

11211



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



PETRÓLEOS MEXICANOS
HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD

***USO DEL ALOINJERTO DE CALOTA EN LA
REPARACIÓN DE DEFECTOS CRANEALES.
ESTUDIO EXPERIMENTAL EN RATAS***

TESIS DE POSTGRADO

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO ESPECIALISTA EN
CIRUGÍA PLÁSTICA Y RECONSTRUCTIVA**

**PRESENTA:
DR. JOSÉ RAMÓN OCHOA GÓMEZ**

**ASESOR DE TESIS:
DR. J. EDUARDO GUTIÉRREZ SALGADO**

MÉXICO D. F.

2005.

0347985



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.

**PETROLEOS MEXICANOS
HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD**

Envío a la Dirección General de Bibliotecas de la
CONAM a difundir en formato electrónico e impreso el
contenido de mi trabajo recepcional.
NOMBRE: José Ramón Ochoa
Gómez
FECHA: 21 de mayo
FIRMA: [Firma]

TÍTULO DE LA TESIS:

*Uso del Aloinjerto de Calota en la Reparación de Defectos Craneales.
Estudio Experimental en Ratas.*

AUTOR:

Dr. José Ramón Ochoa Gómez

Residente de Tercer año de Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva

ASESOR:

Dr. Eduardo Gutiérrez Salgado

Profesor Adjunto del Curso de Posgrado en HCSAE.

HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD



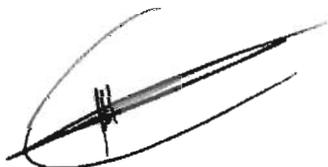
DR. CARLOS FERNANDO DÍAZ ARANDA
DIRECTOR HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD
PETROLEOS MEXICANOS



DRA. JUDITH LÓPEZ ZEPEDA
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
HCSAE



DR. JAVIER CARRERA GÓMEZ
JEFE DEL SERVICIO DE CIRUGÍA PLÁSTICA, ESTÉTICA Y
RECONSTRUCTIVA HCSAE



DR. EDUARDO GUTIERREZ SALGADO
PROFESOR ADJUNTO DE CURSO Y ASESOR DE TESIS HCSAE



“La sabiduría suprema es tener sueños bastante grandes para no perderlos de vista mientras se persiguen...”

William Faulkner

AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

Por permitirme alcanzar el mejor de mis sueños y mi más grande meta.

A MIS PADRES:

Por estar ahí, a mi lado, siempre con palabras de apoyo y pendientes de su hijo. Gracias Mamá y Papá.

A MI MADRE:

Mamá, no encuentro palabras para agradecerte todo lo que has hecho por mí y para expresar todo el apoyo recibido durante esta larga pero satisfactoria etapa de mi vida profesional, mil gracias por ser no sólo mi madre sino también y por sobre todo una gran amiga...gracias!

A MIS HERMANOS:

Muchas gracias por todo su apoyo, sé que siempre me apoyaron.

A ROBIN:

Mi Chiquis, gracias por todo tu apoyo recibido durante esta importante etapa de mi vida y espero sigas a mi lado mucho tiempo más.

A MIS PROFESORES:

Gracias por darme la oportunidad de pertenecer a su servicio y por haberme enseñado no solo cirugía plástica sino además a ser una mejor persona. Dr. Carrera, Dr. Gutiérrez, Dr. Ramos y Dra. Silva GRACIAS.

A MIS COMPAÑEROS:

Gracias a todos mis compañeros del HCSAE desde los que ya salieron (Francisco, Blanca, Sergio) hasta los que me aguantaron 3 años (Ary, Gerardo), así como a Carlos y Paquito, y sin olvidar a Mayra, Marcos y Julio, gracias por su tiempo y compañerismo pero sobre todo por su amistad. Nunca los olvidaré y recuerden que en mí tienen a un amigo.

AL HCSAE:

Gracias a todo el personal que labora en esta institución y a todos aquellos que colaboraron en mi formación académica.

Quiero agradecer también la ayuda recibida por parte del Dr. Pasquel en el servicio de histopatología. Así como al Dr. Francisco Guzmán encargado del bioterio de este hospital en la elaboración de esta tesis.

Además quiero agradecer también a los pacientes del HCSAE parte integral en nuestra formación académica así como a los profesores de cada una de nuestras rotaciones externas.

A TODOS Y A CADA UNO DE ELLOS MUCHAS GRACIAS !

“Lo que sabemos es una gota de agua; lo que ignoramos es el océano...”

Isaac Newton

ÍNDICE

	PÁGINA
INTRODUCCIÓN.-	
Definición del Problema	4
Marco Teórico	6
Justificación	14
Hipótesis	15
Objetivo General	16
Objetivos Específicos	16
MATERIAL Y METODOS.-	
Tipo de Estudio	17
Diseño	17
Definición de Universo	17
Criterios de Inclusión	18
Criterios de No Inclusión	18
Criterios de Exclusión	18
Análisis Estadístico	18
Métodos de Selección de la Muestra	19
Definición de Variable	19
Definición de Variable Independiente	19
Definición de Variable Dependiente	19
MÉTODO.-	
Descripción de método	20
Tabla 1	22
ÉTICA.-	22

	PÁGINA
INSTRUMENTAL QUIRÚRGICO.-	22
MICROSCOPIO DE LUZ.-	23
PROCEDIMIENTO.-	23
Técnica Quirúrgica	23
Asignación de Grupos	24
Preparación de Especímenes	25
Histología Cualitativa	25
Histología	26
Tabla 2	27
Fotos Histología	28
ANÁLISIS DE INFORMACIÓN.-	34
RESULTADOS.-	35
Tabla 3	36
Tabla 4	37
CONCLUSIONES.-	38
FOTOS PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO.-	39
BIBLIOGRAFÍA.-	42

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA:

Los defectos óseos de la bóveda craneana pueden ser producto de problemas de tipo congénito (craneosinostosis) o adquirido (postraumáticas) y su reconstrucción puede ser basada en una progresión racional de terapéutica integrada en base a la anatomía, embriología y bioquímica del sitio afectado.(1)

Actualmente como opciones terapéuticas existen el trasplante óseo (autógeno, alogénico o xenogénico), fijación ósea rígida, distracción ósea, regeneración ósea dirigida y los sustitutos óseos (Politetrafluoroetileno, polimetilmetacrilato, polihidroxietilmetacrilato). No olvidemos que el campo de la reparación y restitución ósea es rápidamente cambiante. Hoy en día existen más alternativas que hace algunos años, por ejemplo en el caso específico de la reconstrucción de mandíbula en que antes la primera opción era el injerto de costilla y actualmente se tiene entre otros, la distracción ósea, por lo que el tratamiento específico se puede individualizar de acuerdo al paciente. (1,2)

El uso de injertos de hueso, particularmente autógeno, para la restitución quirúrgica y función de la bóveda craneana, ha sido estudiado en diversos modelos experimentales, sin embargo los resultados a largo plazo de la reconstrucción craneofacial compleja pueden verse comprometidos por diversos factores como por ejemplo en el caso del autoinjerto óseo el grado de resorción cuya pérdida se ha llegado a estimar por algunos autores desde 20% hasta 88%. (2) Los factores responsables de esta resorción son multifactoriales y entre los últimos estudios se ha observado que influye hasta las propias características estructurales del injerto mismo (origen embrionario, arquitectura, orientación, presencia de periostio, método de fijación ó dimensiones del injerto). Algunos autores prestan menos atención al sitio receptor el cual incluye la dura, el periostio que lo recubre y el tejido óseo de los márgenes adyacentes. Recordemos que durante la cirugía de reconstrucción de la bóveda craneana, los tejidos circundantes generalmente presentan cicatrices y son avasculares, pero no debemos olvidar que la remodelación ósea depende entre otros, de una adecuada irrigación sanguínea. (1,2)

Entre los injertos óseos se encuentra el *autógeno*, en el cual el donador y el receptor son del mismo individuo. Los injertos autógenos son preferidos por algunos cirujanos debido a que su resultado en general es previsible y que las reacciones infecciosas, inflamatoria e inmunológica del sitio receptor son mínimas. Sin embargo entre sus detractores están la pérdida de sangre, la posibilidad de infección, dolor, parestesias, material donador limitado y pérdida de la estética entre el sitio donador y receptor.

Los *aloinjertos*, que serán detallados posteriormente en este trabajo, se refieren al uso de hueso entre individuos de la misma especie pero sin relación genética.

De los *xenoinjertos* el primer reporte de hueso no humano y no procesado aplicado a un humano data de 1668, cuando el cirujano holandés Job Van Meekren, transplantó una pedazo de calota de perro para sustituir un segmento de calota en un soldado ruso que había sido herido durante la batalla. El soldado ruso sobrevivió con su xenoinjerto por 2 años. Sin embargo debido a la sugerencia impuesta por la iglesia rusa de excomulgar al soldado este solicitó se le removiera, lo que lo llevó a su muerte. Hoy en día el xenoinjerto de hueso no procesado es un procedimiento inaceptable. (3)

Existen un gran número de productos derivados de los bovinos en el mercado europeo y americano. Uno de ellos vendido en Estados Unidos es el Bio-Oss que esta preparado en partículas de 150-500 nanómetros y bloques de 2 cms utilizado en el aumento alveolar y para reconstrucción mandibular.

