

# Banco de hueso de la Clínica Universitaria de Navarra

J. Cañadell / F. Cornejo

Dpto. Cirugía Ortopédica y Traumatología. Clínica Universitaria. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona.

## RESUMEN

Describimos el Banco de hueso de la Clínica Universitaria de Navarra, con sus tres unidades:

- Congelador eléctrico (-40°).
- Congelador de nitrógeno líquido (-197°).
- Programador de descenso de temperatura.

La primera unidad es utilizada para la conservación del hueso esponjoso durante un tiempo limitado; la segunda unidad permite la conservación de injertos corticales, de forma indefinida; la tercera, permite el descenso lento de la temperatura para conservar la viabilidad del cartílago en los injertos que incluyen extremos epifisarios.

Las aplicaciones de los injertos óseos son crecientes en áreas como la cirugía tumoral, cirugía y artrodesis del raquis y en cirugía reconstructiva, en la articulación de la cadera.

## Bone bank at University Clinic of Navarre

### SUMMARY

The Bone bank at the University Clinic is described along with its three units:

- Electrical freezer (-40°).
- Liquid nitrogen freezer (-197°).
- Temperature programmer descense.

The first unit is used for the przservation of cancellous bone, for a limited lapse of time; the second unit is employed for preserving corticall grafts for an unlimited period. The third unit allowns to control the temperature descense rate, in order to preserve the viability of condrocitos in grafts including epiphyseal ends.

Clinical applications of bone grafts are currently enlarging in areas such as tumour sing, spine surgery and arthrodesis and reconstructive procedures of the hip joint.

Los grandes defectos óseos constituyen actualmente todavía un problema a resolver en Cirugía Ortopédica y Traumatología; con frecuencia creciente es necesario sustituir defectos con hueso cortical tras resecciones tumorales <sup>1</sup>, o hueso esponjoso, tras legrado de cavidades quísticas tumorales benignas, recambios de prótesis de cadera en hueso fragilizado por osteolisis periprotésica <sup>2-4</sup>, o en fusiones espinales amplias <sup>5, 6</sup> de pacientes con zonas dadoras de injerto insuficientes o ya utilizadas.

El hueso autólogo ha sido el material clásicamente empleado para el relleno de tales defectos. El hueso puede ser aportado de forma heterotópica u homotópica; de la primera forma, son un ejemplo las virutas de hueso esponjoso tomadas de pala ilíaca o metáfisis tibial, usados para el relleno de defectos sin solicitaciones mecánicas importantes o los injertos de peroné o tibia utilizados en caso de defectos con solicitaciones mecánicas que requieren un soporte óseo rígido. En el aporte homotópico de hueso, en cambio, no trasladamos tejido de un punto a otro del organismo, sino que el hueso es formado "in situ", a partir de células indiferenciadas, que se transforman en osteoblastos. Este proceso tiene lugar en tres casos: a) decorticación; b) elongación ósea: bien sea diafisaria, metafisaria o fisaria, y c) mediante la transportación ósea. En este último método, un fragmento adyacente al defecto es transportado a lo largo del trayecto del defecto óseo original, de modo que el hueso transportado ocupa el defecto y en su lugar de origen se desarrolla un callo de elongación (Fig. 1).

Pese a la evidencia de la mejor calidad del hueso autólogo, la morbilidad añadida con la extracción y el tiempo quirúrgico que se requiere, la eventual insuficiencia del hueso propio o la dificultad para su extracción limitan las posibilidades de utilización de autoinjertos en el relleno de amplios defectos óseos o artrodesis.

Quizá el ejemplo más ilustrativo de este problema es el que supone obtener injerto de esponjosa en pacientes acondroplásicos; en ellos las crestas ilíacas son muy pequeñas y de difícil acceso por la hiperlordosis lumbar.

Estos problemas de utilización de hueso autólogo han llevado a procurar otras alternativas, como la utilización de hidroxiapatita empleada en el relleno de defectos de hueso esponjoso, o las prótesis de resección amplia en problemas tumorales que requieren la extirpación de un segmento óseo con su extremo articular. La utilización de las prótesis conlleva además complicaciones tardías como aflojamiento, desgaste mecánico, infección secundaria y otras, de modo que se hace elegible un método que pueda sustituir al mismo tiempo las funciones mecánica y biológica del hueso normal.

El injerto de hueso tiene diversas peculiaridades que lo convierten en el material idóneo para suplir las funciones mecánica y biológica del hueso normal:

— El hueso es un tejido que puede ser transplantado aun cuando todas las células que lo componen estén muertas; de hecho, en todo injerto óseo, incluso autólogo, las células mueren por isquemia y son reabsorbidas; excepcionalmente pueden sobrevivir las células situadas en los 0,3 mm más periféricos del injerto. Sin embargo, la estructura ósea acelular permanece y es colonizada de nuevo por células procedentes del lecho receptor, un fenómeno llamado "creeping substitution" <sup>5, 7, 8</sup>.

— Otra característica única de los injertos óseos es que tienen capacidad de osteoinducción; la presencia de hueso en el lecho receptor, induce a las células

mesenquimatosas de la vecindad a diferenciarse hacia células formadoras de hueso, por la glicoproteína PMH (proteína morfogenética del hueso), contenida probablemente en la matriz orgánica del injerto <sup>9</sup>, y quizás a expensas de otras sustancias todavía no estudiadas.

