

Centro de Investigaciones Médico-Quirúrgicas

Banco de Tejido Óseo Congelado para Trasplante

Dr. Cs. Alfredo Ceballos Mesa*, **Dr.C. Roberto Balmaseda Manent****, **Dr. Mario Pedroso Canto*****, **Dr. Carlos Alfonso Sabatier******

* Profesor Titular de Ortopedia y Traumatología, Profesor Consultante del ISCMH y del Centro de Investigaciones Médico-Quirúrgicas, Académico Titular de la Academia de Ciencias de Cuba

** Profesor Auxiliar de Ortopedia y Traumatología.

*** Especialista de 1er. Grado en Ortopedia y Traumatología

**** Especialista de 1er Grado en Anatomía Patológica

RESUMEN

Se realizó un ensayo clínico fase I en 32 pacientes que acudieron al Servicio de Ortopedia y Traumatología del Centro de Investigaciones Médico-Quirúrgicas en el periodo comprendido entre los años 1998 y 2000, con defectos óseos de diferentes etiologías o necesitados de reconstrucción esquelética, para comprobar la incorporación de injertos homólogos utilizados a partir de fragmentos óseos conservados en solución antiséptica y congelados a menos 4° C en refrigeradores comerciales por un periodo máximo de 45 días. Se obtuvo la consolidación en 10 pseudoartrosis de un total de 14 intervenidas en el periodo de 1 año; entre las fallidas, 1 fue por infección. Se creó el lecho apropiado para colocar nueva prótesis en cinco aflojamientos asépticos de prótesis total de cadera. Un techo acetabular consolidado estabilizó una displasia de cadera. Se obtuvo fijación estable en tres artrodesis de cuatro operadas, de ellas, una en curva escoliótica. Fueron rellenados sin recidiva cuatro tumores óseos benignos, tres osteotomías abiertas correctoras y un gran defecto de siete cm. Se produjo incorporación del injerto en 27 de los 32 casos para un 84 %. La trama ósea se conservó siempre en el injerto, lo que garantizó la conductividad para ser invadido por tejidos neoformados en el proceso de osteogénesis. Esta experiencia permite recomendar la creación de pequeños bancos de hueso en refrigeradores situados en la vecindad de los salones de operaciones, de forma que el ortopédico disponga "al alcance de la mano" de ese recurso. Palabras clave: trasplante, osteogénesis, conductividad.

ABSTRACT

A phase I clinical assay was carried out in 32 patients in Orthopedic and Traumatology Department of CIMEQ between 1998-2000 with bone defects and reconstructive surgery in order to prove the incorporation as homologous graft of bone fragments conserved frozen in a disinfectant solution at minus 4° C into a commercial refrigerator during less than 45 days. In 14 non-unions good result was obtained in 10; among the failures 1 was for infection. In five aseptic loosening of hip total prosthesis the grafts allowed the implantation of new cemented prosthesis. One acetabular roof was created. In three arthrodesis, fusion was obtained included one scoliosis. Good refill of bone defects consolidate in four bone tumors, three correction osteotomies and a seven cm traumatic interfragmentary loosening. Good results was obtained in 27/32 patients that means the 84% of our serie. Structure of the graft and it's osteoconductive osteogenesis property was conserved in all examples. Our experience recommend the creation of small bone banks near the operation room to have enough bone graft available when needed. Key words: transplant, osteogenesis, conductivity.

Introducción:

El trasplante óseo constituye una necesidad en la cirugía ortopédica y traumatológica para el relleno de cavidades, para reforzar y consolidar elementos óseos disociados, contribuir a la neoformación tisular y servir como armazón a la angiogénesis reparativa de las estructuras óseas afectadas.

El tejido óseo preferible para trasplantar es el autólogo, es decir el del propio paciente por poseer funciones de inducción, que facilita el aporte de células y el estímulo de osteoprogenitoras y de conductividad, mediante la cual aporta la armazón cortical o esponjosa para la neoformación celular⁽¹⁾.

No siempre es posible disponer de hueso autólogo, ya que el mismo presenta las siguientes desventajas: aumenta la morbilidad al ser necesario realizar otra operación en un área donante del propio paciente, sacrifica estructuras normales y hay limitaciones en cuanto al tamaño, en especial la cantidad que puede extraerse, por lo que se procuran otras fuentes donadoras.

