

Estudio experimental en conejos de un nuevo vidrio bioactivo en la reconstrucción de defectos óseos

Bone defect healing by using a new bioactive glass. An experimental study in rabbits.

R. GARRIDO LAHIGUERA (1), J. GIL ALBAROVA (2), R. GIL ALBAROVA (3), A.L. BUENO LOZANO, A.J. SALINAS SÁNCHEZ (5), M. MELGOSA GIL (1), M. VALLET REGÍ (5)
(1) UNIDAD MIXTA DE INVESTIGACIÓN. UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA. (2) SERVICIO DE CIRUGÍA ORTOPÉDICA Y TRAUMATOLOGÍA. HOSPITAL UNIVERSITARIO MIGUEL SERVET, ZARAGOZA. (3) SERVICIO DE CIRUGÍA ORTOPÉDICA Y TRAUMATOLOGÍA. HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO. DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA, FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE VALENCIA. (4) SERVICIO DE CIRUGÍA ORTOPÉDICA Y TRAUMATOLOGÍA. HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO "LOZANO BLESAS". ZARAGOZA. (5) DPTO. DE QUÍMICA INORGÁNICA Y BIOINORGÁNICA. FACULTAD DE FARMACIA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. MADRID.

TRABAJO FINANCIADO MEDIANTE PROYECTO CICYT (MAT98-0746-C02-02)

Resumen. Objetivo: Se evaluó "in vivo" un vidrio bioactivo en la reparación de defectos óseos en animales esqueléticamente maduros e inmaduros. Material y Método: Se intervinieron 32 conejos machos de Nueva Zelanda divididos aleatoriamente en dos Grupos de 16: esqueléticamente maduros e inmaduros respectivamente. En todos ellos, se labró un defecto óseo en la cara lateral del cóndilo femoral. En la mitad de cada Grupo se rellenó el defecto óseo con un implante de biovidrio. El resto sirvió como control. En los animales inmaduros, el defecto óseo resultó equivalente a una lesión fisaria tipo VI de Rang. El seguimiento fue de 4 meses. Se realizó un estudio radiográfico mensual, así como un estudio necrópsico, histológico e histomorfométrico de los especímenes. Resultados: Todos los animales finalizaron el estudio. No se observaron desviaciones axiales de las extremidades intervenidas en los animales inmaduros. El vidrio presentó una excelente osteointegración tanto en animales maduros como inmaduros, con evidencia de osteoconducción sobre su superficie, de forma simultánea a su degradación y reabsorción, sin deformidades o roturas. La formación ósea inducida por el vidrio fue mayor en los animales inmaduros respecto a los maduros. Los animales control presentaron una reparación del defecto óseo de menor calidad, con variaciones entre individuos. Conclusiones: El comportamiento "in vivo" el vidrio testado permite considerarlo como un material adecuado para la sustitución o reparación ósea, en el relleno de cavidades, la cobertura de superficies de implantes, y la vehiculización de sustancias. En cirugía del cartílago de crecimiento podría utilizarse como material de interposición tras la resección de puentes óseos fisarios.

Summary. Objective: To evaluate the usefulness of a new bioactive glass in bone defect healing in rabbits. Material & Methods: 32 New Zealand rabbits were randomly distributed in two groups of 16: mature and immature respectively. In all of them, a bone defect was performed in the lateral surface of femoral distal epiphysis. A glass bioactive implant was placed in the bone defect of 8 animals in each group. The others served as control. In the immature rabbits, bone defect results as a Type VI physeal injury of Rang. Follow-up was 4 months. A standardised radiographic study was monthly performed, and after sacrifice, a histological and morphometric study on the femora was done. Results: All the animals survived the follow-up. No axial deviations of distal femoral growth were observed in immature rabbits. The tested glass showed an excellent osteointegration in all the animals, with osteoconduction evidence over its surface, accompanying degradation and resorption phenomena, but without deformities or break. Bone healing over the tested bioactive glass was higher in immature rabbits than in mature animals. The control animals showed a poor bone defect healing, with variations among individuals. Conclusion: The in vivo behaviour of tested bioactive glass suggests its use as possible bone substitute for cavities filling, implant surfaces, and as drugs vehicle. In growth plate surgery, it should be use as interposition material after physeal bone bridges resection.

Correspondencia:

Dr. J Gil Albarova
 Fray Luis Amigó 2, 1º C
 50006 Zaragoza
 e-mail: jgilalba@posta.unizar.es

Introducción. En los últimos años, la idea de contar con materiales capaces de sustituir al hueso se ha desarrollado progresivamente. Entre otras razones, la obtención de un autoinjerto no está exenta de morbilidad, existe una limitación en cuanto a la cantidad a obtener y a la morfología anatómica del mismo, pese a ser el injerto ideal por su comportamiento en la mayoría de las necesidades (1-4). Por otra parte, se ha calculado que el coste económico de la obtención de un autoinjerto de cresta ilíaca y el tratamiento de su morbilidad puede exceder de los 5000 \$ por caso (4,5). El sustituto óseo ideal debería ser osteogénico, biocompatible, bioabsorbible, capaz de proporcionar soporte estructural y de vehicular otras sustancias, fácilmente utilizable en clínica y con una adecuada proporción coste-beneficio (2-4). En la práctica, sería deseable que en determinadas aplicaciones una o varias de dichas características predominasen sobre otras en función de la necesidad del caso a tratar.

Los biovidrios son cadenas silicofosfatas que pueden enlazarse iónicamente con diferentes compuestos. A su vez, pueden intercambiar iones o grupos moleculares con el medio fisiológico donde se implantan, siendo así posible su osteointegración mediante unión química al hueso. Sus formas reabsorbibles se han empleado como vehículos de liberación de sustancias. Su capacidad de dar lugar a la formación de una capa de apatita hidroxycarbonatada activa idéntica a la fase mineral del hueso, los hace muy útiles en cuanto a su aplicación en la superficie de implantes óseos para facilitar su osteointegración (6-9,10). Sus propiedades están directamente relacionadas con su composición, permitiendo así la creación de una gama de materiales con diferentes propiedades mecánicas y de disolución con intervalos que oscilan entre pocos días y varios meses (6-9). Existe una relación entre la diferente composición de los vidrios bioactivos y su capacidad de enlace al hueso, propuesta por Hench, delimitando unas proporciones determinadas de sus componentes que condicionan su

bioactividad, reabsorción y su comportamiento más o menos inerte (11).

El objetivo del presente trabajo fue el estudio experimental "in vivo" de un vidrio bioactivo aplicable a la sustitución, reparación o relleno de defectos óseos tanto en animales esqueléticamente inmaduros como maduros.

Material y Método. Como animal de experimentación se escogió el conejo de Nueva Zelanda. Se emplearon 32 animales machos, divididos en dos Grupos de 16 en dependencia del material empleado (Grupo V = Biovidrio y Grupo Ø = Control). Cada Grupo se subdividió a su vez en dos Subgrupos de 8 animales en dependencia de la madurez esquelética de los mismos. Se utilizaron conejos esqueléticamente inmaduros de 9 semanas de edad (Subgrupos F) y esqueléticamente maduros de 9 meses de edad (Subgrupos A). El desarrollo ponderal de los conejos adultos fue aproximadamente de 3500-4000 g, y en los animales de 9 semanas de edad fue de 1500-2000 g. Todos fueron alimentados con pienso NANTA". La estabulación, control sanitario, utilización y manejo de animales se realizó con arreglo a los principios éticos y a la legislación vigente según lo prescrito en el Real Decreto 223/88 (B.O.E. 18/10/89) sobre protección de animales utilizados en experimentación y otros fines científicos.