— En los aloinjertos óseos, el rechazo es un problema menor pues se ha comprobado que sometiendo al hueso a muy bajas temperaturas durante un tiempo prolongado, disminuye drásticamente su antigenicidad; esto es debido probablemente a un cambio de estructura por desnaturalización de los proteoglicanos. La ausencia de rechazo favorece la incorporación del injerto y su unión al hueso receptor.

El uso de este tipo de injertos conservados en lo que se denomina banco de huesos ha sido promovido por un grupo de pioneros como, Friedlaender, Mankin y Thomford en los EE.UU. <sup>5, 1</sup>, Ottolenghi <sup>10</sup> en Argentina y por Alho <sup>11</sup> y Poitout <sup>12</sup> en Europa. Su experiencia ha sido la base para considerar necesario el banco de hueso en cualquier equipo de Cirugía Ortopédica y Traumatología en el que haya una incidencia alta de patología con amplios defectos óseos, lesiones tumorales, recambios protésicos o artrodesis de raquis; el Departamento de Cirugía Ortopédica y Traumatología de la Clínica Universitaria de Navarra (C.U.N.) para aumentar las posibilidades de tratamiento, cuenta con un banco de hueso para disponer en cualquier momento de aloinjertos corticales o esponjosos según las necesidades de los diferentes tipos de indicaciones quirúrgicas.

## **FUNCIONAMIENTO DEL BANCO DE HUESO**

### **CRIOCONSERVACIÓN**

El banco de hueso de la C.U.N. tiene como peculiaridad fundamental el disponer de tres unidades específicas de congelación:

- un refrigerador eléctrico de  $-40^{\circ}\text{C}$  (Fig. 2);
- un refrigerador de nitrógeno líquido de  $-186^{\circ}\text{C}$ ;
- un refrigerador computerizado para el descenso gradual de la temperatura (Fig. 3).

Estos refrigeradores están sometidos permanentemente al control de enfermería y del Servicio de Mantenimiento, para detectar y solventar cualquier alteración que se produzca en su funcionamiento.

La primera unidad, de 300 litros de capacidad neta, se utiliza para almacenar los injertos de esponjosa procedentes de cabezas femorales y cuñas de osteotomías, y se halla instalada dentro del recinto quirúrgico; esto permite una fácil disposición al momento del tipo de injerto más frecuentemente utilizado.

La segunda unidad, con 400 litros de capacidad, está ubicada fuera del recinto de quirófanos y funciona con un circuito de nitrógeno líquido; en esta unidad las temperaturas son de  $-186^{\circ}\text{C}$  en la fase líquida y  $-150^{\circ}\text{C}$  aproximadamente en la fase gaseosa. Utilizamos esta unidad para la conservación de aloinjertos corticales epifisiometafisodisarios, destinados a reemplazar defectos óseos con cortical completa y extremos articulares.

La tercera unidad funciona con nitrógeno líquido y es programable; en ella desciende la temperatura paulatinamente hasta los  $-186^{\circ}\text{C}$ , a un ritmo de  $1^{\circ}/\text{min}$ ; posteriormente el hueso se almacena en la segunda unidad. Tiene interés este procedimiento para conservar el mayor número de condrocitos vivos en los injertos epifisarios y evitar las alteraciones condrales propias de la congelación brusca.

En cuanto a la velocidad de congelación, no ha podido demostrarse que el gradiente de descenso de temperatura influya sobre la incorporación del injerto ni sobre su revascularización. Para el cartílago, en cambio, Thomford y colaboradores observaron que un descenso lento ( $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ) de la temperatura y la adición de un criopreservante (DMSO al 10 %) reduce la formación de microcristales intracitoplasmáticos responsables de la ruptura celular y muerte de los condrocitos. La supervivencia de los condrocitos con este tratamiento es, según estos autores, de alrededor del 50 %.

Si bien la mayor parte de estos experimentos fueron llevados a cabo "in vitro" y su traslación a la clínica resulta difícil, disponemos como tercera unidad del banco de hueso de un programador de descenso de temperatura, susceptible de ser utilizado en aloinjertos que incluyan extremos epifisarios.

### **Preparación de los injertos**

Los injertos esponjosos usados más frecuentemente son obtenidos de las cabezas femorales resecadas al colocar prótesis totales de cadera; la cabeza resecada se limpia de los tejidos blandos; a continuación tomamos muestras para cultivo de gérmenes aerobios y anaerobios e introducimos el fragmento óseo en un recipiente hermético de plástico que a su vez es introducido en una bolsa de plástico que se cierra y se pone dentro de una segunda bolsa también estéril. El injerto así preparado es introducido en el congelador de  $-40^{\circ}\text{C}$  donde se mantiene desde un mínimo de 3 semanas hasta un máximo de 4 meses <sup>13</sup>.

El tiempo mínimo es aprovechado para la obtención de los resultados analíticos. Durante este tiempo de almacenaje, tiene lugar una alteración ósea por el frío, que determinará la disminución de su capacidad antigénica <sup>14</sup>.

