

11236

10
2y



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
CENTRO MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE"
I. S. S. S. T. E.

DEPARTAMENTO DE OTORRINOLARINGOLOGIA

**"CARTILAGO HETEROLOGO COMO
MATERIAL DE TRASPLANTE:
ESTUDIO EXPERIMENTAL"**

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN:
OTORRINOLARINGOLOGIA
P R E S E N T A

DR. JOSE ENRIQUE CARDENAS PINELO



ISSSTE

MEXICO, D. F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A MIS PADRES

A MIS HERMANOS

A MIS MAESTROS

A todas aquellas personas que con su orientación, apoyo, consejos y valiosa colaboración, hicieron posible la realización de este trabajo; mi más sincero agradecimiento.

Rafael Navarro Meneses
ABESOR



DR RAFAEL NAVARRO MENESES

MEDICO ADSCRITO DEL SERVICIO DE OTORRINOLARINGOLOGIA

PROFESOR TITULAR DEL CURSO

Hector Ramirez Ojeda
DR HECTOR RAMIREZ OJEDA

JEFE DEL SERVICIO DE OTORRINOLARINGOLOGIA

DIVISION DE CIRUGIA

Roberto Reyes Marquez
DR ROBERTO REYES MARQUEZ

COORDINADOR DE ENSEÑANZA DE LA DIVISION DE CIRUGIA

Eduardo Llamas Gutierrez
DR EDUARDO LLAMAS GUTIERREZ

COORDINADOR DE ENSEÑANZA

Aura Erazo Valle
DRA AURA ERAZO VALLE

COORDINACION DE INVESTIGACION

Carlos Carballar Rivera
DR CARLOS CARBALLAR RIVERA

SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION



23-2-96

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION.....	2
ANTECEDENTES.....	4
MATERIAL Y METODO.....	6
RESULTADOS.....	8
DISCUSION.....	10
CONCLUSIONES.....	11
GRAFICAS.....	12
BIBLIOGRAFIA	18

RESUMEN

Ante la necesidad de contar con materiales biológicos alternativos para la cirugía reconstructiva nasal y facial, se propone la utilización de cartílago heterólogo (de bovino) como material de trasplante.

La característica que permite que un homoinjerto de cartílago sobreviva, es que casi todas las células del trasplante están rodeadas por una gran cantidad de matriz que permite una difusión muy limitada de sustancias con peso molecular alto, lo cual restringe el contacto de las células asesinas (huésped) con las células blanco (Injerto).

Se realizó un estudio prospectivo, descriptivo y experimental en 34 ratones, en los cuales se observaron los cambios histológicos sufridos por la matriz de injertos cartilaginosos, unos tratados con alcohol y los otros únicamente, preservados con solución fisiológica.

A los 3 meses de su implantación se observaron los cambios histológicos sufridos por la matriz de los implantes cartilaginosos, tales como Infiltrado inflamatorio agudo y crónico, fibrosis, variaciones en la arquitectura de la matriz, encontrando un mayor porcentaje de conservación en los injertos preservados con solución fisiológica que en los tratados con alcohol, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa.

INTRODUCCION

El cartílago es un tipo comparativamente sólido de tejido conectivo que, a diferencia del tejido conectivo denso ordinario, no se dobla, por lo cual puede soportar algo de peso. Sin embargo, de ninguna manera tiene la fuerza del hueso.

Es un tejido de origen mesenquimatoso constituido por una porción celular y una intercelular o matriz cartilaginosa. La primera está formada por los condrocitos que pueden estar solos o agrupados en cavidades pequeñas dentro de la matriz, llamados nidos celulares; los condrocitos son células esféricas con núcleo grande, redondo, central con uno o más nucleolos. Su citoplasma es granular fino y moderadamente basófilo a consecuencia de muchos ribosomas libres y de un retículo endoplásmico granuloso, además contiene mitocondrias, grandes vacuolas y gotas de grasa. El componente intercelular o matriz es un gel de consistencia firme. Los cálculos del contenido de colágena de la matriz cartilaginosa varían de aproximadamente 50 a 70 por 100 del peso seco, según el origen del cartílago. El resto de la matriz consiste principalmente en glucosaminoglucanos, algo de proteínas no colágenas y glucoproteínas. Los glucosaminoglucanos son principalmente sulfatados e incluyen condroitín-4-sulfato, condroitín-6-sulfato y sulfato de queratano, pero también hay ácido hialurónico. Los glucosaminoglucanos sulfatados están unidos a las proteínas no colágenas y forman proteoglucanos.