Como inducción a la anestesia se empleó Ketamina intramuscular a una dosis de 75 mg/Kg, la anestesia general fue inhalatoria mediante mascarilla con oxígeno y Forane®, a unos flujos de 2,5 l/minuto y 0,8-1,5 l/minuto respectivamente. Como analgésico se utilizó Buprenorfina a una dosis de 0,001-0,05 mg/Kg de forma subcutánea o intravenosa. Como profilaxis antibiótica se utilizaron dos dosis de 50 mg/Kg/día por vía intramuscular de Cefazolina.

Tras la exposición de la cara lateral de la epífisis distal del fémur izquierdo, se procedió a labrar el lecho del implante mediante fresa motorizada de 5 mm Ø, que penetraba en la unión de la metáfisis con la epífisis

sin sobrepasar los 4 mm de profundidad, centrando la perforación sobre la línea fisaria en los animales de los subgrupos FV y FØ, creando así una lesión fisaria clasificable como tipo VI de Rang (12) (Fig. 1). Este defecto óseo se rellenó con el implante de biovidrio en los subgrupos AV y FV, y no se rellenó en los subgrupos control, AØ y FØ (Fig. 2). La composición del vidrio implantado fue 80% SiO₂-17% P₂O₅-3% CaO, con una probada bioactividad "in vitro" mediante la formación de una capa rica en fosfato cálcico en su superficie cuando fue introducido en una solución con una composición iónica análoga al plasma humano (13). Fue diseñado y manufacturado para obtener una pastilla con unas dimensiones de 5 mm de diámetro y 2 mm de espesor. Su esterilización se realizó mediante estufa de calor seco a 250° C durante 1 hora, método que no alteraba su bioactividad "in vitro" (13).

Al finalizar la intervención, y mensualmente hasta el momento del sacrificio de los animales, se practicaron radiografías en proyección antero-posterior y lateral (Fig. 3). En los animales esqueléticamente inmaduros, se midió el ángulo fémoro-tibial formado por los ejes diafisarios. Todos los animales se mantuvieron estabulados durante 4 meses. Llegado el momento de la muerte del animal se le administraron 5 ml de Tiobarbital por vía intravenosa. Tras extraer las epífisis distales femorales se procesaron para su estudio histológico e histomorfométrico mediante la inclusión en metacrilato. Como método de tinción se utilizó el tricrómico de Masson-Goldner. Se cuantificó el área ósea, la del implante, área de tejido fibroso y medular, y la distancia implante-hueso

Estudio estadístico. Los cuatro subgrupos experimentales estuvieron formados por 8 individuos cada uno. Estos subgrupos se definieron como una variable independiente de tipo cualitativo, con cuatro posibles valores. Como variable dependiente, de tipo cuantitativa, se utilizó el porcentaje de masa ósea en cada espécimen. El análisis estadístico utilizado fue la prueba de



Figura 1. Defecto óseo labrado en un animal esqueléticamente inmaduro, equivalente a una lesión fisaria tipo VI de Rang. Obsérvese la línea fisaria en el fondo del defecto.

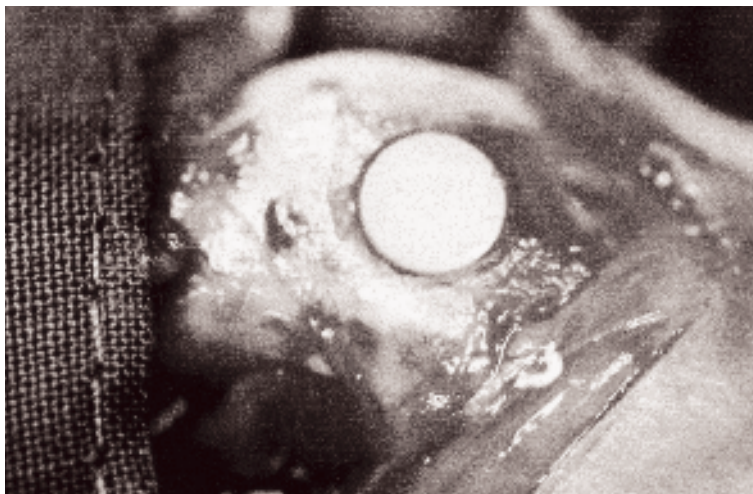


Figura 2. Implante de vidrio ajustado sobre el defecto óseo.



Figura 3. Postoperatorio inmediato. Control radiográfico en dos proyecciones. Obsérvese la localización del defecto óseo y el implante de vidrio.

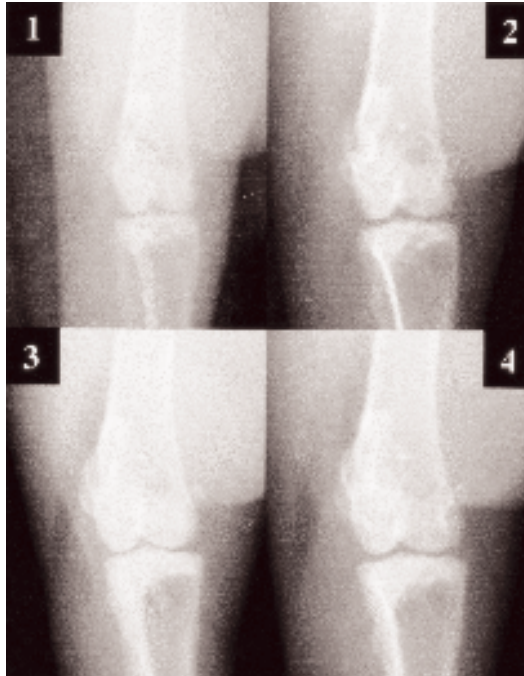


Figura 4. Secuencia radiográfica de los 4 meses del postoperatorio. Remodelación del contorno del defecto óseo creado con crecimiento perióstico englobando el implante de vidrio y cubriendo el defecto óseo. Mayor densidad ósea en el cóndilo femoral externo, delimitando el defecto óseo creado.



Figura 5. Especimen de la necropsia. Recubrimiento del vidrio por tejido óseo, periostio y tejido fibroso, con porciones visibles del implante de vidrio.

Kruskal-Wallis y el test de U de Mann-Whitney para comparar grupos dos a dos. En este test el nivel de significación elegida fue $p=0,013$. El programa estadístico utilizado fue el SPSS (v. 6.1.2.).

Resultados

Todos los animales cumplieron el seguimiento postoperatorio previsto. Los anima-

les AV8 y AØ4, presentaron sendos procesos osteoartíticos supurativos a nivel de la rodilla intervenida, desde el segundo mes del postoperatorio, sin alterarse su seguimiento previsto. El animal FØ1 sufrió una fractura de la tibia izquierda en el tercer mes del postoperatorio, que fue tratada con vendaje enyesado sin alterarse su seguimiento previsto.

