

Reseñas de Investigación

Aplicación de la capacidad de calcificación y osificación de la pared arterial en la regeneración de defectos óseos

6/06/2007

Miguel A. Suárez-Suárez¹; Francisco Ferrero-Manzanal¹; Alvaro Meana-Infiesta²; Primitiva Menéndez-Rodríguez³; M. Angeles del Brío-Leon⁴; Pedro Riera-Rovira⁴ y Antonio Murcia-Mazón¹

¹ Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología del Hospital de Cabueñes-Gijón

² Centro Comunitario de Sangre y Tejidos de Asturias

³ Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Central de Asturias

⁴ Departamento de Morfología y Biología Celular de la Universidad de Oviedo

Proyecto FIS/FICYT: El presente trabajo ha sido financiado por la Consejería de Educación y Ciencia del Gobierno del Principado de Asturias (Proyectos de Investigación Concertada 2004-2006, referencia PC-04-07) en el marco del Plan de Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación de Asturias 2001-2004 (co-financiado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional).

Resumen

Cuando se utilizan aloinjertos aórticos criopreservados como membranas de regeneración ósea guiada en defectos de hueso largo, como consecuencia de la criopreservación, de la localización ectópica del aloinjerto, o de un posible mecanismo de respuesta inmune de rechazo, es posible que se produzca diferenciación osteoblástica de células vasculares y alteración de proteínas de la matriz extracelular que podrían determinar calcificación y osificación de la pared arterial y, por tanto, podrían influir y participar en el proceso de regeneración ósea guiada, contribuyendo a la formación de hueso en el defecto. De esta forma, y por primera vez en la literatura científica, se establece la posibilidad de que un proceso biológico no deseable por sus efectos perjudiciales para la salud (la calcificación y osificación de la pared arterial que se observan con el envejecimiento, la diabetes, la insuficiencia renal y otras patologías) pueda utilizarse para contribuir a implementar la regeneración en defectos óseos.

Introducción

En la diáfisis de los huesos largos se pueden producir defectos segmentarios como consecuencia de grandes traumatismos o de una resección quirúrgica con fines terapéuticos (tumores óseos, quistes, osteomielitis, etc.) que, si no se tratan convenientemente, suelen evolucionar hacia una pseudoartrosis, con importantes consecuencias clínicas y funcionales para el paciente, habiéndose desarrollado diferentes técnicas para implementar la regeneración ósea a su nivel.

Una de estas técnicas es la "regeneración ósea guiada" que se basa en rodear un defecto óseo con una membrana sintética estrechamente adaptada a sus límites y aislándolo por completo, para evitar interferencias en el proceso de osteogénesis por invasión de los tejidos conectivos circundantes y facilitar la regeneración ósea desde los extremos del defecto.

Las membranas utilizadas pueden ser de origen sintético, de materiales no reabsorbibles (presentan el inconveniente de que se requiere una segunda intervención quirúrgica para retirarlas) o de polímeros reabsorbibles (tienen la limitación de que, además de que no se ha determinado su cinética degradativa ideal, se han descrito fenómenos de intensa reacción de cuerpo extraño, con osteolisis masiva y destrucción del hueso que se había regenerado).

Por otro lado, se ha visto que las arterias son susceptibles de desarrollar calcificación en el espesor de su pared (incluso con hueso trabecular, médula ósea y fenómenos de remodelación) en procesos como la arteriosclerosis, la esclerosis de Mönckeberg de la diabetes y la insuficiencia renal, y con el envejecimiento, por lo que hemos establecido la hipótesis de utilizar esta capacidad de calcificación y osificación de las arterias para contribuir a la regeneración de hueso en defectos.

Por ello, se diseñó un estudio para evaluar el uso de aloinjertos arteriales criopreservados como membranas de regeneración tisular guiada en hueso largo.