La supervivencia de los osteocitos depende del riego sanguíneo, que se pierde al cortar y separar el hueso del área donante, por lo que ellos mueren en su casi totalidad, de ahí que el valor del injerto dependa más de su sustancia intercelular calcificada y de la trama o andamiaje que ella aporta, por ello el trasplante de hueso homólogo (tomado de otro humano) puede cumplir las funciones de hueso autólogo⁽²⁻³⁾.

El hueso homólogo luego de extraído de un semejante necesita ser conservado en lo que se ha dado por llamar Banco de Hueso, cuya creación en el mundo se debe a los trabajos del cubano Alberto-Inclán Costa, quien en 1942 publicó la conservación de injertos óseos en frascos de cristal preservados con sangre citratada del paciente o del donante, colocándolo inmediatamente en el refrigerador a temperaturas fluctuantes entre menos dos a menos cinco grados centígrados⁽⁴⁾.

En 1949, los mejicanos Sierra y Estrada fundaron un Banco donde conservaron el injerto homólogo en soluciones antisépticas (merthiolate y parafenol) a temperatura ambiente⁽⁵⁾.

Posteriormente se han utilizado diversos métodos para almacenar y conservar los injertos, entre los más usados se encuentran:

- **Por congelación:** se conserva a menos 40 °C en congeladores industriales, en hielo seco a menos 75 °C y congeladores con gases criogénicos a menos 150 °C, tratando de evitar la autólisis tisular y de prolongar el período de conservación del injerto

- **Por liofilización:** se toma el hueso congelado a menos 20 °C y se somete a vacío para retirar el agua hasta el 5 % o menos, así se puede conservar a temperatura ambiente por largo tiempo; al usarlo hay que reconstruirlo con solución salina al 5 % ya que es muy vidrioso y quebradizo⁽⁶⁾.

Estos métodos de conservación requieren de grandes inversiones para obtener y procesar donantes, costosos equipamientos e instalaciones especiales, así como de personal especializado, a lo que se añade la necesidad de transportación del injerto desde el Banco a los hospitales, por lo que en muchas ocasiones cuando el ortopédico precisa del injerto en breve tiempo no es posible disponer del mismo, se hace necesario en ese caso recurrir al propio paciente o utilizar sustitutos de hueso como la hidroxiapatita u otros biomateriales⁽⁷⁻⁸⁾.

El presente trabajo se realizó para comprobar la eficacia de fragmentos de tejidos óseos conservados en solución desinfectante congelada en su utilización como trasplantes homólogos.

Material y Método:

Se realizó un ensayo clínico fase I en 32 pacientes con defectos óseos de diversas etiologías atendidos en el Servicio de Ortopedia y Traumatología del CIMEQ entre los años 1998-2002, para comprobar la incorporación de injertos homólogos conservados en solución antiséptica congeladas en distintos tipos de defectos óseos.

La edad promedio fue de 43,6+/-15.3 años, con un rango entre 15 y 72 años. La distribución por sexo fue similar con 16 pacientes en cada género.

Todos los pacientes expresaron su consentimiento de forma verbal y aceptaron el procedimiento del injerto o trasplante óseo sin mencionarles datos de los donantes.

Fueron incluidos pacientes (receptor) con defectos óseos de distintas etiologías a saber: defectos de consolidación, lesiones tumorales benignas, aflojamientos de prótesis total de cadera, afecciones

articulares que requerían de artrodesis quirúrgica y otros procedimientos que necesitaban adicionar injerto óseo para favorecer la consolidación como osteotomías y plastias.

Se excluyeron aquellos pacientes con defectos óseos que hubieran sufrido alguna infección, tumores malignos y pacientes con trastornos de cobertura cutánea del área lesional.

Los donantes fueron 35, con fragmentos tomados en operaciones tales como artroplastias de cadera para obtener cabezas femorales, resección de diáfisis; en un caso se obtuvieron varios de un donante múltiple de órganos. A todos se les realizaron los correspondientes exámenes complementarios para descartar enfermedades infecciosas. Se obtuvieron 30 cabezas femorales, 2 diáfisis femorales, 1 meseta tibial y 2 crestas iliacas.

