

Análisis histológico de injertos de cartílago envuelto en gelatina en esponja (Spongostan®) en ratas Wistar: estudio experimental

Dr. José Benjamín Ortiz López,* Dr. Raúl Alfonso Vallarta Rodríguez,*

Dra. Ma. Isabel Lavenant Borja,** Dr. Víctor A Esquivel Chávez***

RESUMEN

La gelatina en esponja Gelfoam® o Spongostan® es un material hemostático poroso, inelástico e insoluble en agua conocido desde hace más de 70 años. Algunos cirujanos usan este biomaterial en rinoplastias para estabilizar los injertos de cartílago sobre el dorso nasal en cirugía estética. Existen publicaciones que apoyan su uso como una matriz condrocitaria con aparente mantenimiento de la viabilidad cartilaginosa; sin embargo, no hay evidencia histológica que apoye esta hipótesis. Realizamos un estudio prospectivo, experimental y comparativo entre cuatro grupos de muestras de cartílago asociado a Spongostan®, obtenidas ocho semanas posteriores a su implantación subcutánea en ratas Wistar para conocer y comparar seis parámetros histológicos determinantes de la viabilidad cartilaginosa. Se evidenció una respuesta fibroblástica laxa en la muestra de cartílago envuelto en Spongostan® de 2.42 veces mayor *versus* cartílago aislado y de 2.17 veces mayor *versus* esponja aislada, viabilidad cartilaginosa del 100% y neoformación cartilaginosa 10.31 veces menor a la del cartílago aislado. Este biomaterial asociado al injerto de cartílago permitió la ausencia de migración del injerto, mantenimiento de la viabilidad cartilaginosa, absorción completa de la gelatina en esponja y mantenimiento de la diferenciación condrocitaria de manera «controlada».

Palabras clave: Injerto de cartílago, viabilidad cartilaginosa, Gelfoam, Spongostan.

SUMMARY

The Gelfoam® or Spongostan® gelatin sponge is a water-insoluble and porous haemostatic medical material that has been used for more than 70 years. Some surgeons use it in rhinoplasties for cartilage graft stability on nasal dorsum. Some articles favour the use of this biomaterial as a cartilage matrix with apparent maintenance of cartilage viability; however, there is no histological supporting evidence. We carried out a prospective and comparative experimental study between four cartilage sample groups associated with Spongostan®, taken eight weeks after subcutaneous implantation in Wistar rats to describe and compare six histological characteristics decisive in cartilage feasibility. We evidenced a loose fibroblastic response in the Spongostan® and cartilage sample 2.42 times higher versus isolate cartilage and 2.17 times higher versus isolated gelatin sponge, 100% cartilage feasibility and cartilage neoformation 10.31 times lower compared to the isolated cartilage. This biomaterial related to the cartilage graft allows: no graft movement, cartilage feasibility maintenance, complete gelatin sponge absorption and maintenance of «controlled» chondrocyte differentiation.

Key words: Cartilage graft, cartilage feasibility, Gelfoam, Spongostan.

* Cirujano Plástico y Reconstructivo de la Fundación Clínica Médica Sur. Hospital Naval de Alta Especialidad, México, D.F.

** Patóloga adscrita al Servicio de Anatomía Patológica de la Fundación Clínica Médica Sur. Hospital Naval de Alta Especialidad, México, D.F.

*** Médico residente de Cirugía Plástica y Reconstructiva en el Hospital Central Sur de Alta Especialidad de PEMEX.

INTRODUCCIÓN

La gelatina en esponja Gelfoam® (Pfizer) o Spongostan® (Johnson & Johnson) es una esponja porosa, inelástica, insoluble en agua y fácilmente moldeable. Este biomaterial es preparado mediante la infusión de derivados de piel porcina purificada, gránulos de gelatina y agua estéril. Su utilización inició en la década de los 40 en el campo de la neurocirugía por Gray y colaboradores, con la finalidad de otorgar un medio físico de contacto en pequeñas superficies y cavidades en el lecho quirúrgico con sangrado en capa, para así favorecer la hemostasia y absorción del exceso de fluido incluso varias veces su propio peso.^{1,2}

Esta esponja hemostática se ha utilizado en México desde hace más de 35 años en rinoplastias con la finalidad de estabilizar los injertos de cartílago sobre el dorso nasal en cirugías estéticas y reconstructivas, con buenos resultados clínicos y sin complicaciones aparentes.³