Metodología

Se utilizaron diez conejos machos de la raza Blanca de Nueva Zelanda con evidencia radiográfica de cierre de la placa fisaria en los que se creó un defecto osteo-perióstico de 10 mm a nivel del tercio medio de la diáfisis del radio. En el grupo "arteria"(10 casos) se colocó un aloinjerto de aorta criopreservada (procedente de un conejo donante de la misma raza y que se conservó en nitrógeno líquido a -180°C en el Banco de Tejidos) entre los extremos del defecto a modo de tubo (la arteria se fijó a los extremos mediante suturas para conseguir un sellado lo más perfecto posible del espacio del defecto óseo, aislándolo por completo de los tejidos circundantes). En el grupo "control" (10 radios) el defecto no se rodeó de aloinjerto arterial u otro tipo de membrana que aislase el defecto del tejido circundante.

Resultados

En el espesor de la pared del aloinjerto aórtico criopreservado (una vez descongelado y antes de ser implantado) se observaron imágenes histológicas similares a las de las arterias normales en fresco, con células endoteliales en la capa íntima y musculares lisas en la capa media, ambas de aspecto viable.

Tanto en los estudios con técnicas de diagnóstico por la imagen (Rx, TC, RM) como de microscopía óptica y electrónica, en los defectos rodeados de aloinjerto aórtico criopreservado (grupo arteria) se observó un progresivo aumento de densidad a nivel del defecto, llegando a restablecerse por completo la continuidad del radio, con un patrón córtico-medular similar al del hueso normal.

Además se observó que la regeneración de hueso se producía dentro de los límites de la arteria, con imágenes sugerentes de un proceso de osificación endocondral, con una capa cortical homogénea y progresivamente más gruesa según el tiempo transcurrido desde la intervención que se adaptaba estrechamente a los límites y contornos de la pared arterial y con un espacio medular ocupado por tejido hematopoiético.

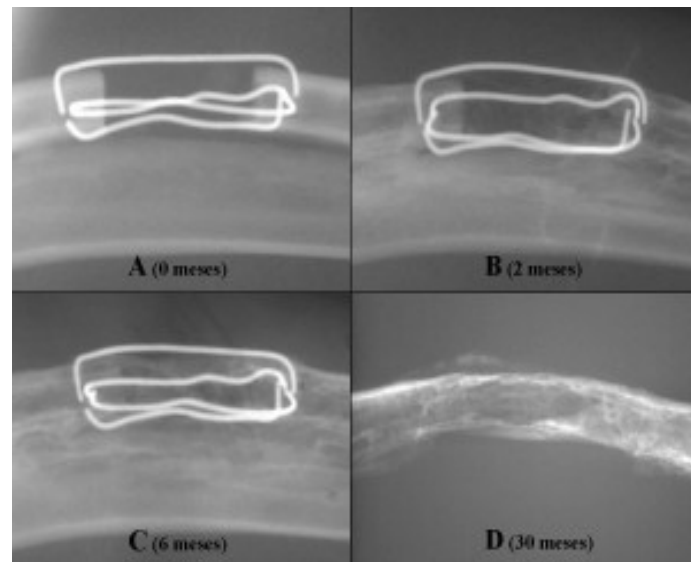


Figura 1. Radiografías en el grupo experimental en el postoperatorio inmediato (A), 2 meses (B), 6 meses (C) y 30 meses (D) con regeneración ósea completa

Llama la atención la íntima relación entre la cortical del hueso regenerado y la pared del aloinjerto aórtico criopreservado, con unión directa, sin ninguna capa de tejido conectivo de interposición, incluso observándose la formación de hueso entre las láminas elásticas de la pared arterial, incluso con fragmentos de láminas elásticas completamente osteointegradas y rodeadas de hueso regenerado.

También se puso de manifiesto la presencia de "zonas de transición" entre la pared arterial y el hueso regenerado en las que la matriz extracelular de la capa media arterial presentaba aspecto cartilaginoso o estaba calcificada, con imágenes de progresiva transformación hacia hueso regenerado. Incluso se observaron células con fenotipo de células musculares lisas vasculares pero en estrecha relación con distintas cantidades de sustancia osteoide que parecen estar produciendo, así como de imágenes de osteocitos y matriz ósea en íntima relación con las láminas elásticas de la capa media.

No se hizo evidente la presencia de ningún tipo de infiltrado inflamatorio o células gigantes de cuerpo extraño que pudiesen sugerir un proceso de respuesta inmune de rechazo al aloinjerto aórtico criopreservado.