Se ha comprobado que el aloinjerto óseo es capaz de provocar una reacción inmunitaria celular y humoral. La primera viene determinada fundamentalmente por los antígenos de superficie de las células de la médula ósea y, en menor medida, por los osteocitos. Esta reacción inmunitaria celular es más patente cuando transplantamos hueso esponjoso, y se palia si realizamos un exhaustivo lavado previo del mismo antes de ser almacenado

Tanto el hueso cortical como el esponjoso son capaces, asimismo, de provocar la aparición de anticuerpos contra los proteoglicanos de la matriz y, en menor grado, contra el colágeno. La matriz inorgánica del hueso no es inmunogénica.

La alteración del injerto por el frío consiste probablemente en una desnaturalización de los antígenos de histocompatibilidad en la superficie de la membrana celular y de los proteoglicanos en la matriz ósea <sup>15, 16</sup>, con alteración de su estructura cuaternaria. Esto explicaría por qué los aloinjertos óseos sometidos a distintos métodos de

criopreservación, se incorporan mejor que los aloinjertos frescos, y provocan una menor reacción inflamatoria del lecho receptor.

Nosotros hemos podido comprobar esta ausencia de reacción inmunológica en pacientes en quienes se han implantado aloinjertos óseos. En todos ellos, los antígenos de histocompatibilidad y el grupo sanguíneo han sido ignorados a la hora de seleccionar un receptor determinado; en nuestra experiencia, no ha habido reacción alguna de rechazo al injerto detectable clínicamente. Además, se admite que la congelación conlleva un incremento de la resistencia mecánica del injerto <sup>12</sup>.

El tiempo máximo de preservación del aloinjerto esponjoso (4 meses) es tomado en base al hecho de que ciertas proteasas y colagenasas mantienen actividad a esta temperatura, por lo que un almacenamiento más prolongado podría conllevar alteraciones en la estructura química del aloinjerto.

Los injertos de hueso cortical, son obtenidos de donantes dentro de un mínimo de 12 horas después de su fallecimiento y siempre garantizando su asepsia con los exámenes que reseñaremos posteriormente. La extracción puede hacerse manteniendo una asepsia rigurosa, como si de una intervención quirúrgica normal se tratara, si las condiciones la hacen posible; en caso de no ser factible una extracción aséptica, los injertos son esterilizados por medios químicos (óxido de etileno o merthiolate) o físicos (2-3 Mrad con radiación gamma). Nosotros preferimos la radiación externa con rayos gamma.

El número y tipo de los injertos obtenidos depende de las necesidades del banco en un momento determinado, pero en general, preferimos los fémures y tibias por ser éstas las zonas problema más frecuentes especialmente por afectación de tumores óseos primarios malignos. La extracción de los injertos se hace subperióticamente; se limpian de restos de tejidos blandos, sangre y médula ósea. Se toman los cultivos habituales y se procede a su empaquetado de la misma forma que la reseñada para los injertos esponjosos; en este caso sólo cambia el tamaño del recipiente de plástico y el refrigerador.

Antes de su almacenamiento en nitrógeno líquido, los injertos son radiografiados junto a una regla radiopaca para tener un documento permanente de su tamaño y características, con objeto de poder conocer en el momento las posibilidades anatómicas de los injertos almacenados.

Antes de utilizar los injertos, es mandatorio garantizar su inocuidad y para ello se deben cumplir los siguientes requisitos <sup>17</sup>:

- cultivo para estudio de gérmenes aerobios y anaerobios, tomado en el momento de la extracción;
- antígeno Australia del donante;
- HTVL-3 (anticuerpos SIDA), muestra obligatoria según la legislación vigente desde julio de 1987 tanto para el donante como para el receptor;
- VDRL;
- hemocultivo; se realiza sólo en la extracción de injertos de cadáver;
- donante con historia negativa para enfermedad metastásica, colagenopatía o cualquier tipo de infección o enfermedad orgánica;

- ausencia de terapia con corticoides o antibióticos de forma prolongada, que pudiera enmascarar una infección subyacente.

Los huesos que reúnen todos estos requisitos se almacenarán durante tiempo indefinido.

### **Utilización del banco de huesos**

Para su implantación, los injertos son extraídos del congelador correspondiente al comienzo de la intervención y colocados dentro de un recipiente con solución antibiótica a temperatura ambiente. En el caso de los injertos esponjosos, éstos son troceados con un triturador estéril que disponemos a tal efecto. A veces es conveniente realizar una mezcla de injerto autólogo de esponjosa con aloinjerto y esto lo hacemos con cierta frecuencia en artrodesis amplias de raquis, en pacientes con pocas zonas donantes o ya utilizadas, como sucede habitualmente en pacientes neuropáticos o miopáticos con escoliosis progresivas (Fig. 4).

Para los injertos corticales, seleccionamos aquel que, por sus medidas y características, se ajuste más a nuestras necesidades; para ello valoramos las radiografías tomadas en el momento de la extracción. El injerto es extraído del congelador de nitrógeno líquido al inicio de la intervención e introducido en suero salino con antibióticos a temperatura ambiente hasta su utilización.

