

11211



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POST-GRADO
HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA
ESPECIALIDAD**

229.

**COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO DEL INJERTO ÓSEO
ESTERILIZADO CON RADIACION GAMMA HOMÓLOGO
Y AUTOINJERTO.**

TESIS DE POSTGRADO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**ESPECIALISTA EN CIRUGIA PLÁSTICA ESTÉTICA Y
RECONSTRUCTIVA**

P R E S E N T A:

DR. ALBERTO IGNACIO CAHUANA QUISPE



PEMEX MEXICO, D. F.

268956

1998

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

11 211
2 es.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

**COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO DEL INJERTO OSEO
ESTERILIZADO CON RADIACION GAMMA HOMÓLOGO Y
AUTOINJERTO.**

TESIS DE POST-GRADO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE :

**ESPECIALISTA EN CIRUGIA PLÁSTICA ESTÉTICA Y
RECONSTRUCTIVA.**

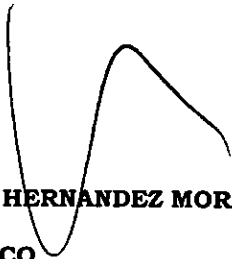
PRESENTA:

DR. ALBERTO IGNACIO CAHUANA QUISPE.

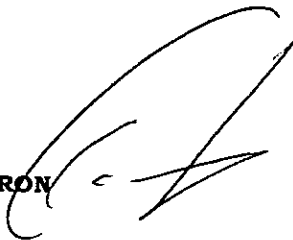
PEMEX H.C.S.A.E.

MEXICO D.F. 1998.


HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD.



DR. GUILLERMO HERNANDEZ MORALES
DIRECTOR MEDICO.



DR. LUIS ERNESTO RAMOS DURON
JEFE DE SERVICIO.



DRA. JUDITH LOPEZ ZEPEDA.
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION.



HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD PEMEX.

TITULO DE TESIS:

**COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO DEL HUESO
ESTERILIZADO CON RADIACION GAMMA HOMÓLOGO Y
AUTOINJERTO.**

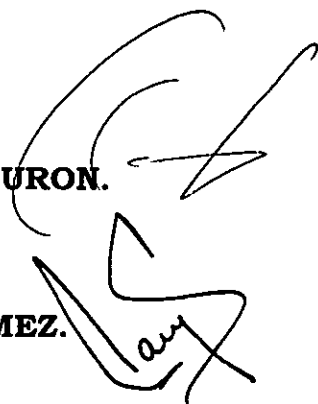
AUTOR:

Dr. Alberto Ignacio Cahuana Quispe:

Residente de Tercer año de Cirugía Plástica Estética y
Reconstructiva.

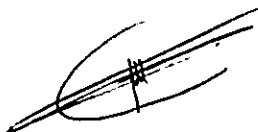
ASESORES

DR. LUIS ERNESTO RAMOS DURON.

A large, stylized handwritten signature in black ink, consisting of several sweeping loops and a long horizontal stroke extending to the right.

DR. JAVIER CARRERA GÓMEZ.

DR. EDUARDO GUTIERREZ SALGADO.

A handwritten signature in black ink, featuring a large, sweeping loop on the left side and a horizontal stroke across the middle.

AGRADECIMIENTOS

"Fui alimentado en las letras desde mi infancia, y como me aseguraban que por medio de ellas se podía adquirir un conocimiento claro y seguro de todo lo que es útil para la vida, tenía un deseo extremado de aprenderlas. Pero, tan pronto como hube acabado el ciclo de estudios a cuyo término se acostumbra a ser recibido en el rango de los doctos, cambié enteramente de opinión, pues me encontraba embarazado por tantas dudas y errores que me parecía no haber obtenido otro provecho, al tratar de instruirme, que el de haber descubierto más y más mi ignorancia".

**René Descartes (1596-1650)
Discurso del método.**

A mi esposa y nuestros hijos: por los días y horas que les pertenecían y no compartimos.

A mis Padres y hermanos: por su apoyo cariño y comprensión.
A mi madre, a quien extraño mucho.

A mis maestros: por su enseñanza, buen ejemplo, devotos de la excelencia.

A los pacientes: motivo y destino de nuestros esfuerzos.

AGRADECIMIENTOS:

Al personal del Servicio de Cirugía Experimental H.C.S.A.E. Al Dr. Francisco Guzmán.

Al Servicio de Patología del H.C.S.A.E. Al Dr. Pasquel.

Al Instituto Nacional del Investigaciones Nucleares (ININ) A la Dra. Ma. Esther Martinez. P.

Al Mat. Jorge Galicia Tapia, Jefatura de Servicios de Investigación, ISSSTE. por su apoyo en la elaboración del análisis estadístico.

INDICE.

- * INTRODUCCION
- I.- ANTECEDENTES
- II.- JUSTIFICACION
- III.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA
- IV.- OBJETIVOS
- V.- HIPOTESIS
- VI.- MATERIAL Y METODO
- VII.- ANALISIS DE RESULTADOS
- VIII.- RECURSOS
- IX.- ASPECTOS ETICOS
- X.- CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES
- XI.- RESULTADOS
- XII.- DISCUSION Y COMENTARIOS
- XIII.- CONCLUSIONES
- XIV.- GRAFICAS TABLAS CUADROS
- XV.- BIBLIOGRAFIA

*** INTRODUCCION**

Se sabe clínica y experimentalmente la superioridad de los autoinjertos sobre los aloinjertos y esto está bien documentado. Los aloinjertos, como una opción tienen una respuesta de incorporación que se ha venido estudiando y utilizando desde hace mucho tiempo. La experiencia histórica en cuanto al manejo de los aloinjertos se describe desde 1925. Lexer comunico resultados satisfactorios en cuanto a trasplante de tejidos. Posteriormente Ottolenghi en 1966 reportó resultados satisfactorios de aloinjertos osteoncondrales. En 1973, Parrish reporto resultados satisfactorios de aloinjertos ostocondrales en un 70%. Entre 1969 y 1976, Spence y colaboradores demostraron el uso de aloinjertos esterilizados en frio. En 1983 Mankin reportó un 75% de resultados satisfactorios de 200 aloinjertos, con un 15% de no incorporación debidas a infecciones. Posteriormente se reportan estudios como los del Hospital Henri Mondor en Francia con el uso de aloinjeros esterilizados con radiación gamma con buenos resultados entre 1984 y 1988.

El presente estudio pretende confirmar hallazgos y conclusiones de investigaciones anteriores.

I.- ANTECEDENTES

El tejido óseo es el más resistente del cuerpo cuya función principal es de sostén y protección a otros sistemas.

Formados por células (osteocitos, osteoclastos, osteoblastos), y material intercelular calcificado; revestidos por periostio y endostio.(11,19,28)

TIPOS HISTOLOGICOS:

- **INMADURO**, primario en niños, que es el tejido en formación.
- **MADURO**, secundario o lamelar que se encuentra en adultos.(11,19)

La osificación ocurre mediante dos procesos:

Intramembranoso y Endocondral. (19,28)

La consolidación ósea es un proceso que se lleva a cabo mediante el proceso de formación de hematoma, resorción de fragmentos en los segmentos fracturados, formación de tejido de granulación, y conformación de el callo perióstico. Este tejido neoformado no es muy resistente a las fuerzas de tracción torsión y flexión con respecto a su longitud denominándose a esto actualmente consolidación secundaria. La consolidación primaria se conoce, desde el punto de vista histológico, como una osteogénesis por contacto, con aumento de los canales haversianos, proliferación de osteoblastos y depósitos de osteones y hueso de neoformación, que lleva a una consolidación ósea sin formación de callo óseo y estabilidad correcta de fragmentos.

El autoinjerto óseo es el mejor material de implantación (gráficas 7,8. Figura 8-9) y es uno de los mas utilizados en Cirugía Reconstructiva desde Von Mangold (1900), Mowlom (1950), Israel (1950) (9,27).

Como también se utilizan los colgajos libres, compuestos con hueso (peroné, etc.) (17).

La restricción del sitio donador es una de las desventajas o inconvenientes del uso de hueso autólogo(27).

En niños se ha utilizado hueso membranoso autólogo con mejor sobrevida que el endocondral ej. defectos craneofaciales (Roche 1953). (26)

Cuando se realiza autoinjerto de hueso, las células centrales del injerto generalmente mueren (mayor a 2 cm de borde) y su reemplazo desde los bordes se denomina osteoconducción. Cuando se utilizan otros tejidos óseos frescos no autólogos hay rechazo y necrosis en la medida en que difieren genotípicamente del huésped.