Algunos de los métodos para la reconstrucción ósea de los anteriormente mencionados, además de no ser infalibles, presentan algunos otros puntos en contra como por ejemplo el costo del material, su disponibilidad en nuestro medio o la capacidad técnica por parte del cirujano de poder realizarlo. (1,3)

Así pues, se propone demostrar que el aloinjerto de calota puede ser una buena opción o alternativa en el tratamiento de los defectos óseos de bóveda craneana en animales de experimentación.

MARCO TEÓRICO:

Iniciaré la realización de este marco teórico de la siguiente manera: *primero* se definirán y explicaran los conceptos básicos en relación a los injertos óseos y *posteriormente* lo relacionado a los defectos de la bóveda craneana (calota) y lo relacionado a la remodelación ósea, que son puntos clave para el desarrollo del presente trabajo.

Los injertos óseos, cuyas características básicas se han mencionado anteriormente en estas líneas se pueden clasificar de diferentes maneras, pero dependiendo de su origen se clasifican en:

Autoinjerto.- entiéndase a tejido perteneciente originalmente al mismo individuo.

Aloinjerto.- tejido perteneciente a otro individuo pero de la misma especie (*homoinjerto*).

Xenoinjerto.- tejido perteneciente a otra especie (*heteroinjerto*).

Isoinjerto.- aloinjerto entre dos personas genéticamente idénticas.

En 1668 Van Meekren transplantó hueso de calota canina a un defecto óseo reportándose exitosamente en los anales de la cirugía. (3) Conforme pasó el tiempo, el uso de los injertos óseos fue más aceptado y practicado en las bases del éxito empírico. Ollier en 1867 reportó la transferencia de periostio y hueso concluyendo que ambos deben de sobrevivir para favorecer la osteogénesis. Barth en 1839 fue el primero en enfrentarse a esta doctrina. Sus estudios revelaron que algunos días después de la transferencia del injerto óseo, este estaba necrozado. Barth creía que el injerto óseo trabajaba a través de la vía de la resorción gradual y sustitución del hueso muerto por una “sustitución encogedora” del injerto necrozado por hueso nuevo. Esta sustitución encogedora es ahora conocida como *osteoconducción*. (2,3)

Axhausen en 1907, realizó una serie de experimentos demostrando que los injertos con cubierta de periostio, presentaban osteogénesis desde las células de la superficie sobrevivientes en el periostio. Phemister en 1914, publicó una extensa serie de estudios en los cuales demostró concluyentemente que algunas de las células osteogénicas en la superficie del injerto óseo, sobreviven por la difusión del oxígeno y los nutrientes recibidos del lecho receptor. También observó que la presencia de un hematoma era determinante para la integración del injerto, ya que este forma un bloqueo de la difusión de los nutrientes entre el lecho receptor y el injerto,

situación análoga a los injertos de piel, en los cuales la supervivencia del injerto también depende de la difusión del lecho receptor mientras se desarrollan las micro anastomosis. Posteriormente se observó que en la supervivencia del injerto óseo intervenía el factor del tipo de hueso, encontrándose que el hueso trabeculado es una fuente mucho más rica en células osteoprogenitoras que el hueso cortical. Mowlem entre 1944 y 1963, popularizó el uso de hueso esponjoso en los injertos y demostró su superioridad frente al injerto de hueso cortical. A partir de este momento es que se habla del término *osteoinducción*, que se define como el último factor mayor que contribuye al éxito del injerto óseo y consiste en que las células mesenquimatosas indiferenciadas inducen una diferenciación en células formadoras de hueso en respuesta a una sustancia inductora en el lecho receptor, que es la proteína morfogenética ósea (BMP por sus siglas en inglés).

Kazanjan, según lo estableció Curtin JW et al, desde 1952 estableció cuatro reglas básicas para la supervivencia del injerto óseo: 1) El sitio o lecho receptor debe de estar adecuadamente vascularizado; 2) Debe existir el contacto hueso-hueso entre el injerto y el sitio receptor; 3) La fijación rígida se debe mantener mientras dure la fase de remodelación ósea; 4) El injerto óseo se debe colocar sólo en tejido sano. (3)

En relación a la *remodelación ósea* se debe empezar por mencionar que el patrón de crecimiento entre el hueso membranoso y endocranal es diferente. En los huesos largos (hueso endocranal), el hueso es depositado en un cartílago precursor. Con el consiguiente crecimiento la placa de cartílago en crecimiento entre la epífisis y diáfisis sirve como un centro de depósito de hueso mientras que se aumenta el tamaño del hueso. En el hueso membranoso (calota), el depósito de hueso se presenta en un proceso más pasivo.

Los centros de osificación primaria de los huesos de la calota aumentan gradualmente su radio hasta que entran en contacto entre sí a través de las suturas. La ausencia de fusión ósea entre las suturas, permite el crecimiento del cerebro y el consiguiente amoldamiento de la bóveda craneana al tamaño del mismo. Cuando el crecimiento del cerebro está completo, las suturas se fusionan. (4)

El espectro de manifestaciones anatómicas en el cráneo, secundarias a traumatismos o defectos congénitos es muy amplio. El manejo de estos defectos ha evolucionado con el tiempo

haciendo énfasis en el cambio del manejo conservador hacia la resolución del problema y cierre o cubierta del defecto.

Los defectos en el cráneo pueden variar desde la pérdida del pericráneo hasta la pérdida de la tabla interna con el subsiguiente compromiso del tejido cerebral. Actualmente, el abordaje conservador de este tipo de defectos tiene como único interés el factor histórico. Estudios más recientes promueven el uso de cambios de cubierta sobre el hueso expuesto. El hueso puede ser removido posteriormente como "secuestro" antes del injerto de piel. Desafortunadamente el riesgo de complicaciones infecciosas como osteomielitis, meningitis y abscesos epidurales, condena este tipo de tratamiento. (5)

Se han sugerido otros abordajes más agresivos como la escisión de la tabla externa desvitalizada antes de aplicar una cubierta ya sea con injertos o colgajos. En algunos casos clínicos, los defectos craneales de espesor completo, pueden no ser diferentes de las lesiones limitadas a la tabla externa. Es en estos pacientes que algunos autores prefieren aplicar una cubierta de manera temprana ya sea con rotación o transposición de colgajos ó con aloinjerto de calota. (6)

El método de reconstrucción depende entonces del tamaño del defecto, la disponibilidad del tejido donador y de la edad del paciente. La reconstrucción de grandes defectos puede ser retardadora desde el punto de vista técnico. Aunque las fuentes del injerto autólogo pueden ser numerosas es de alguna manera limitado y el injerto de calota ha probado ser una fuente fiable de tejido para la reconstrucción del cráneo, además los injertos de calota tomados in situ tienen la ventaja de evitar la crancotomía.(7).

La región parietal es el sitio de elección para la toma del mismo, debido al grosor del hueso. Los injertos no deben ser tomados a menos de 2 cms de la sutura sagital en un intento de evitar la lesión del seno sagital. Este método de reparación se ha designado para defectos pequeños con amplitud menor a 3 cms. Entre sus complicaciones se incluyen irregularidades del injerto, hueso delgado como resultado de la toma del injerto y exposición de la dura. (7).

Un punto importante a mencionar es que se debe realizar una evaluación del hueso desvitalizado por debajo del injerto de calota. Si el defecto es de espesor completo, la resorción

ósea puede ocurrir sin dar tiempo a una regeneración adecuada del nuevo hueso debajo del injerto. Al respecto se ha visto que clínicamente los niños retienen la habilidad de la reosificación de los defectos de calota hasta aproximadamente los 2 años de edad (8). Debido a que los niños mayores y los adultos no poseen la misma habilidad para sanar aunque sea defectos pequeños, la remodelación del defecto resulta en una no-uni6n fibrosa. los pacientes en este grupo de edad, est6n en potencial riesgo de sufrir una lesi6n cerebral a menos que el defecto craneal sea reconstruido. En dichas situaciones se han empleado una gran variedad de t6cnicas para cerrar el defecto, incluyendo la aplicaci6n de materiales aut6genos (injerto de calota o costilla), alog6nicos (hueso cadav6rico) y materiales prot6sicos (polimetilmetacrilato) (9).

Aunque los m6todos y materiales antes mencionados pueden ser utilizados de manera exitosa en la reparaci6n de defectos craneales, tienen algunos puntos en contra como la morbilidad del sitio donador, transmisi6n de enfermedades y los aspectos est6ticos. Con respecto a la preocupaci6n de la transmisi6n de enfermedades se sabe de reportes en los que se hace menci6n desde lavar el injerto de calota con soluci6n hasta hervirlo o pasarlo por el autoclave y a6n as6 presentar datos de formaci6n de nuevo hueso siempre y cuando se deje la dura intacta (10).