Debe mencionarse que aproximadamente 75 por 100 del peso húmedo de la matriz cartilaginosa depende del líquido tisular contenido en la estructura de gel; este líquido tiene gran importancia para conservar la viabilidad de los condrocitos y, por ello, la forma y función del cartílago.

El cartílago tiene dos formas de crecimiento, el crecimiento intersticial, por división de células jóvenes ya rodeadas por sustancia intercelular y el crecimiento por aposición en el que células relativamente indiferenciadas en la superficie del cartílago proliferan y se convierten por diferenciación en condrocitos jóvenes.

Existen tres tipos de cartílago: elástico (pabellón auricular), hialino (septum) y fibroso (cartílago costal).

El cartílago costal brinda conexión firme entre las costillas y el esternón, proporcionando flexibilidad suficiente para permitir que la jaula torácica se expanda en los movimientos respiratorios.

El cartílago fibroso se origina de células mesenquimatosas en el límite entre las capas fibrosa y condrogénica en desarrollo del pericondrio. Las células de este sitio tendrán la potencialidad de diferenciarse en fibroblastos o condrocitos, con la facultad de aprovechar ambas capacidades, pero en sucesión, con producción inicial de material colágeno y después del intercelular no fibroso.

Dos tejidos frecuentemente empleados en la cirugía reconstructiva son piel y cartílago. La característica que permite que un homoinjerto de cartílago sobreviva es que casi todas las células del trasplante están rodeadas completamente por una gran cantidad de matriz que permite difusión muy limitada de sustancias con peso molecular alto; lo cual restringe el descubrimiento de antígenos extraños de los condrocitos en el homoinjerto por las células inmunológicamente reactivas del huésped y además impidiendo que cualquier célula asesina formada logre contacto eficaz con las células extrañas blanco, los condrocitos en el injerto (1, 2,3,4,5,6).

ANTECEDENTES

El empleo de cartílago heterólogo (CH) ha sido propuesto como material para trasplante por varios autores. Desde 1986 ha sido utilizado en Inglaterra cartílago de bovino irradiado y conservado en glutaraldehído, para cirugía del contorno facial.

Kangesu y col. (1991) revisaron 18 pacientes durante un período de 3 años encontrando viabilidad del injerto en el 38.8% de los casos (7).

Bruschini (1992) utilizó cartílago costal de bovino conservado en alcohol etílico al 70%, como material para reconstrucción otológica, con buenos resultados anatómicos en 86% de los casos. Realizó estudios histológicos de cartílagos removidos después de un año de haber sido implantados, encontrando la matriz cartilaginosa intacta rodeada de tejido fibroso y mucosa, sin evidencia de condrocitos (8).

Krafft y col. en un estudio realizado en Alemania en 1994, realizaron implantes de cartílago de bovino como material para reconstrucción de defectos faciales en 90 pacientes. Únicamente tuvieron como complicación inmediata la pérdida del implante en 3 pacientes. Al hacer un seguimiento en 57 pacientes después de un plazo de 3 años y medio, encontraron que en 50 pacientes (87.7%) los implantes de cartílago habían conservado su forma perfectamente bien (9).

Ferrante, Blessey y col. en Francia (1993), utilizaron cartílago de bovino irradiado como material de reconstrucción durante la corrección de la nariz desviada y lo sugirieron como un auxiliar indiscutible en la corrección estética y funcional de este tipo de anomalías, asociado a su fácil obtención y buena tolerancia (10).

Ante la necesidad de contar con materiales biológicos alternativos para la cirugía reconstructiva nasal y facial, este estudio propone la utilización de cartílago heterólogo como material de trasplante, observando los cambios histológicos que ocurren en la matriz cartilaginosa después de un período de tiempo prolongado, posterior a su implantación.

MATERIAL Y METODO

El presente trabajo consiste en un estudio prospectivo, descriptivo y experimental, realizado en el período de tiempo del 1o de Julio al 30 de Septiembre de 1995.