1.- Estudio radiográfico

La tabla 1 recoge los valores del ángulo fémoro-tibial de las extremidades posteriores de los animales esqueléticamente inmaduros (Subgrupos FV y FØ), expresados en grados sexagesimales, en el postoperatorio inmediato y en los 4 meses de seguimiento (Tabla 1), sin que se observaran desviaciones axiales de las extremidades posteriores.

No se observaron migraciones de los implantes fuera del lecho de implantación en ninguno de los animales intervenidos. Desde el primer mes del postoperatorio, en todos los animales, se observó la remodelación del contorno del defecto óseo creado con crecimiento perióstico acompañante que tendía a englobar el implante de biovidrio en los animales AV y FV, y a cubrir el defecto óseo en los animales AØ y FØ. Junto a esto, se observó una mayor densidad ósea en el cóndilo femoral externo, delimitando el defecto óseo creado (Fig. 4). En el animal FV7, se observó una inestabilidad del implante de vidrio dentro del lecho óseo a lo largo de todo el estudio.

2.- Estudio necrósico

En la necropsia de los animales, se observó el recubrimiento del implante de biovidrio y del defecto óseo creado por tejido óseo, periostio y tejido fibroso, dejando visibles en ocasiones porciones del implante de biovidrio (Fig. 5). En los animales AV8 y AØ4, se observaron restos de abscesos encapsulados.

3.- Estudio histológico

A nivel macroscópico, el vidrio implantado aparecía en íntimo contacto con el tejido óseo trabecular que lo rodeaba, coexistiendo con zonas de tejido fibroso en menor proporción en todos los animales V salvo en el FV7 (Fig. 6). A mayor aumento, se observó

que el tejido óseo trabecular que rodeaba los implantes estableció puentes de unión con el vidrio, creciendo sobre su superficie (Fig. 7). Los animales esqueléticamente inmaduros (FV) mostraron una mayor riqueza de tejido óseo trabecular en la periferia de los implantes de vidrio, respecto a los animales maduros (AV). A nivel microscópico, se hicieron patentes las imágenes de degradación de los implantes de vidrio, que aparecían fisurados y con irregularidades en su superficie. Se observaron yemas de tejido conjuntivo y de tejido óseo adentrándose en las grietas de los implantes, como evidencia de su degradación y reabsorción (Fig. 8).

Los animales control, tanto inmaduros (FØ) como maduros (AØ), mostraron un completo recubrimiento del defecto óseo. En los animales control, también los animales inmaduros mostraron mayor número de trabéculas rellenando el defecto respecto a los animales maduros.

El animal FV7, que mostró una inestabilidad progresiva del vidrio en su lecho óseo durante el estudio, presentó una posición transversal del implante (Fig. 9). Esta movilización se acompañó de una mayor riqueza de tejido fibroso que óseo en la periferia del implante. El animal AV8, presentó un proceso osteoarttrítico supurado a nivel de la rodilla intervenida, desde el segundo mes del postoperatorio, que no alteró su seguimiento previsto pero condicionó una alteración de la morfología femoral (Fig. 10). Sin embargo, el implante de vidrio de este animal presentó una osteointegración muy similar al resto.

4.- Estudio histomorfométrico

La Tabla 2 recoge los valores en porcentaje de las superficies calculadas en los especímenes. La Tabla 3 muestra los valores en μm de la distancia media (y el rango) entre el implante de vidrio y el hueso. Se realizaron 250 mediciones en la periferia de cada espécimen. En todos ellos, la distancia fue menor de 1 mm con una distancia media global del Subgrupo FV de 96,54 μm y de 80,49 μm en el Subgrupo AV.

5.- Estudio estadístico

Se observaron diferencias estadística-

Tabla 1.

Valores del ángulo fémoro-tibial ($^{\circ}$). Subgrupos FV y FØ
D: Derecha I: Izquierda

ANIMAL	POSTOP		1 MES		2 MESES		3 MESES		4 MESES	
	D	I	D	I	D	I	D	I	D	I
FV1	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7
FV2	3	4	4	4	5	5	6	6	7	7
FV3	4	3	5	5	6	6	6	5	7	7
FV4	4	4	5	4	6	6	6	6	8	8
FV5	3	3	4	4	5	6	7	7	7	8
FV6	4	4	4	3	5	5	6	7	7	8
FV7	4	4	5	5	5	6	7	6	8	7
FV8	3	3	5	5	6	6	7	7	8	8
FØ1	4	4	5	5	6	6	7	7	8	8
FØ2	3	3	4	4	6	6	6	6	7	7
FØ3	3	4	4	5	5	5	6	6	8	8
FØ4	4	4	4	4	5	6	6	6	7	7
FØ5	4	4	5	5	6	6	7	7	7	7
FØ6	4	4	4	4	5	5	6	6	7	8
FØ7	3	3	4	4	6	6	6	7	7	8
FØ8	4	4	5	5	5	6	6	6	7	7

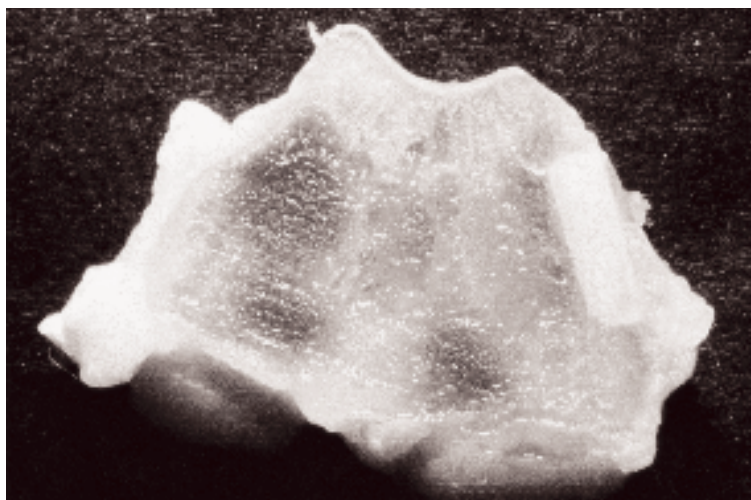


Figura 6. Corte histológico en fresco. Íntimo contacto entre el implante de vidrio y el hueso esponjoso del lecho receptor.

mente significativas entre los diferentes Subgrupos con respecto al porcentaje de área ósea (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los animales jóvenes con y sin biovidrio con respecto al porcentaje de área ósea (Mann-Whitney, $p < 0,013$), siendo mayor en los que tenían biovidrio. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los animales adultos con y

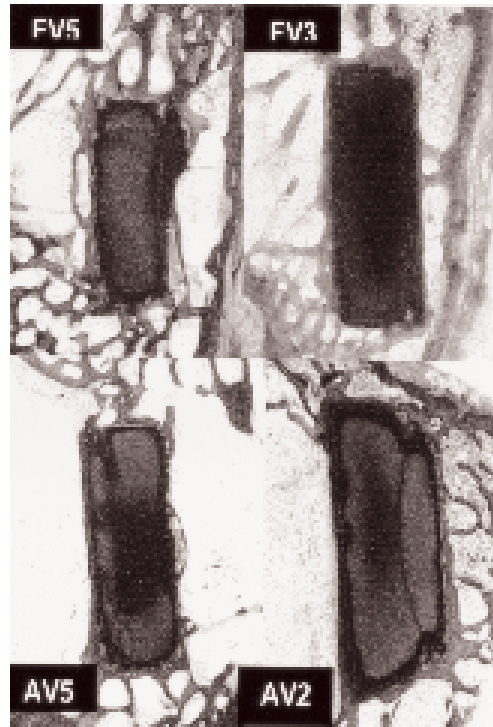


Figura 7. Tricrómico de Masson-Goldner (x20). Puentes de unión entre el tejido óseo trabecular y el vidrio, con crecimiento óseo sobre la superficie de los implantes. Los animales esqueléticamente inmaduros (FV) mostraron más tejido óseo trabecular en la periferia de los implantes que los animales maduros (AV).