Procedimiento de conservación de los fragmentos óseos

Para su conservación los fragmentos óseos se introducen dentro de un sobre plástico estéril al que se le agrega cantidad suficiente de solución de Iodo Povidone (Betadine) al 5 % hasta cubrirlo, se cierra el sobre, se introduce en otros dos sobres plásticos y

luego en una cubeta metálica estéril con tapa, se coloca una etiqueta con los datos del paciente y la fecha de extracción, se colocan de inmediato en el congelador de un refrigerador comercial a temperatura de menos 4 °C, preferiblemente situado en el área quirúrgica del hospital, en el que se conserva hasta que es utilizado como trasplante. Fig. 1

En cuatro ocasiones que estuvieron conservados más de 45 días fueron desechados por haber sido ese tiempo el límite para ser utilizado el injerto.

El tiempo promedio de conservación fue de 15.5 +/-12 días.

Procedimiento de descongelación de los fragmentos

Para descongelar el hueso se extrae el mismo de sus envolturas, se sumergen en solución salina a 37 °C que se renueva al enfriarse y se colocan después en una cubeta seca. Con el fin de estudiar su estructura, vitalidad y asepsia se toma un fragmento que se remite a Anatomía Patológica en solución de formol al 10 % y otro fragmento se remite a Microbiología. Toda superficie cubierta por cartílago hialino es convenientemente resecada dejando expuesto el hueso subcondral .Fig.1



Fig. 1

Los fragmentos son moldeados para adaptarse al área receptora. De acuerdo a su estructura histológica se usaron: como trasplante de cortical en 5 casos, como hueso córtico esponjoso fragmentado (granalla) en 13 casos y mezclando cortical en láminas o bloques y esponjosos fragmentados en 14 casos.

Los receptores en los que se les realizó el implante tenían los siguientes diagnósticos:

- Pseudoartrosis diafisarias: 14
- Defecto óseo tibial por pérdida traumática: 1
- Aflojamiento de prótesis total de cadera que necesitaron recambio en cinco casos, uno en acetábulo, tres en el segmento femoral y uno en ambas áreas.
- Defecto óseo por tumores en cuatro; de ellos un quiste óseo simple y tres tumores de células gigantes.
- Para provocar artrodesis en cuatro casos, de ellos dos en articulación subastragalina, una en tobillo y una escoliosis.
- Para formar techo acetabular en displasia cadera: 1.
- En adicción a osteotomías correctoras de deformidades: 3

La forma de fijación del trasplante en la zona receptora fue:

- Por relleno intraóseo, luego de preparación del lecho receptor con impactación del material injertado en 11 casos.
- Por aplicación extraósea: adosado y cubierto por partes blandas en 12 casos, adosado fijado con cerclajes (alambres o cables) en 6 casos, adosado y fijado con tornillos en 2, y a manera de puente interfragmentario en 1. De estas aplicaciones en cuatro casos se combinó intra y extraóseo.

Para la evaluación se tomó en consideración la evolución clínica y radiográfica del paciente, si hubo o no consolidación y relleno del defecto óseo, presencia de infección o alguna otra complicación atribuible al trasplante óseo realizado.

Resultados:

La evaluación de los resultados de la implantación de los injertos óseos congelados se efectuó en dos períodos:

En el primer periodo se observó el comporta-

miento del injerto en el sitio de implantación durante la fase de cicatrización de la herida quirúrgica y durante los primeros tres meses en que los datos que se obtuvieron fueron de orden clínico, tales como: fiebre, reacciones inflamatorias en la herida y vecindad, dehiscencia de sutura, infección dolor y disfunción. En esta etapa se realizaron los siguientes exámenes complementarios: hemograma, eritrosedimentación, y rayos X de la zona operada.

En el segundo periodo, después de la fase de la relación huésped hospederero, el control de los resultados se realizó mediante estudio radiográfico seriado a los 6 y 12 meses para conocer la incorporación del injerto o trasplante en el foco del defecto óseo.

Desde el punto de vista general en el primer período no hubo mortalidad ni se incrementó la morbilidad post-operatoria, no se observaron signos clínicos ni humorales de rechazo; no se utilizaron medicamentos para actuar sobre la inmunogenicidad del trasplante en ningún caso.

En algunos casos, ya fuera por el drenaje al vacío que siempre se usa en estas operaciones, o por su orificio luego de haber sido retirado o por la herida, se drenó líquido aséptico que se mantuvo por varios días, que debió producirse al rezumar el injerto congelado al entrar en contacto con el calor del organismo; esto ocurrió en pacientes en que por la magnitud del defecto se usaron varias cabezas femorales para rellenado. Luego de algunos días este problema desapareció de manera espontánea.