Lo anterior ha llevado a algunos autores a la b6squeda impetuosa para determinar los papeles que la dura madre, calota y las c6lulas 6steo inductoras, llevan a cabo en la regeneraci6n 6sea. El delinear los mecanismos celulares y moleculares reguladores de la reosificaci6n craneana, ayudar6 a entender y mejorar los abordajes de la reparaci6n craneana y por eso autores como Oliver O. y Randall P. se han preocupado por definir el modelo animal experimental de elecci6n. Al respecto se han descrito varios modelos animales comparando el potencial de regeneraci6n del defecto craneal. As6, en 1939, Sutro y Jacobson reportaron que las ratas j6venes ten6an una mayor habilidad para sanar defectos craneales de 3 mm despu6s de 5 meses. Hoy en d6a se ha demostrado por algunos autores como Oliver y Randall, que la teor6a de que la dura madre por debajo del defecto craneal, es la responsable de coordinar la reparaci6n exitosa. (10).

Berezowsky seg6n lo menciona Arun K Gasaian et al, report6 que la presencia de la dura madre en conejos era esencial para la reosificaci6n del defecto craneal. Adem6s estos autores demostraron que las c6lulas de la dura provenientes de ratas j6venes (6 d6as de nacidas),

presentaban un incremento significativo en su proliferación, actividad de la fosfatasa alcalina, y que producían más osteocalcina que las células aisladas de ratas adultas (más de 60 días).

Es de suponer entonces que la habilidad del cráneo para la regeneración de los defectos depende o es inversamente proporcional a la edad (12). Sin embargo, aún en estos casos la remodelación y la resorción de los injertos óseos pueden ocurrir debido a un inadecuado lecho de la musculatura que los rodea (13). Existen ocasiones en que el prolapsos de los tejidos blandos adyacentes y la rápida migración de los fibroblastos dentro del defecto óseo han sido descritos como obstáculos para la regeneración ósea (14). Algunos de los otros modelos experimentales utilizados han sido conejos, perros y gatos (10). Es por ese motivo que nosotros elegimos ratas de la raza Wistar, con las especificaciones que más adelante se detallarán.

La experiencia histórica sobre el manejo de los aloinjertos ha sido descrita desde 1925, Lexer comunicó resultados satisfactorios relacionados con el transplante de tejidos. Posteriormente Ottolenghi en 1966, reportó resultados satisfactorios de aloinjertos osteocondrales y en 1973 Parrish hizo lo mismo (15). La cirugía ósea reconstructiva del esqueleto craneofacial, es compleja y extremadamente retardadora (16). Existen factores que intervienen en la dificultad de este tipo de problemas tales como la anatomía única del hueso, una rica estructura neurovascular y un elemento moto-sensorial adecuado. Además no es infrecuente que existan también deformidades de tejidos blandos, ya sea por falta de soporte óseo o por la pérdida de los mismos como resultado del trauma o defecto congénito (1). La reconstrucción ósea de la bóveda craneana se debe basar en una progresión racional, terapéutica integrada por el reconocimiento anatómico, embriológico, bioquímico y estético. Es decir, que la anatomía y embriología del defecto puede dictar el origen y formato del injerto óseo donador.

Desde el punto de vista bioquímico, el injerto óseo autólogo, está compuesto de una base de células vivas, en contraste con el hueso alogénico que no las contiene. (16)

Las indicaciones para el injerto óseo son multifactoriales. El defecto óseo requiere de una restauración funcional, fisiológica y estética (17). No debemos olvidar la siguiente pregunta: ¿cuándo realizar el procedimiento de reconstrucción? Algunos autores refieren que este debe ser realizado de manera temprana (16), sin embargo, tanto el paciente como el cirujano deben estar

conscientes de que probablemente se requiera de procedimientos secundarios para afinar el cierre del defecto, por ejemplo pacientes con craneosinostosis.

La embriogénesis y el formato del injerto óseo se deben tomar en cuenta en la selección del sitio donador y receptor, así como la vascularidad, el estado de los tejidos circundantes, los requerimientos de volumen óseo y la necesidad de garantizar buenos resultados a largo plazo (18). Asimismo debemos considerar la morbilidad del sitio donador y receptor sobre todo en la calota, macizo facial, mandíbula y otros sitios del esqueleto craneofacial.

Entre la morbilidad antes mencionada, esta la tolerancia inmunológica por parte del sujeto receptor. *Tolerancia* se refiere al estado de aceptación inmunológica o de falta de respuesta por parte del receptor al aloinjerto del donador. La inducción de la tolerancia permite la realización de transplantes de cualquier tipo sin la necesidad de realizar una inmunosupresión prolongada. La aceptación o tolerancia de los propios tejidos primero se desarrolla in útero junto con la habilidad inmunológica de reconocer tejido extraño o ajeno. Medawar explotó este fenómeno en sus experimentos. La producción de un estado de tolerancia en el adulto puede ser alcanzado de manera experimental por diversos métodos. Una combinación de radiación total del cuerpo para remover las células T del receptor seguida por infusión de médula ósea del donador induce un estado de *quimerismo* (*Chimera* se deriva de la figura griega mitológica compuesta de la parte de diferentes animales). El sujeto quimera receptor desarrolla un sistema inmune que es tolerante a los antígenos de ambos tanto donador como receptor. Otro método de desarrollar tolerancia inmunológica consiste radiación linfóide total, en que las cavidades medulares de huesos largos del ratón son protegidos durante la radiación induciendo un estado de quimera mixto. Estos animales aceptan injertos de piel mientras rechazan injertos compuestos. (19)

Otro método de tolerar el transplante de tejidos incluye la inyección intratímica de células del donador. Estas células sobreviven en el timo inmunológicamente “privilegiado” resultado en la producción de células T maduras que son tolerantes a los aloinjertos del donador. Todos estos métodos son conocidos como mecanismos centrales de inducción de tolerancia inmunológica.

Existen métodos periféricos como la supresión de los antígenos MHC del donador por anticuerpos, que previenen la estimulación de los leucocitos de activar la cascada linfocitaria en el receptor.

La inducción de la tolerancia es una promesa excitante en el campo de la cirugía plástica y reconstructiva en cuanto al uso de transplantes de tejido sin la realización de una inmunosupresión prolongada.

Cuál es el futuro dentro de esta patología y de qué manera se podrá resolver?. Existe una serie de alternativas bajo estudio que podrían ayudar a resolver esta disyuntiva y entre estos tenemos:

Ingeniería Tisular:

Los avances en la ingeniería tisular y la integración de ciencias biológicas y físicas, están creando y desarrollando una serie de materiales que conllevan factores de crecimiento, andamios biológicos, así como la incorporación de células madre mesenquimatosas. Recientemente el desarrollo de biorreactores ex vivo capaces de manufacturar hueso, proporcionan diversos materiales de ingeniería tisular para utilizarse directamente en el sistema esquelético, como ejemplo tenemos el víveseo que es hueso creado mediante ingeniería tisular que se está utilizando en fusiones espinales y en implantes dentales. (20)

Terapia Génica:

Hasta hace algunos años era considerado parte de un sueño de ciencia ficción, pero ya existe evidencia que apoya la utilidad de la terapia génica para inducir la formación de hueso. La terapia génica implica la transferencia de información genética a las células. Cuando se transfiere un gen a la célula diana, dicha célula sintetiza la proteína que codifica dicho gen. El tiempo que debe destinarse a la producción proteica y su localización anatómica, deben determinarse con precisión para saber que estrategia técnica utilizar. En la terapia génica empleada para la inducción ósea, el gen puede introducirse directamente en el sitio anatómico (técnica in vivo) o bien pueden obtenerse células del paciente y ser manipuladas genéticamente y reimplantadas (técnica ex vivo). El vehículo para la manipulación genética puede ser viral (adenovirus,

retrovirus) o no viral (liposomas, ligandos DNA). El gen puede ser transferido selectivamente a una célula diana (osteoblastos, fibroblastos) en el sitio donde se desea verificar la inducción ósea.
(21)

JUSTIFICACIÓN:

En estudios previos, clínicamente se ha demostrado que la reconstrucción compleja secundaria realizada con dura avascular o con cubierta pobre en tejido blando puede sufrir una significativa reabsorción, comprometiendo así el resultado. En el caso del autoinjerto ya se mencionó que se limita la zona donadora, puede producir parestesias y también se altera el contorno corporal de la zona donadora. Con los materiales aloplásticos nos encontramos con la dificultad de que estén disponibles en nuestro medio además de su costo, es por eso la realización de este protocolo ya que teóricamente el aloinjerto de calota debe sufrir menos reabsorción.

HIPÓTESIS:

El aloinjerto de calota contribuirá a la reparación de un defecto óseo craneal al inducir una osteogénesis que lograra cubrir el defecto óseo con buena calidad otorgando así una protección estable para el encéfalo.