La osteosíntesis puede realizarse mediante el sistema de tornillos y placas, fijación endomedular o combinación de ambos, dependiendo de las características mecánicas del injerto a implantar y la zona receptora <sup>18</sup> (Figs. 5 y 6).

### **Cuidados postoperatorios**

En el postoperatorio, los enfermos con injertos masivos son mantenidos en descarga durante un periodo prolongado, aunque no hay unanimidad en cuanto a la duración de este período. Así, mientras Mankin y cols. abogan por unos meses, Alho y cols. <sup>11</sup> defienden que debería instaurarse carga de forma progresiva cuando comienza a verse una reacción perióstica definida, habitualmente a las 6 semanas de la colocación del injerto, para estimular la incorporación del mismo. Nosotros estamos en una posición intermedia (Fig. 7).

Dado que el injerto de hueso es un material orgánico desvascularizado, el riesgo de infección es mayor que en otras intervenciones del aparato locomotor. En prevención, algunos cirujanos administran antibióticos (generalmente cefalosporinas durante 6 meses y, ante interurrencias como extracciones dentarias o infecciones urogenitales, hasta el año del postoperatorio). Otros cirujanos, no obstante, consideran innecesaria esta terapia prolongada e interrumpen la antibioterapia después de las 3 semanas de cirugía <sup>11</sup>. Nosotros hacemos una pauta profiláctica de 48 horas con cefalotina.

Tanto la quimioterapia como la radioterapia <sup>5, 19</sup> son frecuentemente parte del tratamiento de los pacientes a los que se les ha colocado injerto óseo de banco; este tipo de terapia determina las condiciones bajo las cuales pretendemos lograr la incorporación del mismo. Estudios experimentales <sup>20</sup> muestran que la quimioterapia habitualmente

empleada no impide la consolidación de la unión huésped-injerto, que se realiza especialmente a partir de la proliferación de osteoblastos del extremo del hueso receptor. La radioterapia a dosis altas (dosis esterilizantes de 2-3 Mrad) provoca modificaciones de la estructura de la matriz ósea que conllevan una disminución de la resistencia mecánica del injerto. No obstante, pensamos que este efecto de la radiación queda parcialmente compensado por el incremento de resistencia provocado por la ultracongelación.

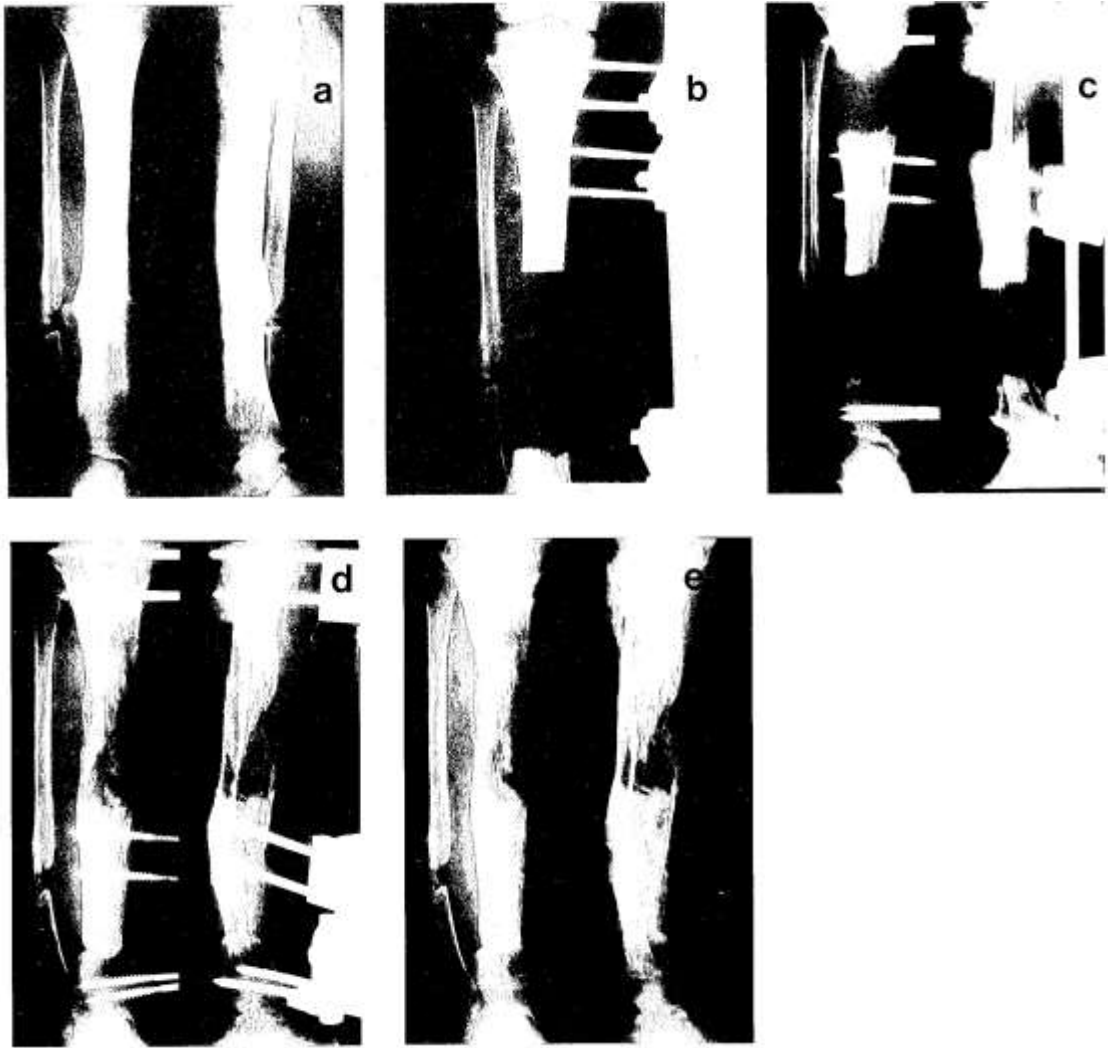
Las dosis empleadas normalmente como tratamiento adyuvante en oncología no afectan la estructura ósea pero provocan fibrosis del lecho que altera la proliferación celular a nivel del foco, pudiendo retardar o impedir la consolidación del injerto.

