

ESTUDIO DE LA CALIDAD ÓSEA INDUCIDA POR PLACAS DE CR COMO EN UN MODELO ANIMAL OSTEOPORÓTICO

DOCTORANDO

JÉSICA ITATÍ ZUCHUAT

DIRECTORES

DR. OSCAR ALFREDO DECCÓ

DRA. ADRIANA S. MANZANO

La osteoporosis es una enfermedad ósea metabólica relacionada con la edad; con frecuencia se presenta de forma asintomática y se caracteriza por una baja densidad y masa ósea, deterioro de la microarquitectura trabecular, disminución de la resistencia y el aumento de la fragilidad ósea. La prevalencia de esta enfermedad aumenta con la edad, y representa una preocupación creciente en el mundo desarrollado, en general, debido al aumento en la esperanza de vida. Aunque tiene una mayor incidencia en mujeres, debido al aumento en el recambio óseo después de la menopausia; los hombres también pueden parecerla, y habitualmente ocurre como consecuencia secundaria al tratamiento con glucocorticoides. A medida que la enfermedad progresa, los huesos se vuelven porosos, débiles y frágiles y al someterlos a estrés leve, pueden fracturarse. Debido al alto grado de morbilidad y mortalidad asociado, su diagnóstico y posterior tratamiento, es crucial. La mayoría de los tratamientos actuales para la osteoporosis están limitados a terapias antirresortivas y sus estrategias se centran en inhibir la resorción ósea y reducir el remodelado. Sin embargo, la adición sustancial de hueso nuevo y la reconstrucción del hueso intracortical son necesarias para mejorar la resistencia ósea, y evitar la fractura.

HIPÓTESIS

La hipótesis que se planteó en el presente trabajo propuso que la colocación de placas de CrCoMo sobre hueso osteoporótico de conejo favorece la regeneración de hueso intracortical y la formación de nuevo hueso con características normales en la región de colocación, por sobre el hueso osteoporótico.

OBJETIVOS

General

- Evaluar el empleo de placas de CrCoMo para la mejorar la calidad ósea in situ en un modelo animal osteoporótico.

Específicos

- Evaluar longitudinalmente en el tiempo la densidad y la microarquitectura ósea.
- Determinar la concentración sérica de cinco analitos bioquímicos plasmáticos durante el protocolo de inducción de osteoporosis y control de las unidades experimentales.
- Evaluar histomorfométricamente el hueso regenerado en la región de colocación de la placa, y compararlo con el osteoporótico y el sano.
- Analizar estadísticamente los resultados obtenidos.

METODOLOGÍA

Con el objetivo de responder a la hipótesis planteada previamente, se utilizó un diseño experimental que consistió en dos etapas principales, con funciones bien definidas y delimitadas.

Etapa I – generación del modelo animal osteoporótico: se emplearon 13 conejos hembra adultas (4.34 ± 0.33 kg) de la raza Nueva Zelanda, esqueléticamente maduras a la conformación radiográfica. Los animales se dividieron en 3 grupos; los animales del grupo 1 ($n=5$) y 2 ($n=5$) fueron intervenidos quirúrgicamente para inducir el desarrollo de osteoporosis. El grupo control sano ($n=3$), se mantuvo sin

intervenir. El protocolo quirúrgico realizado a los animales de los grupos 1 y 2 consistió en una ovariectomía bilateral inicial; posteriormente, luego de dos semanas, se inició la administración intramuscular de 1,04 mg/kg/día de Succinato Sódico de Metilprednisolona, que se prolongó durante un mes.

Durante esta etapa, se realizaron controles macroscópicos, determinaciones bioquímicas y radiografías digitales para evaluar el estado general de los animales. El diagnóstico de osteoporosis fue demostrado, principalmente, mediante las variaciones en los parámetros de la microarquitectura ósea, y finalmente confirmado por las diferencias en los valores de densidad mineral ósea.

Etapa II – colocación de placas de CoCrMo: durante esta etapa, los animales osteoporóticos (G1 y G2) fueron sometidos a una segunda cirugía, que consistió en la colocación de placas de CoCrMo con una textura superficial microrrugosa en tibias de conejo, con el fin de estudiar el potencial de la aleación para la formación de tejido óseo nuevo, por encima del hueso cortical osteoporótico preexistente; y para la reconstrucción del tejido enfermo. El grupo de control no fue intervenido en esta etapa. Los animales del grupo 1 fueron sacrificados a las 4 semanas luego de la implantación, mientras que los animales del grupo 2 se sacrificaron a las 8 semanas, junto a los controles. La evaluación y el seguimiento de las unidades experimentales se realizó mediante los mismos procedimientos que en la etapa anterior. Las muestras óseas obtenidas debajo de la placa y en los alrededores fueron procesadas histológicamente, y las imágenes se analizaron histomorfométricamente.

Todos los procedimientos experimentales, así como el alojamiento y la manipulación, se realizaron de acuerdo con la Declaración de Helsinki, siguiendo las guías para el cuidado y uso de animales de laboratorio¹ y los requisitos de bienestar animal expresados en el artículo 4 de la Ley Nacional Argentina N° 14346/54.