La osteoinducción₁ es el proceso mediante el cual las células indiferenciadas mesenquimatosas se transforman en células formadoras de hueso. este estímulo es dado por una proteína morfogenética de hueso (BMP) capaz de evocar respuesta en especie animales diferentes, es desnaturalizada

por autoclave y radiación cuando se exceden ciertos límites; Hugo Ripamonti (1993). (11,19,28,29,31.)

Urist 1960 fue pionero en la investigación de la desmineralización ósea y métodos de cultivo y crecimiento óseo llamado proteína morfogenética ósea (BMP) (29,31).

Glowacki y Mulliken (1981) aplicaron hueso alogénico desmineralizado para favorecer la osteoconducción con éxito en cirugía maxilofacial. Posteriormente se utilizó hueso irradiado con radiación gamma entre 10000 y 60000 rads. Con resultados satisfactorios. (12,16,18,20,22, 23 24, 25.)

Los autoinjertos óseos también son utilizados en cirugía maxilofacial, Obwegesser (1978), (3,6,10.)

También se han utilizado otros materiales como hidroxipatita, bop, etc. (1,2,4,10)

El colgajo compuesto microquirúrgico de hueso también ha demostrado buenos resultados, buena viabilidad celular y con cicatrización al igual que una fractura. (19)

En modelos animales se han realizado varios estudios de investigación, utilizando generalmente ratas Wistar (Dr. Fuente del Campo 1995) (33)

Una opción más es el uso de injertos autólogos en defectos descritos cuya reparación del defecto se logra satisfactoriamente (8,9,13,14.)

El hueso autólogo como injerto esta sujeto a reabsorción en un 50% del volumen original. Los sitios más utilizados para obtención de injerto son: calota craneana, costilla, cresta iliaca, tibia, peroné, etc.(11,19,28.)

Entre los inconvenientes de los autoinjertos de hueso se incluyen entre otros, una incisión adicional, aumento de la morbilidad, y otros aspectos de dificultad en cuanto a la integración del hueso. (8)

La otra opción de manejo y corrección de deformidades son los aloinjertos que son preparados bajo estrictos requisitos, los cuales aunque tienen una serie de inconvenientes, como ventajas, finalmente se incorporan al organismo receptor. (32). La esterilización de tejidos radiados se realiza mediante la aplicación de radiación gamma cuya dosis recomendada por normas europeas es de 25000 rads. Pero se ha demostrado la esterilidad vs. Virus, bacterias, hongos, hasta 30000 que es la dosis basada en este estudio y proporcionada por el ININ.

La biología de la incorporación ocurre en primer lugar con la acumulación sanguínea alrededor del injerto esterilizado (hipotermia o radiación gamma) que es rico en plaquetas, factores de crecimiento, y citoquinas; este fenómeno de inflamación produce hasta la tercera semana aproximadamente un gran infiltrado linfocitario que persiste hasta los 8 - 9 meses, teniendo como respuesta un estroma fibrovascular; el tejido conectivo neoformado es rico en vasos sanguíneos, que posteriormente invaden a través de las trabéculas preexistentes desde la cortical del hueso, acompaña a esto la actividad

osteoclastica destruyendo parcial y gradualmente el hueso injertado después de los 6 a 9 meses, a partir del segundo mes hay formación y conducción del periostio proveniente de la unión estable entre ambos huesos; dando posteriormente como producto hueso neoformado y revascularizado, el cual es más evidente desde el 6° al 9° mes según el modelo animal empleado; evidenciándose clínicamente la incorporación del aloinjerto óseo, hasta las seis semanas aproximadamente (del 50% en hueso esterilizado con 25000 rads.) (32,35.)

Los mecanismos de respuesta inflamatoria continúan con la respuesta inmune que es estimulada por los antígenos del injerto activando a las células T y macrófagos; al igual que la citoquinas (interleucina I, factor de necrosis tumoral alfa, y limfotocinas) con actividad osteoblastica e induce a la reasociación del injerto como parte del hueso neoformado y un balance entre ambos da lugar al hueso nuevo. (34, 35)

Entre las indicaciones de autoinjertos óseos y sucedáneos tenemos:

- Craneoplastias (6,21)
- Fusiones cervicales. (3)
- Relleno (en cavidades postresección) (5,6.)
- Osteotomías (tibia, etc.)
- Fracturas complicadas con déficit de tejido óseo
- Déficit de unión, pseudoartrosis.
- Reconstrucción maxilofacial (mandibular, maxilar, etc.)

Entre las contraindicaciones que son relativas podemos mencionar:

- Infecciones agudas y crónicas. (7)
- Vascularización insuficiente. (15)
- Inestabilidad. (11,19,28)

Presentación y formas de uso se citan:

En bloque, chips, polvo, preformado, etc.

II.- JUSTIFICACION DEL PROYECTO DE TESIS

Conocer el comportamiento biológico del injerto óseo esterilizado con radiación gamma homólogo, con relación al autoinjerto óseo isotópico, y así contar con una alternativa de manejo de tejido óseo para su incorporación en casos donde no es accesible tejido autólogo.

osteoclastica destruyendo parcial y gradualmente el hueso injertado después de los 6 a 9 meses, a partir del segundo mes hay formación y conducción del periostio proveniente de la unión estable entre ambos huesos; dando posteriormente como producto hueso neoformado y revascularizado, el cual es más evidente desde el 6° al 9° mes según el modelo animal empleado; evidenciándose clínicamente la incorporación del aloinjerto óseo, hasta las seis semanas aproximadamente (del 50% en hueso esterilizado con 25000 rads.) (32,35.)

Los mecanismos de respuesta inflamatoria continúan con la respuesta inmune que es estimulada por los antígenos del injerto activando a las células T y macrófagos; al igual que la citoquinas (interleucina I, factor de necrosis tumoral alfa, y limfotoxinas) con actividad osteoblastica e induce a la reasociación del injerto como parte del hueso neoformado y un balance entre ambos da lugar al hueso nuevo. (34, 35)

Entre las indicaciones de autoinjertos óseos y sucedáneos tenemos:

- Craneoplastias (6,21)
- Fusiones cervicales. (3)
- Relleno (en cavidades postresección) (5,6.)
- Osteotomías (tibia, etc.)
- Fracturas complicadas con déficit de tejido óseo
- Déficit de unión, pseudoartrosis.
- Reconstrucción maxilofacial (mandibular, maxilar, etc.)

Entre las contraindicaciones que son relativas podemos mencionar:

- Infecciones agudas y crónicas. (7)
- Vascularización insuficiente. (15)
- Inestabilidad. (11,19,28)

Presentación y formas de uso se citan:

En bloque, chips, polvo, preformado, etc.

II.- JUSTIFICACION DEL PROYECTO DE TESIS

Conocer el comportamiento biológico del injerto óseo esterilizado con radiación gamma homólogo, con relación al autoinjerto óseo isotópico, y así contar con una alternativa de manejo de tejido óseo para su incorporación en casos donde no es accesible tejido autólogo.

III.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cómo es el comportamiento biológico en cuanto a su incorporación de los injertos óseos esterilizados con radiación gamma homólogos con relación al autoinjerto óseo isotópico ?

IV.- OBJETIVOS

- Comparar el potencial osteogénico de los injertos utilizados (grupo control vs grupo de estudio).
- Grado de incorporación del injerto óseo esterilizado con radiación gamma (grupo de estudio), del autoinjerto óseo (grupo control).
- Grado de osificación, formación ósea, crecimiento óseo, del injerto óseo esterilizado con radiación gamma (grupo de estudio), y asimismo del autoinjerto óseo (grupo control).

V.- HIPOTESIS

El injerto óseo homologo esterilizado con radiación gamma se incorpora igual que el autoinjerto óseo isotopico (grupo control).

VI.-METODOLOGIA

ESTUDIO

Experimental, prospectivo, longitudinal, comparativo.

MATERIAL

Bloques o segmentos óseos:

- Autólogo isotópico de arco cigomático derecho de 4x1 mm aproximadamente.
- Homólogo esterilizado con radiación gamma a 30 kgy (aproximadamente 30000 rads)de arco cigomático derecho, de 4x1 mm. de ancho aproximadamente.

Equipo de cirugía Plástica fina, microcirugía y telelupas.

III.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cómo es el comportamiento biológico en cuanto a su incorporación de los injertos óseos esterilizados con radiación gamma homólogos con relación al autoinjerto óseo isotópico ?