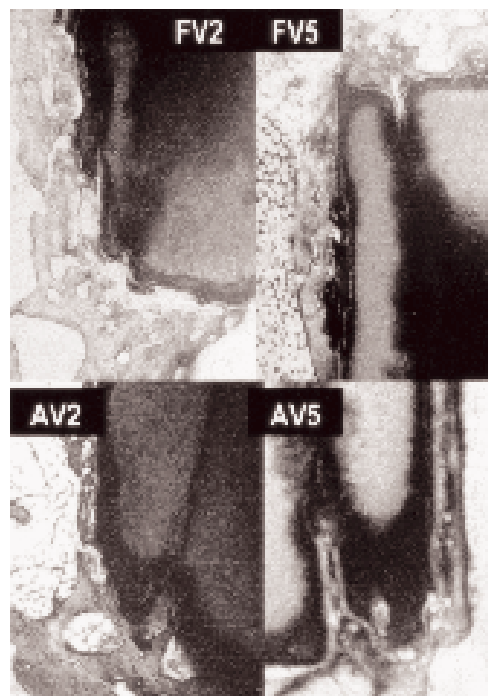


Figura 8. Tricrómico de Masson-Goldner (x40). Imágenes de degradación de los implantes de vidrio, con irregularidades en su superficie. Yemas de tejido conjuntivo y de tejido óseo adentrándose en las grietas de los implantes evidenciando su degradación y reabsorción.

sin biovidrio, con respecto al porcentaje de área ósea (Mann-Whitney, $p > 0,013$). Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los animales jóvenes sin biovidrio y los adultos, con o sin biovidrio, con respecto al porcentaje de área ósea (Mann-Whitney, $p < 0,013$).

Discusión

1.- Comportamiento del vidrio implantado como material capaz de sustituir al hueso.

Se considera que el sustituto óseo ideal debería ser osteogénico, biocompatible, bioabsorbible, capaz de proporcionar soporte estructural y de vehiculizar otras sustancias, fácilmente utilizable en clínica y con una adecuada proporción coste-beneficio (3,14,15). Analizaremos a continuación las características del implante de biovidrio utilizado en este estudio.

A.- Osteogénesis. Osteoinducción.

El término osteogénesis hace referencia a la formación de hueso sin precisar su origen celular (16-18). Cuando se forma nuevo hueso sobre un material como el vidrio implantado en nuestro estudio, que no vehiculizaba sustancia alguna, su origen radica en las células del lecho huésped (19). A este respecto pudimos comprobar la formación de hueso sobre los implantes de biovidrio, tendiendo a ocupar su superficie y a rellenar el defecto óseo creado en nuestros animales.

Para Shors (4), la formación ósea se inicia sobre la superficie de un implante si es bioactivo, y en condiciones ideales será de tipo intramembranoso. Las imágenes obtenidas en el estudio histológico hacen pensar que el implante de biovidrio utilizado pudo funcionar como estimulador de osteogénesis mediante el reclutamiento de células de tipo mesenquimal del lecho receptor, con diferenciación posterior a células formadoras de hueso sobre su superficie. En nuestro estudio, la coexistencia de tejido fibroso y óseo sin evidencia de tejido condral nos hacen pensar en una formación ósea fundamentalmente de tipo intramembranoso. A este respecto, pudimos comprobar que los

animales del Subgrupo FV mostraron un porcentaje mayor de área ósea que los animales del Subgrupo FØ con diferencias estadísticamente significativas. Esto traduciría un posible efecto osteoinductor del biovidrio testado.

En relación a esta observación, se ha subrayado como de particular importancia la vascularización del lecho de implantación y la riqueza del mismo en progenitores de células endoteliales y fibroblastos, en la respuesta a un implante osteoinductivo y/o osteoconductor (20-24). Según Stevenson (24), el proceso de osteoinducción requiere que el lecho receptor del injerto goce de un buen trofismo. Es lógico pensar que el lecho óseo receptor de los animales jóvenes gozase de mejores condiciones de trofismo local que el de los animales adultos, en los que pudimos constatar durante las intervenciones una menor riqueza de hueso esponjoso metafiso-epifisario respecto a los jóvenes. Sin embargo, la buena osteointegración de los implantes en los animales adultos hacen suponer que, quizá con un mayor tiempo de seguimiento postoperatorio, pudieran existir diferencias significativas entre el área ósea medida en los animales adultos con implante de Biovidrio (Subgrupo AV) frente a los respectivos controles (Subgrupo AØ). En este sentido, consideramos que tanto el lecho óseo de los animales del Subgrupo FV como los del AV, presentaron condiciones adecuadas de viabilidad siguiendo los criterios de Shors respecto al comportamiento osteoconductor de algunos materiales capaces de sustituir al hueso (4).

B.- Biocompatibilidad.

La ausencia de respuesta inflamatoria aguda o crónica, y la progresiva incorporación del biomaterial implantado al lecho óseo durante el tiempo de seguimiento estudiado, así como la ausencia de efectos deletéreos sobre tejidos distantes al lugar de implantación hablan a favor de su biocompatibilidad según la definición aceptada de la misma (25-27).

C.- Biodegradación.

La fisuración y fragmentación de los

Tabla 2.
Porcentajes de las áreas calculadas.

ANIMAL	% ÁREA ÓSEA	% ÁREA NO ÓSEA	% ÁREA IMPLANTE
AV1	21,67	71,09	7,24
AV2	33,03	59,86	7,11
AV3	29,92	63,52	6,56
AV4	61,76	36,04	2,20
AV5	25,60	68,70	5,70
AV6	31,94	61,58	6,48
AV7	31,80	61,24	6,96
AV8	60,98	33,75	5,26
AØ1	23,12	76,87	CONTROL
AØ2	28,15	71,85	CONTROL
AØ3	16,57	83,43	CONTROL
AØ4	20,78	79,22	CONTROL
AØ5	24,45	75,55	CONTROL
AØ6	20	80	CONTROL
AØ7	26,02	73,98	CONTROL
AØ8	27,64	72,36	CONTROL
FV1	26,24	64,45	7,31
FV2	37,43	56,25	6,32
FV3	35,66	58,53	5,82
FV4	29,28	65,06	5,66
FV5	39,09	58,24	2,67
FV6	27,95	68,09	3,95
FV7	33,72	61,19	5,09
FV8	23,20	73,59	3,21
FØ1	35	65	CONTROL
FØ2	38,67	61,33	CONTROL
FØ3	33,45	66,55	CONTROL
FØ4	33,76	66,24	CONTROL
FØ5	27,50	72,50	CONTROL
FØ6	31,28	68,72	CONTROL
FØ7	33,38	66,62	CONTROL
FØ8	28,69	71,31	CONTROL

implantes de biovidrio así como las irregularidades observadas en sus superficies, son signos de la biodegradación y bioabsorción que sufrieron en el lecho óseo receptor, atendiendo a los conceptos definidos por Pizzoferrato y cols. (26), Proubasta y cols. (27) y Vert y Guerin (28). La similitud en cuanto a la fisuración de los implantes de biovidrio en los diferentes animales y el hecho de no haberse observado roturas de los mismos, hacen pensar en un proceso de degradación biológica progresiva de los implantes durante el tiempo del seguimiento postoperatorio de los animales. Esta observación apoya el concepto expresado por Bauer y Muschler (20) respecto a que la remodelación de un material sintético capaz de sustituir al hueso, requiere que las