Hipótesis 1

- No se generó integración ósea del aloinjerto en el grupo B y por lo tanto no hubo remodelación ósea.
- Si hubo integración ósea del aloinjerto en el grupo B y por lo tanto si hubo remodelación ósea

Hipótesis 2

- No se generó integración ósea del autoinjerto en el grupo C y por lo tanto no hubo remodelación ósea.
- Si hubo integración ósea del autoinjerto en el grupo C y por lo tanto si hubo remodelación ósea.

OBJETIVO GENERAL:

El objetivo general del presente estudio es el de conocer y comprobar el comportamiento en el sujeto de experimentación, del aloinjerto de calota basados en sus características osteoinductoras y su resorción, así como la remodelación ósea.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- **Ampliar** el conocimiento de el comportamiento del aloinjerto de calota en un ser vivo como mecanismo para la reparación de defecto de bóveda craneana.
- **Determinar** el grado de reabsorción si es que se presenta además del grado y tipo de osteoformación.
- **Valorar** la sobrevida del aloinjerto de calota.
- **Observar** la evolución del defecto óseo, considerando la posibilidad de infección, la integración, cicatrización y estudio anatomopatológico.

MATERIAL Y MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO:

El presente trabajo se puede clasificar de la siguiente manera:

Experimental

Longitudinal

Prospectivo

Aleatorio

Comparativo.

DISEÑO:

Experimental, observacional, prospectivo y longitudinal

DEFINICIÓN DEL UNIVERSO:

El modelo experimental considera 3 grupos de ratas de la raza Wistar de 3 meses de edad. Algunos de los otros modelos experimentales que se han utilizado en el desarrollo de estudios sobre defectos óseos de calota en animales de experimentación han sido desde perros y conejos hasta cuyos, sin embargo debido a las características propias de cada modelo como son el tamaño, comportamiento, peso, espacio para su manutención, cantidad de alimento empleado en su alimentación y dadas las características del bioterio de nuestro hospital, se llegó a la conclusión de usar como modelo experimental en este estudio a la rata Wistar de aproximadamente 3 meses de edad y se escogió esta edad porque ya con este peso el tamaño de su cráneo es lo suficientemente desarrollado para facilitar el trabajo en el mismo, además de contar con las características propias de la osteogénesis en animales jóvenes menores de 5 meses.

(12)

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

Todas las ratas Wistar del mismo sexo (masculino), para tener un mejor control dentro del bioterio ya que si se mezclaran los sexos estarían más intranquilas y se podrían lastimar el sitio de la herida quirúrgica, de 3 meses de edad íntegras y sin cirugías previas ni haber sido usadas para otros estudios.

CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN:

Aquellas ratas con evidencia clínica de alguna enfermedad adquirida o congénita, así como aquellas

que hayan sido usadas en otros estudios de cualquier índole.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

Todas las ratas fallecidas durante el evento motivo del estudio sin importar la causa siempre y cuando esta no esté directamente relacionada con el estudio o aquellas con algún otro evento mórbido con evidencia clínica del mismo.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Se utilizarán las pruebas U de Mann-Whitney y la no paramétrica de Kruskal-Wallis.

Para la realización de los análisis señalados se utilizó el software SPSS versión 10 para Windows.

MÉTODOS DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA:

La muestra se escogió al azar dentro de un universo de 3 grupos de ratas los cuales se mantuvieron en el Bioterio del Hospital Central Sur Alta Especialidad, PEMEX Píacho.

DEFINICIÓN DE VARIABLE:

La sobrevida del aloinjerto de calota así como la evolución del defecto óseo, considerando la resorción, infección, integración, cicatrización y características del estudio anatomopatológico.

-- **variable independiente.**- defecto óseo (aloinjerto de calota)-medir la ausencia de hueso en la bóveda craneana con cinta métrica y en cms, basado en el sistema métrico decimal-

-- **variable dependiente.**- Mejoría en la reparación de defectos óseos craneanos. La presencia y cantidad

de hueso total (cortical / trabecular).- existencia celular con características óseas-. Conteo de vasos

sanguíneos. – estructura a través de la cual se conduce líquido vital a los órganos y estructuras del cuerpo

transportando sangre oxigenada (arterias) y se recoge la sangre venosa (venas)- . Fase de reparación de

herida. - proceso mediante el cual se restituyen los componentes titulares de la herida. Es decir se

cuantificará la superficie del injerto, morfología, histología (osteoblastos y osteocitos, nuevo hueso trabecular y la superficie de resorción).

Las variables que señalan cuantificación en número de estructuras se realizará bajo microscopía óptica y se llevará a cabo en el laboratorio. (Ver tabla de recolección de datos en *anexo I*).

MÉTODO:

Para el presente estudio se necesitarán de 3 grupos de ratas de raza Wistar de 3 meses de edad, que serán randomizados aleatoriamente

- Grupo A de ratas marcadas
- Grupo B de ratas marcadas
- Grupo C de ratas marcadas

Los animales serán sometidos a el procedimiento bajo anestesia a base de Ketamina 25 mg/kg de peso IM + Xilocaína 20 mg/kg de peso IM.

Se deberá de realizar tricotomía de parte superior del cráneo y se realizara procedimiento bajo condiciones estériles y magnificación óptica de 2.5X, posteriormente se realizara marcaje en la línea media de la bóveda craneana (2 cms) que abarcará parte superior del occipital, de ambos parietales y región superior del frontal, se realizara incisión sobre márgenes y se levantara segmento óseo conservando el periostio (0.5cms). Se realizará reconstrucción con el aloinjerto de calota, el cual será sometido a un método de irrigación extensa con solución fisiológica. Al grupo II se le colocará el aloinjerto tomado de especímenes del grupo I. En el grupo III se levantará defecto y se recolocará en el mismo (autoinjerto). Grupo I control. Se cerrará la herida quirúrgica con prolene 5-0. Posteriormente se evaluará la integración del injerto mediante la observación de las características propias de cualquier herida quirúrgica incluyendo enrojecimiento, la presencia de exudado o secreción de cualquier tipo, una buena unión de los bordes quirúrgicos así como palpando las características de la herida y sobre el sitio del aloinjerto buscando la presencia o ausencia de datos que sugieran su integración como sería la crepitación o no del injerto y en caso de que se presente observando hasta qué día se presenta o deja de hacerlo . Al final de este tiempo (30 días) se tomará muestra del injerto de calota, el cual será enviado para su estudio anatomopatológico a el servicio de anatomía patológica de HCSAE para realizar su observación bajo microscopía óptica. Al recolectar las muestras de los especímenes, el

médico encargado de este estudio cuantificará la superficie del injerto. su morfología, histología (presencia y cuantificación de osteoblastos/osteocitos, nuevo hueso trabecular, edema, hemorragia, inflamación, trabéculas maduras e inmaduras, neoformación vascular, congestión vascular, fibrosis, reacción a cuerpo extraño y la superficie de resorción), así como la revascularización por medio la observación de las muestras de inclusión en el servicio de patología clínica del hospital y con ayuda de la microscopía óptica vaciando los datos de manera simple en las hojas de recolección de datos utilizando inicialmente un palomeo con los hallazgos positivos y posteriormente un conteo simple de dichos hallazgos. Las ratas serán sacrificadas 30 días después a la hora de la toma de la muestra del aloinjerto de lo cual se encargará el médico veterinario y zootecnista encargado del bioterio del hospital y a través del mecanismo que en su experiencia mejor convenga a el modelo experimental siguiendo los lineamientos internacionales de la sociedad protectora de animales.

Grupo A (grupo control): Se tomará aloinjerto de calota y se cerrará herida piel directamente.

Grupo B (grupo de aplicación de aloinjerto): de la misma manera fase inicial del procedimiento pero le será colocado para cierre de defecto el injerto tomado del grupo A, que será colocado sobre el sitio del defecto óseo. Se realizará revisión de herida quirúrgica en la zona del aloinjerto en busca de datos que sugieran integración o falla del mismo (signos ya explicados anteriormente en este apartado) así como datos de rechazo inmunológico. Se revisaran cambios histológicos con microscopía óptica al final del tiempo estipulado al hacer la cosecha del injerto. Además al hacer la observación histológica se evaluará la superficie de hueso total (cortical / trabeculado), cuantificación de vasos sanguíneos y la fase de reparación de la herida entre otros.

Grupo C (autoinjerto) grupo en el cual se realiza el trazado y levantamiento del injerto y se vuelve a aplicar en el mismo lugar.

Todas las ratas serán manejadas con medidas antiedema a base metilprednisolona 10 mg /kg peso así como con analgésico a base de paracetamol 10 mg /kg peso y antibiótico ampicilina 10 mg /kg peso.

Evidentemente todo procedimiento mencionado en este protocolo será realizado bajo técnica estéril y siguiendo las reglas de comportamiento y trabajo de un medio aislado.