IV.- OBJETIVOS

- Comparar el potencial osteogénico de los injertos utilizados (grupo control vs grupo de estudio).
- Grado de incorporación del injerto óseo esterilizado con radiación gamma (grupo de estudio), del autoinjerto óseo (grupo control).
- Grado de osificación, formación ósea, crecimiento óseo, del injerto óseo esterilizado con radiación gamma (grupo de estudio), y asimismo del autoinjerto óseo (grupo control).

V.- HIPOTESIS

El injerto óseo homologo esterilizado con radiación gamma se incorpora igual que el autoinjerto óseo isotopico (grupo control).

VI.-METODOLOGIA

ESTUDIO

Experimental, prospectivo, longitudinal, comparativo.

MATERIAL

Bloques o segmentos óseos:

- Autólogo isotópico de arco cigomático derecho de 4x1 mm aproximadamente.
- Homólogo esterilizado con radiación gamma a 30 kgy (aproximadamente 30000 rads)de arco cigomático derecho, de 4x1 mm. de ancho aproximadamente.

Equipo de cirugía Plástica fina, microcirugía y telulapas.

III.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cómo es el comportamiento biológico en cuanto a su incorporación de los injertos óseos esterilizados con radiación gamma homólogos con relación al autoinjerto óseo isotópico ?

IV.- OBJETIVOS

- Comparar el potencial osteogénico de los injertos utilizados (grupo control vs grupo de estudio).
- Grado de incorporación del injerto óseo esterilizado con radiación gamma (grupo de estudio), del autoinjerto óseo (grupo control).
- Grado de osificación, formación ósea, crecimiento óseo, del injerto óseo esterilizado con radiación gamma (grupo de estudio), y asimismo del autoinjerto óseo (grupo control).

V.- HIPOTESIS

El injerto óseo homologo esterilizado con radiación gamma se incorpora igual que el autoinjerto óseo isotopico (grupo control).

VI.-METODOLOGIA

ESTUDIO

Experimental, prospectivo, longitudinal, comparativo.

MATERIAL

Bloques o segmentos óseos:

- Autólogo isotópico de arco cigomático derecho de 4x1 mm aproximadamente.
- Homólogo esterilizado con radiación gamma a 30 kgy (aproximadamente 30000 rads)de arco cigomático derecho, de 4x1 mm. de ancho aproximadamente.

Equipo de cirugía Plástica fina, microcirugía y telelupas.

III.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cómo es el comportamiento biológico en cuanto a su incorporación de los injertos óseos esterilizados con radiación gamma homólogos con relación al autoinjerto óseo isotópico ?

IV.- OBJETIVOS

- Comparar el potencial osteogénico de los injertos utilizados (grupo control vs grupo de estudio).
- Grado de incorporación del injerto óseo esterilizado con radiación gamma (grupo de estudio), del autoinjerto óseo (grupo control).
- Grado de osificación, formación ósea, crecimiento óseo, del injerto óseo esterilizado con radiación gamma (grupo de estudio), y asimismo del autoinjerto óseo (grupo control).

V.- HIPOTESIS

El injerto óseo homologo esterilizado con radiación gamma se incorpora igual que el autoinjerto óseo isotopico (grupo control).

VI.-METODOLOGIA

ESTUDIO

Experimental, prospectivo, longitudinal, comparativo.

MATERIAL

Bloques o segmentos óseos:

- Autólogo isotópico de arco cigomático derecho de 4x1 mm aproximadamente.
- Homólogo esterilizado con radiación gamma a 30 kgy (aproximadamente 30000 rads)de arco cigomático derecho, de 4x1 mm. de ancho aproximadamente.

Equipo de cirugía Plástica fina, microcirugía y telelupas.

Muestra aleatoria de 32 Ratas Wistar al destete (30 días de edad), sin distinción de sexo

- * Criterios de inclusión: Integridad ósea de los cigomas.
- * Criterios de exclusión: Malformaciones congénitas.
Muerte durante el procedimiento y tiempo de estudio.

METODO

Dos grupos A y B de ratas Wistar

Grupo Control (grupo A) de 16 ratas Wistar, injerto autólogo isotópico (lado izquierdo)

Grupo de Estudio (grupo B) de 16 ratas Wistar para implantación en lado derecho de cigoma de hueso Esterilizado con radiación gamma.

OBTENCION DE MUESTRAS DE TEJIDO OSEO.

Se sacrifican a los 2, 4 y 8 meses de seguimiento.

Se toma muestra a 2 mm. del margen de injerto (incluyendo su unión de ambos extremos que corresponde al sitio de fractura o de unión de los injertos) y se lleva a histopatología para observar el comportamiento de las variables de interés para cada uno de los grupos "A" y "B"

MEDICION DEL COMPORTAMIENTO DE LA OSIFICACION DE AMBOS MATERIALES:

Escala de medida de las Variables Histológicas:

No hay	Normal	Doble a lo Normal	Triple a lo Normal
0	+	++	+++

TABLA DE VARIABLES HISTOLOGICAS:

1.	Matriz ósea de regeneración o hueso inmaduro
2.	Presencia de Osteoblastos
3.	Presencia de Osteoclastos
4.	Reacción granulomatosa
5.	Reacción Inflamatoria
6.	Fibrosis
7.	Presencia de periostio de regeneración y crecimiento óseo.

VARIABLES RADIOLOGICAS:

Se tomaran radiografías en posición de waters invertida para ver formación ósea; control preoperatorio, a los dos, cuatro, y ocho meses de seguimiento.

Tamaño: 10x6 cm rectangulares

RADIOGRAFIAS :

Placas Radiográficas Kodak de tamaño descrito tomadas con técnica habitual para odontología (0.20 Bw)

Arco cigomático, midiendo en mm. la brecha o distancia radioopaca y radiolúcida que corresponde al área de mineralización ósea como sigue:

1.	Radiolucidez medidas en milímetros
2.	Radiopacidad medidas en milímetros

En cuanto a crecimiento óseo por observación microscópica hecha por el radiólogo midiendo la brecha en milímetros del hueso maduro (sin estudio de mineralización ósea). Dándose una puntuación desde 0 a 5 milímetros o más.

TECNICA QUIRURGICA

- Anestesia con éter
- Incisión longitudinal a nivel del arco cigomático en forma bilateral.
- Resección de 4 mm. De longitud a 2 mm. de sutura de crecimiento y enviar a radiación gamma para el grupo "B", colocar injerto de hueso gamma irradiado homólogo de arco cigomático del lado contralateral
(Huesos y tejidos provenientes de ratas de la misma raza Wistar, previamente obtenidos en el Bioterio de este Hospital y esterilizados por radiación gamma en el ININ con el apoyo del Organismo Internacional de la Energía Atómica). En el grupo de control solo se realizaran fracturas en longitudes mencionadas y se dejará el hueso como autoinjerto óseo en el mismo lugar (isotópicamente).
- Cierre de heridas con nylon 7-0 en periostio y 6-0 para piel.

VII.-ANALISIS DE RESULTADOS

Sobre la base de modelo experimental

Comparación de resultados:

- Formación ósea
- Osificación
- Crecimiento óseo
- Incorporación
- Presencia de periostio
- Seguimiento radiológico

ANALISIS ESTADISTICO

- Creación de una tabla de Datos
- Análisis de Correlación:
 - Prueba Ji Cuadrada con Corrección de Yates
 - Prueba Ji Cuadrada no Corregida
- Análisis de Varianza (ANOVA)
 - Prueba de Homogeneidad de Bartlett
 - ANOVA Paramétrico para un factor (Prueba F de Fisher)
 - Prueba t de Student
 - ANOVA NO Paramétrico para un factor (Prueba de Kruskal-Wallis)

TECNICA QUIRURGICA

- Anestesia con éter
- Incisión longitudinal a nivel del arco cigomático en forma bilateral.
- Resección de 4 mm. De longitud a 2 mm. de sutura de crecimiento y enviar a radiación gamma para el grupo "B", colocar injerto de hueso gamma irradiado homólogo de arco cigomático del lado contralateral
(Huesos y tejidos provenientes de ratas de la misma raza Wistar, previamente obtenidos en el Bioterio de este Hospital y esterilizados por radiación gamma en el ININ con el apoyo del Organismo Internacional de la Energía Atómica). En el grupo de control solo se realizaran fracturas en longitudes mencionadas y se dejará el hueso como autoinjerto óseo en el mismo lugar (isotópicamente).
- Cierre de heridas con nylon 7-0 en periostio y 6-0 para piel.

