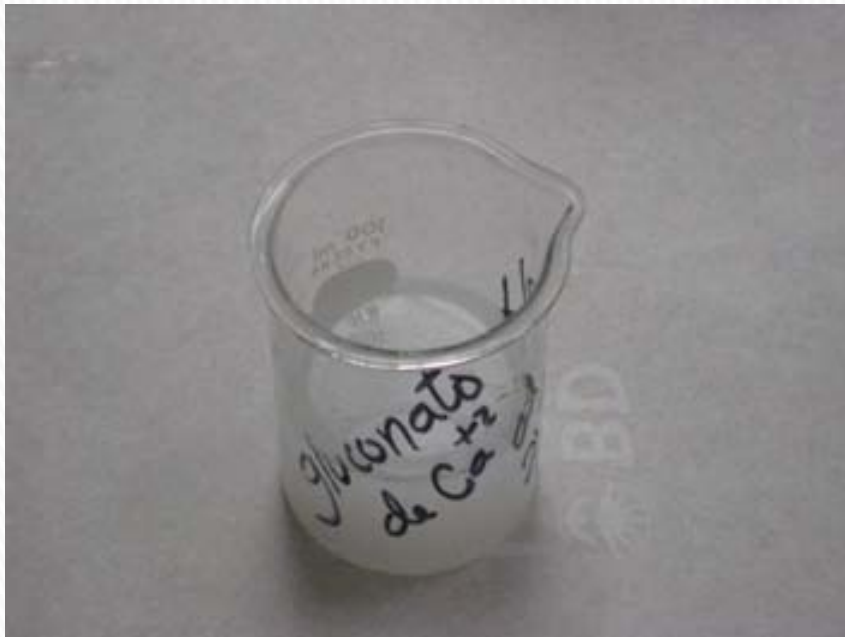
- Vitamina E.
- Glicerina anhidra.



- ▶ A partir de:
  - 3 ml de sangre de un conejo de cada grupo.
  - Centrifuga a 3500 rpm x 15 min.



# Componente B.

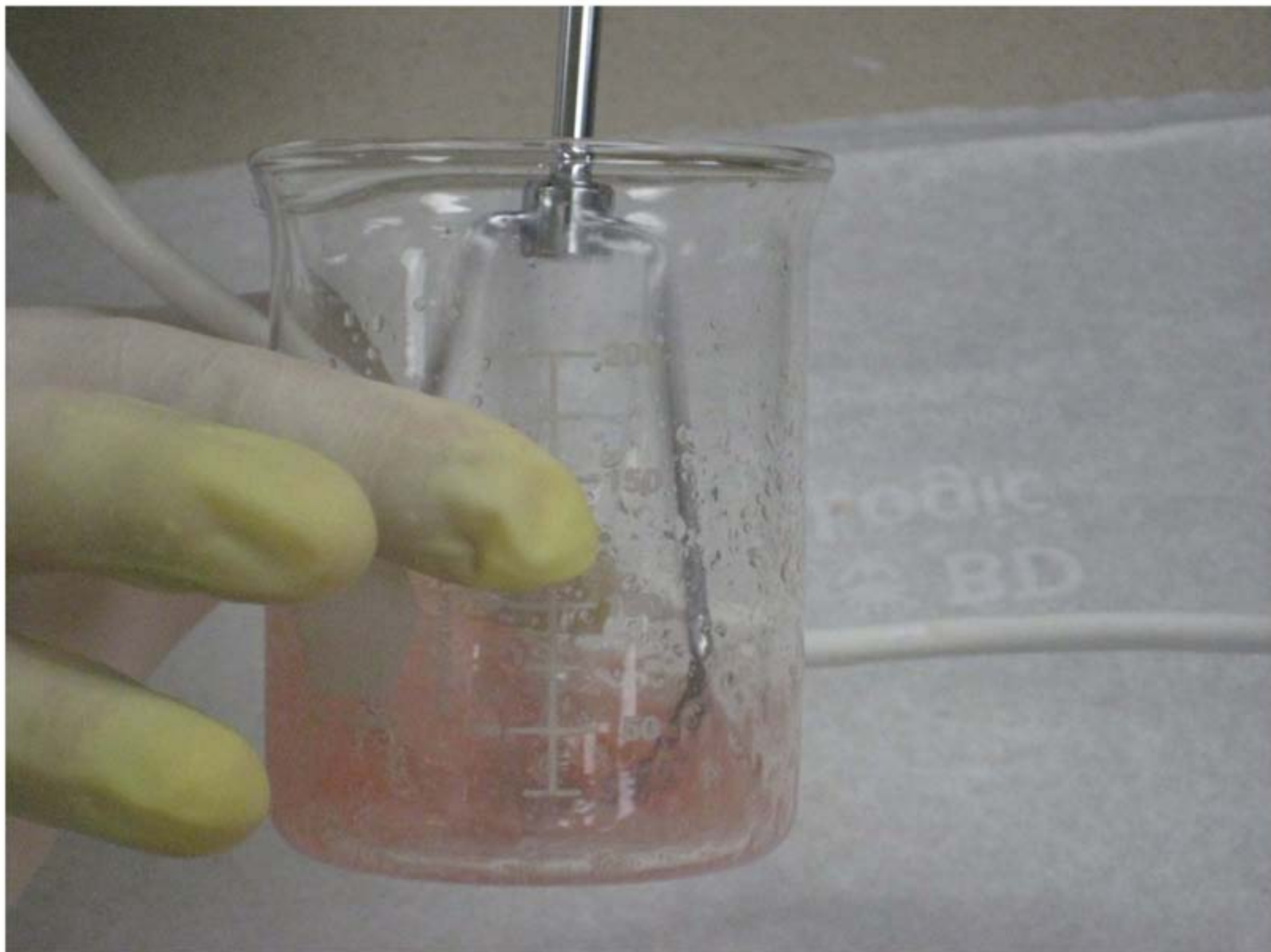


- **Gluconato de calcio.**

- Tween 80.
- Ácido Acetil Salicílico.
- Óxido Nítrico.

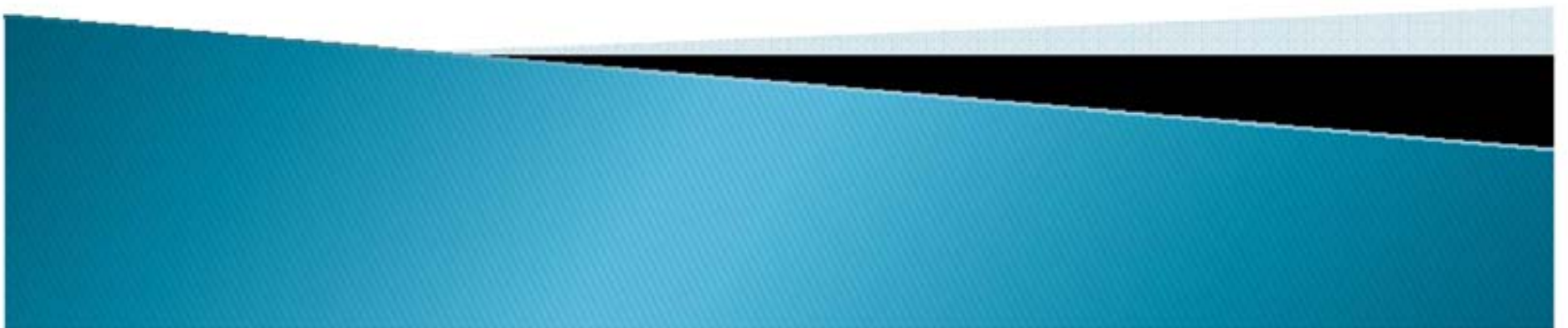








# Preparación preoperatoria:





Ceftriaxona 50mg/kg IM

- Anestesia con solución MS<sup>®</sup> x via IP.
  - (Atropina 0.5 mg/ml [0.02 mg/Kg.] + Midazolam 15mg/3ml [0.3 mg/Kg.] + Ketamina 10 mg/ml [5 mg/Kg.]).
- Ketamina IM a 2.5 mg/Kg.







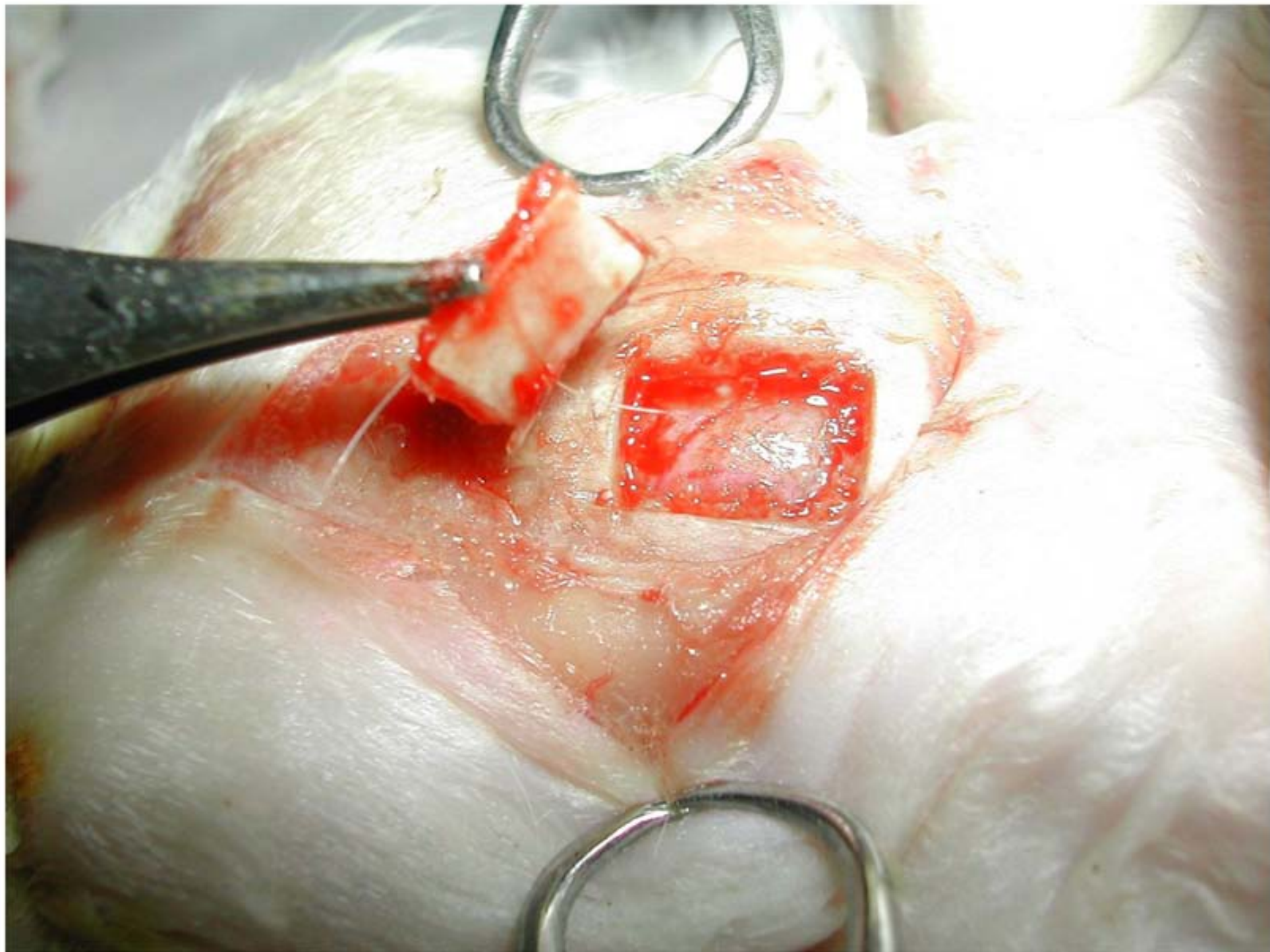


# Preparación operatoria:

» Obtención de la calota craneana del conejo.

Colocación del fragmento de calota craneana en región abdominal.

