Día quirúrgico: (esta tabla se seguirá por cada día quirúrgico debiendo terminarse en 5 días)

Tabla 1

	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Total
Levantamiento injerto	2	2	2	
Aloinjerto		2		
Autoinjerto			2	
Total				6

Ética:

El presente estudio fue sometido para su aprobación por los Comités Locales de Investigación y Bioética del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de Petróleos Mexicanos.

INSTUMENTAL QUIRURGICO:

- Corte y disección. Bisturíes y tijeras
- Pinzas y equipo de microcirugía en general
- Sutura (prolene 5-0-)
- Porta agujas
- Dremel (motor de baja velocidad)
- Lentillas de aumento (2.5x)

MICROSCOPIO DE LUZ:

Olympus modelo BX 40

PROCEDIMIENTO:

Se utilizaron 3 grupos de ratas de la raza Wistar que se mantuvieron en el Bioterio del HCSAE de esta institución, con riguroso control de temperatura a 22 ° C y luminosidad constante de las 07:00 hrs a las 19:00 hrs. Todos los animales fueron alimentados con la misma dieta comercial y agua ad libitum.

El protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Bioética del Instituto, y se realizó con estricto apego a la norma: US Department of Health and Human Services: Guide of the Care and Use of Laboratory Animals. Así mismo, de acuerdo a los lineamientos y principios a los cuales se debe someter la investigación científica y tecnológica destinada a la salud. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud (DOF 7 de febrero de 1984).

Técnica Quirúrgica:

A todos los animales se les administró profilaxis con antibiótico ampicilina (10 mg/kg de peso) antes de comenzar la anestesia general, misma que fue inducida mediante Ketamina (25 mg/kg) + Xilocaina (20 mg/kg) IM y manteniéndose con halotano (1.5%) vía mascarilla.

La cabeza fue rasurada (*foto 1*) y preparada con solución de yodopovidona, adicionalmente se aplicó vía subcutánea lidocaína al 1% con epinefrina (1:100,000).

Se hizo una incisión sobre la línea media de 2 cms (*foto 2*) con bisturí del No 15, a lo largo de la superficie antero superior del cráneo, disección por planos incidiendo pericráneo en la línea media, formándose dos colgajos de piel y pericráneo que fueron disecados y elevados

bilateralmente. Posteriormente se realizó craneotomía parietal de 0.5 cm efectuada mediante un dremel oscilante (*foto 3*), teniendo precaución de no lesionar la duramadre ni el cerebro. (*foto 4*)

En el grupo A se realizó la craneotomía y se resecó segmento de calota dejando defecto descubierto (*foto 5*), se realizó cierre de herida quirúrgica en 1 plano con prolene 5-0- y piel de misma forma. (*foto 6*)

Posteriormente el segmento de calota levantado y resecado se enjuagó copiosamente durante 10 minutos con solución Hartmann estéril y posteriormente se colocó sobre el defecto realizado de la misma manera en los sujetos del grupo B (*foto7*) el cual se cubrió con los bordes de colgajos del pericráneo previamente levantados y llevados a la línea media mediante sutura de prolene 5-0-. Se cerró piel de misma forma . Y por último en los sujetos del grupo C se realizó mismo procedimiento y se levantó defecto de mismo tamaño para posteriormente a su lavado volverlo a colocar en su sitio como autoinjerto. (*foto 8*) Cierre de manera habitual.

Posteriormente a los 30 días de realizado el procedimiento quirúrgico de levantamiento del injerto óseo, se realizó reintervención quirúrgica para la recolección de muestras (*foto 9*), siendo en este momento cuando se realizó el sacrificio de los sujetos de experimentación por parte del personal del bioterio y de la manera ya explicada anteriormente. Se cosecharon muestras y se enviaron al servicio de histopatología clínica del HCSAE para su observación bajo microscopía óptica.

Asignación de Grupos:

Los animales fueron asignados aleatoriamente en tres grupos (100%).

Grupo A.- (33.3 %) Grupo control

Grupo B.- (33.3%). Colocación de aloinjerto

Grupo C.- (33.3%). Colocación de autoinjerto

Preparación de especímenes:

Se efectuó eutanasia con sobredosis de pentotal sódico y posteriormente se realizó osteotomía para obtener muestras de injerto óseo, así como de bordes óseos del defecto de osteotomía.

Histología Cualitativa:

El tejido se dejó 72 hrs en formol al 10% y a 50°C. Posteriormente se descalcificó mediante ácido fórmico al 10% entre 3 y 5 días. El procedimiento de inclusión consistió en parafina por 3 cambios de alcohol al 96%, 3 cambios de alcohol absoluto, 2 cambios de xilol (2 hrs en cada cambio) y parafina.

Posteriormente se realizaron 3 cambios de 90 minutos. Se hacen cubos de parafina y se cortan a 6 micras. La preparación de la tinción fue de la siguiente manera:

- 1.- Desparafinización mediante calor por 20 minutos a 70°C
- 2.- Xilol tres baños de 20 minutos
- 3.- Alcohol absoluto 2 b años de 5 minutos
- 4.- Alcohol ordinario 3 baños de 5 minutos
- 5.- Agua bidestilada por 5 minutos
- 6.- Hematoxilina 3 minutos
- 7.- Agua destilada 5 minutos
- 8.- Alcohol ácido 3 segundos
- 9.- Carbonato de litio en solución acuosa por 3 minutos
- 10.- Eosina por 3 minutos
- 11.- Alcohol ordinario de 96, tres cambios de 5 minutos
- 12.- Alcohol absoluto, tres cambios de 3 minutos
- 13.- Xilol, tres cambios de 5 minutos
- 14.- Montar en bálsamo de Canadá.
- 15.- Lectura de manera ciega por médico adscrito de la unidad de histopatología del HCSAE.

HISTOLOGÍA:

Una vez recolectadas las muestras para su observación en el servicio de histopatología humana del HCSAE, e incluidas de la manera anteriormente descrita, se realizó la observación de las mismas mediante análisis con microscopía de luz observándose las siguientes variables:

Edema.- Aumento patológico del líquido intersticial, resultante del acúmulo del componente extravascular del líquido extracelular.

Hemorragia.- Acúmulo no circunscrito de sangre la cual se infiltra por los tejidos, secundario a la ruptura de un vaso sanguíneo.

Inflamación.- Respuesta protectora de los tejidos del organismo ante un evento agresivo o traumático.

Tejido Osteoide.- Tejido similar al hueso.

Trabécula.- Prolongación ósea entrecruzada que forma una malla ósea y que delimitan compartimentos y cavidades medulares de tejido esponjoso.

Neoformación vascular.- Formación de nuevos vasos sanguíneos.

Congestión vascular.- Presencia de abundante tejido vascular.

Osteoblastos.- Célula formadora de hueso

Osteoclastos.- Célula encargada de destruir hueso, la cual es necesaria para la remodelación ósea.

Osteocitos.- Célula ósea incluida en las lagunas óseas con abundantes ramificaciones.

Fibrosis.- Aumento patológico del tejido conjuntivo.

Reacción a cuerpo extraño.- Mecanismo biológico que tiende a contrarrestar la influencia de un agente provocador.

Una vez mencionadas las variables a observar mediante la microscopía óptica, se estableció un valor cuantitativo a los hallazgos de la siguiente manera:

0= Ausente

2= Moderado

1= Leve

3= Severa

Tabla 2

	Presencia	Ausencia	Cuantificación	Total
Hueso Total (trabecular vs Cortical)	++++	No	4	4
Conteo Vasos Sanguíneos	++	No	2	2
Fase Reparación	+++	No	3	3
Edema	+++	No	1	1
Hemorragia	++	No	1	1
Inflamación	++++	No	2	2
Trab inmaduras	++++	No	4	4
Trab maduras	+++	No	3	3
Neofor vascular	+++	No	3	3
Osteoblastos	+++	No	3	3
Osteoclastos	++++	No	3	3
Osteocitos	++	No	2	2
Fibrosis	+++	No	2	2
Reacc Cpo Extr	-	Si	0	0
Total				

A la microscopía óptica se observó:

1A

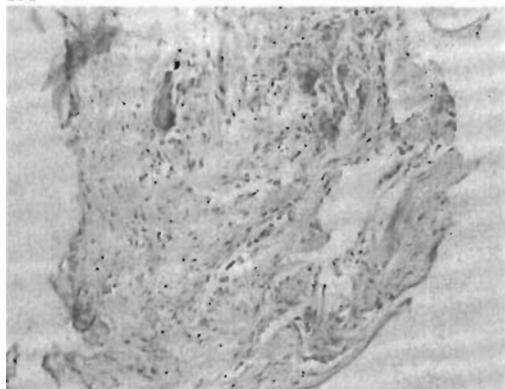


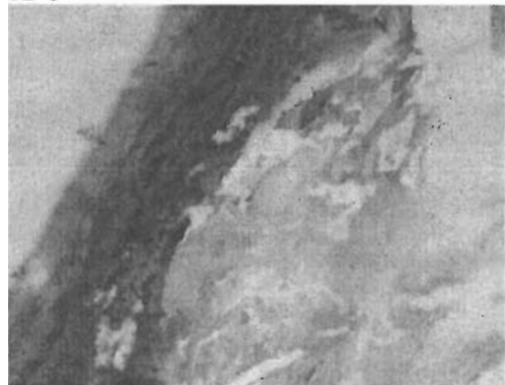
Imagen observada a 20X. Se observa abundante fibrosis