Un paciente se infectó, lo que condujo a osteomielitis, se trató de un paciente con protrusión del extremo distal del vástago femoral de una prótesis total de cadera que requirió de osteotomía para llevarlo de nuevo al canal medular, allí se aportó injerto para fortalecer el defecto, fue una prolongada operación en un paciente anciano. No creemos que la infección se produjera por el trasplante sino por lo trabajoso y prolongado del tiempo de exposición del proceder operatorio.

Para mostrar los resultados finales de la incorporación del trasplante óseo congelado es necesario revisarlos en las diferentes afecciones en que fue usado, el tipo de osteosíntesis, que se realizó para estabilizar el miembro afecto, así como la estructura del injerto y cómo fue aplicado.

En los cinco pacientes con aflojamiento de prótesis total de cadera se usó el injerto congelado en dos acetábulos con hueso esponjoso y cortical en forma de granalla por fragmentación de cabezas femorales; con impactación para que sirviera como lecho para recibir la nueva copa acetabular cementada. En las diafisis femorales, en un caso se rellenó e impactó para recibir el vástago femoral cementado, en otras tres diafisis el injerto se adosó y fijó con cerclaje en la periferia. Fig. 2

Todos se incorporaron permitiendo la buena evolución de la nueva artroplastia.

Un paciente con displasia de cadera requirió injerto óseo para conformar el techo acetabular, el injerto de cortical fue fijado con dos tornillos, se combinó con **spica** enyesada y consolidó proporcionando una adecuada cobertura a la articulación.

De las 14 pseudoartrosis en que se aplicó el injerto congelado, 10 consolidaron en el período de un año, De ellos en 6 el injerto de estructura córtico esponjosa se fragmentó en forma de viruta o granalla colocándose en bolsón de partes blandas en la cara posterior de la tibia a la manera de Phemister⁽¹⁾. El miembro se inmovilizó por fijación externa en cinco y con calza enyesada en uno

Como trasplante de hueso cortical en lámina o bloque y esponjoso al foco de pseudoartrosis, se aplicó

en cuatro casos, estabilizándose por: placa y tornillos en uno, clavo placa de cadera en uno, intramedular en uno y clavo-placa supracondíleo en uno. Fig. 3

Los cuatro casos en que no se produjo consolidación fueron: dos en los que se utilizó el señalado proceder de Phmister con inmovilización por calza de yeso, uno con clavo placa de cadera que presentaba una pseudoartrosis pertrocántera y uno en revisión de no-uni6n periprotésica femoral con placa-tornillos y cerclaje metálico, estos dos últimos fueron injertos corticales y esponjosos adosados.

De los cuatro pacientes en quienes se usó para producir artrodesis, tres consolidaron y fusionaron, dos en articulaciones subastragalinas, uno en curva escoliótica, en la cual se usaron varias cabezas femorales junto a láminas de cortical e instrumentación vertebral. Una artrodesis de tobillo fracasó por inestabilidad.

Para su utilizaci6n en el relleno de tumores los fragmentos óseos congelados fueron usados en cuatro pacientes, de ellos un quiste óseo solitario de húmero con granalla córtico esponjosa y tres tumores de células gigantes supracondíleos femorales donde injertos córtico-esponjosos se usaron conjuntamente con hidroxapatita coralina y láminas de hueso desmineralizado (Pacific-Coast Bank) para inmovilización por fijación externa, de los cuales uno soportó

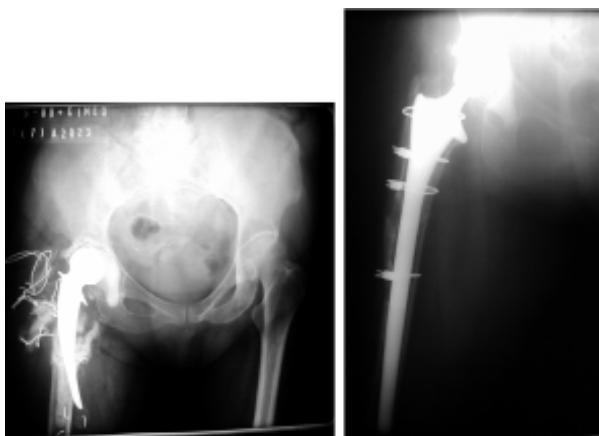


Figura 2. Relleno canal medular para nueva prótesis



Figura 3. Bloque cortico-esponjoso osteosintesis interna y externa

la colocación de prótesis total de rodilla. En todos se obtuvo incorporación total de los injertos sin recidiva tumoral. Fig. 4

En tres pacientes se utilizó para rellenar defectos creados en el curso de ostetomías abiertas correctoras de deformidades, las que fueron fijadas: una con alambre Kirschner en el radio y dos con enyesados y grapa metálica en la tibia, todos consolidaron en un período menor de 3 meses.