VII.-ANALISIS DE RESULTADOS

Sobre la base de modelo experimental

Comparación de resultados:

- Formación ósea
- Osificación
- Crecimiento óseo
- Incorporación
- Presencia de periostio
- Seguimiento radiológico

ANALISIS ESTADISTICO

- Creación de una tabla de Datos
- Análisis de Correlación:
 - Prueba Ji Cuadrada con Corrección de Yates
 - Prueba Ji Cuadrada no Corregida
- Análisis de Varianza (ANOVA)
 - Prueba de Homogeneidad de Bartlett
 - ANOVA Paramétrico para un factor (Prueba F de Fisher)
 - Prueba t de Student
 - ANOVA NO Paramétrico para un factor (Prueba de Kruskal-Wallis)

- Prueba de Mann Whitney o Wilcoxon para dos muestras
Se consideró Significancia estadística para $p < 0.05$.

- Estadística Descriptiva:
 - Tablas de Frecuencia,
 - Media Aritmética, Mediana, Moda
 - Varianza, Desviación Estandar, Rango
- Software
 - Excel , Dbase III Plus
 - Epi Info 6.02
 - STATISTICS 4.2

VII.- RECURSOS

Servicio de Cirugía Reconstructiva
Servicio de Patología
Servicio de Radiología
Servicio de Bioterio
Seguridad Radiológica

IX.- ASPECTOS ETICOS

De acuerdo a lo sugerido por el comité del departamento de investigación del Hospital Central Sur de Alta Especialidad.
No se utilizaran modelos humanos.

• Prueba de Mann Whitney o Wilcoxon para dos muestras
Se consideró Significancia estadística para $p < 0.05$.

- Estadística Descriptiva:
 - Tablas de Frecuencia,
 - Media Aritmética, Mediana, Moda
 - Varianza, Desviación Estandar, Rango
- Software
 - Excel , Dbase III Plus
 - Epi Info 6.02
 - STATISTICS 4.2

VII.- RECURSOS

Servicio de Cirugía Reconstructiva
Servicio de Patología
Servicio de Radiología
Servicio de Bioterio
Seguridad Radiológica

IX.- ASPECTOS ETICOS

De acuerdo a lo sugerido por el comité del departamento de investigación del Hospital Central Sur de Alta Especialidad.
No se utilizaran modelos humanos.

- Prueba de Mann Whitney o Wilcoxon para dos muestras
Se consideró Significancia estadística para $p < 0.05$.

- Estadística Descriptiva:
 - Tablas de Frecuencia,
 - Media Aritmética, Mediana, Moda
 - Varianza, Desviación Estandar, Rango
- Software
 - Excel , Dbase III Plus
 - Epi Info 6.02
 - STATISTICS 4.2

VII.- RECURSOS

Servicio de Cirugía Reconstructiva
Servicio de Patología
Servicio de Radiología
Servicio de Bioterio
Seguridad Radiológica

IX.- ASPECTOS ETICOS

De acuerdo a lo sugerido por el comité del departamento de investigación del Hospital Central Sur de Alta Especialidad.
No se utilizaran modelos humanos.

X.- CRONOGRAMA

- SEMANA 1.- Obtención y envío de injertos a esterilización con radiación gamma.
Y control de Rx en todos los grupos.
- SEMANA 2.- Cirugía en todos los grupos
- DIA 60.- Primera fase de resultados, (Rx, sacrificio de ratas y envío a Patología
- DIA 120.- Segunda fase de resultados (idem)
- DIA 240 .- Tercera fase de resultados. (idem)
- 9° MES ANALISIS DE RESULTADOS.

XI.- RESULTADOS:

Matriz ósea de hueso inmaduro:

En el grupo autólogo se evidencia que existe regeneración de matriz ósea de hueso inmaduro en la mayoría de los casos (87.5%), siendo nula solo en dos (12.5 %). En su mayoría fue el doble de intensidad de regeneración (50 %) como ocurre normalmente.

Para el grupo homólogo se observó que no existe evidencia de matriz ósea de hueso inmaduro que se puede explicar porque la biología de incorporación de este hueso es diferente como se mencionó anteriormente. ($P < 0.003$). (Tabla 1 y Gráfica 1).

X.- CRONOGRAMA

- SEMANA 1.- Obtención y envío de injertos a esterilización con radiación gamma.
Y control de Rx en todos los grupos.
- SEMANA 2.- Cirugía en todos los grupos
- DIA 60.- Primera fase de resultados, (Rx, sacrificio de ratas y envío a Patología
- DIA 120.- Segunda fase de resultados (ídem)
- DIA 240 .- Tercera fase de resultados. (ídem)
- 9° MES ANALISIS DE RESULTADOS.

XI.- RESULTADOS:

Matriz ósea de hueso inmaduro:

En el grupo autólogo se evidencia que existe regeneración de matriz ósea de hueso inmaduro en la mayoría de los casos (87.5%), siendo nula solo en dos (12.5 %). En su mayoría fue el doble de intensidad de regeneración (50 %) como ocurre normalmente.

Para el grupo homólogo se observó que no existe evidencia de matriz ósea de hueso inmaduro que se puede explicar porque la biología de incorporación de este hueso es diferente como se mencionó anteriormente. ($P < 0.003$). (Tabla 1 y Gráfica 1).

Presencia de osteoblastos:

En el grupo autólogo se observa presencia normal de estas células aunque en dos se observó que fue mayor a lo normal, con la presencia de estas células en los extremos de unión.

En el grupo homólogo, no se observó presencia de estas células en el tiempo de seguimiento, que corresponde a lo que esperábamos por ser estas células formadoras de hueso. (Ji Cuadrada = 32.00 y $P < 0.001$) (Tabla 2 y Gráfica 2).

Presencia de Osteoclastos:

En el grupo autólogo se evidencia presencia de estas células en un bajo porcentaje (25%) en grado normal que corresponde al subgrupo de 8 meses, si bien es cierto que estas células son las que dan forma al hueso, podemos concluir que es importante.

En el grupo homólogo se encontraron valores muy bajos que no fueron significativos como para variar el valor encontrado; estas células aparecen muy tarde generalmente para reemplazar el hueso injertado y formado por periostio de regeneración y el crecimiento óseo como veremos mas adelante. ($p > 0.109$., Ji Cuadrada con corrección de Yates = 2.57.) Ver Tabla 3 y Gráfica 3)

Presencia de fibroblastos y colágena :

En el grupo autólogo exhibe presencia de estas estructuras en forma normal y ligeramente elevada que es lo natural para los injertos de este tipo.

Para el grupo homólogo se observó que existen ambos componentes que incluso se presenta al doble de lo normal, pudiendo explicarse esto debido a que en este tipo de injertos se forma un estroma fibrovascular a través de los cuales se llegan a formar nuevos vasos que invaden las trabéculas de los injertos. (Ji cuadrado = 10.40 $P < 0.006$). (Tabla 4 y Gráficas 4 y 6)

Presencia de inflamación y reacción granulomatosa:

Se observa en el grupo autólogo y homólogo el mismo grado de reacción inflamatoria al igual que el grado de reacción granulomatosa. Esto evidencia el grado de incorporación del hueso homólogo con reacción mínima.

Presencia de periostio de regeneración y crecimiento óseo:

En el grupo autólogo fue normal y en su mayoría con valores mayores al normal, esto ocurrió desde el segundo al octavo mes.

En el grupo homólogo se evidenció reacción mayor a lo normal con un porcentaje elevado (68.8%) que se vió principalmente en los grupos de cuatro y ocho meses. ($P < 0.054$) (Ji cuadrado=5.84) (Tabla 5 y Gráfica 5 y 7)

VARIABLES RADIOLOGICAS

En el grupo homologo se observó radiolucidez en el subgrupo de dos meses, siendo está menor a 2 mm, con una radiopacidad a nivel de uniones de magnitud menor a 4 mm. Posteriormente en el subgrupo de 4 meses presento ligera formación de tejido óseo en uniones siendo notable a la radiografias presencia de tejido óseo de grosor leve.).

En el grupo autólogo se llegó a observar presencia de tejido óseo de regeneración a partir del segundo mes, siendo más intensa en los dos periodos siguientes. (Ver sección de figuras radiológicas

XII.- DISCUSION Y COMENTARIOS.

PRIMERA FASE: SUBGRUPO 1:

Corresponde a los dos meses de colocación de injertos óseos esterilizados con radiación gamma (cuatro ratas) , comparadas con el primer grupo de injertos autologos.

En el grupo radiado, no se encontró regeneración ósea ó hueso inmaduro, ni células óseas, se encontró fibrosis con tejido colágeno y fibroblastos. En la radiología no se encontró evidencia de tejido óseo en todas se evidencio presencia de tejido injertado.