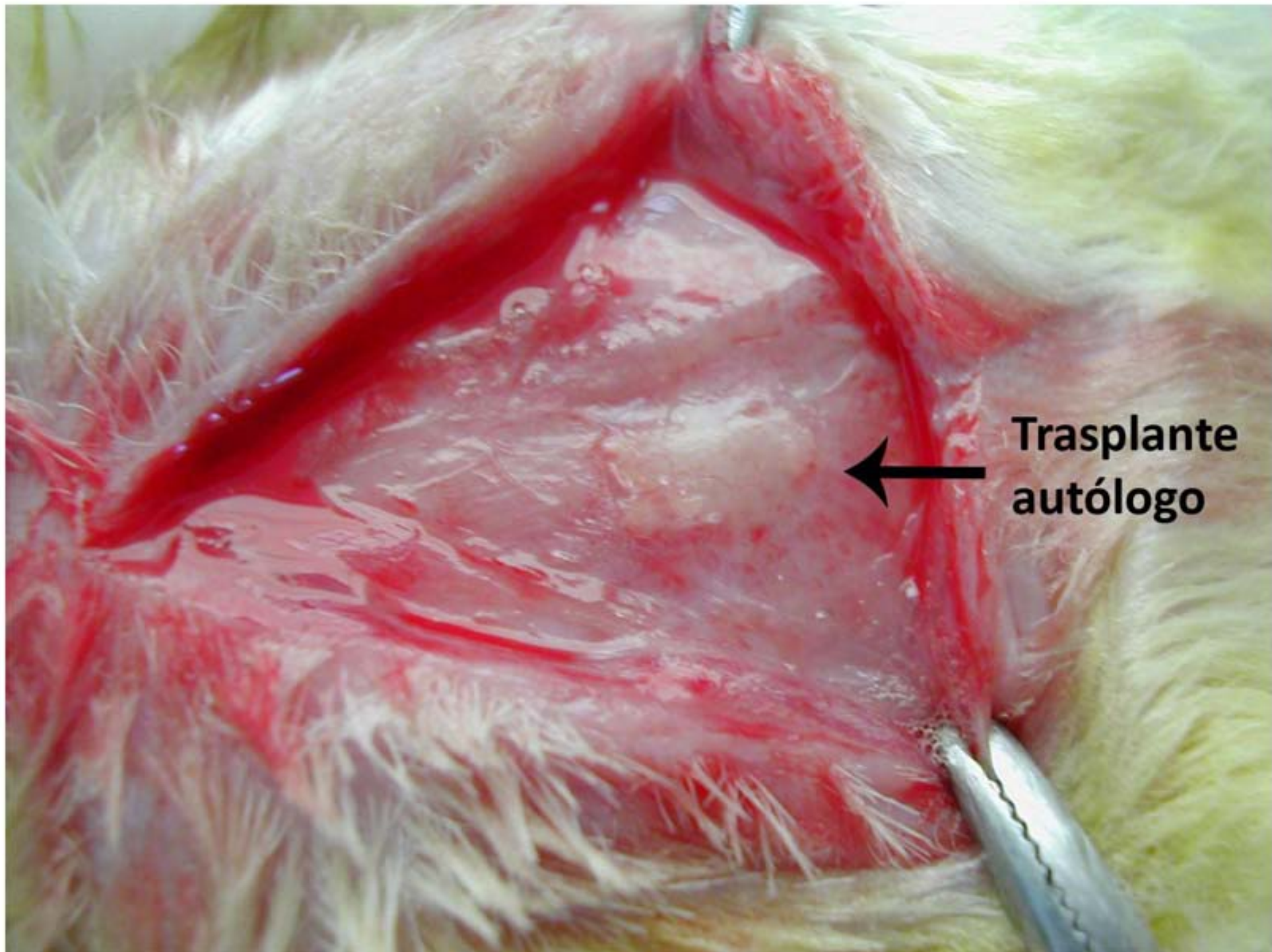












**Trasplante  
autólogo**







# Cuidado post operatorio:



- ▶ Meloxicam 7.5 mg/5 ml a dosis de 0.2 mg/kg en dosis única.



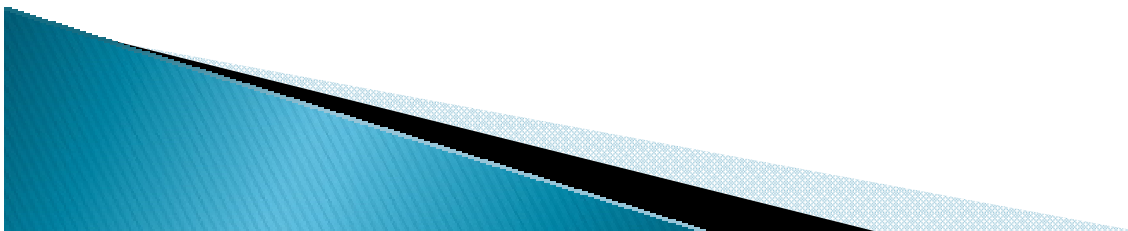
# Análisis Histopatológico.





# Escala de evaluación ósea.

- ▶ Viabilidad.
  - Células vivas.
  - Características del tejido.
- ▶ Reosificación.
  - Tejido fibroso.
  - Tejido óseo.
  - Tejido osteoide.
- ▶ Reabsorción.
  - Osteoclastos.