Se estudió una población de 34 ratones blancos (*mus musculus*) machos, con edad promedio de dos meses y un peso aproximado de 35g, los cuales se mantuvieron bajo estricto control sanitario en bioterio, con una temperatura ambiente constante y con alimentación especial. Se dividieron en dos grupos de 17 ratones cada uno, los cuales se denominaron **grupo A** y **grupo B**.

Asimismo, se empleó cartílago costal proveniente de ganado bovino recién sacrificado el cual fue sometido al siguiente tratamiento:

El cartílago a implantarse se moldeó con bisturí, dándole forma ovoide con un eje mayor de 1cm, un eje transversal de 0.5cm y con un espesor de 3mm. Se seleccionó un grupo de diecisiete implantes (**cartílagos sin tratamiento**) que se mantuvieron exclusivamente en solución fisiológica y un segundo grupo de diecisiete (**cartílagos con tratamiento**) que se mantuvieron durante 72 horas en una solución de alcohol al 95%, para posteriormente ser colocados en solución fisiológica. Asimismo, se seleccionó un grupo **testigo**, que incluyó cartílagos con y sin tratamiento. Los cartílagos se conservaron en refrigeración a 5 grados C, previamente a su implantación.

El cartílago se implantó en el plano subcutáneo del lomo de los ratones, bajo técnica aséptica, infiltrando previamente el área con lidocaína al 2% sin epinefrina (a dosis de 1 mg/kg de peso), y haciendo una incisión en el plano sagital del lomo, disecando una "bolsa" en el plano subcutáneo en la cual se colocó el cartílago. La incisión se cerró utilizando sutura dermalón 4/0 puntos simples. Diecisiete ratones recibieron cartílago sin tratamiento, (grupo A) y los otros diecisiete, recibieron el cartílago con tratamiento,

(grupo B).

A las 12 semanas, se sacrificaron los ratones utilizando tiopental sódico a razón de 100 mg/g de peso, por vía intraperitoneal, con el objeto de producir depresión respiratoria y paro cardiorrespiratorio. A continuación se extrajo el implante el cual fue medido para detectar variaciones en su tamaño, así como cambios histológicos en la matriz cartilaginosa.

Los implantes se fijaron en formaldehído al 10% amortiguado con pH neutro y se prepararon cortes histológicos con la técnica de inclusión en parafina. La tinción se realizó con hematoxilina y eosina, siendo observados los cortes con microscopia de luz.

Los resultados se analizaron con el método estadístico de la chi cuadrada y los resultados se presentan mediante gráficas.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el estudio se presentan a continuación:

De los 17 ratones del grupo A, se extruyeron 6 implantes (35.29%), conservándose 11 implantes (64.70%).

De los 17 ratones del grupo B, se observó extrusión del cartilago en 7 (41.17%), conservación del implante en 7 (41.17%) y con disminución del tamaño del implante en 3 (17.64%). "fig 1 y 1a"

En cuanto a la conservación de su consistencia rígida, se observó que en 11 implantes del grupo A ((64.70%) se mantuvo; mientras que en el grupo B se encontraron reblandecidos 3 implantes (17.64%) y 7 conservaron su consistencia rígida (41.1%). "fig 2 y 2a"

Bajo visión microscópica se detectaron cambios histológicos importantes: En el grupo A se encontró infiltrado de polimorfo nucleares y linfocitos en leve cantidad en 5 implantes (29.41%), en moderada cantidad en 4 implantes (23.52%) y en abundante cantidad en 2 implantes (11.76%); en el grupo B el infiltrado fue moderado en 7 implantes (41.16%), y en 3 implantes el infiltrado encontrado fue abundante (17.64%). "fig 3 y 3a"

En cuanto a la conservación de la arquitectura de la matriz (forma del implante), se encontró que en el grupo A, 11 implantes (64.70%) la conservaron; en el grupo B, 7 implantes (41.17%) también conservaron la arquitectura de la matriz y en 3 (17.64%), se encontró pérdida de la misma. "fig 4 y 4a".

En cuanto a la presencia de fibroblastos alrededor del implante, en el grupo A, 10 implantes la presentaron en cantidad leve (58.82%) y en 1 (5.88%) fue en moderada cantidad. En el grupo B, en 6 implantes (35.29%) se encontró en cantidad leve y en 1, en cantidad moderada (5.88%). En 3 implantes (17.64%) se encontraron fibroblastos abundantes. "fig 5 y 5a".