En el grupo autologo se evidencia presencia de tejido óseo de regeneración, células óseas, con fibrosis leve, con un grado de incorporación de 5/7 . Radiologicamente evidencia de formación ósea desde unión hasta 3 mm.

En ambos grupos no se observa reacción inflamatoria. (ver gráfica y cuadro)

SEGUNDA FASE: SUBGRUPO 2: Corresponde a los cuatro meses.

En el grupo radiado, se encontró ausencia de regeneración ósea y células óseas, aunque se evidencia aumento de tejido colágeno, fibroblastos y presencia de periostio de regeneración y crecimiento de hueso con un valor de incorporación de 4/7 desde los sitios de unión, aunque en la radiología evidencia presencia de tejido óseo radiado, pero sin datos microscópicos en cuanto a osteoblastos osteoclastos, matriz ósea de regeneración y neomineralización sin datos que evidencie neoformación.

En el grupo autologo se nota presencia de tejido óseo o hueso inmaduro, con fibrosis mayor y crecimiento óseo mayor al grupo anterior con incorporación ósea de 6/7

En ambos grupos no se evidencia reacción inflamatoria

VARIABLES RADIOLOGICAS

En el grupo homologo se observó radiolucidez en el subgrupo de dos meses, siendo está menor a 2 mm, con una radiopacidad a nivel de uniones de magnitud menor a 4 mm. Posteriormente en el subgrupo de 4 meses presento ligera formación de tejido óseo en uniones siendo notable a la radiografias presencia de tejido óseo de grosor leve.).

En el grupo autólogo se llegó a observar presencia de tejido óseo de regeneración a partir del segundo mes, siendo más intensa en los dos periodos siguientes. (Ver sección de figuras radiológicas

XII.- DISCUSION Y COMENTARIOS.

PRIMERA FASE: SUBGRUPO 1:

Corresponde a los dos meses de colocación de injertos óseos esterilizados con radiación gamma (cuatro ratas) , comparadas con el primer grupo de injertos autologos.

En el grupo radiado, no se encontró regeneración ósea ó hueso inmaduro, ni células óseas, se encontró fibrosis con tejido colágeno y fibroblastos. En la radiología no se encontró evidencia de tejido óseo en todas se evidencio presencia de tejido injertado.

En el grupo autologo se evidencia presencia de tejido óseo de regeneración, células óseas, con fibrosis leve, con un grado de incorporación de 5/7 . Radiologicamente evidencia de formación ósea desde unión hasta 3 mm.

En ambos grupos no se observa reacción inflamatoria. (ver gráfica y cuadro)

SEGUNDA FASE: SUBGRUPO 2: Corresponde a los cuatro meses.

En el grupo radiado, se encontró ausencia de regeneración ósea y células óseas, aunque se evidencia aumento de tejido colágeno, fibroblastos y presencia de periostio de regeneración y crecimiento de hueso con un valor de incorporación de 4/7 desde los sitios de unión, aunque en la radiología evidencia presencia de tejido óseo radiado, pero sin datos microscópicos en cuanto a osteoblastos osteoclastos, matriz ósea de regeneración y neomineralización sin datos que evidencie neoformación.

En el grupo autologo se nota presencia de tejido óseo o hueso inmaduro, con fibrosis mayor y crecimiento óseo mayor al grupo anterior con incorporación ósea de 6/7

En ambos grupos no se evidencia reacción inflamatoria

TERCERA FASE: SUBGRUPO 3: Corresponde a los ocho meses.

En el grupo radiado, se encontró fibrosis con presencia de periostio de regeneración y crecimiento óseo, con evidencia radiológica de tejido óseo que va en aumento con mayor grado de incorporación 6/7.

En el grupo autólogo, se evidencia mayor grado de incorporación ósea que se acerca a la normalidad en cuanto a presencia de tejido óseo siendo marcada la regeneración de matriz ósea y crecimiento óseo.

Continúa sin datos de reacción inflamatoria en ambos grupos.

XIII.- CONCLUSIONES RECOMENDACIONES.

- 1.- Los autoinjertos son la mejor opción a utilizar
- 2.- Los aloinjertos esterilizados con radiación gamma a 30,000 rads. (30 kGy) se pueden utilizar como una opción alternativa ante la imposibilidad de utilizar los autoinjertos.
- 3.- Los autoinjertos se incorporan mejor que los aloinjertos esterilizados con radiación gamma.
- 4.- Los aloinjertos esterilizados con radiación gamma a 30,000 rad (30 kGy) tienen una biología de incorporación diferente a los autoinjertos frescos no radiados.
- 5.- Los injertos óseos se incorporan mejor cuando se conserva el periostio.
- 6.- La matriz ósea de regeneración o presencia de hueso inmaduro en los injertos autólogos se observa desde el segundo mes.
- 7.- En los aloinjerto radiados, la matriz ósea de regeneración la presencia de hueso inmaduro y remineralización empieza por la colonización celular desde los bordes de la unión e incorporación del aloinjerto entre el sexto y noveno mes según otros modelos experimentales. Probablemente se originen de metaplasia de fibroblastos y periostio, como precursores de osteoclastos y osteoblastos. (figura 1). También se observa la disminución hasta en un 50% del tejido óseo del aloinjerto, para posteriormente remodelarse y aumentar su densidad según la potencialidad del huésped y su reacción inmune.
- 8.- Se debe promover el desarrollo de una línea de investigación que aborde en forma sistemática los diversos problemas por resolver en relación con el uso de los aloinjertos esterilizados con radiación gamma a 30,000 rads
- 8.- Promover la creación de un banco de tejidos que constituya la alternativa de posibilidad de manejo de diversos tejidos.

XIV. - GRAFICAS - CUADROS - FIGURAS.

Colocación de Aloinjerto



Figura 2. Colocación de injerto esterilizado con radiación gamma

Control Radiológico de Aloinjerto (2 meses)



Figura 3.

HOST BONE (VIABLE)

Helper Factors

IL - 4-5-7

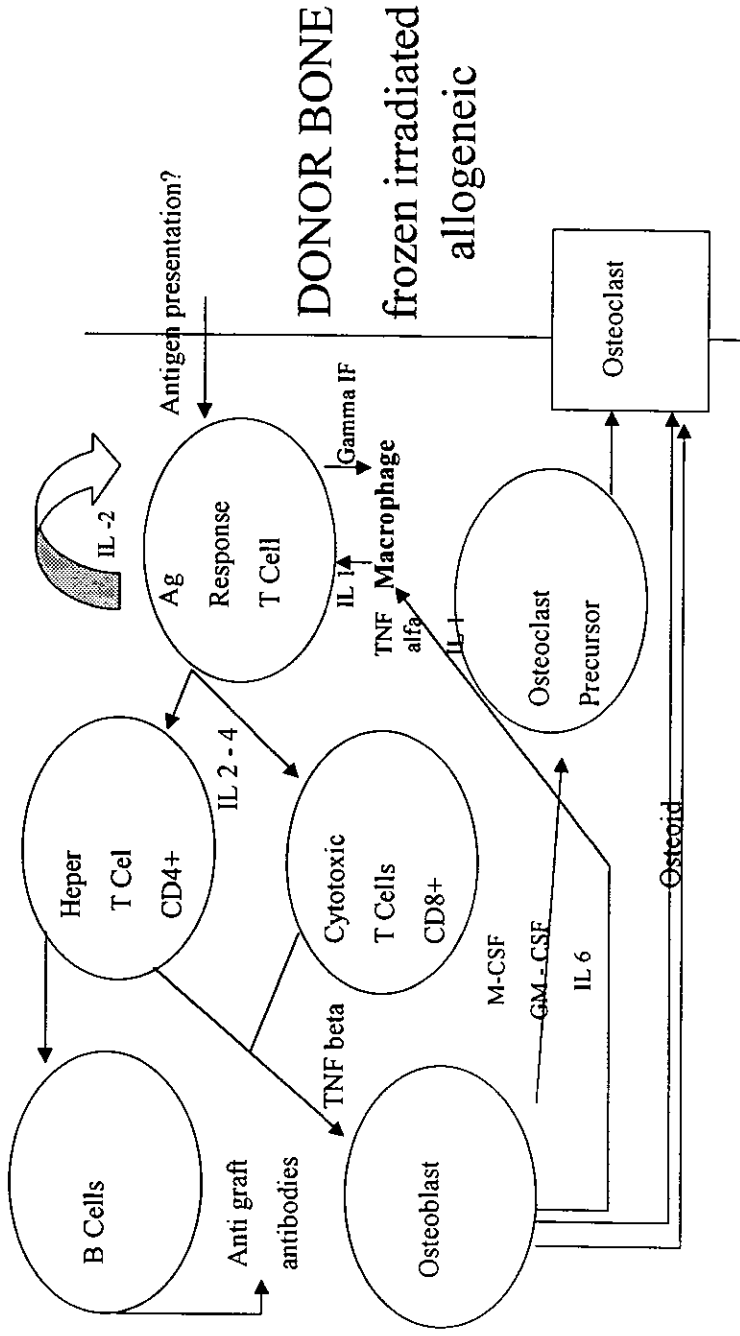


Figura 1. IL- Interleucina, IF- Interferon, TNF - Factor de Necrosis tumoral, M-CSF- Factor estimulante de colonias de macrófagos, GM-CSF- Factor estimulante de granulocitos y macrófagos.