## BIBLIOGRAFÍA

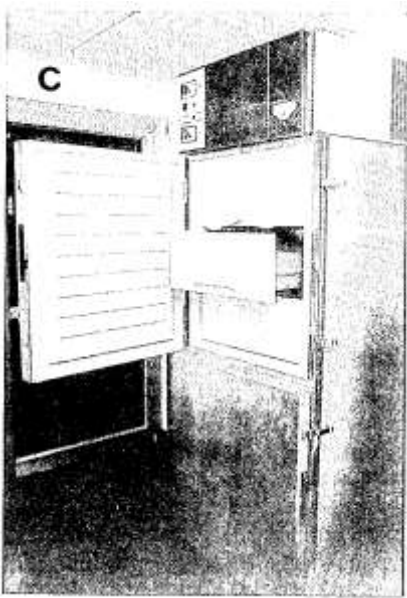
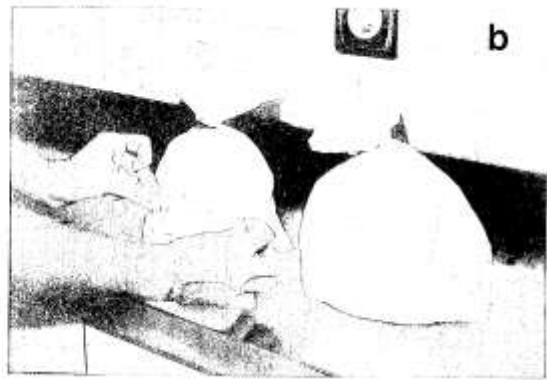
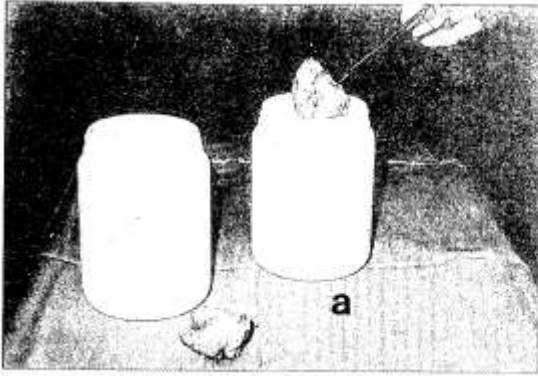
1. Mankin HJ, Gebhard MC y Thomford WW. The use of frozen cadaveric allografts in the management of bone tumours of the extremities. *Orthop Clin North Am* 18: 275-289, 1987.
2. Garbayo A. Estudio sobre la evolución clínica y radiológica de las prótesis de cadera autobloqueantes de Muller colocadas sin cemento. Tesis doctoral. Universidad de Navarra. Pamplona 1987.
3. Head WC, Malinin T y Berklacich F. Freeze-dried proximal femur allografts in revision total hip arthroplasty. A preliminary report. *Clin Orthop* 215: 109-121, 1987.
4. Jasty M y Harris WH. Total hip reconstruction using frozen femoral head allografts in patients with acetabulum bone loss. *Orthop Clin North Am* 18: 291-299, 1987.
5. Friedlaender GE, Mankin H y Shell G. Osteochondral allografts: biology, banking and clinical applications. Little Brown. Boston 1983.
6. Heiple KG, Goldberg VM, Powel AE, Bos GD y Zika JM. Biology of cancellous bone grafts. *Orthop Clin North Am* 18: 179-185, 1987.
7. Burchardt H. Biology of bone transplantation. *Orthop Clin North Am* 18: 187-196, 1987.
8. Burchardt H. The Biology of bone graft repair. *Clin Orthop* 174: 28-42, 1983.
9. Hidek, Mizutani y Urist MR. The nature of bone morphogenetic protein (BMP) fractions derived from bovine bone matrix gelatin. *Clin Orthop* 171: 213, 1982.
10. Ottolenghi CE. Massive osteoarticular bone grafts. Transplant of the whole femur. *J. Bone Jt Surg* 48-B: 646-659, 1966.
11. Alho A, Eeg Larsen T, Holmstrom T, Karaharju E0, Korkala O, Laasonen E y Muller C. Allogeneic osteoarticular grafts in the treatment of bone tumours about the knee. *Proceedings of the SICOT Congress. Munich* 1987.
12. Poitout D. *Greffes de l'appareil locomoteur*. Masson, Paris 1987.
13. Helde C, Postel M, Kerboul M y Courpied JP. Repair of the acetabulum using a bone homograft preserved at the time of revision of total hip prosthesis. *Rev Chir Orthop* 72: 267-276, 1986.
14. Horowitz HC y Friedlaender GE. Immunologic aspects of bone transplantation. A rationale for future studies. *Orthop Clin North Am* 18: 227-233, 1987.
15. Muscolo DL, Schajowicz FEC, Santini-Araujo E y Mankino A. Tissue typing in human massive allografts of frozen bone. *J. Bone Jt Surg* 69-A: 583-596, 1987.