En un paciente con fractura se aplicó injerto masivo cortical de meseta tibial para rellenar una pérdida de sustancia con defecto de 7 cm colocado a manera de puente estabilizado por fijación externa, la evolución fue tórpida, no había consolidado al año de haberse implantado, sin manifestaciones de rechazo.

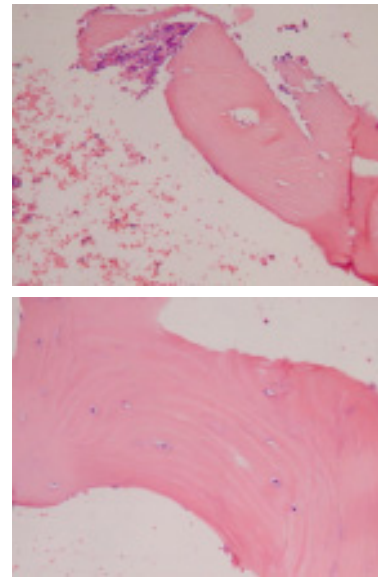
En ningún caso, se observó la presencia de gérmenes en el hueso a trasplantar al realizar el estudio microbiológico mediante coloración de Gram y cultivo en medios enriquecidos.

Resultados de los cortes histológicos de fragmentos tomados al momento del implante.

Se utilizó una tinción de hematoxilina y eosina, se fijó en formol preparado al 10 % (tipo industrial Lab Merck). En los resultados histológicos, con independencia del tiempo de congelación, a los 3, 15 y 30 días se observó ausencia total de tejido hematopoyético y de blastos de origen óseo, conser-

vación o preservación de osteocitos maduros, de células retículo endoteliales tipo macrófagos y escasas células linfoides maduras.

En todos hubo preservación del andamiaje óseo cortical a expensas de su trama cálcica en íntima vecindad con los elementos celulares señalados. (Fig. 5-6)



Figuras 5-6. Cortes histológicos post congelación. Preservación, estructura y células

Discusión

Es sabido que el mejor injerto óseo es el autoinjerto o autólogo y el isogénico o proveniente de un gemelo monozigótico, ambos no presentan problemas de compatibilidad inmunológica, mantienen la capacidad de inducción sobre las células del lecho receptor para convertirse en ósteo-progenitoras y la conductividad para que su armazón pueda ser invadida por los tejidos neoformados hasta su completa incorporación mecánica y funcional en el sitio de trasplante. ⁽⁹⁾

Pero el autoinjerto tiene dificultades por la poca cantidad disponible, la necesidad de una segunda operación con la presencia de morbilidad y posibles complicaciones, de ahí la necesidad de los injertos homólogos o aloinjertos óseos, estos poseen pocas células viables lo que reduce su capacidad de inducción, aunque poseen conductividad si su trama permanece viable, lo que acarrea que su incorporación en el lecho receptor sea más lenta, a ello se suma su inmunogenicidad a la que se atribuye la mayor causa

de los fracasos.

En los injertos homólogos tienen gran importancia las dificultades que sobre el mismo ejerce la preparación y conservación, se sabe que la liofilización altera sus propiedades físicas iniciales entre el 55-60 %. La esterilización en autoclave, reduce la resistencia del injerto por alteración de su colágena, la irradiación al rebasar la dosis crítica de 3 megarads disminuye su resistencia hasta el 50 %; sin embargo la congelación, si bien produce trastornos de los elementos celulares al alterarse su citoplasma, mantiene su estructura o trama cálcica aportando una base para la ocupación de sus cavidades porosas por elementos tisulares, esto ocurre con mayor frecuencia en la unión córtico esponjosa. Además está demostrada la disminución de la inmunogenicidad en el hueso conservado en congelación.⁽¹⁰⁾

En este estudio, en los estudios histológicos realizados de fragmentos tomados a los 3, 15 y 30 días de conservación se observó que la totalidad de los stem cells desaparecen a causa de la violencia física y de la baja temperatura, además el andamiaje o trama ósea vecina a la cortical se preserva, por lo que se recomienda el trasplante córtico-esponjoso.