RESULTADOS

Etapa I - Al finalizar la primera etapa, el análisis de los resultados estuvo dirigido a la constatación de la inducción de osteoporosis sobre el hueso de conejo. El análisis de las características de la microarquitectura del hueso trabecular, evaluadas en base al procesamiento digital de las imágenes radiográficas demostró diferencias significativas en 6 de los 10 parámetros trabeculares y medulares analizados entre el estado basal y el logrado luego de la inducción de osteoporosis, al mismo tiempo que las diferencias con el grupo de control sano, fueron observadas en 4 de los 10 parámetros. Adicionalmente, se detectaron diferencias estadísticamente significativas al comparar la densidad mineral ósea (DMO) en la articulación de la rodilla entre el grupo experimental y el control, en ambos compartimientos (tibia y fémur). Al correlacionar los resultados de los parámetros microarquitecturales y los de DMO, se detectaron relaciones moderadas (alrededor de 0,5) entre la mayoría de ellos. En cuanto a las determinaciones bioquímicas, las comparaciones entre el estado basal y el osteoporótico de los animales del grupo experimental arrojaron diferencias significativas únicamente para los niveles séricos de calcio; por otra parte, al compararlos con los controles, solo se observaron diferencias respecto al colesterol.

Etapa II- Al finalizar la segunda etapa, la evaluación del efecto de la aleación de CoCrMo sobre la regeneración del hueso osteoporótico y la formación de nuevo hueso estuvo enfocada fundamentalmente en el análisis histomorfométrico de las muestras obtenidas luego de 4 (G1) y 8 (G2) semanas de implantación. Las muestras de hueso cortical osteoporótico mostraron una estructura desorganizada, con una distribución deficiente de los patrones de organización de las laminillas óseas, un número reducido de sistemas de Havers; estructura laminar irregular con una gran cantidad de cavidades vacías agrandadas, de forma irregular y sin trabecularización. Adicionalmente, se observó evidencia de resorción endocortical. Por otra parte, el nuevo hueso formado en las muestras implantadas se desarrolló por osificación endocondral, con diferentes niveles de maduración; se lo observó integrado al hueso cortical preexistente.

¹ National Research Council (2011) Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Eighth Edi. Washington DC: The National Academies Press.

El tejido óseo neoformado en los animales del grupo 1 exhibió grandes trabéculas interconectadas con signos de remodelación en curso; alrededor de las trabéculas se observaron escasos osteoblastos discontinuos e irregulares. En las muestras del grupo 2, el nuevo hueso se observa más maduro en comparación al grupo 1; presenta un aspecto de tipo compacto, con sistemas de Havers normales y adyacentes entre sí. En estas muestras, el tejido cortical subyacente demostró tener una mayor organización que el hueso no tratado. Además de la neoformación ósea, el hueso compacto preexistente (intracortical) presenta un aspecto mejorado en relación a las muestras osteoporóticas.

La evaluación cuantitativa de las imágenes histológicas del hueso cortical regenerado reveló diferencias estadísticas en la mayoría de las variables medidas, demostrando un área medular significativamente mayor en los animales implantados que en los controles, lo cual se correspondió con un ancho cortical significativamente menor. Más allá de esto, solo se encontraron diferencias en el área cortical entre el grupo 1 y los controles. Al analizar la organización estructural del tejido óseo, encontramos diferencias significativas en el número de cavidades de Havers, su área media y en la porosidad cortical del grupo 1 en comparación con las de los controles y con el grupo 2.

El análisis de la microarquitectura del hueso sometido al procedimiento regenerativo exhibió diferencias estadísticamente significativas en todas las variables trabeculares y dos variables medulares. Estas diferencias corresponden a las comparaciones entre los grupos experimentales y el grupo control. No se encontraron diferencias significativas al comparar los grupos experimentales entre sí. Adicionalmente, se compararon los valores de estos mismos parámetros entre el estado osteoporótico y el regenerado, en ambos grupos, los cuales no reportaron diferencias.

CONCLUSIONES

Las variaciones significativas de los parámetros de microarquitectura del hueso trabecular y de la DMO entre el estado basal y el observado luego de la finalización de la primera etapa revelaron que se produjo osteoporosis en todos los animales experimentales mediante el protocolo empleado.

Los resultados obtenidos en la segunda etapa experimental indicaron que no hubo variaciones en cuanto a los parámetros de la microarquitectura ósea con respecto a los valores obtenidos al finalizar la primera etapa, lo que nos permite inferir que el cese de la administración de glucocorticoides no revierte per se el estado osteoporótico sistémico logrado en el modelo animal seleccionado. En este contexto, y dado que la placa de CoCrMo se colocó en el hueso cortical de la tibia, por debajo de la articulación de la rodilla, se infiere que la misma no influye la actividad celular ósea a distancias relativamente alejadas del sitio de colocación, en este caso sobre las características del hueso subcondral, sino que solamente produce un efecto local en el sitio de colocación.

En la región de colocación de la membrana, se observó neoformación ósea por debajo de la misma y en sus alrededores, en ambos grupos experimentales; sin embargo, este tejido presentó características más inmaduras a las 4 semanas, respecto al encontrado a las 8 semanas. De forma complementaria, las observaciones histológicas del hueso intracortical preexistente debajo de la región del implante revelaron un tejido desorganizado a las 4 semanas, mientras que a las 8 semanas, la regeneración intracortical se hizo evidente, lo cual se vio reflejado en los parámetros histomorfométricos.

Los resultados alcanzados en el presente trabajo permitieron inferir que las placas de CoCrMo estimulan localmente la formación de nuevo hueso e influyen en la mejora de los parámetros histomorfométricos del tejido cortical, lo cual podría interpretarse como una reducción en la progresión de la fragilidad del mismo en un modelo animal osteoporótico.

Independientemente de los resultados encontrados, se considera a este trabajo como el primer reporte del uso de la aleación de CoCrMo para regenerar hueso osteoporótico. Este trabajo constituye un estudio preliminar y se requieren investigaciones adicionales para establecer con mayor precisión su potencialidad. Los análisis futuros deberían comprender estudios morfofuncionales más detallados, mediante pruebas biomecánicas e histomorfométricas. Adicionalmente, se debería investigar el efecto de la colocación de placas de CoCrMo sobre el hueso trabecular.