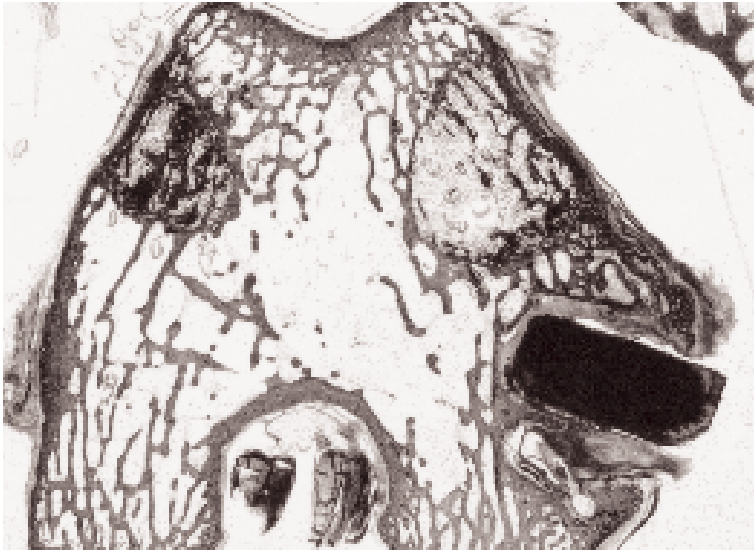


Figura 9. Tricrómico de Masson-Goldner (x5). Animal FV7. Posición transversal del implante por inestabilidad del mismo que condicionó una mayor riqueza de tejido fibroso en la periferia del implante.

cargas mecánicas se transmitan sobre él una vez implantado “in vivo” sin que se deforme o se rompa, entre otros requerimientos.

D.- Osteoconducción.

La constatación de imágenes de crecimiento de tejido fibroso y de tejido óseo entre las fisuraciones de los implantes de biovidrio utilizándolo a modo de andamio para la formación de nuevo hueso permite considerar la idea de definir como osteoconductor al biomaterial implantado (20,24,29,30). En nuestro material este proceso se dio de forma pasiva ya que el implante no contenía células vivas como puede ocurrir en el autoinjerto esponjoso. El proceso de osteoconducción que según Bauer y Muschler (20), junto con Stevenson (24), sigue un patrón espacial determinado por la estructura y comportamiento mecánico del implante, y el aporte vascular de los tejidos circundantes no difirió entre los animales del Subgrupo FV y los del AV.

Los dos factores determinantes de la magnitud y la velocidad de unión entre un injerto y el huésped son la estabilidad mecánica del lecho y el contacto entre ambos. Si el injerto no presenta una adecuada estabilidad mecánica, el tejido de granulación que lo rodea dará lugar a una fibrosis que se interpondrá entre el injerto y

el lecho, dificultando su incorporación (4,20-24). En nuestro estudio, pudimos observar este hecho en el animal FV7. En este animal, el estudio radiográfico reveló una inclinación progresiva del implante en el lecho, por inestabilidad. Esto se tradujo en la imagen histológica resultante, que mostraba la capa fibrosa que envolvía al implante separándolo del hueso que lo rodeaba. Por otra parte, el estudio histomorfométrico demostró que en este animal la distancia del implante al hueso fue la mayor de todos los intervenidos.

Considerando los criterios que Shors (4) cree necesarios para el comportamiento osteoconductor de los implantes coralinos, conocidos como la “triada de osteoconducción” (proximidad, viabilidad y estabilidad), y aplicándolos al biovidrio utilizado, pudimos comprobar que en nuestro estudio todos los implantes distaban menos de 1 mm al lecho óseo receptor en todas las mediciones practicadas en el estudio histomorfométrico, cumpliendo así el criterio de proximidad. Las cerámicas bioactivas con capacidad osteoconductiva, permiten que el hueso crezca sobre su superficie y se una químicamente a la misma de forma tridimensional (4,31-33). Las cerámicas tipo 3, son cerámicas, vidrios y vitrocerámicas de superficie reactiva, densos y no porosos cuya unión al hueso se lleva a cabo mediante enlaces químicos, formando una fijación bioactiva (27). La íntima unión del hueso a la superficie de los implantes de biovidrio observada en nuestro estudio, permite suponer una fijación bioactiva entre ambos, y en definitiva una osteointegración mediante unión química al hueso, reforzando así las evidencias de la capacidad de osteoconducción del biovidrio utilizado.

E.- Remodelación ósea.

La formación ósea sobre los implantes está en gran relación con las cargas mecánicas que soportan, como expresión de la Ley de Wolff (4,18,20,34). Este hecho puede conllevar diferencias en cuanto a la remodelación ósea sobre un mismo material en dependencia de su localización en el segmento óseo donde se implanta, aunque la

respuesta inicial del tejido óseo receptor sea la misma (4,35).

A este respecto, ya que en nuestro modelo experimental la localización del implante fue siempre epífiso-metáfisaria, no pudimos evidenciar diferencias en el patrón de remodelación ósea entre los animales FV y AV. Además, todos los animales en nuestro estudio, incluyendo los grupos controles, mostraron un patrón radiográfico muy similar que incluyó la formación de un puente óseo sobre el defecto óseo creado, y una mayor densidad radiológica del cóndilo externo en el momento del sacrificio. Hemos de señalar que nuestro implante se emplazó en la zona epífiso-metáfisaria, lugar de constante remodelación ósea (16,17,36). Buckwalter y cols. (16,17), consideran que la remodelación ósea puede alterarse en el tiempo como respuesta a la existencia de implantes óseos interviniendo factores como la edad y sexo del individuo. Por otra parte el daño perióstico causado en el momento de la realización del defecto óseo es otro factor a considerar en la posible alteración de la remodelación ósea local, y así Ashammakhi y cols. (37), comprobaron en ratas que la implantación de láminas de ácido poliglicólico autoreforzado a nivel metafisario estimulaba la formación ósea a dicho nivel.