Los detractores del injerto congelado le han señalado las siguientes dificultades: aparición de anticuerpos citotóxicos, retardo en su revascularización y la no obtención de osteogénesis temprana.

En nuestra serie no se presentaron manifestaciones clínicas en los primeros tres meses que señalaran estos procesos de respuesta inapropiada, tampoco se observaron adenopatías vecinas como señalan algunos autores.

Partiendo del criterio de la pobreza mecánica del injerto, en todos los casos se adicionó un sistema de inmovilización del área quirúrgica, ya fuera por osteosíntesis interna o por fijación externa ósea estable, se produjeron fracasos cuando se usaron enyesados, en especial en las pseudoartrosis⁽¹¹⁾. Se pudo comprobar que, en el relleno de grandes defectos quirúrgicos como los provocados al reseca o curetear tumores benignos, no hubo contradicciones al combinar los injertos homólogos congelados con la hidroxiapatita coralina y los injertos de cortical desmineralizados y liofilizados, produciéndose la in-

corporación de los distintos elementos usados sin recidiva tumoral ni reacciones adversas.

La incorporación de los injertos de nuestra serie presentó los mismos promedios que otras con mayor cantidad de pacientes, como la de Sloff⁽¹²⁾ en recuperación de prótesis totales de cadera con granalla de córtico-esponjosa conservada a menos de 80 grados y el de los autores cubanos M.E Jacobo Núñez y R. Alvarez Cambras⁽¹³⁾ con el uso de injerto liofilizado en pseudoartrosis con lo que se demuestra la validez y actualidad de lo preconizado por Inclán.

Los resultados alcanzados permiten llegar a la conclusión que es posible contar en los hospitales con Bancos de Hueso en los salones de operaciones, controlando el área de congelación de los refrigeradores habituales y vigilando los cambios de temperatura en esa área.

Bibliografía.

1. Campbell. Operative Orthopaedics. 8 Edition, Edit A. H. Crenshaw. Vol 1 Part 1, 1992.
2. Seiler. J. G. Johanson J. Iliac crest autogenous bone grafting: donor site complications. J. South Orthop. Ass 2000 Summer 9 (2): 91-7.
3. Munuera L. Cordero J. Ingeniería tisular ósea. Curso Actualización 38 Congreso Nacional SECOT 65-81, Bilbao, 2001.
4. Alberto Inclán M.D. The use of preserved Bone Graf in Orthopaedic Surgery. Journal Bone Joint Surg. Vol XXIV No. 1 : 81-96, 1942.
5. Sierra R.L. Estrada S.F. Banco de hueso en el Hospital Central Militar Bol San Milt. México II, 1949.
6. Ortiz Cruz E.J. Estructura y organización de un banco de huesos y tejidos. Rev.Ortop. Traut. 2000 : 44, 127-38.
7. O.Pereda Cardoso. Implantes hidroxiapatita Coralina HAP 200 en el tratamiento de defectos óseos de las extremidades. Tesis para obtener Grado Científico Dr. C.M 2005
8. M. Vallet L. Munera. Biomateriales aquí y ahora. Edit Dykinson Madrid, España 2000.
9. Kahn S.N. Bostrom. M.P.G. Bone Growth factors. Orthop Clin North Am; 31 : 375-87, 2000.
10. Kerry R.M. Marri B.A. The Biology of

Bone Grafting. AAOS Instructional Course 48: 645-52, 1999.

11. Alcalá Ri. External Fixation in Structural bone graft complications in oncologic surgery. Paper Book World Congress on External Fixation pp.92 Lima Perú 2005.

12. Sloff J.J.M . Schreerons B.W. Impaction morcellized Allografting and cement AAOS

Instructional Course m Lectures 48: 79-89 Rosemont U.K, 1999.

13. Marlen E. Jacobo, Rodrigo Alvarez Cambras. Pseudoartrosis de los huesos largos tratados con osteosíntesis e injerto óseo de banco de tejidos. Rev.Cub. Ortop-Trauma. Vol 18 : 60-70 Suplemto, 2004.