1B-1



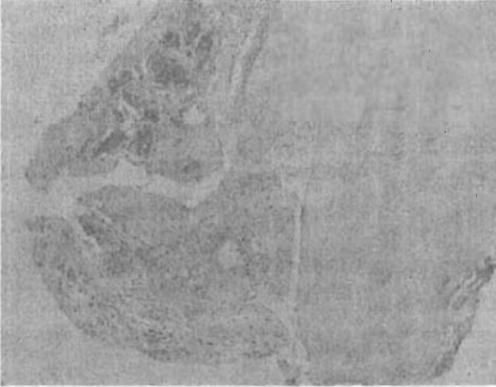
20X. Se observa osteogénesis

1B-1



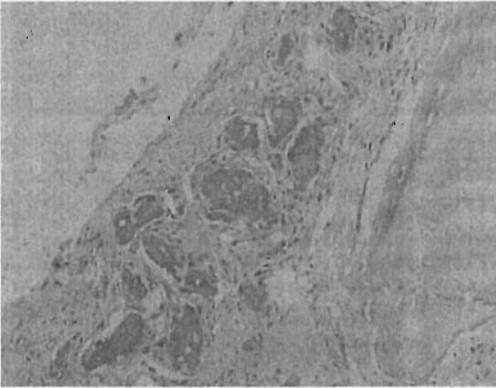
40X. Osteogénesis leve

1B-2



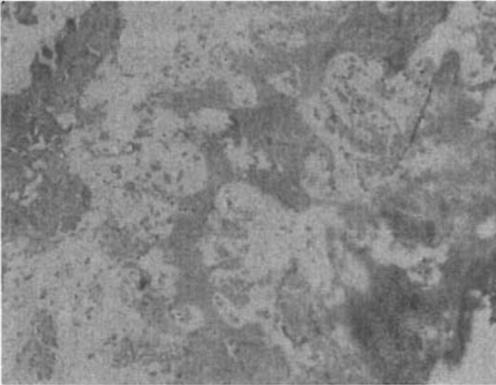
20X. Cambios de remodelación ósea

1B-2



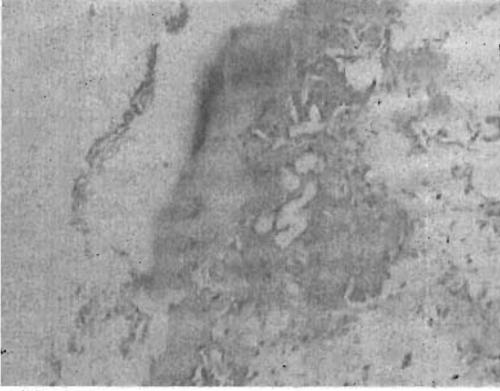
40X. Remodelación ósea

1C-1



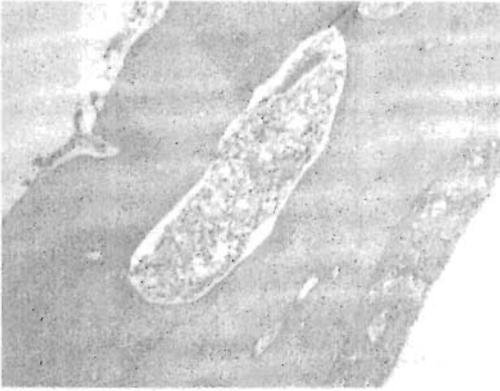
20X. Osteogénesis Acentuada.

1C-1



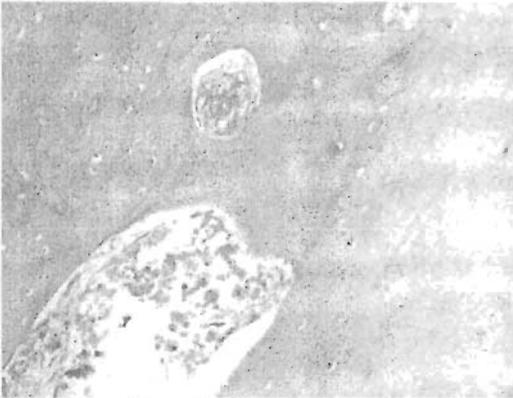
40X. *Osteogénesis acentuada*

1C-2



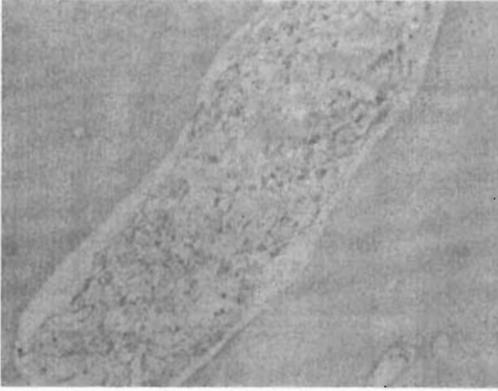
20X. *Remodelación ósea*

1C-2



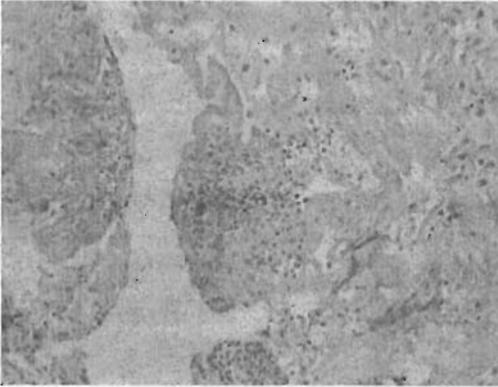
40X. *Remodelación ósea*

1C-2



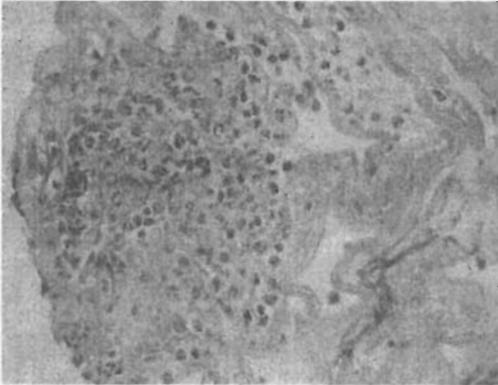
40X

2A



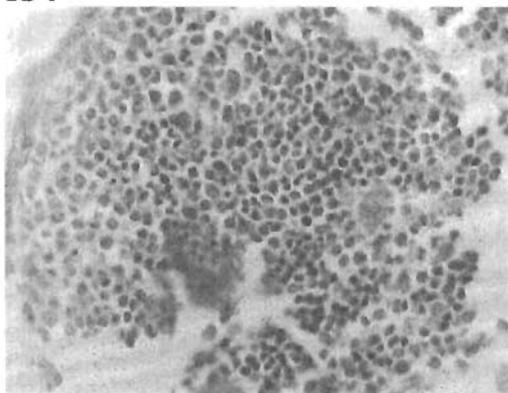
20X. Polimorfonucleares. Inflamación

2A



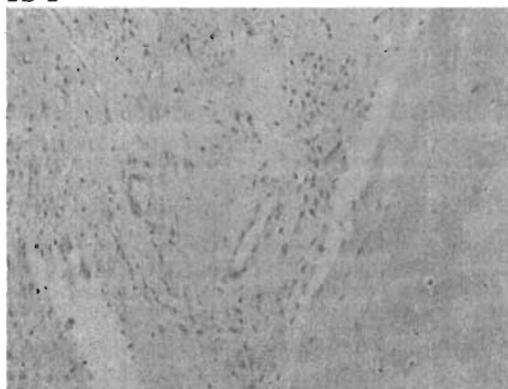
40X

2B-1



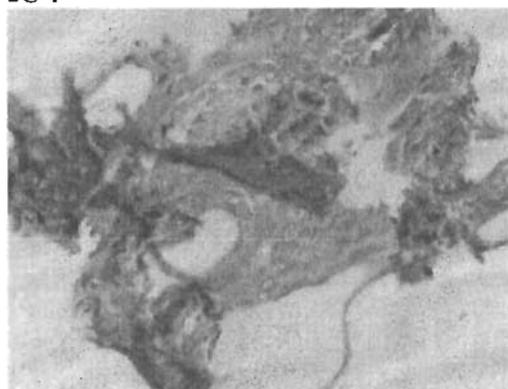
40X. *Osteomyelitis*

2B-2



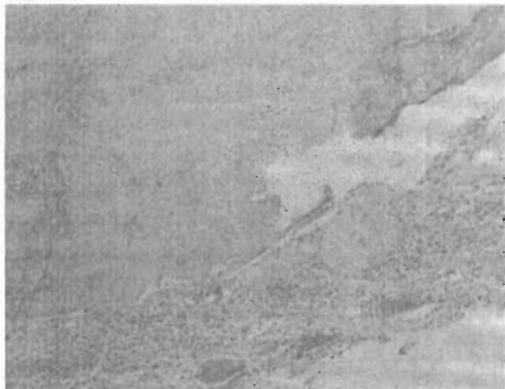
20X. *Fibrosis perióstica*

2C-1



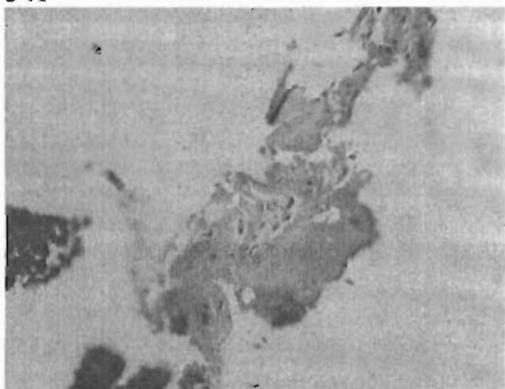
40X. *Hueso compacto*

2C-2



20X. Tejido de granulación . Osteogénesis

3-A



40X. Actividad osteoblástica. Depósito de osteoide joven y datos de mineralización.

ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN:

Para comparar las variables histopatológicas entre los grupos A,B y C se efectuó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.

Posteriormente se efectuó una comparación intragrupo de las variables histopatológicas mediante la prueba de Mann Whitney.

Adicionalmente, las variables histopatológicas se correlacionaron entre sí mediante análisis de correlación de Spearman para variables ordinales.

En los resultados de todos los análisis se consideró $\alpha=0.05$ como valor significativo.

Para la realización de los análisis señalados se utilizó el software SPSS versión 10 para Windows (22)

RESULTADOS:

En el presente trabajo de nuestro universo inicial de estudio (100%), 7 ratas (7%) fallecieron. De estas 4 muertes (57.14%) se debió a hipotermia la cual se presentó durante un fin de semana en que debido a fallas en la corriente eléctrica los animales operados en 1 día sufrieron de hipotermia. Una más (14.28%), durante el procedimiento quirúrgico debido a la craneotomía por sangrado. Una más (14.28%) secundaria a proceso infeccioso a los 4 días de operada y la última (14.28%) también durante el procedimiento de toma de aloinjerto secundario a la anestesia.

En el resto del grupo de sujetos de experimentación y después de 8 días de la cirugía inicial, no se presentó pérdida de colgajos, osteomielitis, reacción al material de sutura ni signos de rechazo inmunológico.

Una vez hecho el análisis con microscopía óptica se compararon las variables histológicas entre los tres grupos (A, B, C), las cuales se resumen en la tabla a continuación: *(Tabla 3)*

En esta tabla se observa que existió una diferencia significativa en la proporción del trabéculas inmaduras ($p < 0.05$) y de la cantidad de osteoblastos ($p < 0.05$), los cuales se presentó sobre todo en sujetos de experimentación que fueron sacrificados con antelación en relación a los otros, siendo menor en los últimos sujetos. En los ambos grupos de estudio (B y C), se encontró un incremento en la proporción de trabéculas maduras, de la congestión vascular y en la cantidad de osteocitos y fibrosis, sin embargo, no se demostró significancia estadística entre los grupos. Posteriormente se compararon los resultados de los grupos A y B, y se encontró que no hubo diferencia significativa. *(Tabla 4)*

Tabla 3

Variables	Grupo A		Grupo B		Grupo C		Kruskal-Wallis	
	No	%	No	%	No	%	Valor	P
Conteo Vasos Sanguíneos	0	-	2	40	3	60	3.64	NS
Fase Reparación	1	20	2	40	4	80	2.1	NS
Edema	4	80	5	100	4	80	.62	NS
Hemorragia	2	40	1	20	0	-	2.0	NS
Inflamación	4	80	2	40	1	20	2.1	NS
Trab inmaduras	4	80	4	80	0	-	8.32	0.016
Trab maduras	3	60	3	60	4	80	0.10	NS
Neofor vascular	3	60	3	60	4	80	0.51	NS
Osteoblastos	0	-	1	20	4	80	10.0	0.007
Osteoclastos	1	20	2	40	3	60	2.1	NS
Osteocitos	0	-	2	40	3	60	3.64	NS
Fibrosis	2	40	4	80	1	20	5.67	NS
Reacc Cpo Extr	0	-	0	-	0	-	4.3	NS

Total

Tabla 4

Variables	Grupo B		Grupo C		Mann-Whitney	
	No	%	No	%	Valor	P
Conteo Vasos Sanguíneos	2	40	3	60	3.64	NS
Fase Reparación	2	40	4	80	2.1	NS
Edema	5	100	4	80	.62	NS
Hemorragia	1	20	0	-	12.5	NS
Inflamación	2	40	1	20	2.1	NS
Trab inmaduras	4	80	0	-	8.32	NS
Trab maduras	3	60	4	80	0.10	NS
Neofor vascular	3	60	4	80	0.51	NS
Osteoblastos	1	20	4	80	10.0	NS
Osteoclastos	2	40	3	60	2.1	NS
Osteocitos	2	40	3	60	3.64	NS
Fibrosis	4	80	1	20	5.67	NS
Reacc Cpo Extr	0	-	0	-	4.3	-
Total						

CONCLUSIONES:

Los defectos óseos a nivel de la calota son un problema sumamente complejo y de difícil manejo.

Sin importar el método para su reconstrucción es de vital importancia tener un lecho quirúrgico adecuado, es decir bien vascularizado.

En relación a la remodelación ósea se observó que a nivel de la calota no es diferente en relación a otros niveles.

Se pudo observar que la arquitectura ósea no fue un factor determinante en la remodelación durante el presente estudio. Pero no olvidemos los estudios que apoyan que dicha diferencia entre el hueso cortical y esponjoso afecta la remodelación ósea.

Se apoya el hecho de que un factor determinante en el comportamiento del injerto óseo (independientemente de su tipo), es la interacción entre la estructura ósea del mismo y las condiciones del ambiente mecánico local a nivel del sitio receptor.

En el grupo experimental se generó un defecto en el cráneo el cual es considerado como crítico de acuerdo al tamaño del sujeto (2 cms) y no provocó ni causó la reintegración ni la generación espontánea de hueso y permaneció de manera constante, aunque en la microscopía óptica de los bordes del defecto sí se observó datos de cicatrización ósea.

Nuestros dos grupos experimentales presentaron los tres factores de reconstrucción biológica de la siguiente manera:

Osteoinducción ----- Neovascularización

Osteoconducción ----- Trabéculas óseas

Osteogénesis ----- Osteocitos maduros

Se observó que a pesar de que en sujetos de experimentación nuestra propuesta experimental es factible, se presentaron mejores resultados y respuesta en el grupo del autoinjerto (C).

FOTOS:

Foto 1 Preparación del campo quirúrgico.

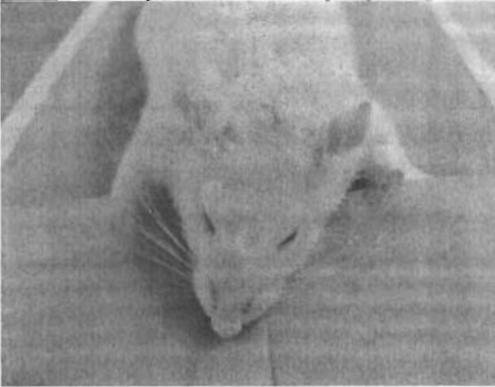


Foto 2 Se marcaron límites de la herida.

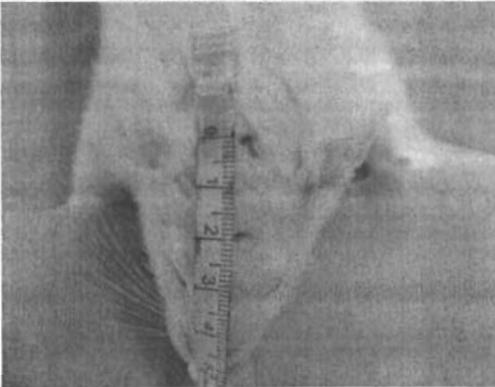
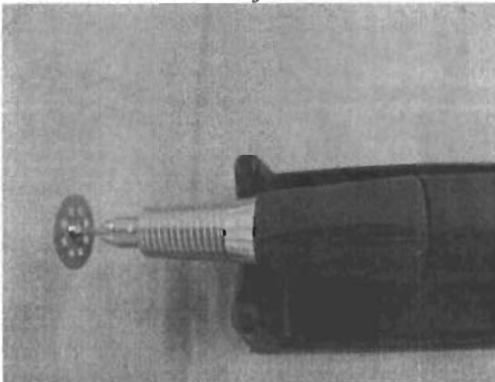


Foto 3 Motor de baja velocidad con el cual se realizó craneotomía.