Control Radiológico de Aloiinjerto
(4 meses)



Figura 4

Control Radiológico de Aloiinjerto
(8 meses)



Figura 5 a los ocho meses, presencia de tejido oso (incorporación de aloinjerto).

Histopatología de Aloinjerto



Figura 6 A los cuatro meses se observa fibrosis perióstica, algunos linfocitos, vasos de neoformación

Histopatología de Aloinjerto

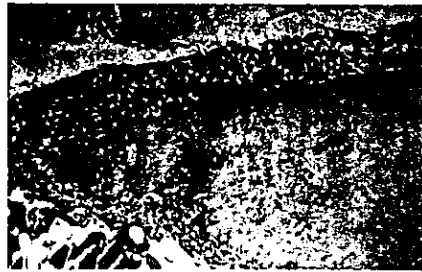


Figura 7 A los cuatro meses, vasos de neoformación, estroma fibrovascular.

Histopatología del Autoinjerto



Figura 8 A los 4 meses se observa a bundante proliferación de osteoblastos con hueso de neoformación

Histopatología del Autoinjerto



Figura 9 A los cuatro meses , abundante proliferacion de osteoblastos.

Histopatología del Aloinjerto

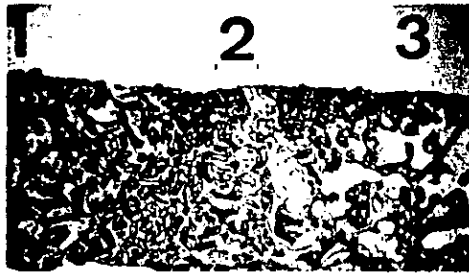
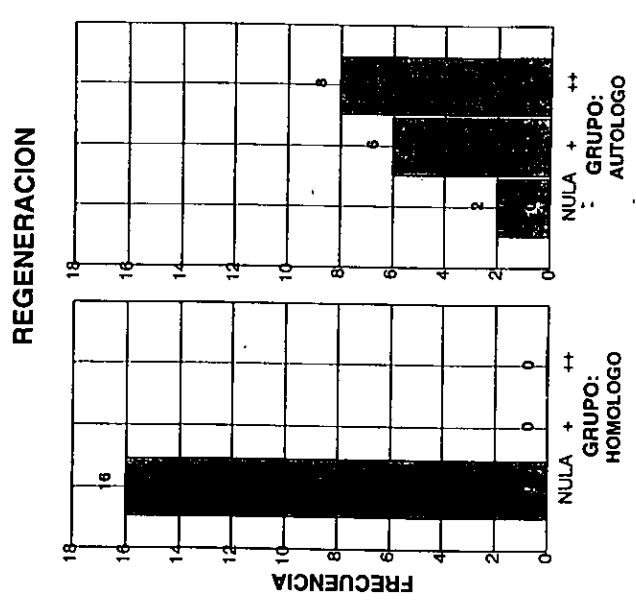


Figura 10 Incorporación de Aloinjerto esterilizado con radiación Gamma

Matriz ósea de hueso inmaduro

GRUPO	REGENERACION			Total
	NULLA	+	++	
AUTOLOGO	2	6	8	16
>	12.5%	37.5%	50.0%	> 50.0%
	11.1%	100.0%	100.0%	
HOMOLOGO	16	0	0	16
>	100.0%	0.0%	0.0%	> 50.0%
	88.9%	0.0%	0.0%	
Total	18	6	8	32
	56.3%	18.8%	25.0%	

Chi cuadrado = 24.89
 Grados de libertad = 2
 Valor de P = 0.00000394 <----



INTENSIDAD DE LA REGENERACION

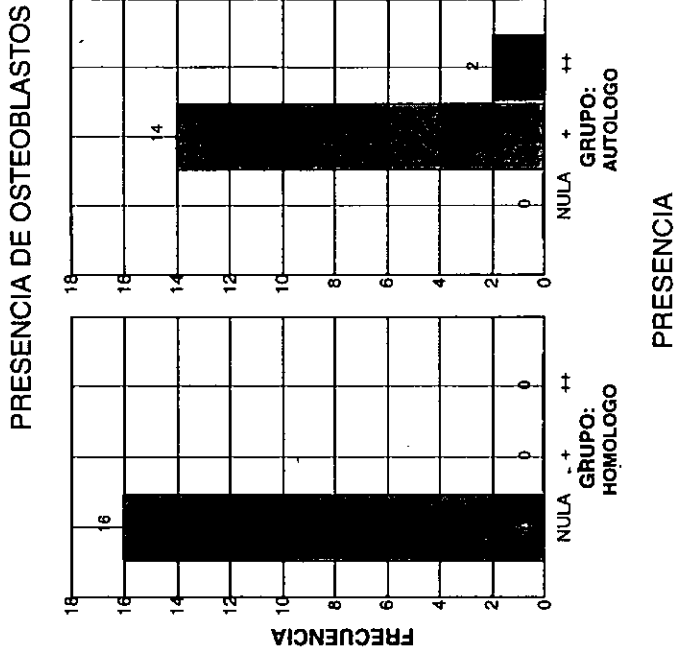
Tabla 1

Gráfica 1

OSTEOBLASTOS

GRUPO	OSTEOBLASTOS			Total
	NULLA	+	++	
AUTOLOGO	0	14	2	16
>	0.0%	87.5%	12.5%	> 50.0%
	0.0%	100.0%	100.0%	
HOMOLOGO	16	0	0	16
>	100.0%	0.0%	0.0%	> 50.0%
	100.0%	0.0%	0.0%	
Total	16	14	2	32
	50.0%	43.8%	6.3%	

Chi cuadrado = 32.00
 Grados de libertad = 2
 Valor de P = 0.00000011 <----



Gráfica 2

Tabla 2

OSTEOCLASTOS

GRUPO	OSTEOCLAST		Total
	NULLA	+	
AUTOLOGO	12	4	16
	> 75.0%	> 25.0%	> 50.0%
HOMOLOGO	16	0	16
	> 100.0%	> 0.0%	> 50.0%
Total	28	4	32
	87.5%	12.5%	

Corrección de Yates: 2.57 0.10880943

PRESENCIA DE OSTEOCLASTOS

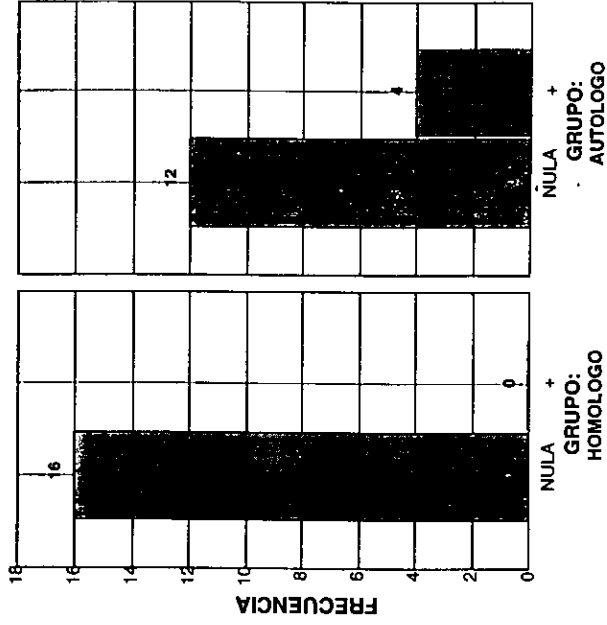


Tabla 3

Gráfica 3

FIBROSIS (COLAGENA Y FIBROBLASTOS)