En la última década se mostró especial atención a la utilización de celulosa oxidizada como medio de contención temporal de los injertos en el dorso nasal, como el caso del llamado «Turkish Delight», popularizado por el doctor Onur Erol, el cual utiliza cartílago picado envuelto en Surgicel® laminar para dar altura y contorno al dorso nasal.⁴ Sin embargo, existe evidencia histológica experimental que indica que mediante esta técnica se incrementa el contenido de colágena, con poco potencial regenerativo y de diferenciación hacia fibrosis del cartílago a largo plazo,⁵ a diferencia de la utilización de fascia parietotemporal descrita por el doctor José Guerrerosantos y su grupo, en 2006, en donde se evidencia viabilidad cartilaginosa y versatilidad de la técnica, aunque es necesario el acceso quirúrgico de esta región.^{6,7}

En 2010, Vallarta y asociados⁸ publicaron su experiencia mediante una revisión retrospectiva de los casos de rinoplastia primaria o secundaria, en donde utilizaron este tipo de biomaterial como envoltura tipo «emparedado» para estabilizar los injertos de cartílago septal machacado sobre el dorso nasal, en donde evidenciaron, mediante evaluaciones fotográficas, el mantenimiento de la altura, longitud y contorno del dorso nasal a largo plazo, así como la plasticidad durante las primeras semanas del postoperatorio; sin embargo, no reporta ninguna caracterización histológica que valide la viabilidad del homoinjerto de cartílago machacado envuelto en gelatina, en esponja o determine sus características.

El objetivo de este estudio fue conocer y comparar seis parámetros histológicos determinantes de la viabilidad cartilaginosa: densidad condrocitaria, reacción a cuerpo extraño, grado de fibrosis, inflamación crónica, vascularización y tasa de reabsorción cartilaginosa.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio prospectivo, experimental y comparativo entre los cuatro grupos de muestras de cartílago obtenidas a las ocho semanas posteriores a su implantación en plano subcutáneo en el lomo de ratas sanas Wistar, de acuerdo con los Códigos de Ética existentes y la NOM-062-ZOO-1999 para el uso de animales y tejidos biológicos en investigación. Se determinó este tiempo de recolección de muestras dado que es el tiempo de absorción completa de la gelatina en esponja y el óptimo para determinar la viabilidad cartilaginosa en estudios experimentales *in vivo*.^{5,9}

Se trabajó en el quirófano para especies menores del bioterio del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de PEMEX con una selección de 12 ratas sanas macho Wistar de 350 ± 50 g de peso bajo apoyo y manejo anestésico general por el veterinario encargado. Previa asepsia y antisepsia, se realizó toma de injerto de cartílago auricular izquierdo (*Figura 1*) y disección de tres bolsillos subcutáneos en la línea media del lomo de la rata, de 0.5×0.5 cm con incisiones intermedias (*Figura 2*) para la colocación de cartílago con leve machacado envuelto en Spongostan® (bolsillo 1), lámina de Spongostan® aislada (bolsillo 2) y cartílago auricular machacado aislado (bolsillo 3) (*Figuras 3 y 4*).

Se realizó el cierre de las heridas con sutura plástica no absorbible (polipropileno 4-0) con toma de fascia dorso-lumbar para asegurar el aislamiento de los bolsillos. Se aplicó además una dosis de antibiótico (penicilina benzaticina 1,200,000 U) y analgésico (metamizol sódico) las primeras 48 horas. Damos seguimiento en la evolución de los modelos experimentales con observaciones bisemanales de las heridas, para descartar datos de dehiscencia, infección, absceso, extrusión del material injertado, enfermedad o muerte, además de vigilancia en su estado general y peso semanal.

Después de ocho semanas se sacrificaron de manera aleatoria nueve modelos animales por medio de sobredosis de anestésico, de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana para el uso de animales y tejidos biológicos en investigación. En esta intervención *post mortem* se realizó una incisión en el flanco izquierdo de cada rata para elevar el colgajo en plano supra aponeurótico y realizar anotaciones y fotografías de las características macroscópicas y posición del material injertado en cada bolsillo (*Figura 5*).

Se realizó la toma de biopsias del material injertado, así como de cartílago auricular fresco como control. Después de la obtención de las muestras se fijaron inmediatamente en formol por 24 horas para procesarse e incluirse en bloques de parafina, de los cuales se realizaron cortes histológicos a $4 \mu\text{m}$ de grosor para proceso de tinción con hematoxilina y eosina (H-E), Masson (M) y ácido peryódico.