Sin embargo, en el grupo en el que el defecto no se rodeó de ningún tipo de membrana y se dejó evolucionar espontáneamente ("control") en ningún caso se restableció la continuidad entre los extremos del defecto, con la zona central ocupada por tejido fibroso y músculo que penetraban desde el tejido circundante.

Discusión

Clásicamente se atribuye la regeneración ósea guiada a la capacidad de la membrana para aislar el defecto, aceptándose que el hueso que se forma en el espacio delimitado por la membrana se regenera a expensas de células osteoprogenitoras y factores de crecimiento desde los extremos del defecto.

Se especula con que las células tendrían diferente velocidad de migración para rellenar un defecto óseo, de tal forma que las células del tejido conectivo circundante invadirían el defecto, interfiriendo con la regeneración ósea, al tener una velocidad de migración superior a la de las células capaces de diferenciarse hacia osteoblastos. Por tanto, la membrana facilitaría la osteogénesis porque aislaría el defecto del tejido blando circundante, evitaría su invasión por células que competirían con las células osteoprogenitoras por ocupar el espacio vacío y que podrían interferir en la diferenciación celular hacia líneas osteoprogenitoras, y aumentaría la concentración de factores osteoinductores.

En los defectos "control" se observó ausencia de unión completa, con la zona central del defecto ocupada por tejido fibroso y muscular que penetran desde el tejido circundante al no existir ningún tipo de barrera de membrana que lo impida.

Por el contrario, en los defectos rodeados de aloinjerto arterial criopreservado se observó regeneración ósea completa en el 90% de los casos, con un patrón córtico-medular establecido y en continuidad con los extremos del defecto, resultados comparables a los mejores de diseños experimentales similares con membranas sintéticas.

Sin embargo, el hallazgo más característico de nuestro estudio lo constituye el hecho de que, mientras que con membranas sintéticas se presentó una capa de tejido conectivo entre el hueso regenerado y la membrana, se observó unión directa entre el hueso regenerado y la pared del aloinjerto aórtico criopreservado, sin ninguna capa de tejido de interposición, lo que sería señal de su excelente biocompatibilidad.

Pero, además, en el espesor de la pared arterial se observaron células con una morfología similar a la de las células musculares lisas vasculares rodeadas de matriz ósea que ellas mismas parecen estar produciendo, así como imágenes sugerentes de progresiva transformación de la matriz extracelular arterial, primero hacia matriz calcificada y posteriormente a hueso de aspecto normal, con tejido óseo entre las láminas elásticas de la pared arterial y fragmentos de láminas elásticas completamente osteointegradas y rodeadas de hueso.

Todo ello hace suponer que al usar aloinjertos arteriales criopreservados como membranas de regeneración ósea guiada se pueden desencadenar procesos de calcificación y osificación adicionales a los que se presentan con las membranas sintéticas, a expensas de la diferenciación de células de la pared arterial hacia células osteoblásticas capaces de producir hueso y a osificación inducida por alteraciones en las proteínas de la matriz extracelular arterial.

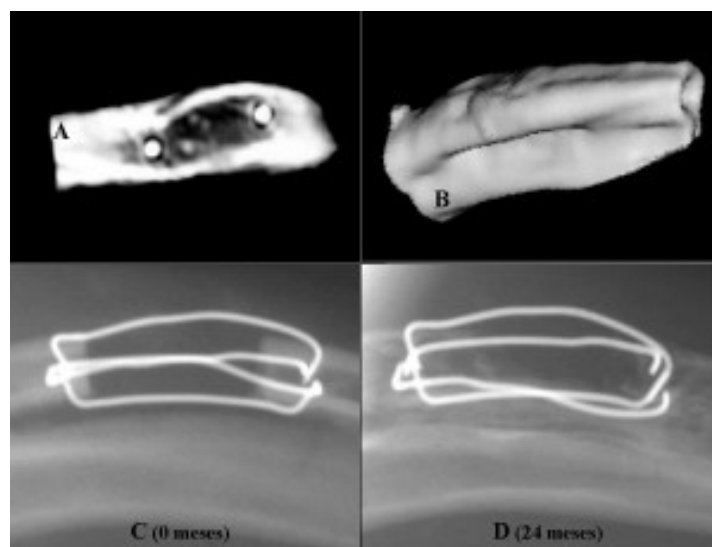


Figura 2. Imágenes de TC con regeneración ósea completa en el grupo experimental (A) y reconstrucción tridimensional del radio y la membrana interósea calcificada (B). Radiografías en el grupo control en el postoperatorio inmediato (C) y a los 24 meses (D) con ausencia de regeneración ósea.