GRUPO	FIBROSIS			Total
	NULLA	+	++	
AUTOLOGO	0	12	4	16
	> 0.0%	> 75.0%	> 25.0%	> 50.0%
	0.0%	80.0%	25.0%	
HOMOLOGO	1	3	12	16
	> 6.3%	> 18.8%	> 75.0%	> 50.0%
	100.0%	20.0%	75.0%	
Total	1	15	16	32
	3.1%	46.9%	50.0%	

Chi cuadrado = 10.40
 Grados de libertad = 2
 Valor de P = 0.00551656 <----

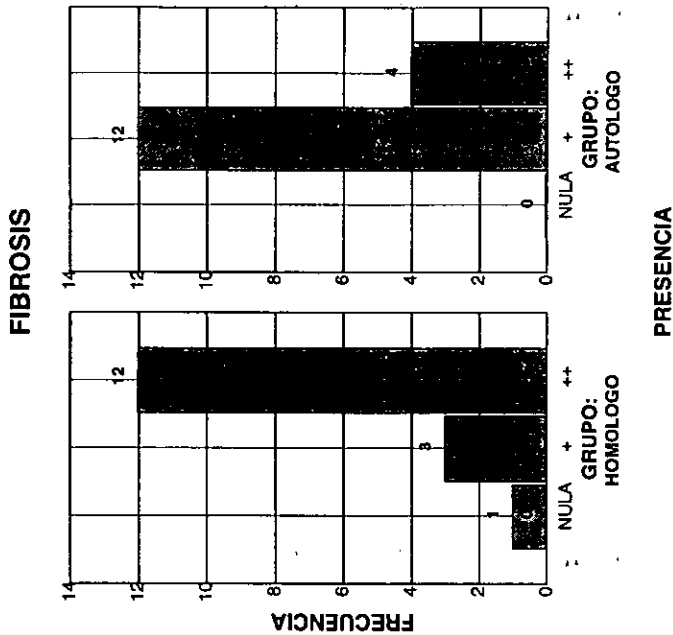


Tabla 4

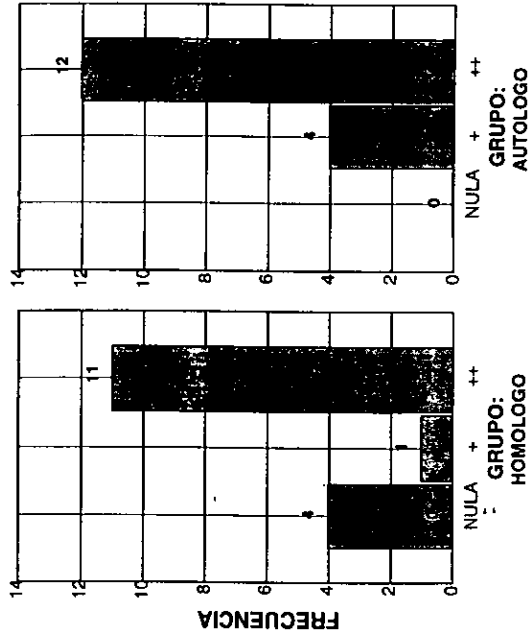
Gráfica 4

PRESENCIA DE PERIOSTIO DE REGENERACION Y CRECIMIENTO OSEO

GRUPO	PERIOSTIO			Total
	NULA	+	++	
AUTOLOGO	0	4	12	16
	> 0.0%	> 25.0%	> 75.0%	> 50.0%
	0.0%	80.0%	52.2%	
HOMOLOGO	4	1	11	16
	> 25.0%	> 6.3%	> 68.8%	> 50.0%
	100.0%	20.0%	47.8%	
Total	4	5	23	32
	12.5%	15.6%	71.9%	

Chi cuadrado = 5.84
 Grados de libertad = 2
 Valor de P = 0.05383997

**PERIOSTIO DE REGENERACION
Y CRECIMIENTO OSEO**

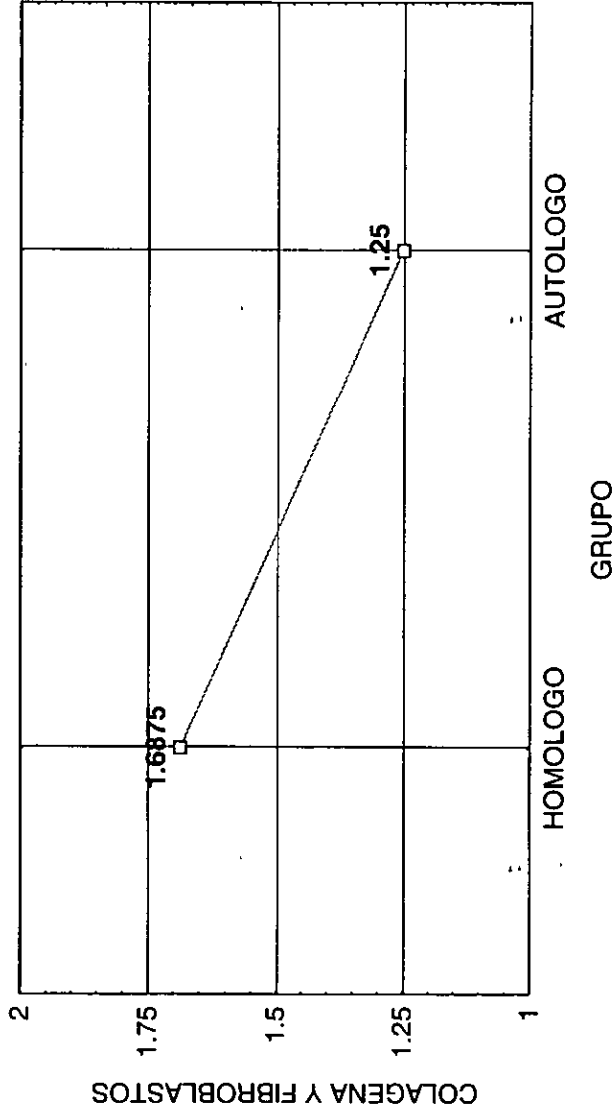


Gráfica 5

Tabla 5

COLAGENA Y FIBROBLASTOS

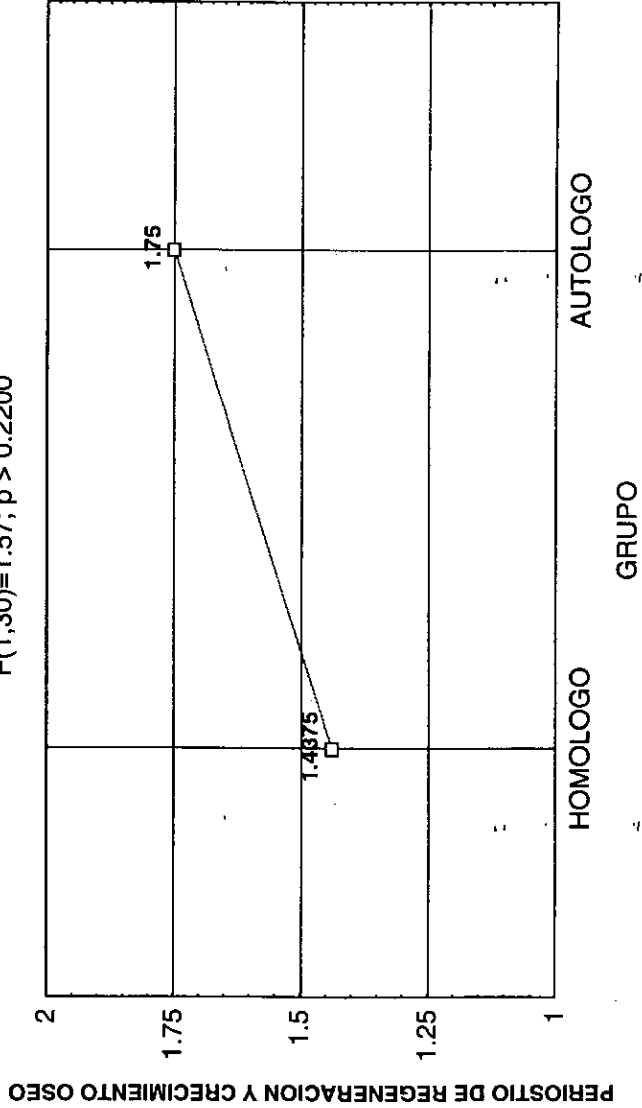
ANALISIS DE VARIANZA
 $F(1,30)=5.44; p<.0265$