Figura 1. Se muestra la técnica quirúrgica de toma del cartílago auricular izquierdo mediante hidrodissección y liberación de la dermis mediante disección fina.



Figura 2. Marcaje preoperatorio para la disección simétrica de los bolsillos subcutáneos receptores de los injertos con incisiones intermedias.

co de Schiff (PAS). La revisión histológica consistió en la evaluación cuantitativa en cinco campos representativos en las tres zonas propuestas (periférica, media y central) de seis variables: 1. Fibroblastos, 2. Capilares, 3. Grado de fibrosis, 4. Células gigantes multinucleadas, 5. Viabilidad cartilaginosa y 6. Neoformación de cartílago, en las tres muestras y el cartílago fresco control.

RESULTADOS

Durante el registro fotográfico del colgajo del modelo experimental fue evidente la movilización del cartílago fresco injertado, comparado con la gelatina en es-



Figura 3. Se observa la preparación del cartílago auricular machacado entre dos láminas de Spongostan®.

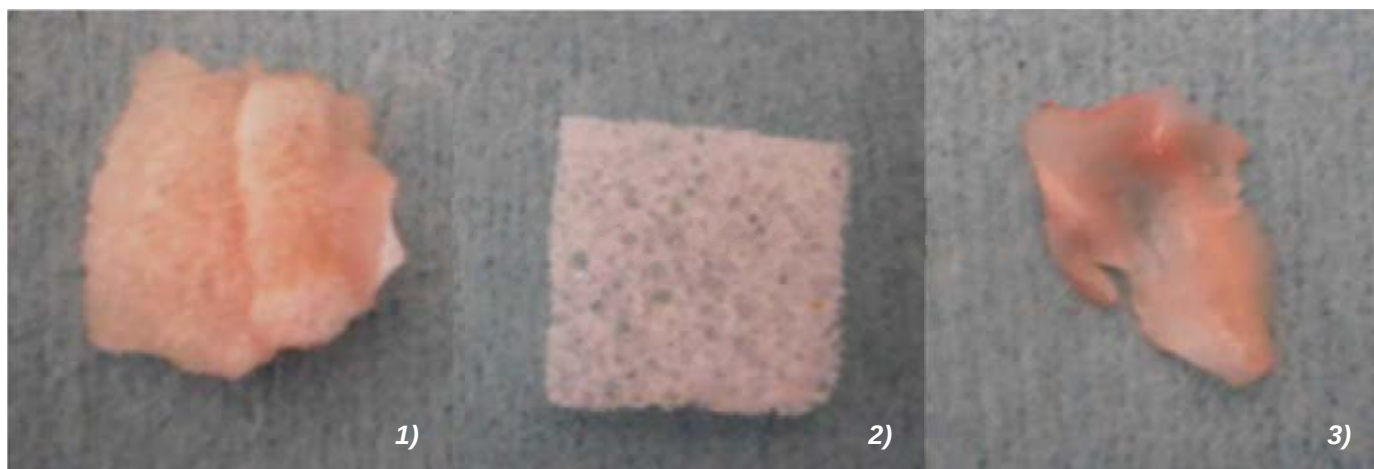


Figura 4. Piezas de cartílago auricular machacado envuelto en Spongostan®: (1) lámina aislada de Spongostan®, (2) cartílago auricular machacado aislado y (3) previo a su colocación subcutánea en los bolsillos correspondientes.



Figura 5. Se muestra la posición del material injertado en los bolsillos 1, 2 y 3 después de ocho semanas en el modelo experimental Wistar post mortem.

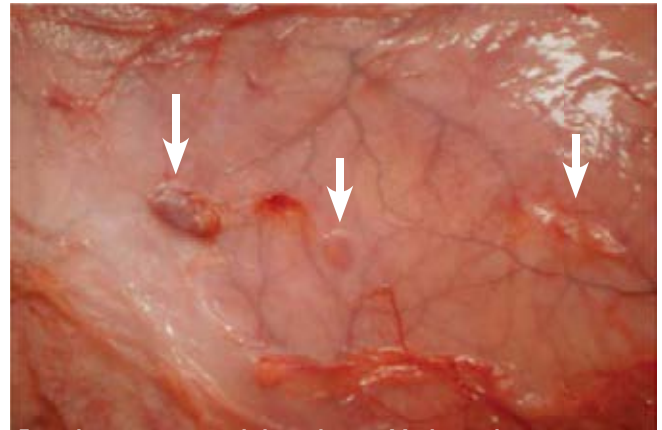


Figura 6. Fotografía in vivo de colgajo del dorso de rata Wistar en donde se evidencian los tres injertos colocados de manera subcutánea ocho semanas antes; es evidente la vascularidad alrededor de cada muestra, así como la permanencia de la posición original de los injertos con la gelatina en esponja y el cartílago envuelto en Spongostan® a la extrema izquierda, comparado con el desplazamiento del cartílago aislado a la derecha de la imagen.