**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

Foto 4 Se observan límites del defecto óseo y tamaño del aloinjerto.

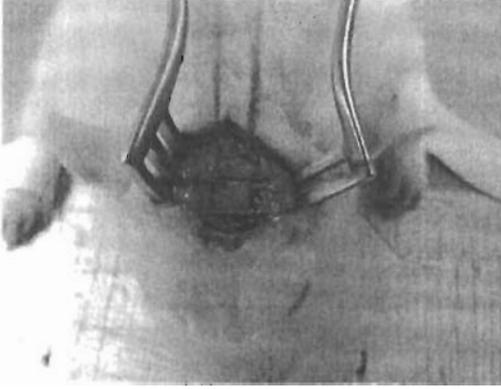


Foto 5 Defecto óseo en la calota

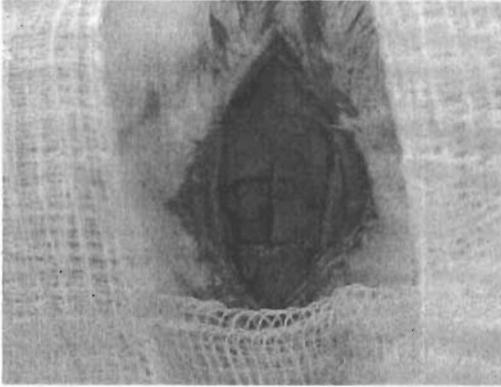


Foto 6 Cierre de la herida

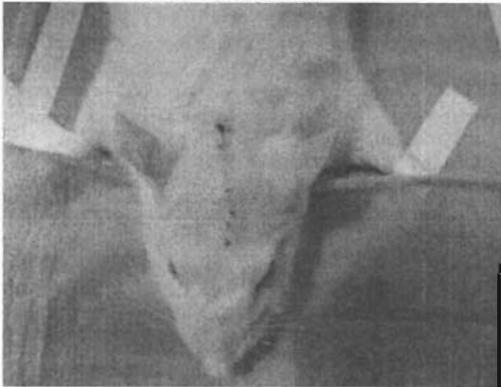


Foto 7 Se observa aloinjerto y sitio receptor en el que se colocará.

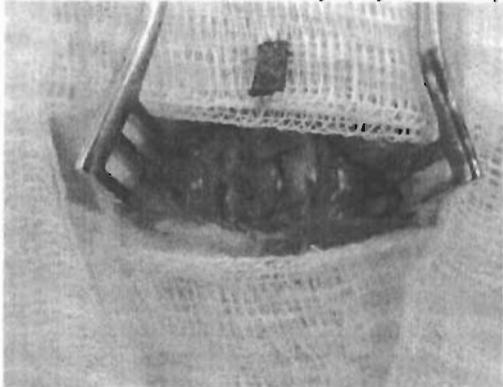


Foto 8 Colocación de aloinjerto en zona receptora.

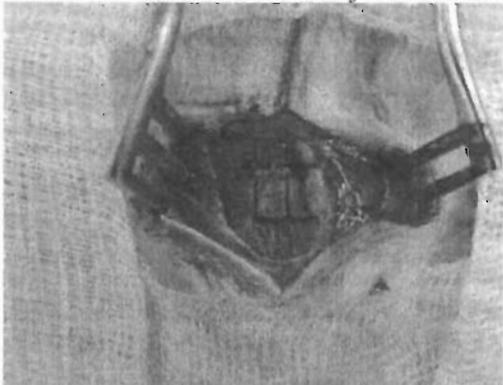
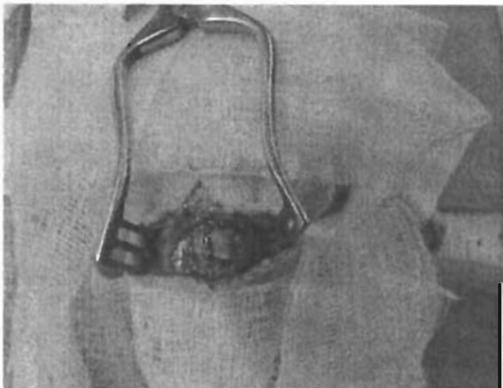


Foto 9 Después de 30 días se hace reintervención para obtención de la muestra quirúrgica.



Bibliografia:

- 1.- Richard A.Hooper, MD.k M.Sc., Jennifer R.Zhang, M.D., Victor L., Fournasier, M.D., Izabella Morova-Protzner, M.D., Kalman F. Protzner, M.D., Cho Y.Pang, Ph.D., Christopher R.Forrest,M.D.. Effect of Isolation of Periosteum and Dura on the Healing of Rabbit Calvarial Inlay Bone Grafos. *Plast Reconstr Surg.* 107,(2):454-462, 2001
- 2.- Bruce M. Achauer. *Plastic Surgery Indications, Operations and Outcomes* 1(2): 657-671, 2000.
- 3.- Curtin JW, Lathans. Greely. Catastrophic Loss of Scalp and Contiguous Structures, *Plast Reconstr Surg.* 32(1):1-11, 1963.
- 4.- Barone CM, Jimenez DF: Split Calvarial Graft in Young Children, *J Craniofac Surg* 8(1):43-47, 1997.
- 5.- Barone CM, Jimenez DF, Beschert MT: Cranioplasty Using Autologous Bone. In Rengachary SS, Benzel EC, editors: *Calvarial and Dural Reconstruction*. Park Ridge, Ill 1998.
- 6.- Pensler J, Mc Carthy JG: The Calvarial Donor Site: an anatomic study in cadavers. *Plast Reconstr Surg* 96:1447, 1995.
- 7.- Zing JE, Weinzweig N, Hahn J: A simple fail-safe method for the Harvestin of cranial bone. *Plast Reconstr Surg* 96:1447, 1995.
- 8.- Sirola, K: Reperation of Defects in the Calvaria. *Ann. Med. Exp. Biol. Fenn.* 38:1,1960.
- 9.- Mulliken. J.B, Glowacki, J. Induced Osteogenesis for Repair and Construction in the Craniofacial Region. *Plast Reconstr Surg.* 65:553, 1980.

- 10.- Oliver O Alami, Randall P. Nacamuli. Applications of a Mouse Model of Calvarial Healing: Differences in Regeneratvie Abilities of Juveniles and Adults. *Plast Reconstr Surg* 114(3):713-720, 2004.
- 11.- Hobar, P.Craig, Masson, James. The Importance of the Dura in Craniofacial Surgery. *Plast Reconstr. Surg.* 98(2):217-225, 1996.
- 12.- Arun K. Gasain, Timothy D. Santoro. Osteogenesis in Calvarial Defects: Contribuition of the Dura, the Pericranium, and the Surroundig Bone in Adult versus Infant Animals. *Plast Reconstr Surg.* 112(2):515-527, 2004.
- 13.- Greenwald, J.A, Mehrara, B.J., Biomolecular Mechanisms of Calvarial Bone Induction: Immature versus Mature Dura Mater. *Plast. Reconstr. Surg.* 105:1382, 2000.
- 14.- Levy, F.E., Hollinger, J.O. Effect of a Bioresorbable Film on Regeneration of Cranial Bone. *Plast Reconstr Surg.* 93:307, 1994.
- 15.- Munjal P.Patel, MD., Henry M. Spinelly, MD The Scapling Flap For Reconstruction of Upper Cranial and Cranial Base Defects. *Plast Reconstr Surg.* 114(1):186-189,2004.
- 16.- Bruce M. Achauer. *Plastic Surgery Indications, Operations and Outcomes* 1(2): 657-671, 2000., 2004.
- 17.- Sean Boutros, M.D., Robert W.Bernard, M.D., Robert D.Galiano, M.D. Tommaso Addona, B.S., Barry Stokes, M.D., and Joseph G.McCarthy, M.D. The Temporal Sequence of Periosteal Attachment After Elevation. *Plast Reconstr Surg.* 111(6):1942-1947, 2003.
- 18.- Andrew H. Rosenthal, M.D., and Steven R.Buchman, M.D. Volume Maintenance of Inlay Bone Grafts in Craniofacial Skeleton. *Plast Reconstr Surg.* 112(3):802-811, 2003.

- 19.- Cahuana I. Comportamiento Biológico del Injerto Óseo esterilizado con Radiación Gamma Homólogo y Auntoinjerto. Tesis de Postgrado. Hospital Central Sur de Alta Especialidad. UNAM 1998.
- 20.- Scaduto AA, Lieberman JR. Gene therapy for osteoinduction. *Orthop Clin North Am.* 1999; 30:625-33.
- 21.- Ito A, Mase A, Takizawa Y. Transglutaminase-mediated gelatin matrices incorporating cell adhesion factors as a biomaterial for tissue engineering. *J Biosc Bioeng* 2003;95:196-9.
- 22.- Alvarez Cáseres R. Estadística multivariante y no paramétrica con SPSS: Díaz de Santos. Madrid, 1995. pp 306-40.