**40 x**

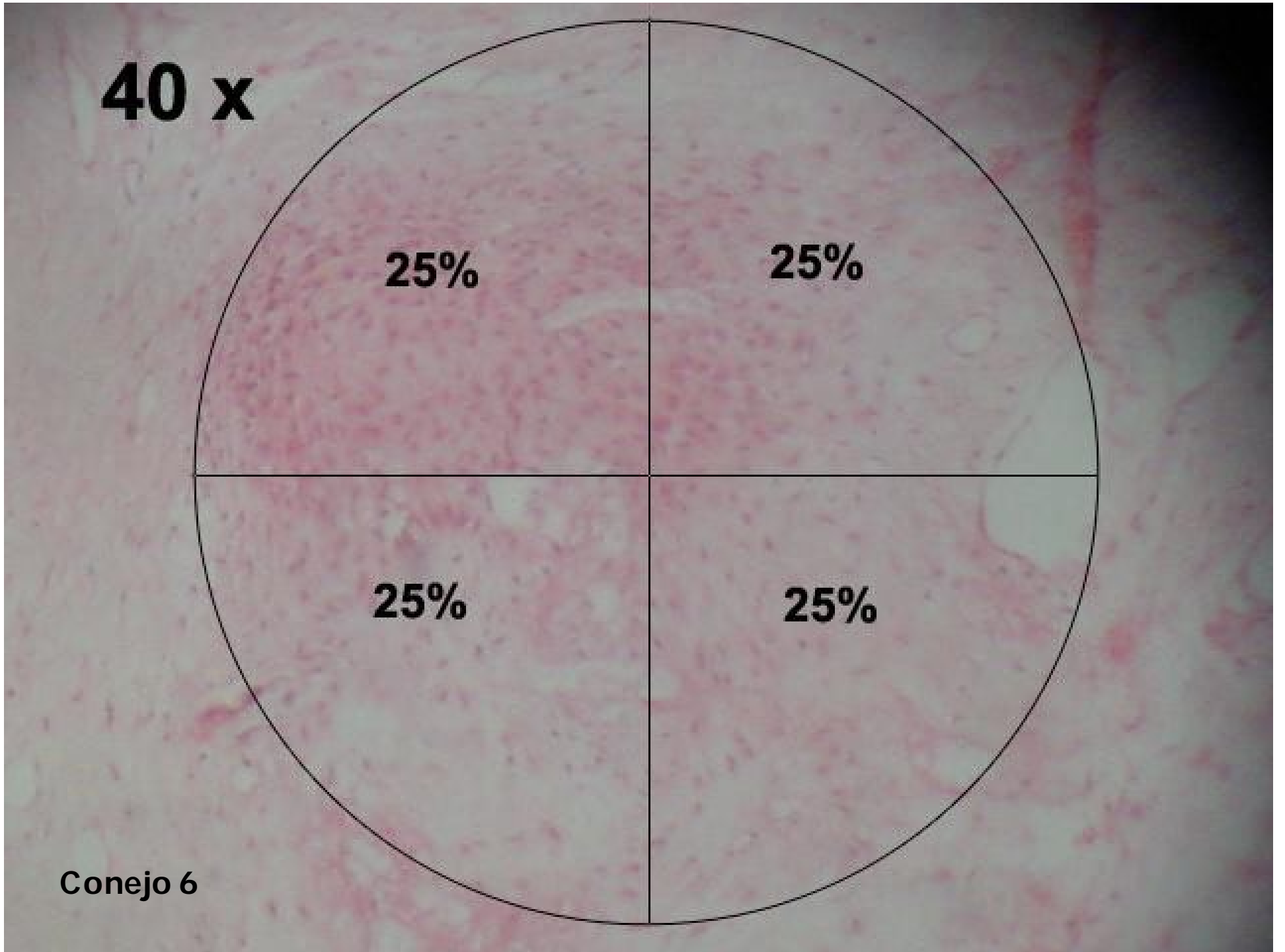
**25%**

**25%**

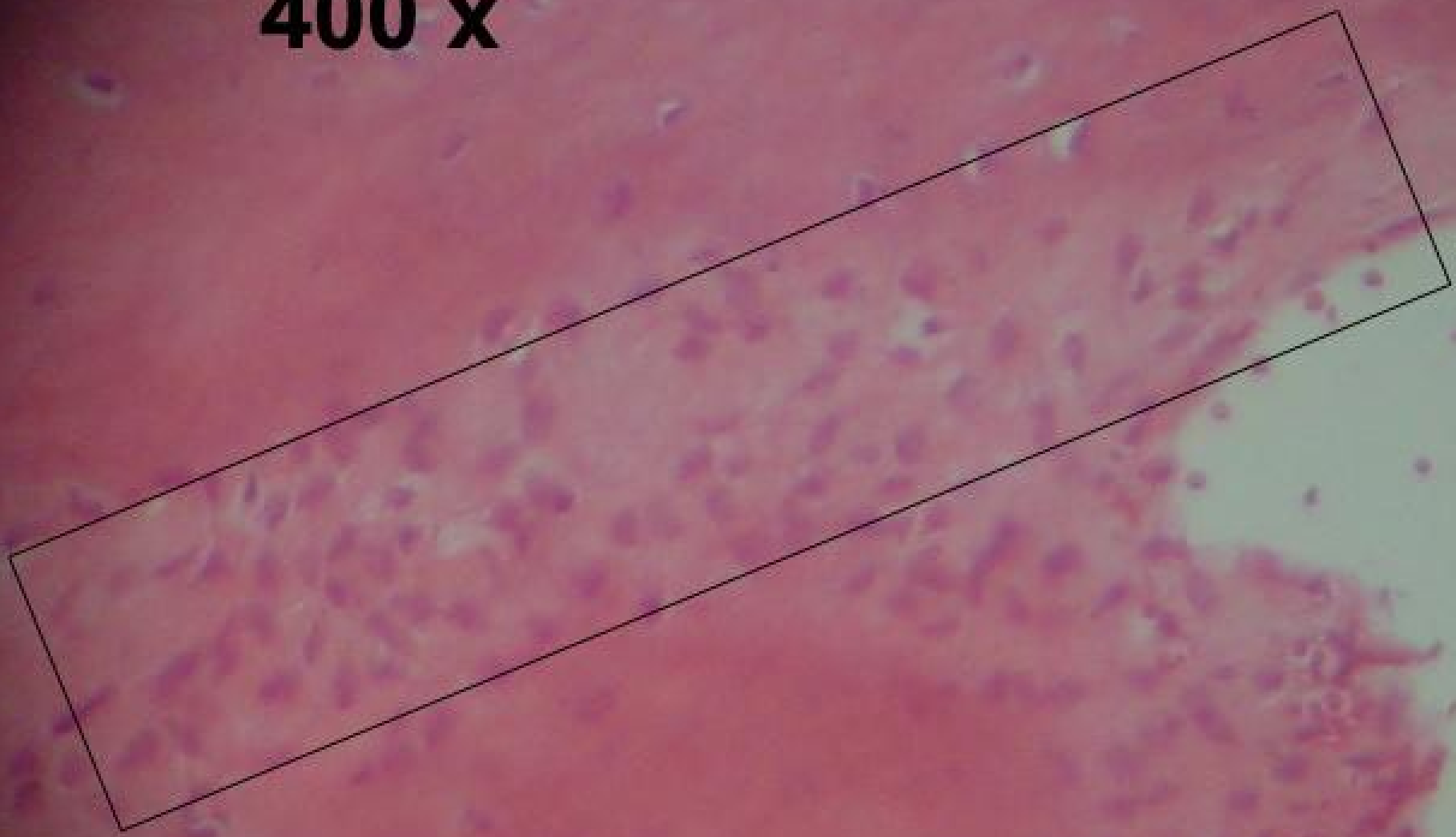
**25%**

**25%**

**Conejo 6**



**400 x**

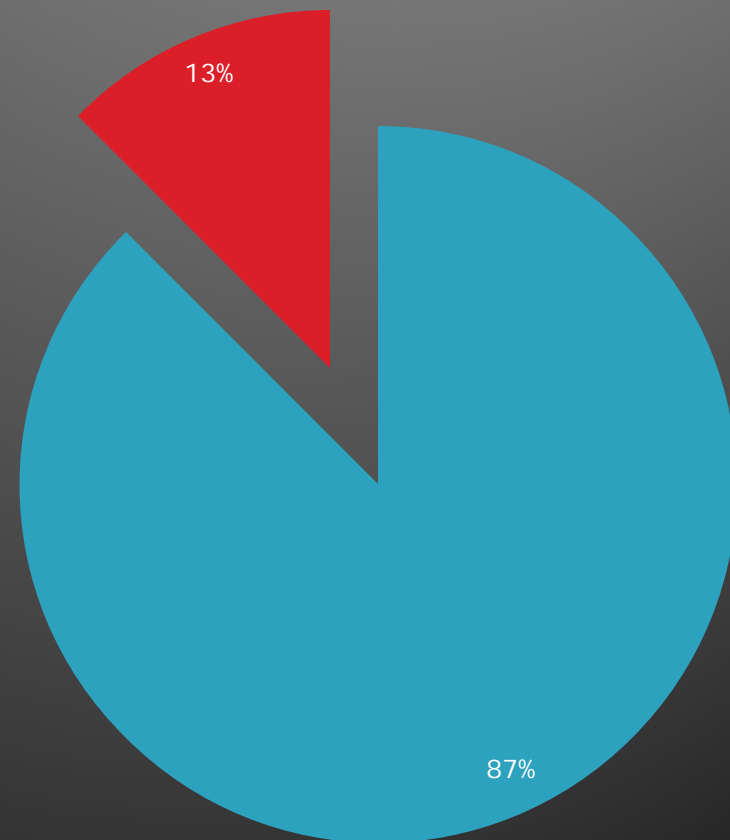


**Conejo 14**

# RESULTADOS.

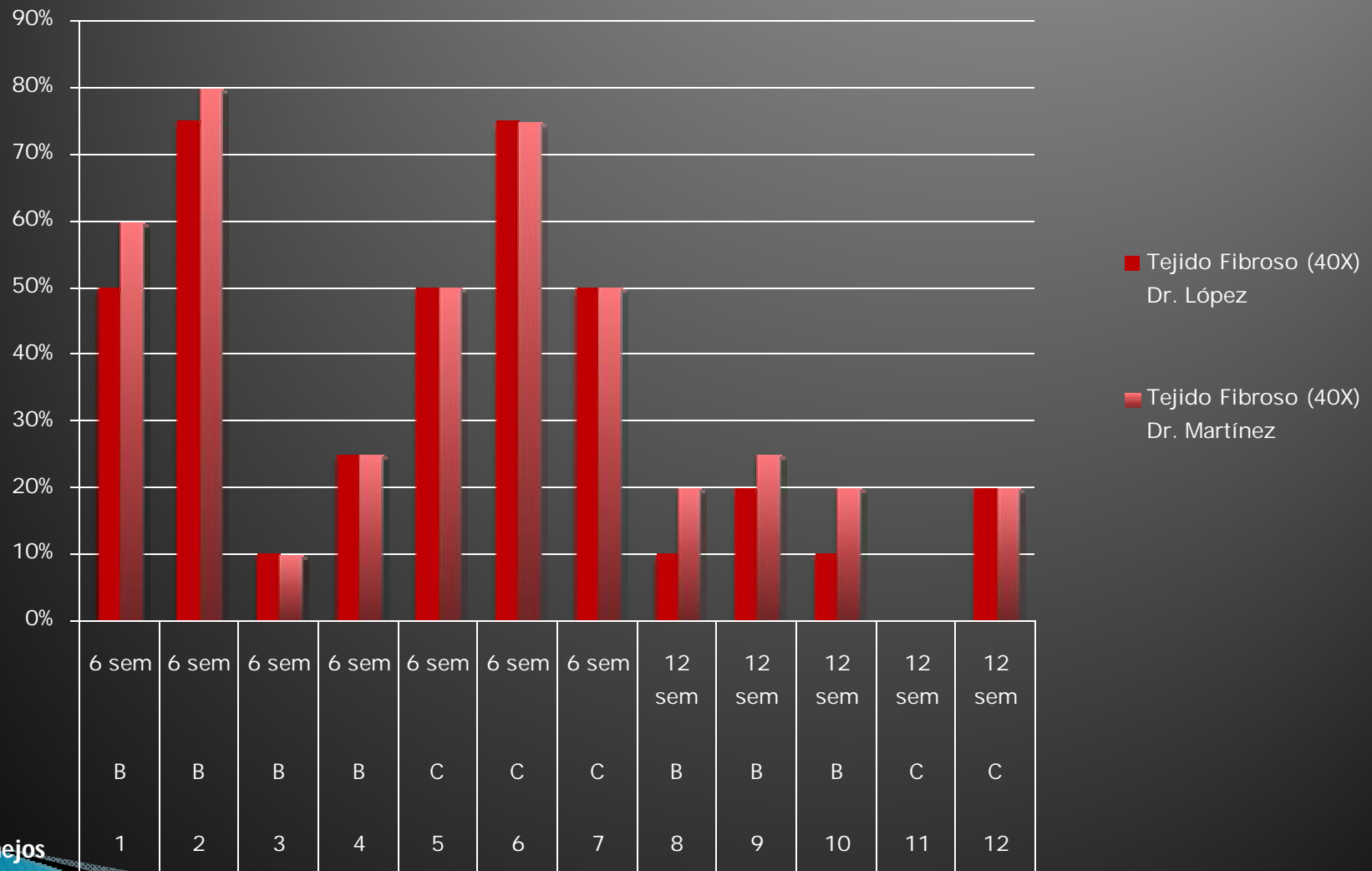
■ Muestra de conejos 14

■ Conejos Excluidos 2

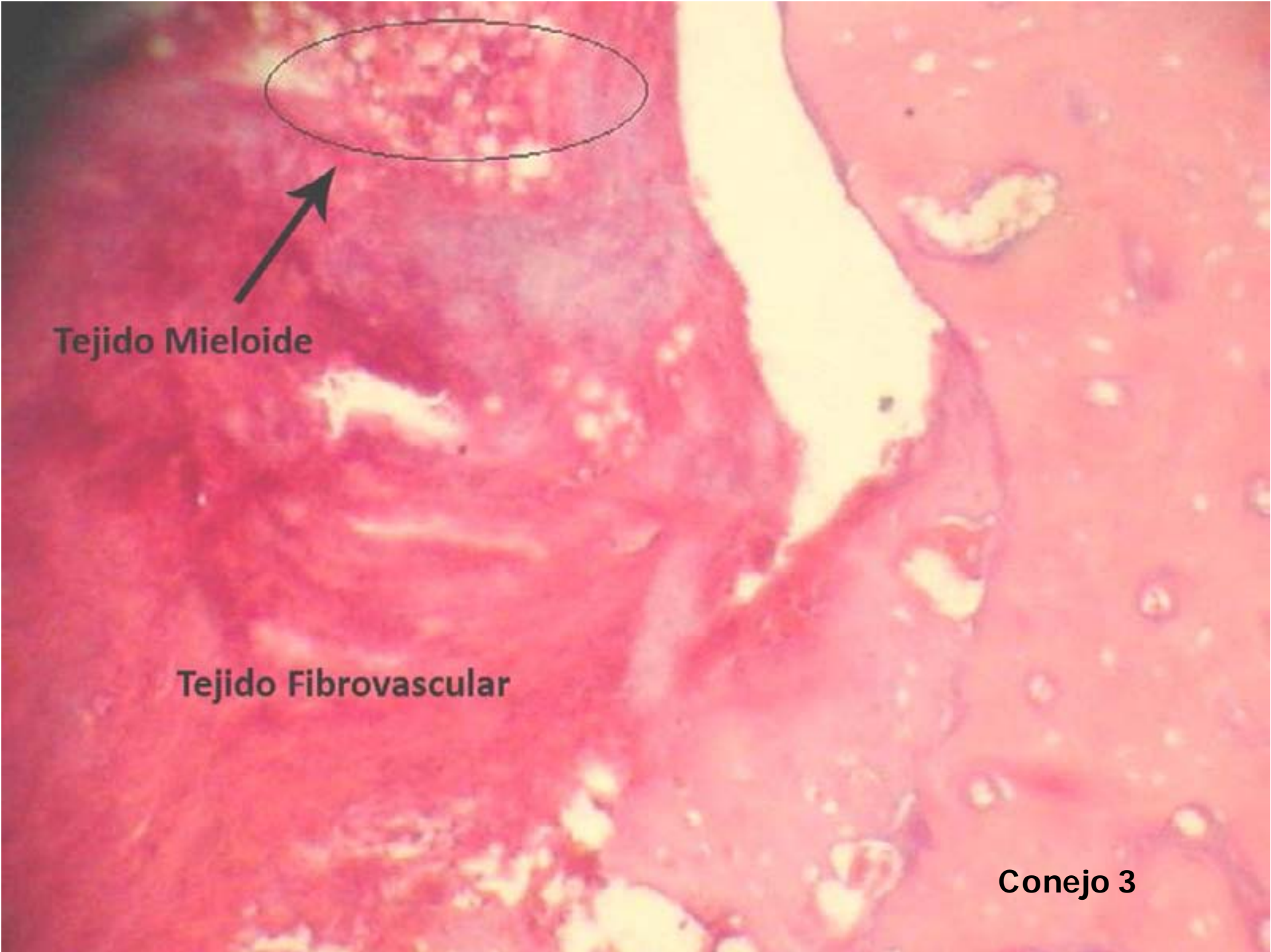




# Comparación Tejido Fibroso Dr. López – Dr. Martínez.



Conejos

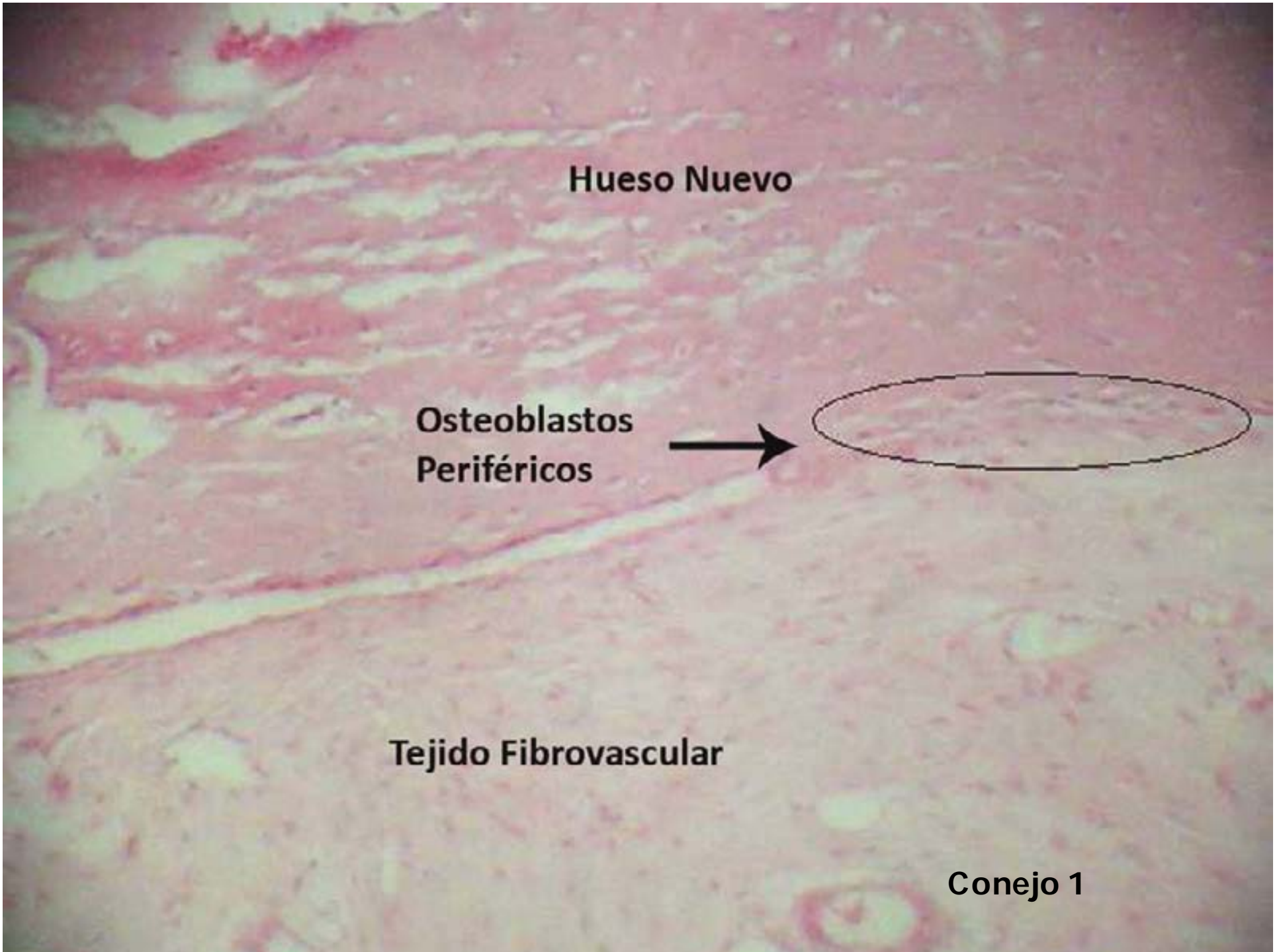