La presencia de fibroblastos dentro de la matriz cartilaginosa no se encontró en ninguno de los implantes del grupo A. En el grupo B se encontró únicamente en 3 implantes (17.64%). "fig 6".

No se encontraron células gigantes en ninguno de los dos grupos.

DISCUSION

Encontramos que hubo un porcentaje menor de extrusión (35.29%), entre los implantes cartilagosos preservados en solución fisiológica siendo mayor (41.17%) para los tratados con alcohol, así como también en este último grupo detectamos disminución del tamaño (reabsorción) en el 17.64% de los implantes, mientras que en los primeros no hubo tal disminución.

Esta diferencia entre ambos tipos de implante pudiera deberse a una desnaturalización de las proteínas de la matriz cartilaginosa producida por el alcohol, haciendo que ésta tuviera mayor antigenicidad con la consiguiente destrucción de la misma por las células blancas, lo cual se puso de manifiesto en las alteraciones histológicas encontradas, como son el mayor infiltrado inflamatorio (agudo y crónico) y también en la presencia de fibroblastos en porcentaje más alto adentro de la matriz de los implantes tratados con alcohol (17.64%).

Una característica importante que debe tener un implante cartilaginoso, para ser útil en la cirugía reconstructiva, es la de conservar su consistencia rígida y su forma. Encontramos un porcentaje mayor (64.70%) en el grupo A (preservación en solución fisiológica) en contra del grupo B (tratamiento con alcohol), en donde fue del 41.17%. Nuestro porcentaje de éxito es menor que el obtenido por Bruschini y cols, así como por Krafft y cols (de 86% y 87.7% respectivamente). Sin embargo, fue mayor que el de Kangesu y cols, de apenas 38.8%((7,8,9).

Posterior al análisis estadístico mediante la chi cuadrada y con un nivel de significancia de 0.05 y 1 grado de libertad, se rechazó la hipótesis nula, aceptándose que no hubo cambios estadísticamente significativos en la matriz de los implantes cartilagosos, tanto de los tratados con alcohol como de los preservados en solución fisiológica. Cabe destacar que en ninguno de los dos grupos se encontró células gigantes (granulomas), características del rechazo de injertos.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

CONCLUSIONES

El empleo de cartílago heterólogo, pudiera ser una alternativa para la cirugía reconstructiva; tiene la ventaja de su fácil obtención, bajo precio, y el no ser necesario el trámite médico-legal requerido para los trasplantes homólogos.

Se requieren más estudios prospectivos para determinar tanto su utilidad como el porcentaje de éxito obtenido posterior a ser implantado..

Mediante otros procesos de tratamiento y preservación del cartílago heterólogo, tales como la radiación, el empleo de glutaraldehído, la formalina, etc. pudieran obtenerse mejores resultados a largo plazo en este tipo de implantes.

FIGURA I y la

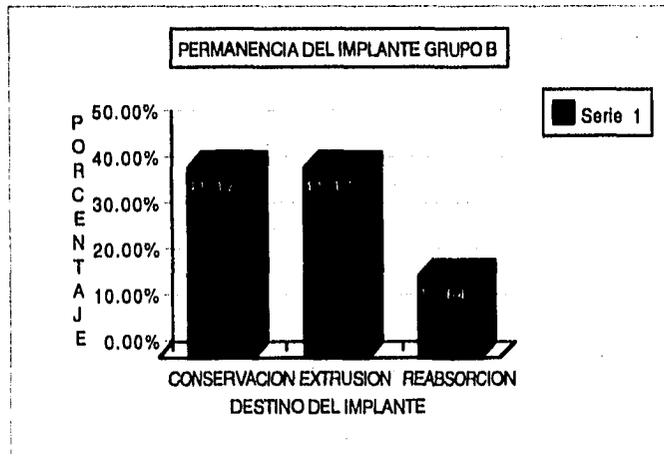
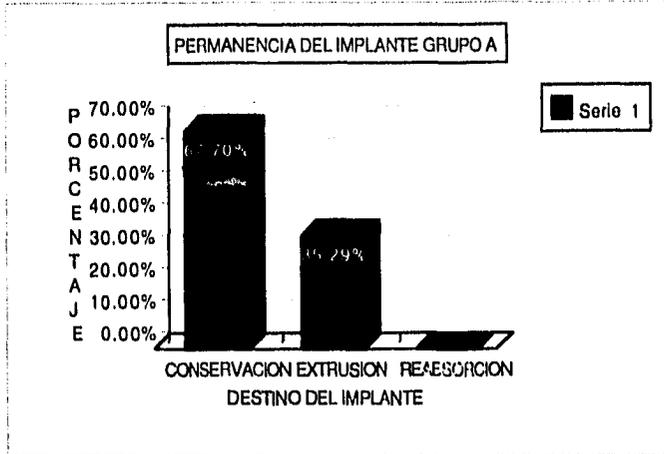