De hecho, se ha visto que las arterias son susceptibles de desarrollar calcificación y osificación en el espesor de su pared (incluso con hueso trabecular, médula ósea y fenómenos de remodelación) en procesos como la arteriosclerosis, la esclerosis de Mönckeberg de la diabetes y la insuficiencia renal, y con el envejecimiento.

Este proceso de calcificación y osificación arterial se considera que se debe a la diferenciación osteoblástica de una sub-población de las células musculares lisas de la capa media denominadas "células calcificantes vasculares" (CVCs): su estirpe muscular lisa vascular se ha demostrado porque expresan marcadores

propios de éstas como son la alfa-actina muscular lisa, la vimentina y la calponina y su fenotipo osteoblástico mediante un marcador de función tan propio de los osteoblastos como es la fosfatasa alcalina. Incluso se ha demostrado que expresan marcadores propios de las células madre como son el 3G5 y el CD44 por lo que algunos trabajos recientes sugieren que se trata de células madre adultas de la pared arterial que, ante determinados estímulos, son capaces de diferenciarse hacia osteoblastos.

También se ha sugerido la posible implicación de alteraciones de proteínas de la matriz extracelular arterial que en condiciones normales actúan inhibiendo la mineralización de la misma (osteopontina, osteonectina, osteoglicina, fibrilina-1, péptido relacionado con la parathormona, proteína Gla de matriz, proteoglicanos), la formación de partículas de membrana (por daño, apoptosis o muerte de células de la pared arterial) que se comportarían como "vesículas de matriz" para servir de lugar de inicio de la calcificación de la matriz extracelular arterial y que, además de las células musculares lisas, las células del endotelio vascular serían capaces de "trans-diferenciarse" y adquirir un fenotipo osteoblástico ante ciertos estímulos.

Dado que hemos observado que, salvo el desprendimiento de algunas células del endotelio vascular, la integridad morfológica y la estructura histológica de los aloinjertos arteriales criopreservados es comparable a la de arterias normales en fresco, cabe suponer que los mismos mecanismos implicados en la calcificación de arterias en fresco también pueden determinar calcificación y osificación de aloinjertos arteriales criopreservados utilizados como membranas de regeneración ósea guiada (de hecho, se ha observado calcificación y osificación en la pared de aloinjertos arteriales criopreservados trasplantados en intervenciones de cirugía vascular).

Por lo tanto, cuando se utilizan aloinjertos aórticos criopreservados como membranas de regeneración ósea guiada en defectos de hueso largo, como consecuencia de la criopreservación, de la localización ectópica del aloinjerto, o de un posible mecanismo de respuesta inmune de rechazo, es posible que se produzca diferenciación osteoblástica de células vasculares y alteración de proteínas de la matriz extracelular que podrían determinar calcificación y osificación de la pared arterial y, por tanto, podrían influir y participar en el proceso de regeneración ósea guiada, contribuyendo a la formación de hueso en el defecto.

Palabras clave

Aloinjertos arteriales, Calcificación y osificación pared arterial, Regeneración ósea guiada

e-notas de evaluación

Autores/as: Miguel A. Suárez-Suárez¹ ;Francisco Ferrero-Manzanal¹ ;Alvaro Meana-Infiesta²; Primitiva Menéndez-Rodríguez³; M. Angeles del Brío-Leon⁴ ; Pedro Riera-Rovira⁴ y Antonio Murcia-Mazón¹

Título: Aplicación de la capacidad de calcificación y osificación de la pared arterial en la regeneración de defectos óseos

Nº 3 de 2007

Disponible en: [Enlace a la noticia](#)