**Tejido Mieloide**

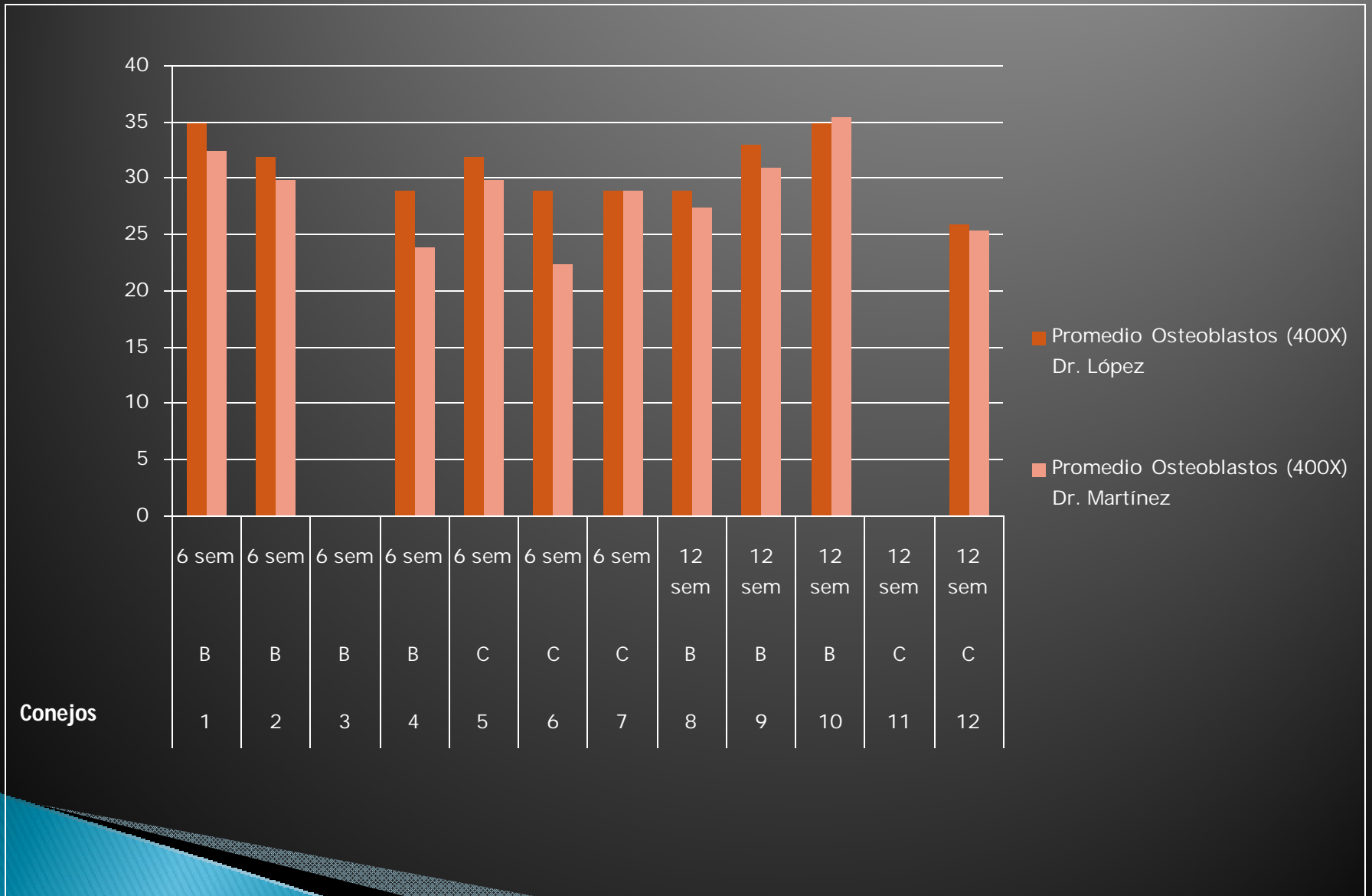
**Tejido Fibrovascular**

**Conejo 3**

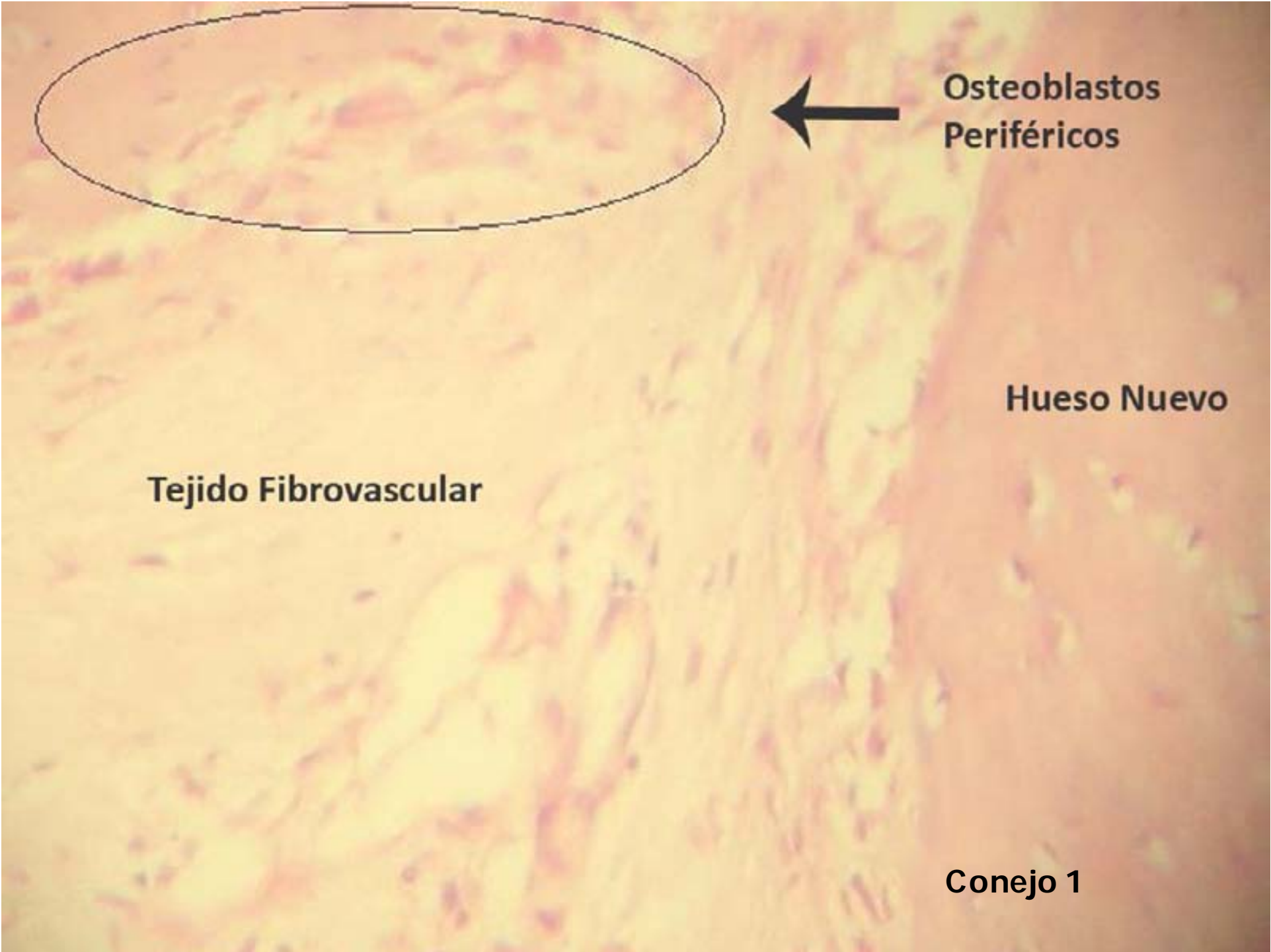




# Comparación promedio de Osteoblastos Dr. López - Dr. Martínez.



Conejos



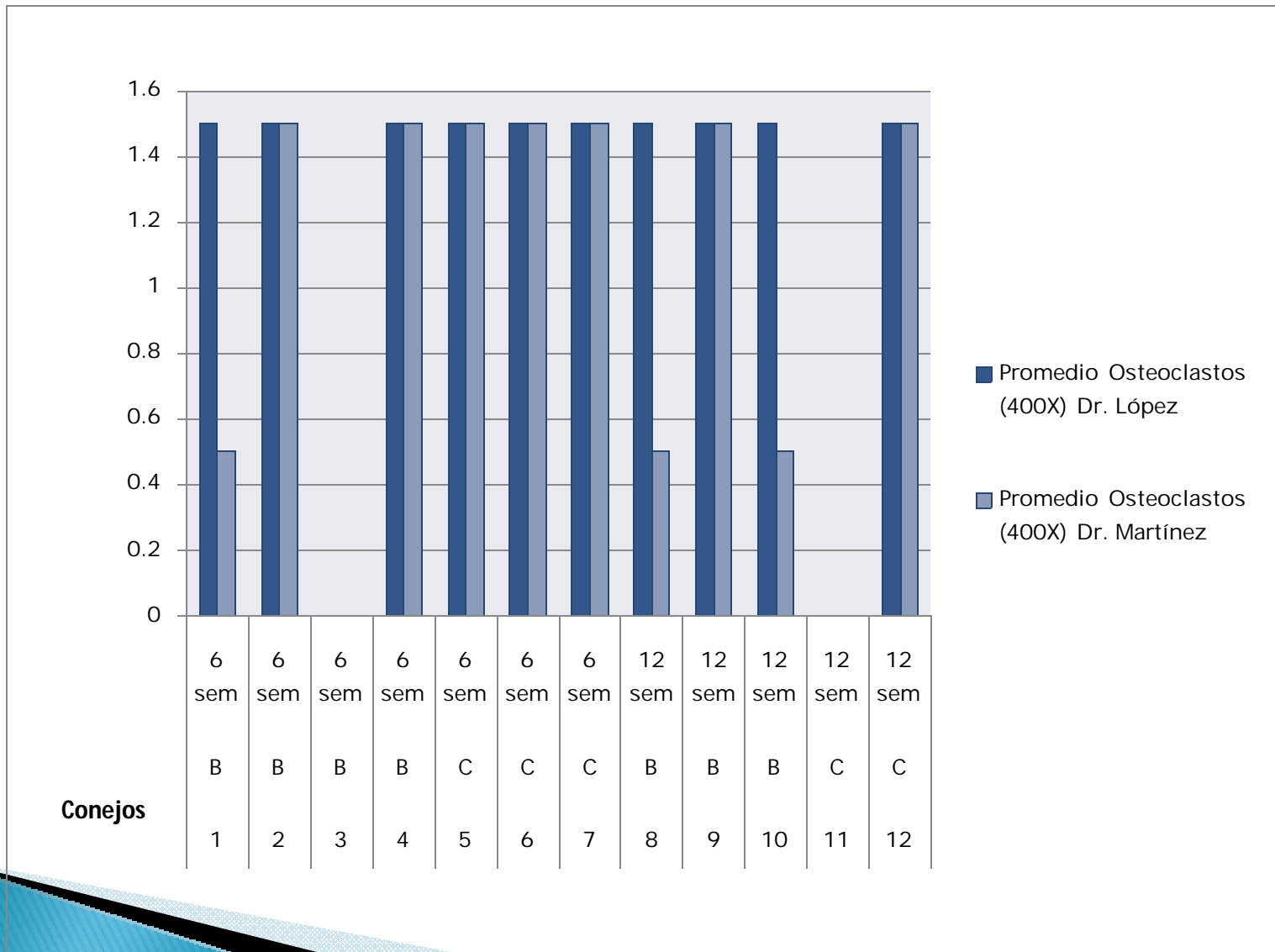
Osteoblastos  
Periféricos

Hueso Nuevo

Tejido Fibrovascular

Conejo 1

# Comparación promedio de Osteoclastos Dr. López - Dr. Martínez.



**Hueso Maduro**



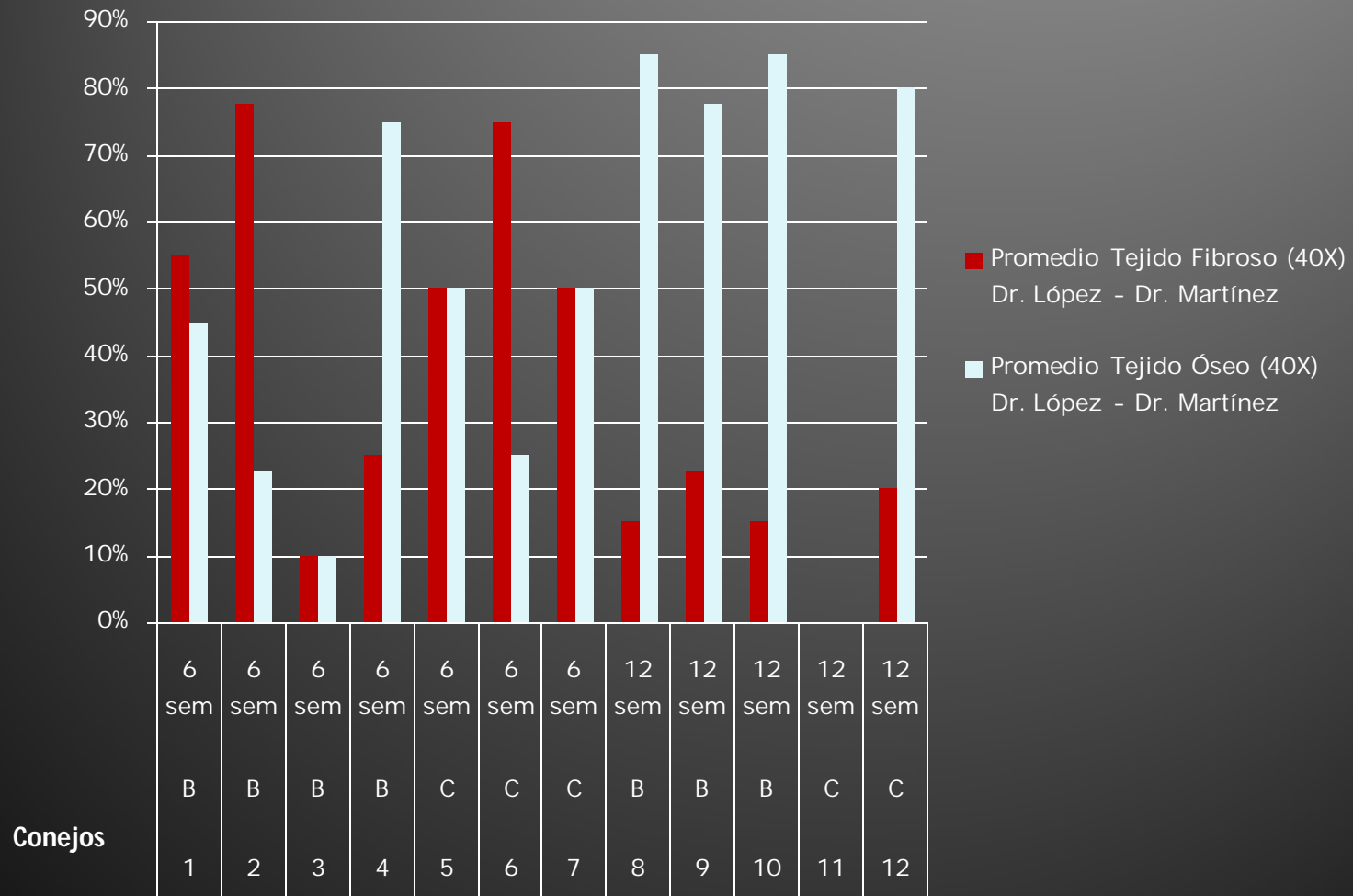