Bauer y Muschler (20), sugieren desde el punto de vista teórico que la remodelación de un material sintético capaz de sustituir al hueso requiere que éste sea osteoconductor, que las cargas mecánicas se transmitan sobre él una vez implantado "in vivo" sin que se deforme o se rompa y que su composición permita la reabsorción osteoclástica. Nuestras observaciones sobre el biovidrio implantado permiten avalar las dos primeras condiciones, y suponer el cumplimiento de la tercera ya que aunque hemos observado reabsorción de los implantes, no podemos confirmar la participación de osteoclastos en dicho proceso. Sin embargo, las observaciones de Meseguer y cols. (33), junto con Uchida y cols. (38), en cuanto a la reabsorción fagocítica de diferentes cerámicas porosas en

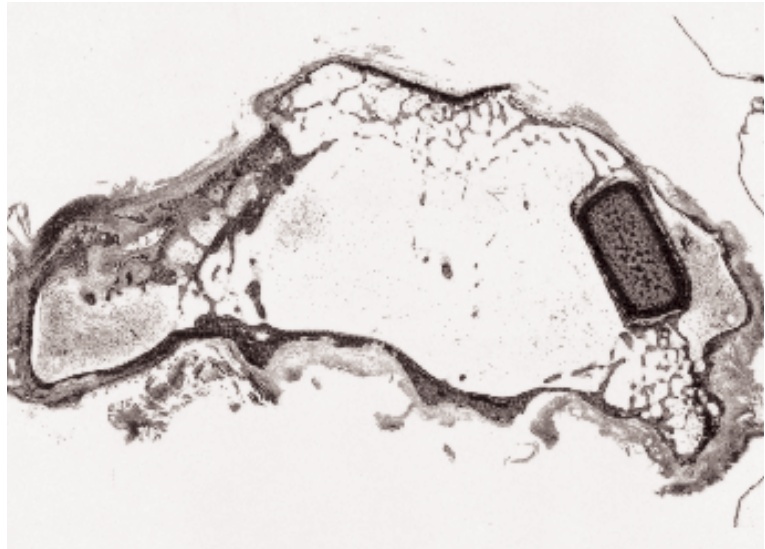


Figura 10. Tricrómico de Masson-Goldner (x5). Animal AV8. Alteración de la morfología femoral secundaria a osteoartritis supurada. Obsérvese la aceptable osteointegración del implante.

conejos, hace suponer un mecanismo similar.

F.- Comportamiento ante la infección.

Por otra parte, Shors (4) considera que la existencia de una infección concomitante en la zona de implantación de un material coralino desencadenaría una respuesta inflamatoria, aunque no recoge evidencias de que estos materiales faciliten la infección, sino que se comportan como biocompatibles y resistentes al proceso infeccioso. Algo similar pudimos observar en el animal AV8, en el que fue patente un proceso infeccioso supurado que alteró la morfología femoral pero no la incorporación del biovidrio implantado al lecho receptor.

2.- Comportamiento del vidrio implantado como material de interposición en cirugía del cartílago de crecimiento.

El defecto óseo creado en nuestro modelo experimental en los animales esqueléticamente inmaduros, podría clasificarse como una lesión fisaria tipo VI de Rang (12), que al dañar el anillo pericondral de Ranvier es considerada como de mal pronóstico (39). Por otra parte, el fresado fisario destruyó la fisis en una proporción suficiente para crear una epifisiodesis tras la formación del puente fisario (40), y en definitiva resulta comparable al utilizado en las

Tabla 3.

Valores en micras de la distancia implante-hueso
D.M. Distancia media D.E. Desviación estándar

Animal	FV1	FV2	FV3	FV4	FV5	FV6	FV7	FV8
D.M.	63,6	90,69	49,94	89,14	68,24	83,95	220,02	106,76
(D.E.)	(63,21)	(96,93)	(39,98)	(117,96)	(64,41)	(47,29)	(254,60)	(61,13)

Animal	FV1	FV2	FV3	FV4	FV5	FV6	FV7	FV8
D.M.	84,46	52,52	80,83	112,53	62,88	90,18	85,59	74,95
(D.E.)	(81,21)	(50,97)	(84,12)	(109,05)	(41,55)	(92,55)	(118,26)	(75,92)

técnicas de epifisiodesis percutánea en clínica humana (41-43). Un modelo muy similar fue utilizado por López-Casero y cols. (44) en la reconstrucción de defectos óseos y por Baeza y Oliete (40) en la prevención de puentes fisarios mediante la interposición de diferentes sustancias. Algunos autores consideran que la extensión de una lesión fisaria capaz de alterar el crecimiento en conejos oscila entre el 3% y el 9% (45). Baeza y Oliete (40) calculan que en su modelo experimental, la destrucción por fresado medial de la fisis femoral distal representa el 25-30% del total de la fisis, consiguiendo la creación de puentes fisarios. Para ello utilizaron una fresa cónica de 4 mm de diámetro que penetraba 5 mm en el fémur. En nuestro modelo, la fresa utilizada era de mayor diámetro y de morfología cilíndrica, por lo que la destrucción fisaria por fresado resultó probablemente superior. En definitiva, la lesión practicada resultó similar a las que se logran mediante epifisiodesis percutánea en clínica humana (41-43).

A este respecto, resultó sorprendente la ausencia de desviaciones axiales en valgo de la extremidad intervenida en los animales de los Subgrupos FV y FØ, en los que cabía suponer que el daño fisario causado por fresado de la fisis en su porción lateral provocase una alteración del crecimiento. Junto a esto cabe considerar como del mal pronóstico una lesión fisaria causada en un individuo muy joven, dado el potencial teórico de crecimiento restante (46). Otros autores utilizando un modelo experimental muy similar han observado desviaciones axiales

significativas al practicar una lesión fisaria mediante fresado en la cara medial del fémur distal del conejo (40).

En nuestros animales, la remodelación ósea en respuesta a la creación del defecto óseo consistió en la creación de un puente óseo que cubría el defecto visible en el estudio radiográfico, junto con el crecimiento de trabéculas óseas para su reconstrucción con o sin implante, visibles en el estudio histológico. Sin embargo, aunque nuestras observaciones avalan la formación de un puente óseo, éste no se acompañó de una desviación axial de la extremidad intervenida, tanto en los animales en los que se implantó biovidrio como en los que no.

Aunque los animales del Subgrupo FØ, en los que el fresado fisario sin colocación de implante de biovidrio no se acompañó de desviaciones axiales de la extremidad intervenida, surge la idea de la posible aplicación del biovidrio implantado como material de interposición en el tratamiento de los puentes fisarios. A este respecto, se han utilizado diversos materiales de interposición como grasa y músculo autólogos, metilmetacrilato con o sin bario, cera, silicona, ácido poliglicólico, cranioplast® o cartílago con diferentes resultados (40,47-52).

Los fenómenos de biodegradación y bioabsorción del biovidrio implantado, ofrecerían ventajas en cuanto al resto de materiales inertes descritos en la literatura. Así, ajustando el tiempo de reabsorción completa del implante para que ocurriera de forma posterior al cierre fisario, se podría dar paso a la formación ósea reparadora en el lugar de su implantación sin precisar de un segundo tiempo quirúrgico para su retirada, permitiendo una teórica restitución completa de la lesión tratada. Similares sugerencias se han realizado con la utilización de polímeros degradables (28,47-49).

A este respecto, en la actualidad se conoce la relación entre la diferente composición de los vidrios bioactivos y su capacidad de enlace al hueso, propuesta por Hench, delimitando unas proporciones determinadas de sus componentes que condicionan su bioactividad, reabsorción y su comportamiento

más o menos inerte (11). Sería posible desde el punto de vista teórico la fabricación de implantes en función del tiempo deseable de su reabsorción en función de las necesidades clínicas (11,26). Las propiedades de los biovidrios están directamente relacionadas con su composición, permitiendo así la creación de una gama de materiales con diferentes propiedades mecánicas y de disolución con intervalos que oscilan entre pocos días y varios meses (6-9,53).