16. Rodrigo JJ, Thompson E y Travis C. Deep freezing versus 4 degrees preservation of a vascular osteocartilagenous shell allografts in rats. Clin Orthop 218: 268-275, 1987.
17. Thomford WW, Mankin HJ, Friedlaender GE, Doppelt SH y Gebhardt MC. Methods of banking bone and cartilage for allograft transplantation. Orthop Clin North Am 18: 241-247, 1987.
18. Rabin SR, Katzne H, Vidal P, Simon P, Kempf JF, Keilling R y Schvingt E. Resection-reconstruction of femur shaft by a massive allograft fixed by an interlocking nail. Rev Chir Orthop 7: 25-28, 1987.
19. Konvalchouk JF y Paszkouski A. Irradiation of bone homografts. Their use following tumour resection. A propos of 4 cases. Rev Chir Orthop 72: 393-401, 1986.
20. Pelker RR, Friedlaender GE y Markham TC. Biomechanical properties of bone allografts. Clin Orthop. 174: 54-57, 1983.

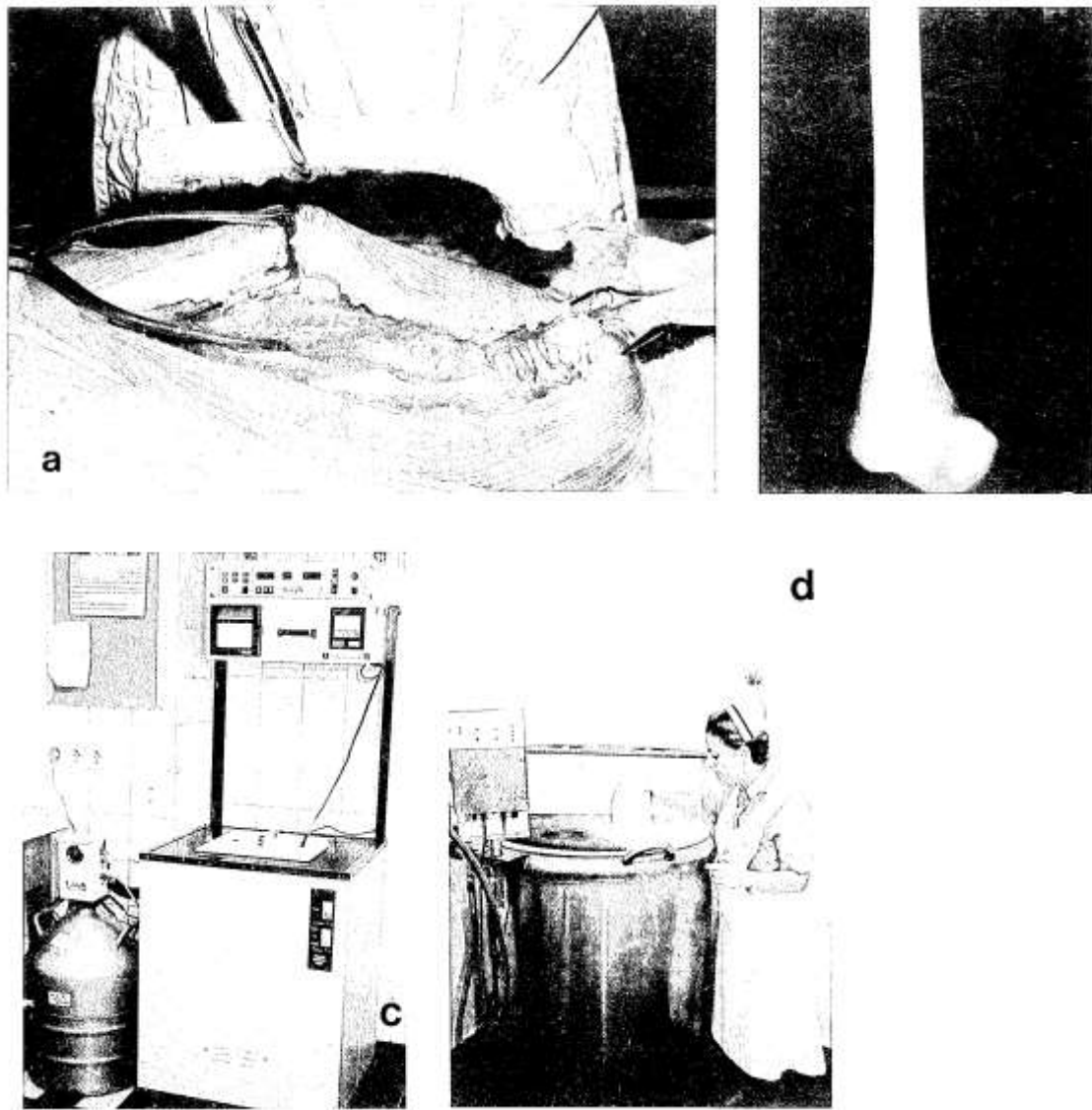




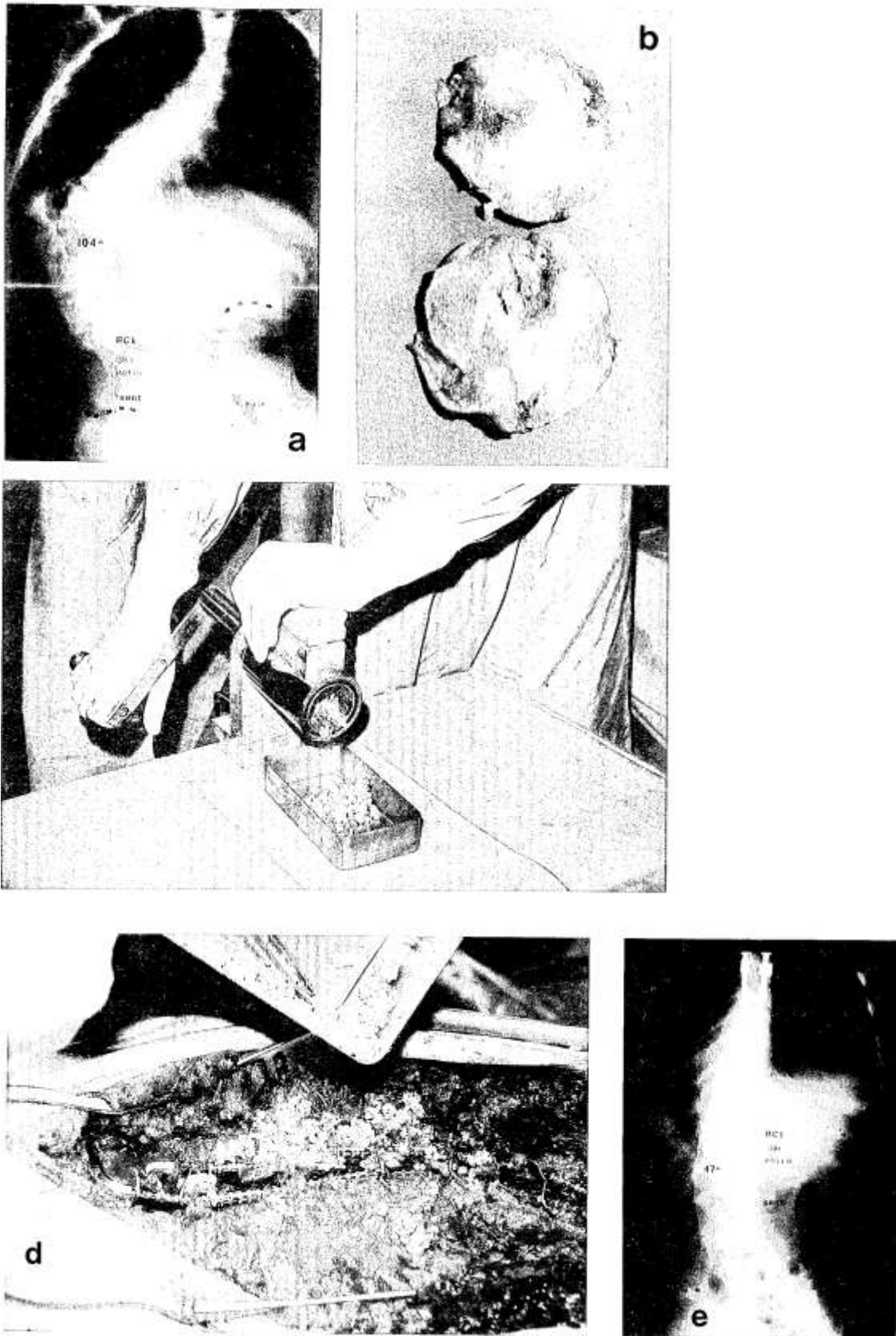
**Figura 1.** Ejemplo de aporte homotópico de hueso autólogo: traslación ósea tras resección tibial por osteomielitis. Apréciase la progresiva osificación del trayecto de traslación.