**Osteoclasto**

**Tejido Fibrovascular**

**Conejo 4**



# Comparación entre los promedios del Tejido Fibroso y Tejido Óseo Dr. López - Dr. Martínez.



**Hueso Nuevo**

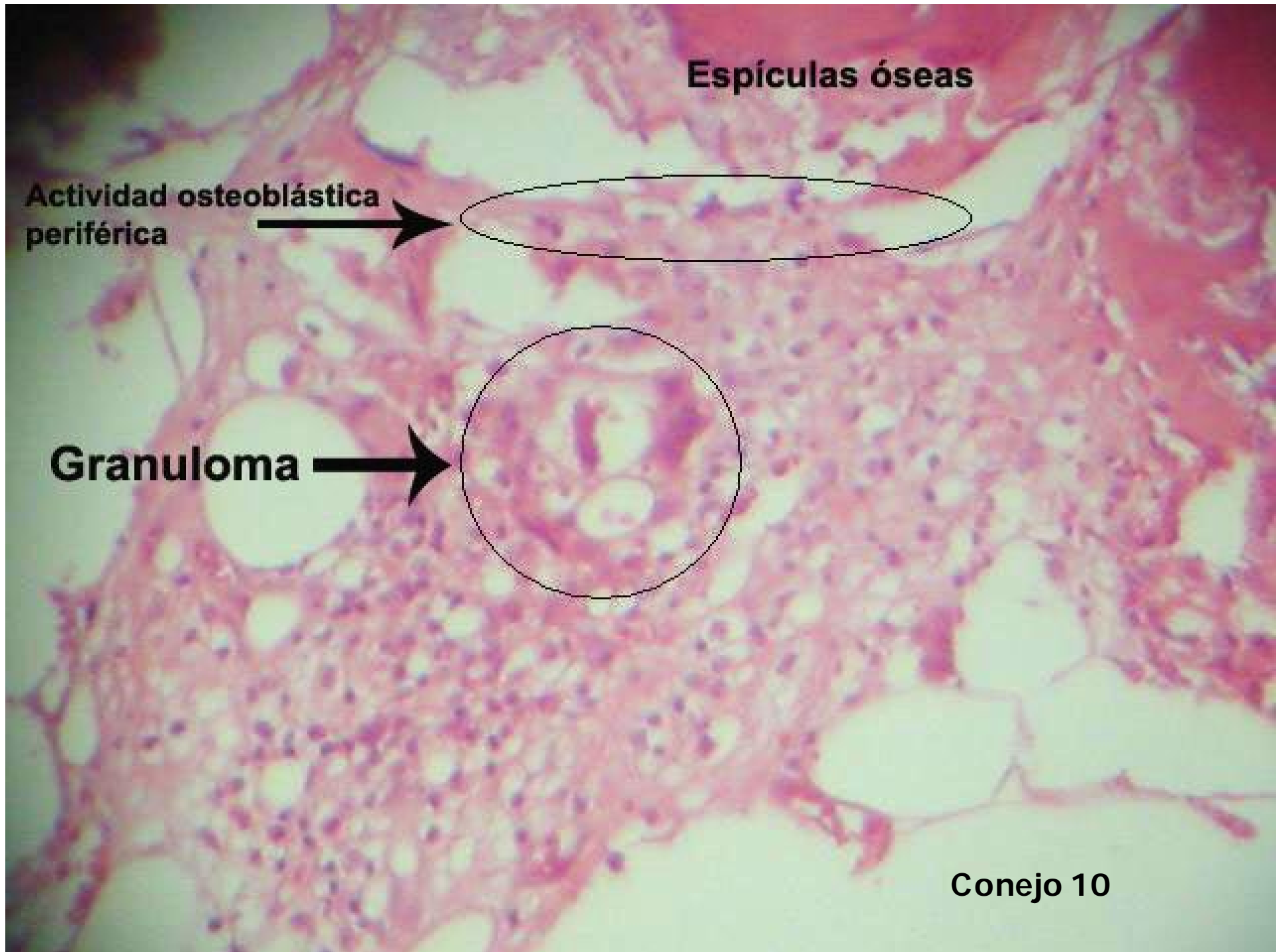
**Tejido Fibrovascular**



**Material Osteoide**

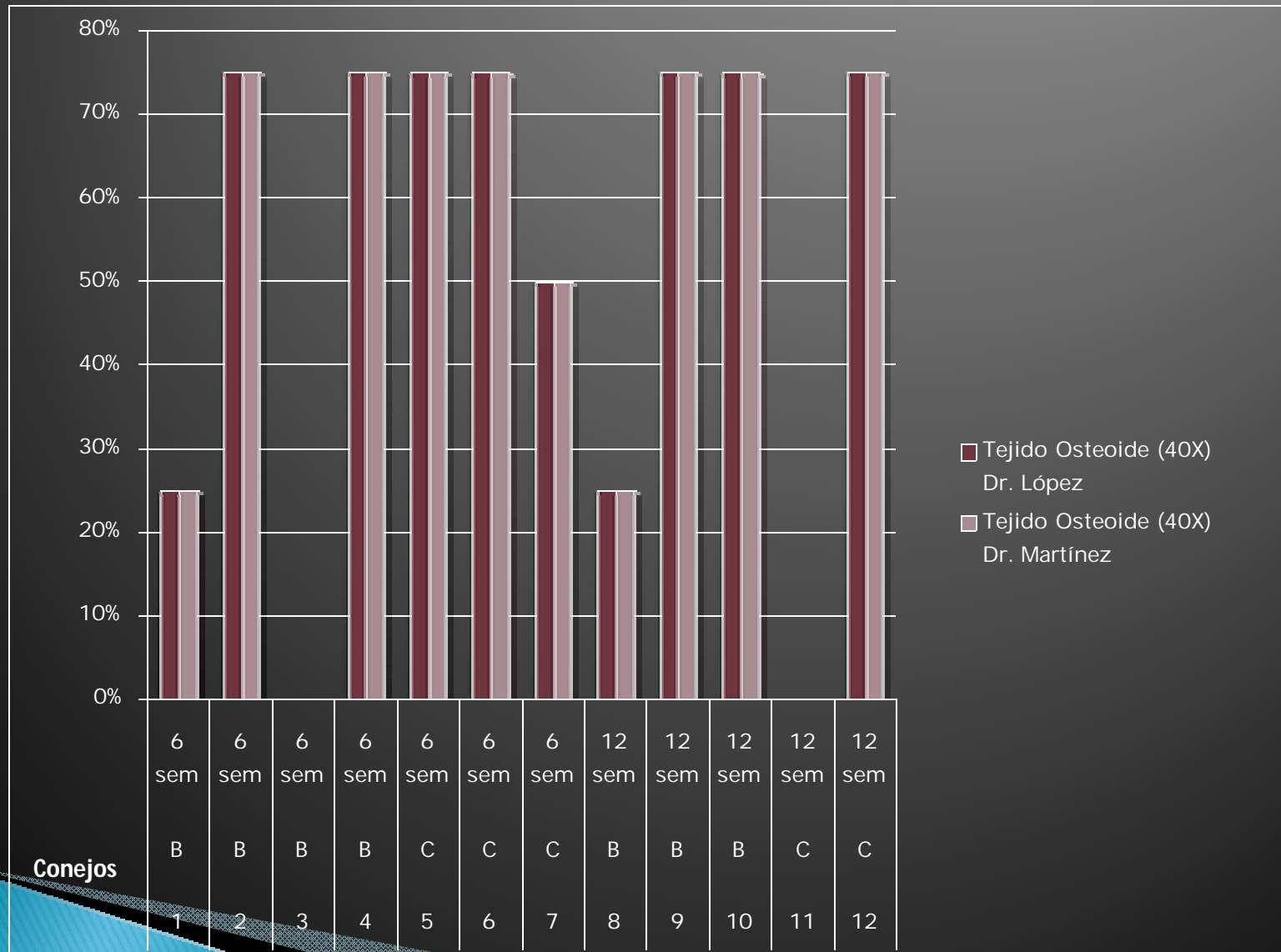
**Conejo 5**

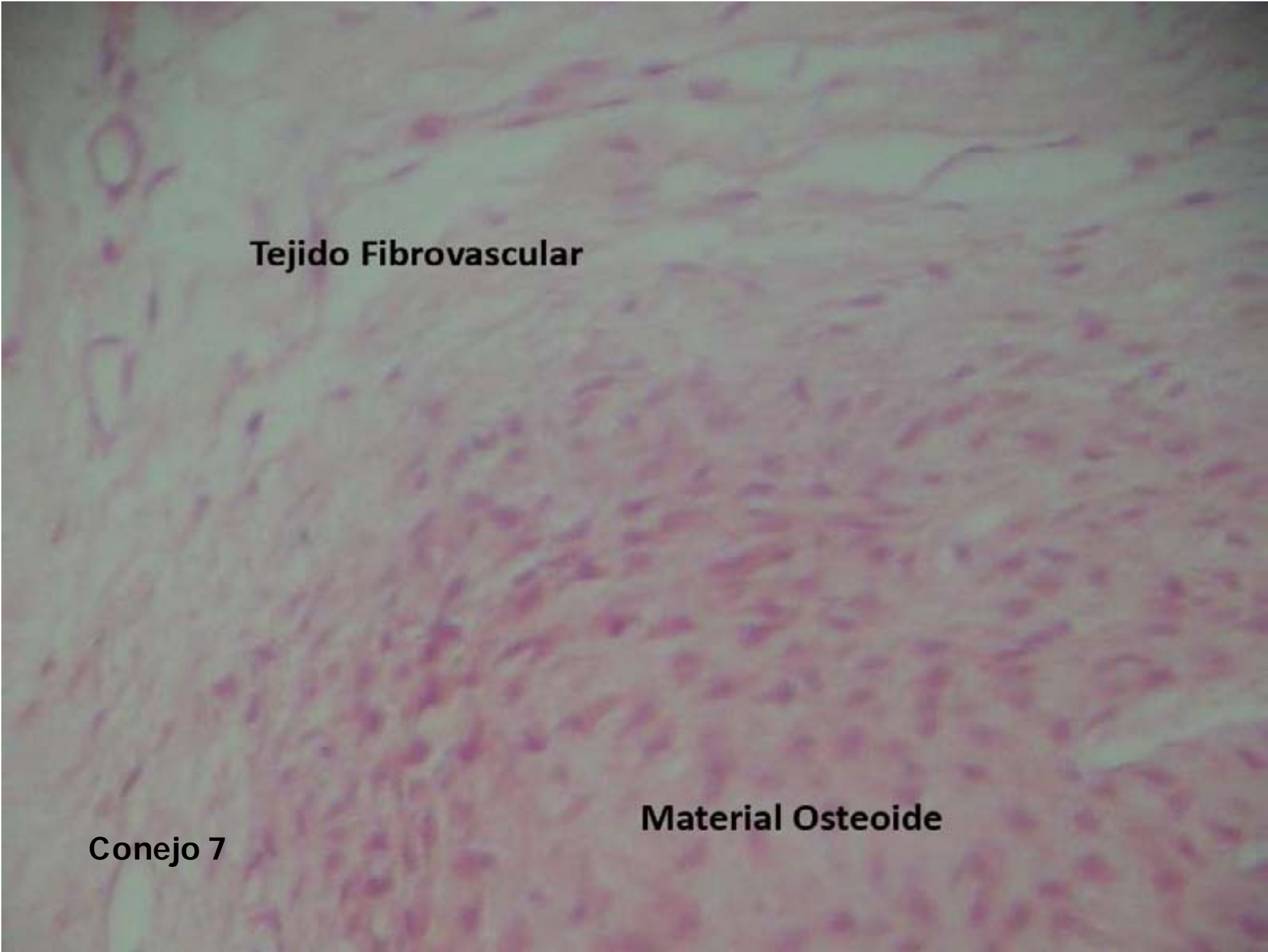




Conejo 10

# Comparación Tejido Osteoide Dr. López – Dr. Martínez





**Tejido Fibrovascular**

This is a histological micrograph of bone tissue. The