FIGURA 2 y 2a

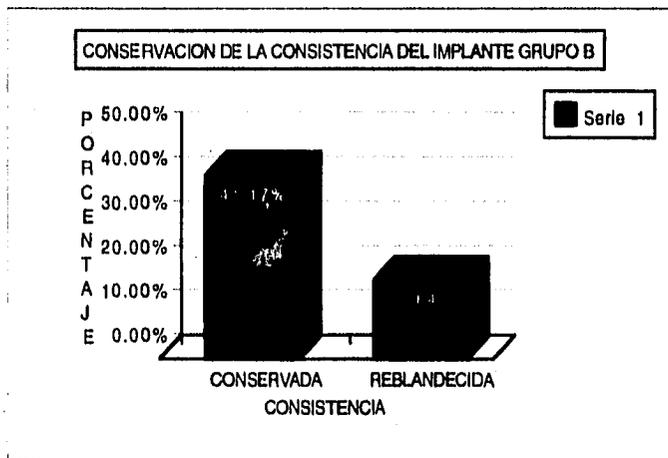
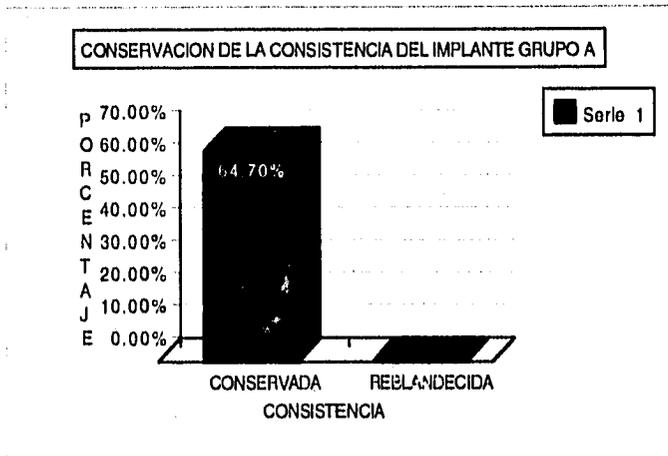


FIGURA 3 y 3a

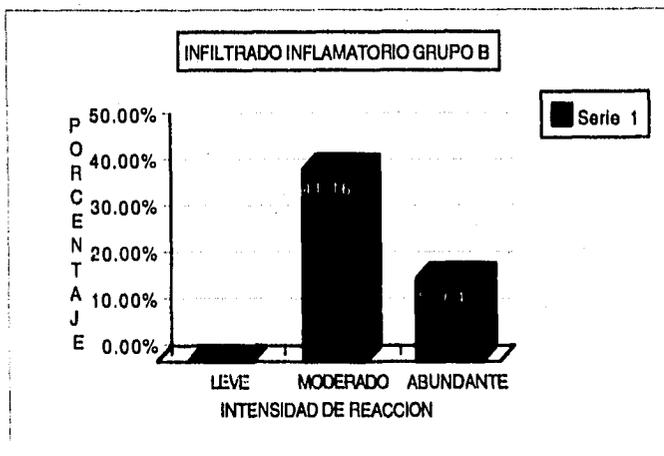
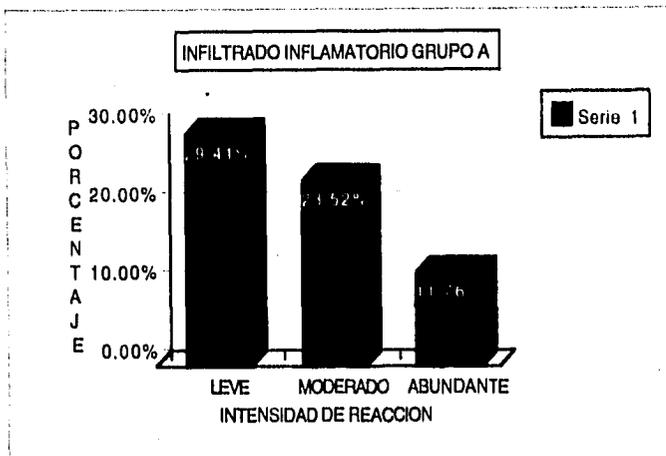