Gráfica 6

PERIOSTIO DE REGENERACION Y CRECIMIENTO OSEO

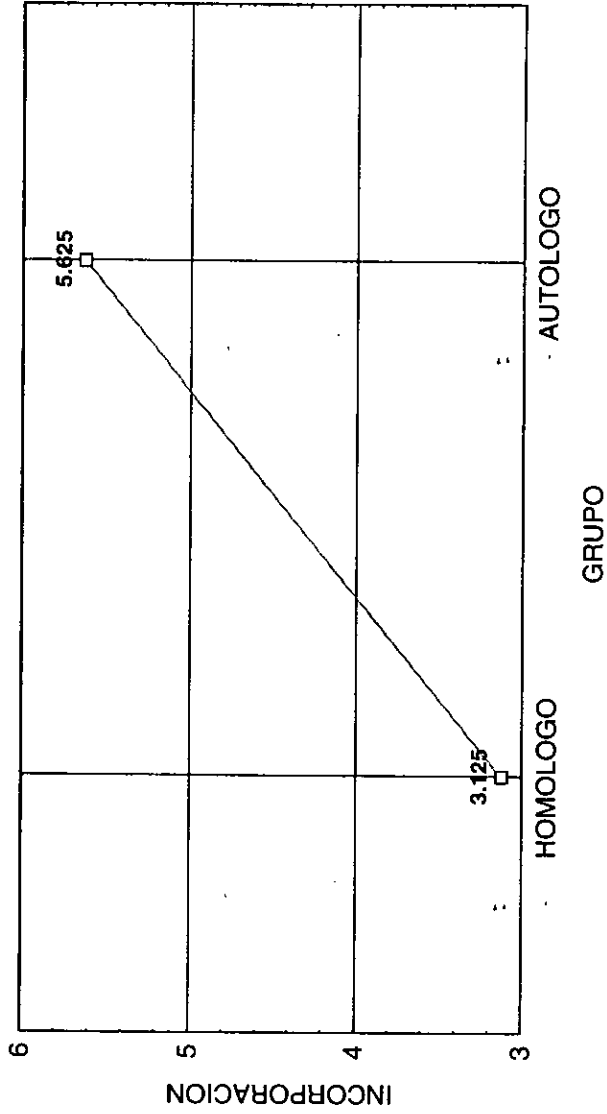
ANALISIS DE VARIANZA
 $F(1,30)=1.57; p > 0.2200$



Gráfica 7

INCORPORACION

ANALISIS DE VARIANZA
 $F(1,30)=37.97; p < 0.0001$



Gráfica 8

XV.- BIBLIOGRAFIA.

1. Alpalsan, C. Bone Reaction to Subperiosteally Implanted hidroxyapatite-collagen-glycosaminoglycans and coral in the guinea. *Fig Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol* 1994 77:335.
- 2.- Bachour, E. Cervical Arthrodesis Through an anterior Approach with the use a BOP syntetic graft. *Lyon Chir* 1993 88:256.
- 3.- Beberly, CW. Cranial Bone grafts for use in posterior fixation of the cervical spine. *J. Neurosurg.* 79:286 1993.
- 4.- Bernard, SL. The use of Coralline hidroxyapatite in a Biocomposite free flap. *Plastic Reconstr. Surg.* 87:96 1991.
- 5.- Borchers, R.E. Effects of selected thermal variables on the mechanical properties of trabecular bone. *Biomaterials* 16 545-551. 1995.
- 6.- Bruant, CR. Use of a new malleable implant as bone substitute in maxillofacial surgery. *Advances in Therapy.* 10:, 1993.
- 7.- Bradley, M.F. Effects of gamma irradiation on the human immunodeficiency virus. *The Journal of bone and Joint Surgery.* 76:A. 7. 1032-1035. 1994.
- 8.- Burchardt, H. Biology of bone transplantation. *Orthopedic clinics of North america* 18 :2 187-196. 1987.
- 9.- Burchardt, M.S. repair of experimental autologous grafts of cortical bone. *J. of bone and Joint Surg.* 57 A 814-819 1975.
- 10.- Byrd, H.S. Augmentation of the craniofacial skeleton with porous hidroxyapatite granules. *Plast. Reconstr. Surg.* 91.15.1993.
- 11.- Converse. *Texto de Cirugia Plástica y Reconstructiva General.* Tomo I. 1987 pag. 583-628.
- 12.- Dziedzic, GA. Effect of radiation sterilization on the osteoinductive properties and the rate of remodeling of bone implants preserved by lyophilization and deep-freezing. *Clin Orthop* 1991 (272):30-7.
- 13.- Enneking W.F. physical and biological aspects of repair in dog cortical bone transplants. *The Journal of bone and Joint Surgery.* 57 A: 2. Pp237-252. 1975.
- 14.- Enneking, WF. Autogenous cortical bone grafts in the reconstruction of segmental skeletal defects. *The Journal of bone and Joint Surgery* 62*A:7. 1039-1058. 1980.
- 15.- Farrington, M. et al. Microbiological monitoring of bone grafts: two years experience at a tissue bank. *J. Hosp. Infect.* 38(4):261-71.
- 16.- Fidler, BM. Effects of gamma irradiation on the human immunodeficiency virus. A study in grozen human bone-patellar ligament-bone grafts obtained from infected cadavera. *J Bone Surg Am* 1994 76(7):1032-5.
- 17.- Frodel, J.L. Osseointegrated Implants. A Comparative study of bone thickness in four vascularized bone flaps. *Plast. Reconstr. Surg.* 92:449. 1993.
- 18.- Gibbons, MJ. Effects of gamma irradiation on the initial mechanical and material properties of goat bone-patellar tendon-bone allografts. *J Orthop Res.* 1991 9(2):209-18.
- 19.- Grabb, W.C. *Texto de cirugía Plástica.* 1987. De. Salvat Barcelona, España. 93.110.
- 20.- Hamer, A.J. et al Biochemical properties of cortical allograft bone using a new method of bone atrength measurement. A compariso of gresh, gresh-frozen and irradiated bone.
- 21.- Harvey, M.R. The biologic Behavior of Hydroxyapatite implanted in to the maxillofacial Skeleton. *Plast. Reconstr. Surg.* 85:718. 1989.
- 22.- Hernigou, P. et al Masive allografts sterilised by irradiation. Clinical results. *J. bone J Joint Surg Br.* 1993. 75(6):904-13.
- 23.- Hu, V. et al Experience of banking osteoarticular and bone allografts. *Chung. Hua Wai Ko Tsa Chih* 1996 34 (8) 464-8.
- 24.- Innis, P.C. Vascularized Bone Allografts: In vitro assessment of cell-mediated and humoral responses. *Plast. Reconstr. Surg.* 87:315. 1991.
- 25.- Ivory, JP. Audit of a bone bank. *J. Bone Joint Surg. Br.* 1993 75(3):355-7.
- 26.- Koenig, W.J. Cranial Bone Grafting in Children. *Plast Reconstr. Surg.* 95: 1. 1995.
- 27.- Lilla, J.A. The long-term Effects of hard alloplastic implants when put on bone. *Plast. Reconstr. Surg.* 58.14. 1976.
- 28.- Mc. Carthy, J.G. *Texto de cirugía Plástica y reconstructiva* 1990. Saunders Company U.S.A. tomo I. 583-629.

- 29.-Ripamonti,U. Reconstruccion of the bone-bone marrow organ by osteogenin a bone morphogenetic protein, and demineralized bone matrix in calvarial defects of adults primates. *Plast. Reconst.Surg.*91:27. 1993.
- 30.-Robertson,B.M. Concentrated professional education to implement routine referral legislation increases organ donation. *Transplantation Proceedings*, 30: 214-216.1998.
- 31.- Sailer, H.F. Application of purified bone morphogenerrrtic protein (BMP) preparations in craniomaxilofacial surgery. *Journal of craniomaxilofacial surgery* 22:2.1994.
- 32.-Stevenson, S. Current concepts review the response to bone allografts.*The Journal of bone and Joint Surgery.*74-A 6.939-950. 1992.
- 33.- Takeo, S. Vascularized Tail bone grafts in Rats. *Plast Reconstr.Surg.* 91:502,1993.
- 34.- Voggenreiter g.et al Extracorporeal irradiation and incorporation of bone grafts.Autogenic cortical grafts studied in rats.*Acta orthop.scand.*1996 67 (6):583-88.
- 35.- Voggenreiter G.et al. Effects of preservation and sterilization on cortical bone grafts. A scanning electron microscopic study. *Arch Orthop Trauma Surg.* 1994;113(5):294-6.
- 36.- Wuisman,P.et al The use massive allografts in reconstruction resection of bone tumors of the extremities.*Z Orthop Ihre Grenzgeb* 1995 133(2):166-75.