image shows a dense network of pink-stained fibers and scattered purple-stained nuclei, characteristic of fibrovascular tissue. The overall appearance is that of a developing or healing bone structure.

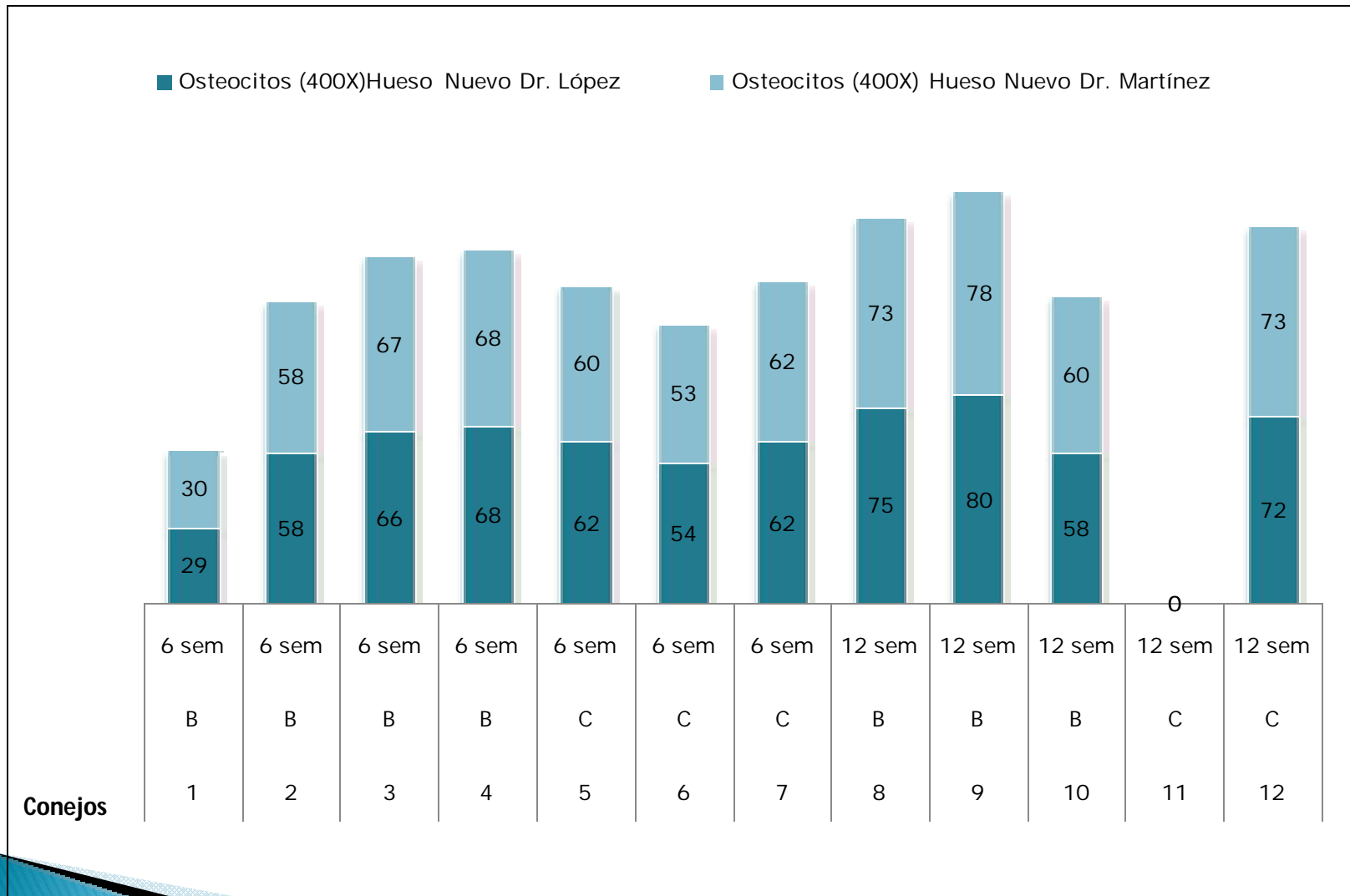
**Material Osteoide**

This label points to the pink-stained matrix material, which is the osteoid, a precursor to bone mineralization.

**Conejo 7**

This label identifies the specimen as belonging to a rabbit, specifically specimen number 7.