FIGURA 4 y 4a

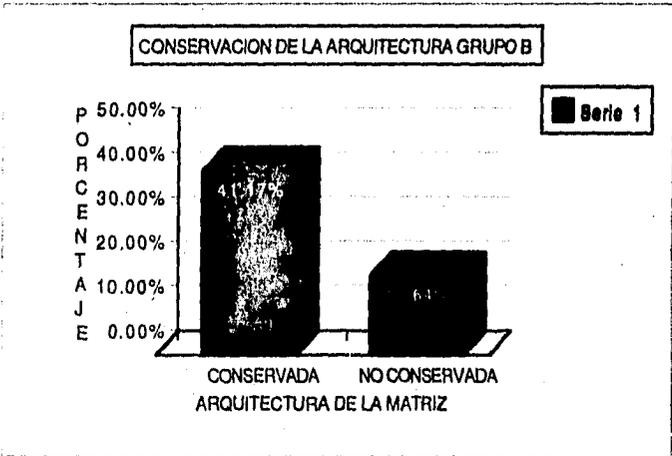
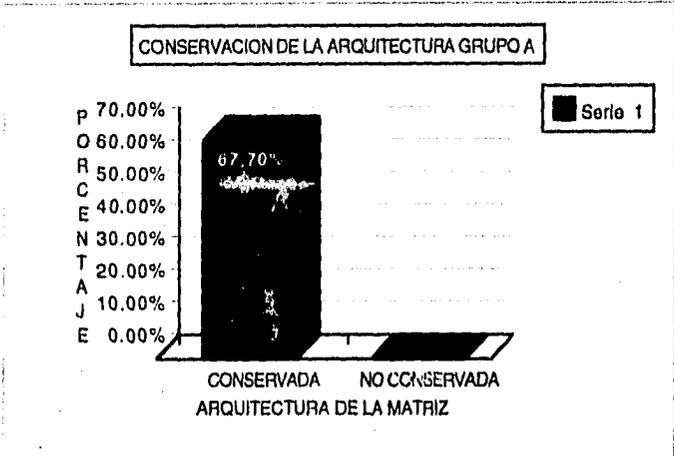


FIGURA 5 y 5a

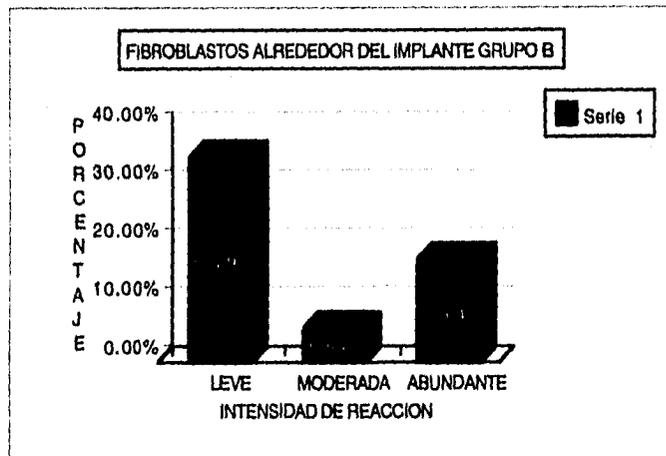
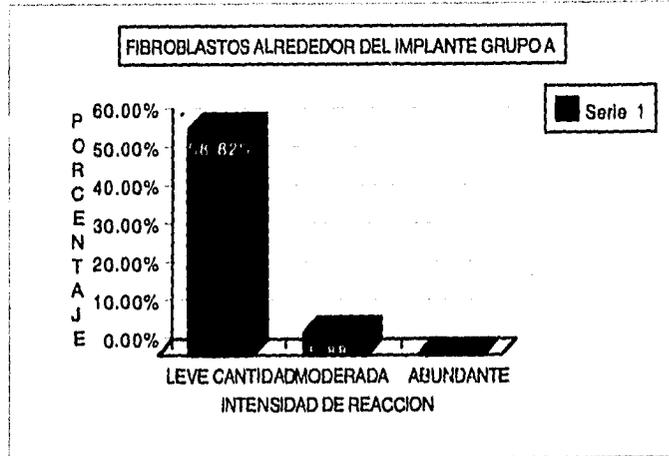
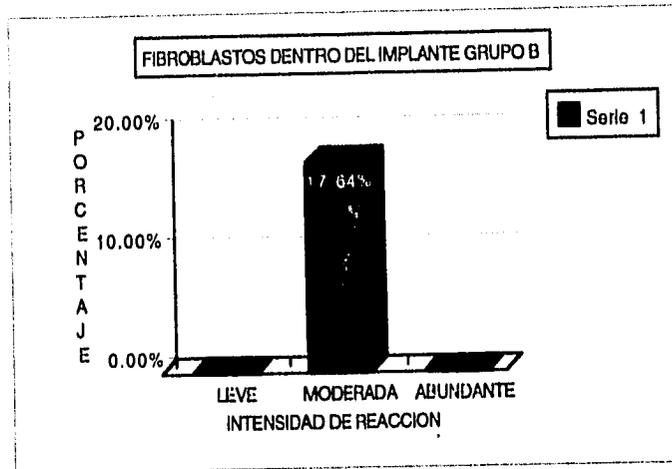