3.- Aplicación clínica

Dado el número tan importante de injertos óseos realizados anualmente (4,24,29,30) y prótesis utilizadas en la práctica diaria (18,27,53), se hace necesario contar con un sustituto ideal para el hueso, de lo que se desprende la posible utilidad clínica del material que hemos utilizado experimentalmente. La utilización de sustitutos óseos hace desaparecer la no desdeñable morbilidad derivada de la obtención de injertos óseos (1,5,14,24), así como la respuesta inmunológica del huésped al biomaterial observada en los aloinjertos (1,20,29).

Un material sintético como el que proponemos, ayudaría en primer lugar a disminuir todavía más el riesgo de transmisión de enfermedades con la utilización de los bancos de tejidos, que aunque es mínimo con los actuales métodos de detección (29,54), todavía presentan un período "ventana" que oscila entre 15 y 30 días en dependencia del test empleado (30,55). Por otra parte, se minimizarían la metodo-

logía de conservación y procesado de los implantes en los bancos de huesos con los costes económicos que ello supone (24). La facilidad para la esterilización del biovidrio utilizado, sería otra ventaja desde el punto de vista de manejo clínico y reutilización del mismo, en relación a los aloinjertos óseos.

Las formas reabsorbibles de los biovidrios se han empleado como vehículos de liberación de sustancias (6-10,13,38). Esta sería otra posible utilidad del vidrio testado, permitiendo desde el punto de vista teórico la vehiculización de antibióticos, factores de crecimiento o de cultivos celulares en determinadas aplicaciones, manteniendo su bioactividad, y añadiendo un ambiente protector o estimulador en el lecho de implantación durante el proceso de reabsorción como ya se ha demostrado con otros materiales (3,11,14,15,21,44,56,57).

La capacidad de los biovidrios de dar lugar a la formación de una capa de apatita hidroxycarbonatada activa idéntica a la fase mineral del hueso, los hace muy útiles en cuanto a su aplicación en la superficie de implantes óseos para facilitar su osteointegración (6-10,13,53).

Finalmente, hemos de considerar la ya mencionada posibilidad de emplear este material como sustancia de interposición en el tratamiento de puentes fisarios, para lo cual podrían fabricarse implantes con propiedades mecánicas y de disolución con intervalos diferentes así como de morfología adaptada a cada caso. ■■■■■

Bibliografía

1. **Canosa Sevillano P, Pérez Blanco R.** Diferentes alternativas de reconstrucción, biológicas y con biomateriales, de los defectos óseos. *Rev Ortop Traumatol* 1992; 36B:128-34.
2. **Chapman MW.** Bone grafting. En Chapman MW y Madison M, editores: *Operative Orthopaedics*. Philadelphia, JB Lippincott, 1993; p. 139-49.
3. **Lane JM, Tomin E, Bostrom MPG.** Byosynthetic bone grafting. *Clin Orthop* 1999; 367S:107-17.
4. **Shors EC.** Coraline Bone Graft substitutes. *Orthop Clin North Am* 1999; 30:599-613.
5. **Younger EM, Chapman MW.** Morbidity at bone graft donor sites. *J Orthop Traum* 1989; 3:192-5.
6. **Clément J, Ekeberg L, Martínez S, Ginebra MP, Planell JA.** Influence of the chemical composition on the mechanical properties and in vitro solubility of Phosphate glasses in the system P2O5-CaO-Na2O. *Bioceramics* 1998; 11:141-4.
7. **Clément J, Bjelkemyr A, Martínez S, Fernández E, Ginebra MP, Planell JA.** Analysis of the kinetics of dissolution and the evolution of the mechanical properties of a phosphate glass stored in simulated body fluid. *Bioceramics* 1999; 12:375-8.
8. **Clément J, Maneo JM, Planell JA, Avila G, Martínez S.** Analysis of structural changes of a phosphate glass during its dissolution in simulated bone fluid. *J Mat Sci* 1999; 10:729-32.
9. **Clément J, Torres P, Gil FJ, Planell JA, Terradas R, Martínez S.** Evaluation by Vickers indentation of fracture toughness of a phosphate biodegradable glass. *J Mat Sci* 1999; 10:437-41.
10. **Hollinger JO, Brekke J, Gruskin E, Lee D.** Role of bone substitutes. *Clin Orthop* 1996; 324:55-65.
11. Hench LL. *Bioceramics: From concept to clinic*. *J Am Cer Soc* 1991; 74:1487-1510.
12. **Rang M.** Injuries of the epiphyses, the growth plate, and the pericondral ring. En: *Children's Fractures*. Philadelphia: JB Lippincott 1974.
13. **Salinas AJ, Román J, Vallet-Regí M, Oliveira JM, Correia RN, Fernandes MH.** In vitro bioactivity of glass and glass-ceramics of the 3CaO P2O5-CaO SiO2-CaO MgO 2SiO2 system. *Biomaterials* 2000; 21:251-7.
14. **Tay BKB, Patel VV, Bradford DS.** Calcium sulfate and calcium fosfate based bone substitutes. Mimicry of the mineral phase of bone. *Orthop Clin North Am* 1999; 30:615-23.
15. **Winn SR, Udulag H, Hollinger JO.** Carrier systems for bone morphogenetic proteins. *Clin Orthop* 1999; 367S:95-106.
16. **Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R.** Bone biology. Part I: Structure, blood supply, celles, matrix, and mineralization. *J Bone Joint Surg* 1995; 77A:1256-75.
17. **Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R.** Bone biology. Part II. *J Bone Joint Surg* 1995; 77A:1276-89.
18. **Tägil M.** The morselized and impacted bone graft. Animal experiments on proteins, impaction and load (Thesis). *Acta Orthop Scand* 2000; 71 (suppl 290):1-40.
19. **Burchardt H.** The biology of bone graft repair. *Clin Orthop* 1983; 42:28-42.
20. **Bauer TW, Muschler GF.** Bone graft materials. An overview of the basic science. *Clin Orthop* 2000; 371:10-27.
21. **García Novalvos A, Clavel-Sainz M, Meseguer J, Gabardo A, Santoja F.** Poliésteres (PLA/PGA) biodegradables en Cirugía Ortopédica: Estudio de su degradación y sustitución por tejido óseo. *Rev Ortop Traumatol* 1996; 40:500-10.
22. **Scaduto AA, Lieberman JR.** Gene therapy for osteoinduction. *Orthop Clin North Am* 1999; 30:625-35.
23. **Stevenson S, Emery SE, Goldberg VM.** Factors affecting bone graft incorporation. *Clin Orthop* 1996; 324:666-74.
24. **Stevenson S.** Biology of bone grafts. *Orthop Clin North Am* 1999; 30:543-52.
25. **Perren SM, Gogolevski S.** Clinical Requirements for Bioresorbable implants in Internal Fixation. En: Kwok-sui L, Leung-kim H, Ping-chung L, editores. *Biodegradable Implants in Fracture Fixation*. ISFR Symposium. Singapur: The Chinese University of Hong Kong and World Scientific Publishing Co.1994; p. 35-44.
26. **Pizzoferrato A, Ciapetti G, Savarino L, Stea S, Donati ME, Visentin M.** Kinetics of biodegradable implant resorption. En: Kwok-sui L, Leung-kim H, Ping-chung L, editores. *Biodegradable Implants in Fracture Fixation*. ISFR Symposium. Singapur: The Chinese University of Hong Kong and World Scientific Publishing Co,1994; p. 153-63.
27. **Proubasta Y, Gil Mur J, Planell JA.** Fundamentos de Biomecánica y Biomateriales. Ergon SA, 1997.
28. **Vert M, Guerin Ph.** Biodegradable aliphatic polyesters of the poly (hydroxy acid) type for temporary therapeutic applications. En: Barbosa MA, editor. *Biomaterials degradation. Fundamental aspects and related clinical phenomena*. Amsterdam: Elsevier Science Publishing Co, 1991; p. 35-51.
29. **Boyce T, Edwards J, Scarborough N.** Allograft bone. The influence of processing on Safety and performance. *Orthop Clin North Am* 1999; 30:571-81.
30. **Tomford WW, Mankin HJ.** Bone Banking. Update on Methods and materials. *Orthop Clin North Am* 1999; 30:565-70.
31. **Goshima J, Goldberg VM, Caplan AI.** The osteogenic potential of culture-expanded rat marrow mesenchymal cells assayed in vivo in calcium phosphate ceramic blocks. *Clin Orthop* 1991; 262:298-311.
32. **Gray JC, Elves MW.** Early osteogenesis in compact bone isografts: A quantitative study of the contributions of the different graft cells. *Calcif Tissue Int* 1979; 29:225-37.
33. **Meseguer Olmo LR, Vicente Ortega V, Alcaraz Baños M, Rodríguez Vicente J, Galian Canovas A, Clavel-Sainz Nolla M.** Osteointegración de la cerámica porosa de β -Whitlockite. *Rev Ortop Traumatol* 1995; 39:528-33.
34. **Kushner A.** Evaluation of Wolff's law of bone formation. *J Bone Joint Surg* 1940 22:589-96.
35. **Holmes RE, Bucholz RW, Mooney V.** Porous hydroxyapatite as a bone-graft substitute in metaphyseal defects: A histometric study. *J Bone Joint Surg* 1986; 68A:904-11.
36. **Gascó J, De Pablos J.** Bone remodeling in malunited fractures in children. En: De Pablos J, editores. *Surgery of the growth plate*. Ediciones Ergón SA 1998; p. 201-21.
37. **Ashammakhi N, Mäkelä EA, Vihtonen K, Rokkanen, P; Törmälä, P.** The effect of absorbable self-reinforced polyglycolide membrane on metaphyseal bone. An experimental study on rats. *Ann Chir Gyn* 1994; 83:328-34.
38. **Uchida A, Nade S, McCartney E, Ching W.** Bone ingrowth into three different porous ceramics implanted into de tibia of rats and rabbits. *J Orthop Res* 1985; 3:65-70.