# Comparación Osteocitos en hueso nuevo Dr. López - Dr. Martínez.

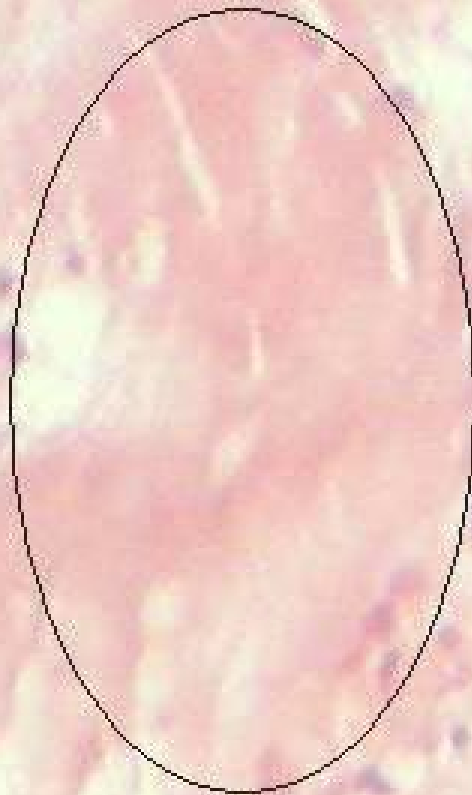


Conejos

**Hueso Nuevo**

**Tejido Fibrovascular**

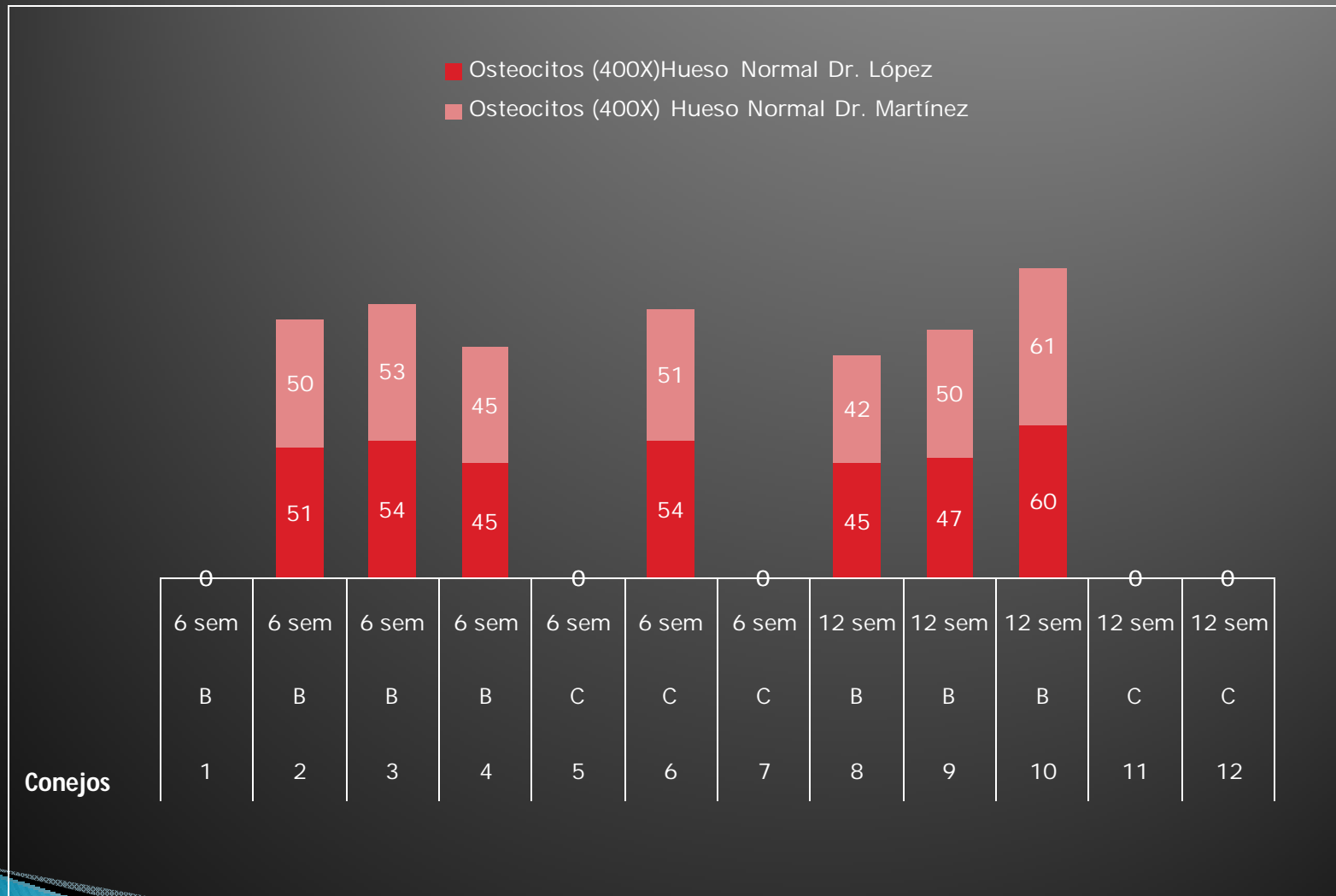
**Material Osteoide**



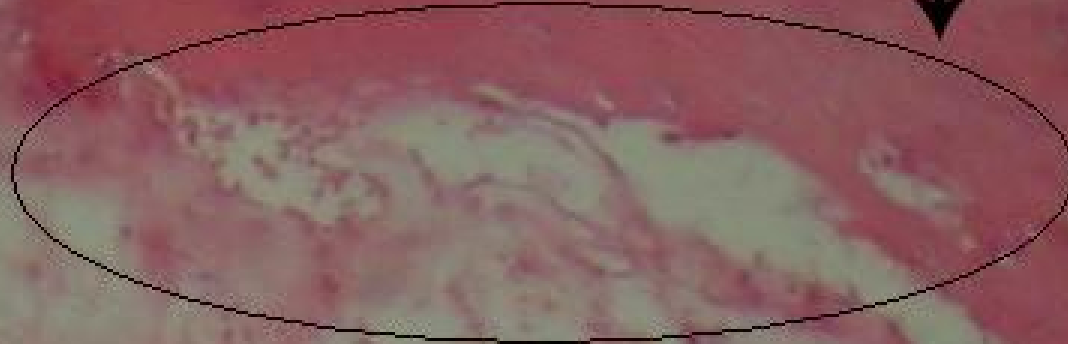
**Conejo 2**



# Comparación Osteocitos en hueso normal Dr. López - Dr. Martínez.



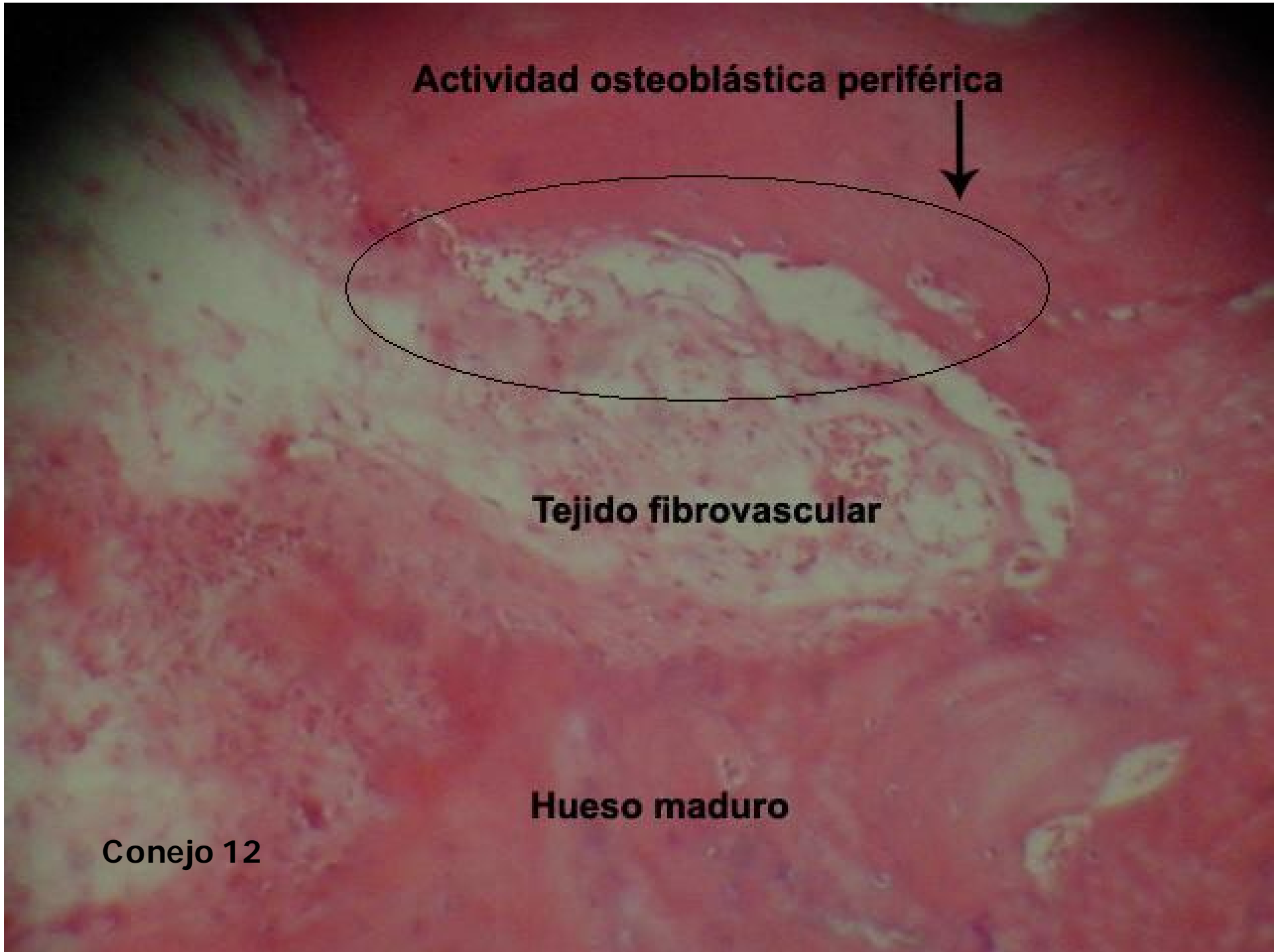
**Actividad osteoblástica periférica**

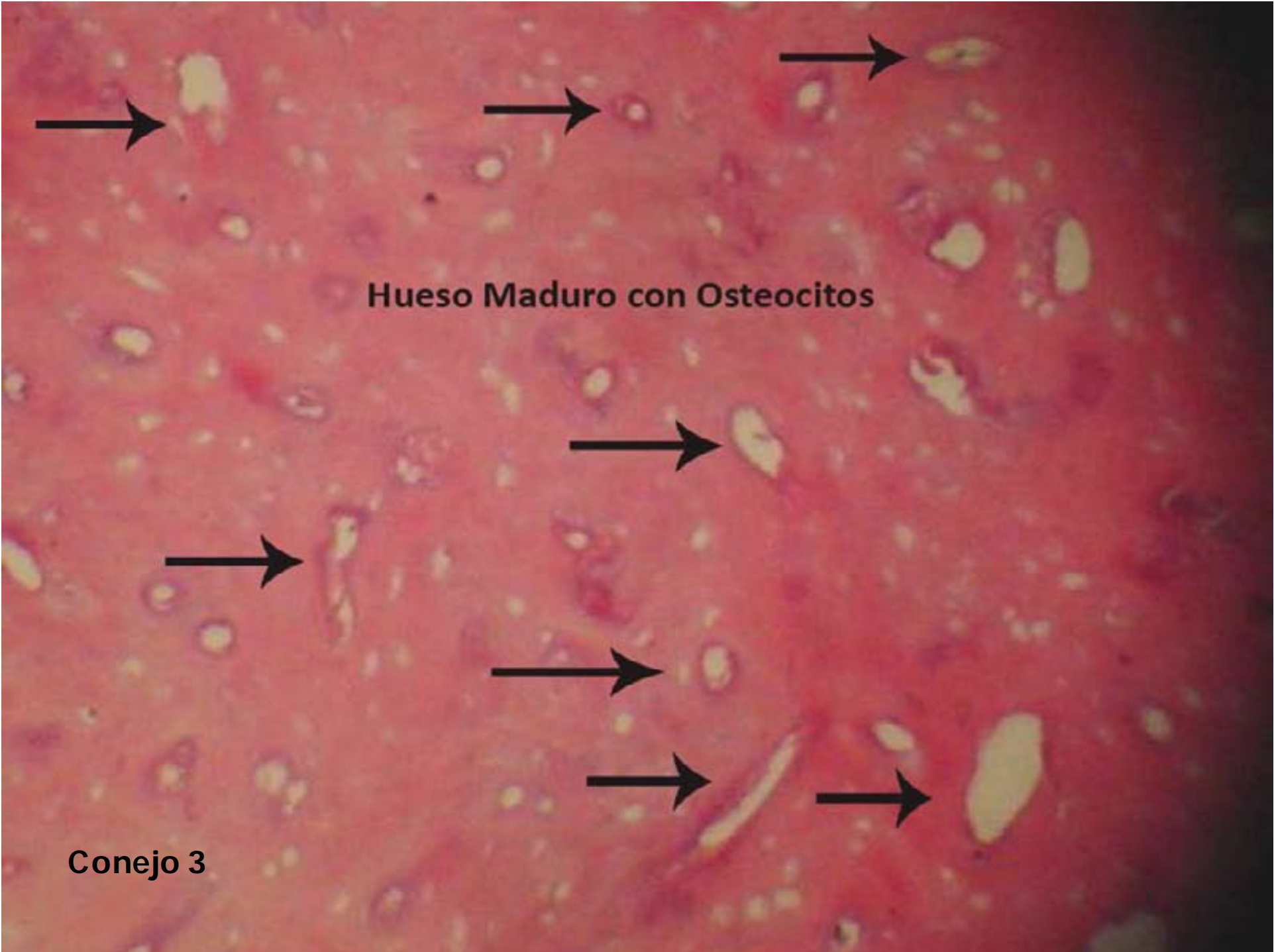


**Tejido fibrovascular**

**Hueso maduro**

**Conejo 12**

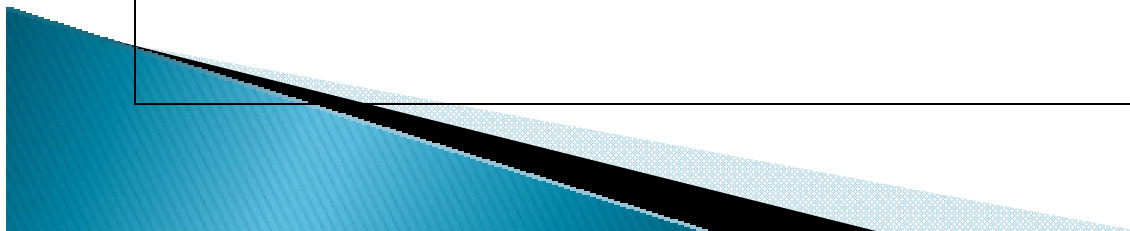
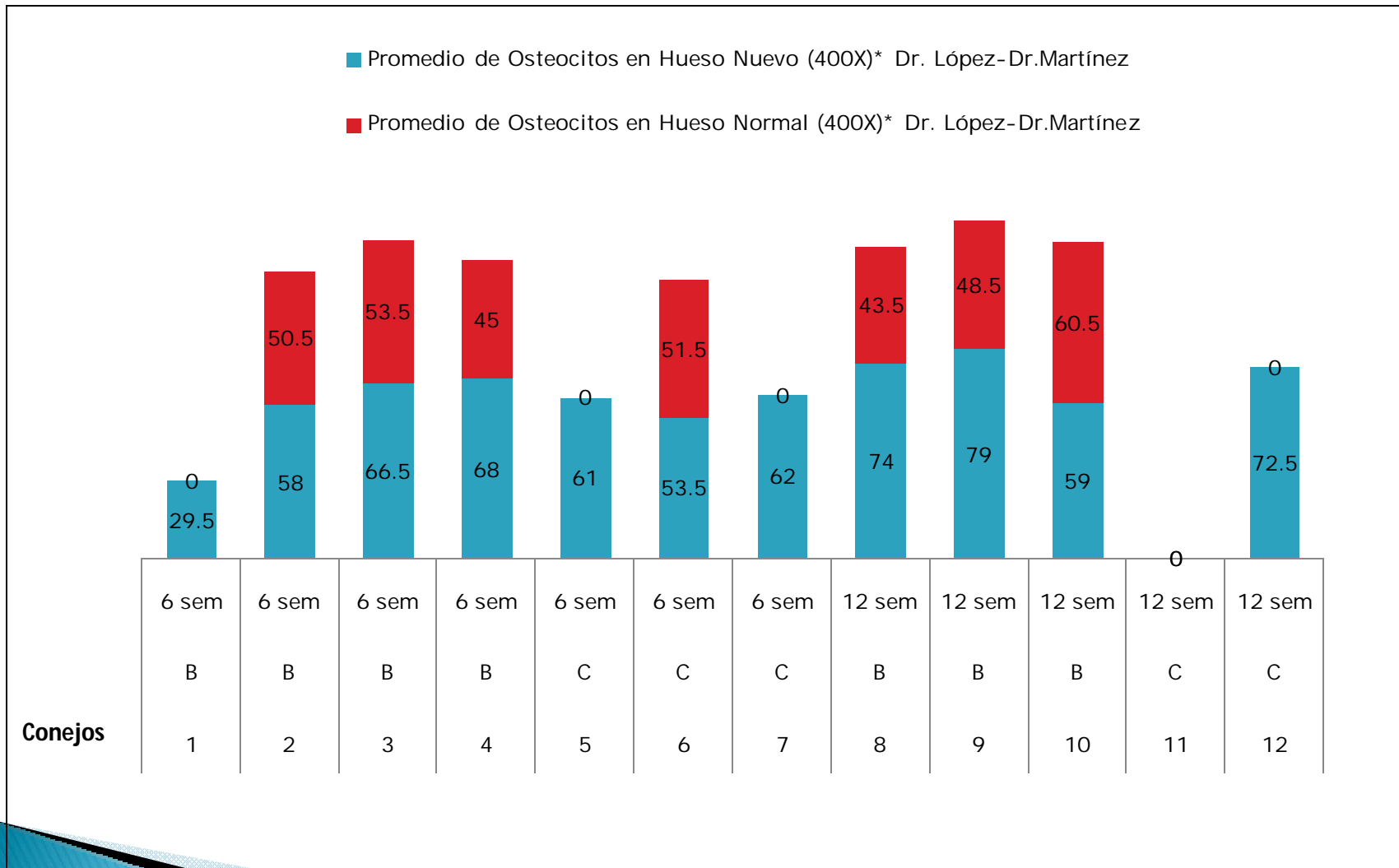


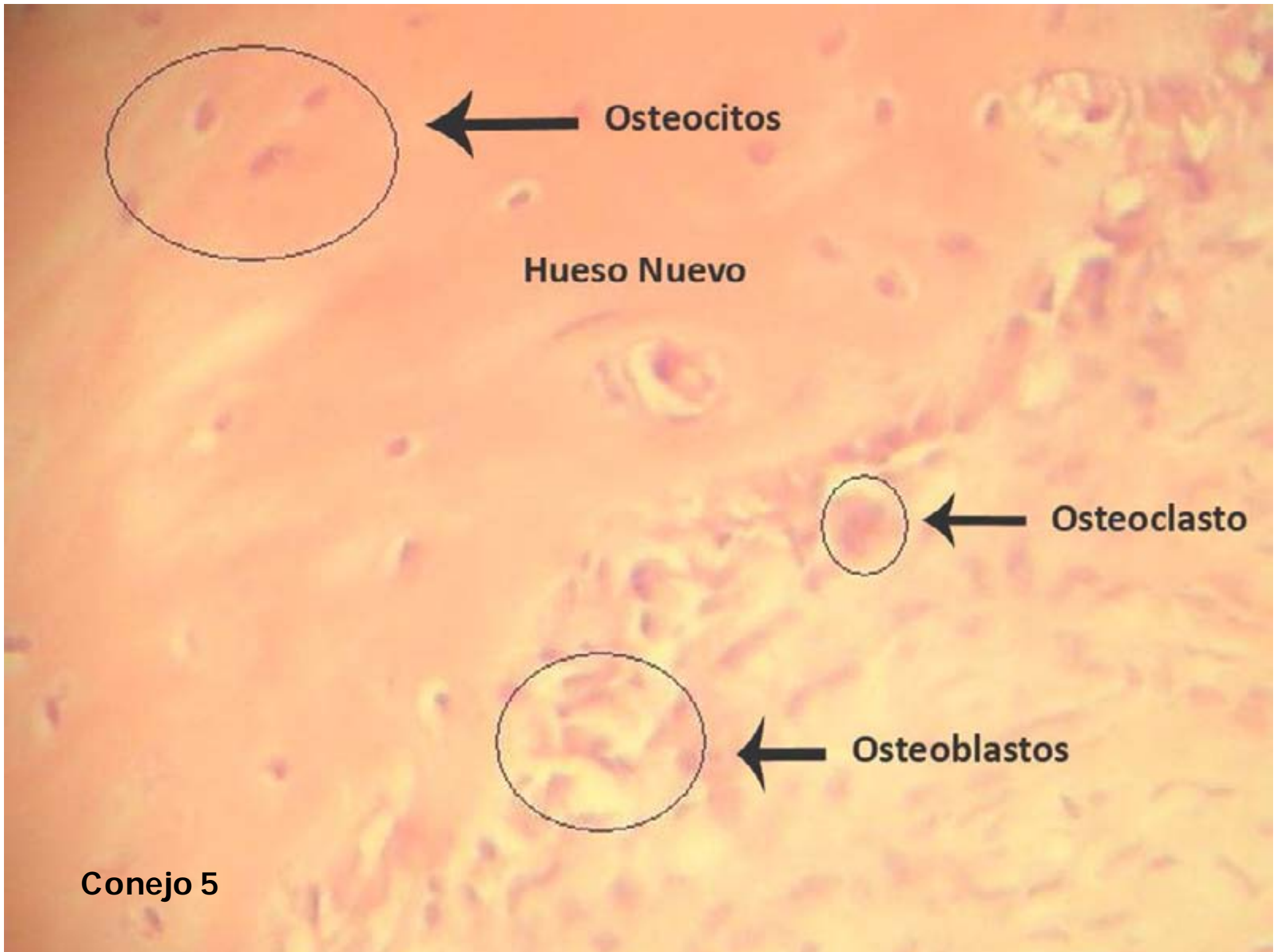


Hueso Maduro con Osteocitos

Conejo 3

# Comparación entre los promedios de Osteocitos en hueso nuevo y hueso normal Dr. López - Dr. Martínez.





**Conejo 5**

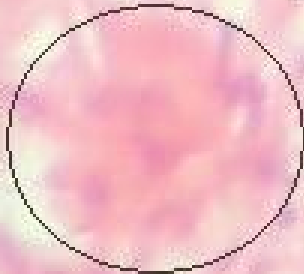
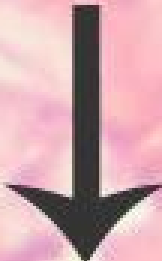


Granuloma a  
cuerpo extraño

Conejo 6

**Granuloma a cuerpo extraño**

**Células Gigantes**



**Conejo 6**

# CONCLUSIONES.

- ▶ El grado de reosificación obtenido en el grupo 1 varía del grupo 2 en cuanto al tiempo, siendo mayor en este último.
- ▶ El potencial osteoconductor de los dos pegamentos utilizados en la investigación fueron similares.
- ▶ El costo estimado de 15 ml de pegamento biológico (\$3.31) es menor al de 5 g de cianoacrilato (Súper Bonder®). (\$3.95)
- ▶ La evolución clínica de los animales de experimentación fue igual tanto en los que se utilizó cianoacrilato como pegamento biológico.
- ▶ El número de tamaño de la muestra, no es el adecuado para demostrar significancia estadística en el experimento, ya que es difícil llevar a cabo una investigación de este tipo por las limitantes económicas, y de infraestructura, que existen en nuestra Universidad.