FIGURA 6



BIBLIOGRAFIA

- 1.- Ham Arthur. TRATADO DE HISTOLOGIA. 8a Ed. Ed Interamericana. 1983. pp 413-420.
- 2.- Salas Galicia J; Ramírez Ojeda H y col. UTILIZACION DE DIVERSOS METODOS DE CONSERVACION DE CARTILAGO SEPTAL : COMPARACION DE CUATRO SISTEMAS. Anales Soc Mex Otorrinolar. Jun-Ag 1988; 33(3) pp 189-195.
- 3.- Leeson R; Leeson T. HISTOLOGY. 3rd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia. 1976. 126-151.
- 4.- Bujía J; Pitzke P; Wilmes E; Hammer C. CULTURE AND CRYOPRESERVATION OF CHONDROCYTES FROM HUMAN CARTILAGE: RELEVANCE OF CARTILAGE ALLOGRAFTING IN OTOLARYNGOLOGY. ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec. 1992; 54(2) pp 80-4.
- 5.- Kubler N; Reuther J et al. OSTEOINDUCTIVE, MORPHOLOGIC, AND BIOMECHANICAL PROPERTIES OF AUTOLYZED, ANTIGEN EXTRACTED, ALLOGENEIC HUMAN BONE. J Oral Maxillofac Surg. 1993 Dec. 51(12) pp 1346-57.
- 6.- Clínicas Otorrinolaringológicas de Norteamérica. RINOPLASTIA. Noviembre 1987. Voi 20. No 4. Ed Interamericana. pp 953-771.
- 7.- Kangesu L; Goodacre TE; Stanley PR. SURVIVAL OF IRRADIATED GLUTARALDEHYDE PRESERVED BOVINE CARTILAGE IN NASAL RECONSTRUCTION: A RETROSPECTIVE STUDY. Br J Plast Surg. Oct 1991; 44 (7) pp 483-5.
- 8.- Bruschini P; Segnini G; Viacava P. BOVINE COSTAL CARTILAGE AS MATERIAL FOR OTOLOGIC RECONSTRUCTION: ANATOMO - FUNCTIONAL RESULTS. Acta Otorhinolaryngol Ital. Sep-Oct 1992; 12(5) pp443-50.
- 9.- Krafft T; Spitzer WJ; Bauer T. XENOGENIC CARTILAGE AS A TRASPLANT FOR RECONSTRUCTION OF THE FACIAL SKULL. Fortschr Kiefer Gesichtschir. 1994; 39 pP 183-6.

10.- Ferrante B; Biessy R; Ducroz V et al. CORRECTION OF NOSE
DEVIATIONS USING LATERO-SEPTAL GRAFTS FROM
IRRADIATED BOVINE CARTILAGE. Ann Chir Plast Esthet. Oct 1993;
38(5) pp