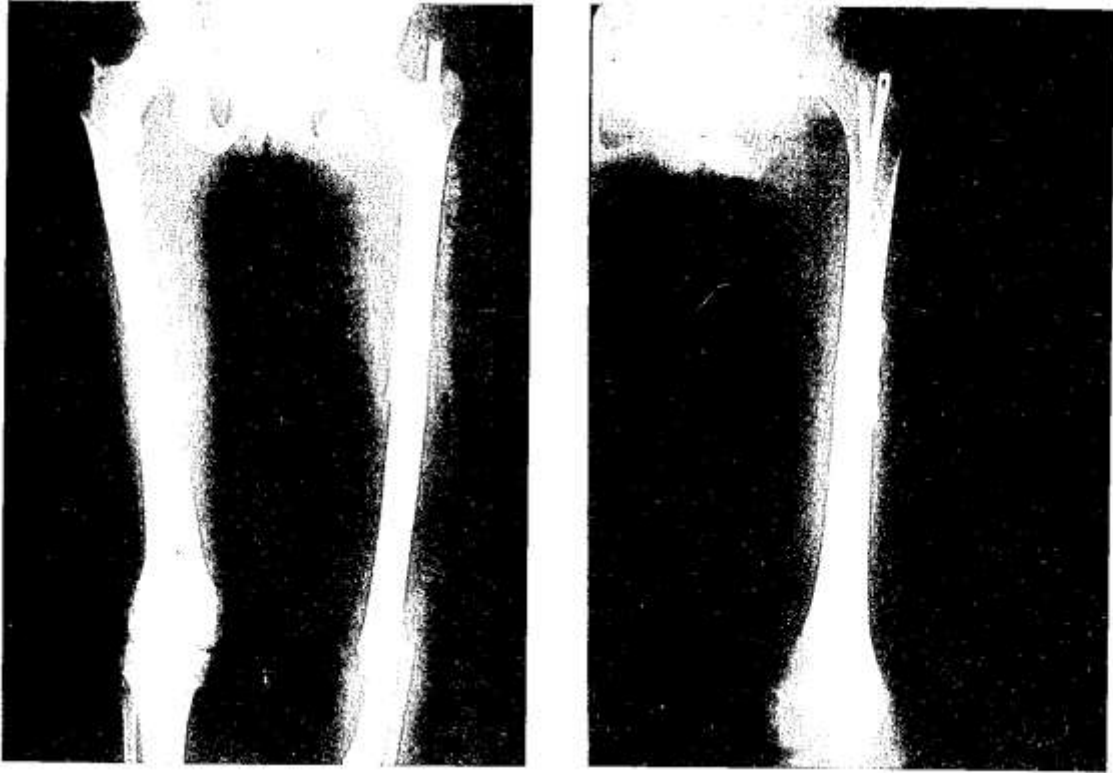
**Figura 2.** Preparación de cabeza femoral para su conservación a  $-40^{\circ}$  C.



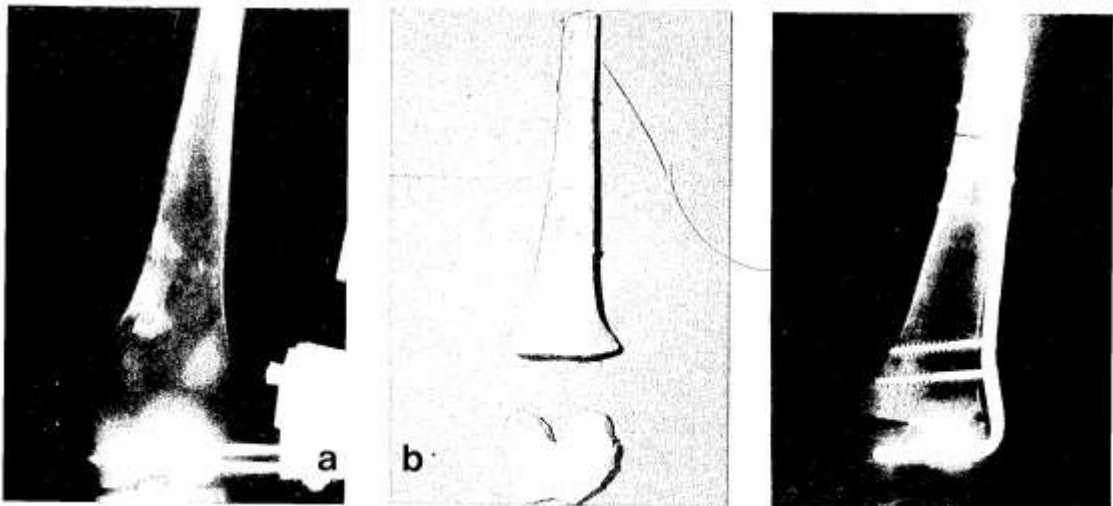
**Figura 3.** El injerto cortical obtenido es radiografiado y conservado a  $-197^{\circ}$  C. El programador de congelación evita la formación de microcristales intracitoplasmáticos y permite la conservación del cartílago.



**Figura 4.** Aloinjerto óseo utilizado para artrodesis de escoliosis neuropática. Apréciase la cantidad de injerto obtenido de una sola cabeza femoral.



**Figura 5.** Aplicaciones de los aloinjertos en cirugía tumoral. a) Aloinjerto intercalar, con artrodesis de rodilla por osteosarcoma distal de fémur. b) Aloinjerto masivo en un niño con osteosarcoma distal de fémur.



**Figura 6.** Los tumores en los que el cartílago de crecimiento está indemne son susceptibles de distracción fisaria y aporte subsecuente de injerto óseo. Este método permite conservar la epífisis intacta.



**Figura 7.** Reconstrucción metafisaria tibial mediante aloinjerto esponjoso y osteosíntesis temporal. Apréciase la osificación del lecho.