- ▶ La técnica de conservación de tejidos *in vivo* contribuye favorablemente a la preservación en un medio fisiológico, y a su vez al reinjerto del autotrasplante.
- ▶ El trasplante de hueso autólogo es una técnica válida y asequible, para defectos óseos, y evita el rechazo inmunológico.





# RECOMENDACIONES.

- ▶ Continuar nuevas investigaciones en este campo, utilizando la técnica de conservación de tejidos *in vivo* y trasplante autólogo de hueso, con pegamento biológico.
- ▶ Experimentar comparando ambos pegamentos, empleando como mínimo 15 conejos por grupo, y con un tiempo de evolución no menor a 12 semanas de posesión del injerto autólogo trasplantado.
- ▶ Investigar a profundidad el pegamento biológico, para observar su comportamiento *in vitro* e *in vivo*, para poder determinar si es un factor crucial en la osteoinducción de hueso nuevo, al momento de realizar trasplantes óseos.
- ▶ Aunque durante el estudio no se evidenció toxicidad con ninguno de los dos pegamentos, recomendamos determinar en futuros experimentos las propiedades farmacológicas y tóxicas, de cada uno de estos.
- ▶ Diseñar nuevos estudios para comprobar la utilización de una cola de fibrina en otros tejidos diferentes al hueso, como músculo, piel, vasos sanguíneos y nervios.
- ▶ Realizar ulteriores investigaciones comparando diferentes técnicas de trasplante (autoinjerto *vs* aloinjerto), utilizando la misma técnica de conservación de tejidos *in vivo* y el pegamento biológico.
- ▶ Brindar mayor apoyo a los estudiantes para realizar este tipo de investigaciones, por parte de la universidad, e instituciones relacionadas con la salud.