- 39. Langeskiöld A, Hon FRCS.** Role of the ossification groove of Ranvier in normal and Pathologic bone growth: A review. *J Pediatr Orthop* 1998; 18:173-7.
- 40. Baeza Giner V, Oliete Sanz V.** Experimental prevention of the formation of physeal bone bridges by interposition of different substances. *Mapfre Medicina* 1993; 4 (Supl1):87-91.
- 41. Atar D, Lehman WB, Grant AD, Strongwater A.** Percutaneous epiphysiodesis. *J Bone Joint Surg* 1991; 73B:173.
- 42. Bowen JR, Jhonson W.** Percutaneous epiphysiodesis. *Clin Orthop* 1984; 190:170-3.
- 43. Canale ST, Russell TA, Holcomb RL.** Percutaneous epiphysiodesis: experimental study and preliminary clinical results. *J Pediatr Orthop* 1986; 6:150-6.
- 44. López-Casero R, De Pedro JA, Perez-Caballer AJ, Lopez-Valero I, San Román J, Lopez Bravo J.** Reparación de un defecto óseo crónico experimental mediante aloinjerto y polímeros biodegradables. *Rev Ortop Traumatol* 1995; 39:350-61.
- 45. Böstman OM, Päivärinta U, Manninen M, Rokkanen P.** Polymeric debris from absorbable polyglycolide screws and pins. Intraosseous migration studied in rabbits. *Acta Orthop Scand* 1992; 63:555-9.
- 46. Salter RB, Harris WR.** Injuries Involving the Epiphyseal Plate. *J Bone Joint Surg* 1963; 45A:587-622.
- 47. Gil Albarova J, Fini M, Gil Albarova R, Melgosa M, Aldini-Nicolo N, Giardino R, Seral F.** Absorbable screws through the greater trochanter do not disturb physeal growth. Rabbits experiments. *Acta Orthop Scand* 1998; 69:273-6.
- 48. Gil Albarova J, Melgosa M, Gil Albarova R, Fini M, Aldini-Nicolo N, Giardino R, Seral F.** Trochanteric epiphysiodesis by means of absorbable screws. An experimental attempt in rabbits. En: De Pablos J, editor. *Surgery of the growth plate.* Ediciones Ergón SA, 1998; p. 64-9.
- 49. Gil Albarova J, Melgosa M, Gil Albarova R, Fini M, Aldini-Nicolo N, Giardino R, Seral F.** Bloqueo fisario mediante implantes reabsorbibles. Estudio experimental en conejos. *Rev Ortop Traumatol* 1998; 42:318-23.
- 50. Langeskiöld A.** Surgical treatment of partial closure of the growth plate. *J Pediatr Orthop* 1981; 1:3-11.
- 51. Martiana K, Kwang Low C, Ser Kiat Tan M, Wen Yi Pang M.** Comparison of various interpositional materials in the prevention of transphyseal bone bridge formation. *Clin Orthop* 1996; 325:218-24.
- 52. Ogden JA.** Current concepts review. The evaluation and treatment of partial physeal arrest. *J Bone Joint Surg* 1987; 69A:1297-302.
- 53. López-Sastre Núñez A, Val Bernal JF, Gonzalo Orden JM, Gorrochategui Sánchez I, Buelta Carrillo L, López-Sastre A.** La influencia del revestimiento de hidroxipatita y de biovidrio en la osteointegración de implantes de titanio. *Rev Ortop Traumatol* 1997; 41:173-81.
- 54. Tomford WW.** Transmission of disease through transplantation of musculoskeletal allografts: Current concepts review. *J Bone Joint Surg* 1995; 77A:1742-54.
- 55. Ortiz Cruz EJ, Campo Loarte J, Martínez Marín C, Canosa Sevillano R.** Estructura y organización de un banco de huesos y tejidos. *Rev Ortop Traumatol* 2000; 44:127-38.
- 56. Lee DD, Tofighi A, Aiolova M, Chakravarthy P, Catalano A, Majahad A, Knaack D.** BSM®: A biomimetic bone substitute and drug delivery vehicle. *Clin Orthop* 1999; 367S: 396-405.
- 57. Wei G, Kotoura Y, Oka M, Yamamuro T, Wada R, Hyon S-H, Ikada Y.** A bioabsorbable delivery system for antibiotic treatment of osteomyelitis: the use of lactic acid oligomer as a carrier. *J Bone Joint Surg* 1991; 73B:246-52.