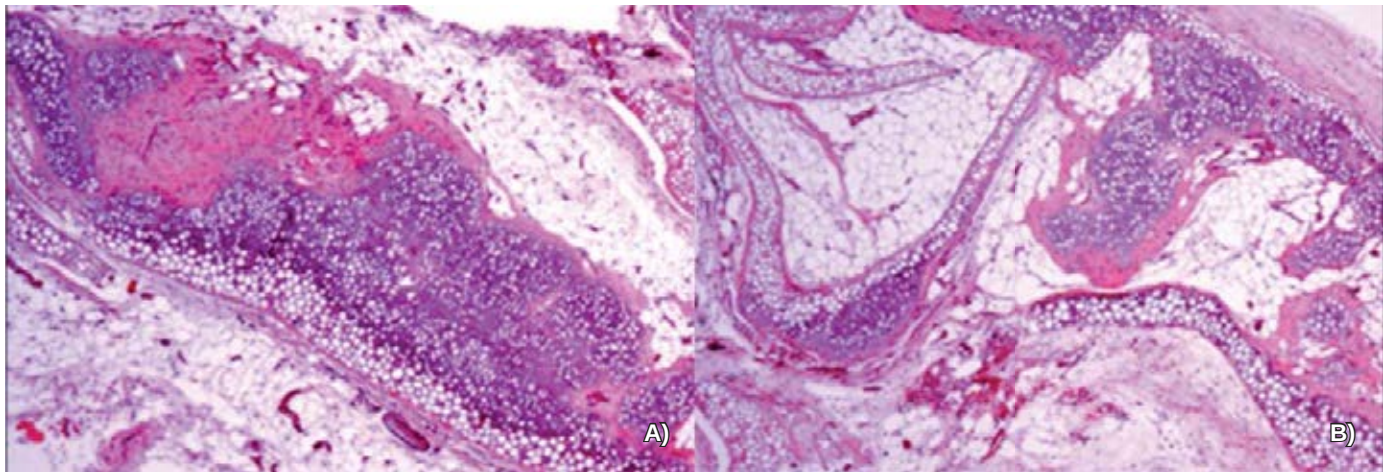


Figura 7. Microfotografías panorámicas que demuestran las tres zonas estudiadas (periferia, zona media y central) de las biopsias a las ocho semanas donde se evidencia la fibrosis laxa alrededor del material injertado, viabilidad cartilaginosa del 100%, neovascularización y potencial de neoformación cartilaginosa (nódulos basofílicos) intensa en la muestra de cartílago aislado (a) y de manera limitada (10.31 veces menor) en el caso del cartílago envuelto en Spongostan® (b).

ponja aislada y el cartílago envuelto en Spongostan® (Figura 6).

En la caracterización histológica de las seis variables propuestas en las tres zonas más importantes del corte microscópico se evidenció en la periferia una respuesta fibroblástica laxa en la muestra de cartílago envuelto en Spongostan®, 2.42 veces mayor de la evidenciada en la muestra de cartílago aislado, y 2.17 veces de la gelatina en esponja aislada, con una viabilidad cartilaginosa del 100% y neoformación cartilaginosa (10.31 veces menor a la evidenciada en la muestra del injerto del cartílago aislado) en la zona central (Figuras 7 y 8).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La caracterización histológica nos permitió destacar varias ventajas. Se logra la contención segura del injerto gracias al efecto velcro de la gelatina en esponja en la fase inicial, y a la capa laxa de fibrosis en la zona periférica del injerto de cartílago en la fase tardía. Se mantiene la viabilidad cartilaginosa sin evidencia de necrosis o de diferenciación fibrosa, en contraste con lo registrado con el Surgicel® en el caso del «Turkish deligth» de Erol por Yilmaz y colaboradores.⁵ Es evidente una reacción leve-moderada a cuerpo extraño sin afectación cartilaginosa.

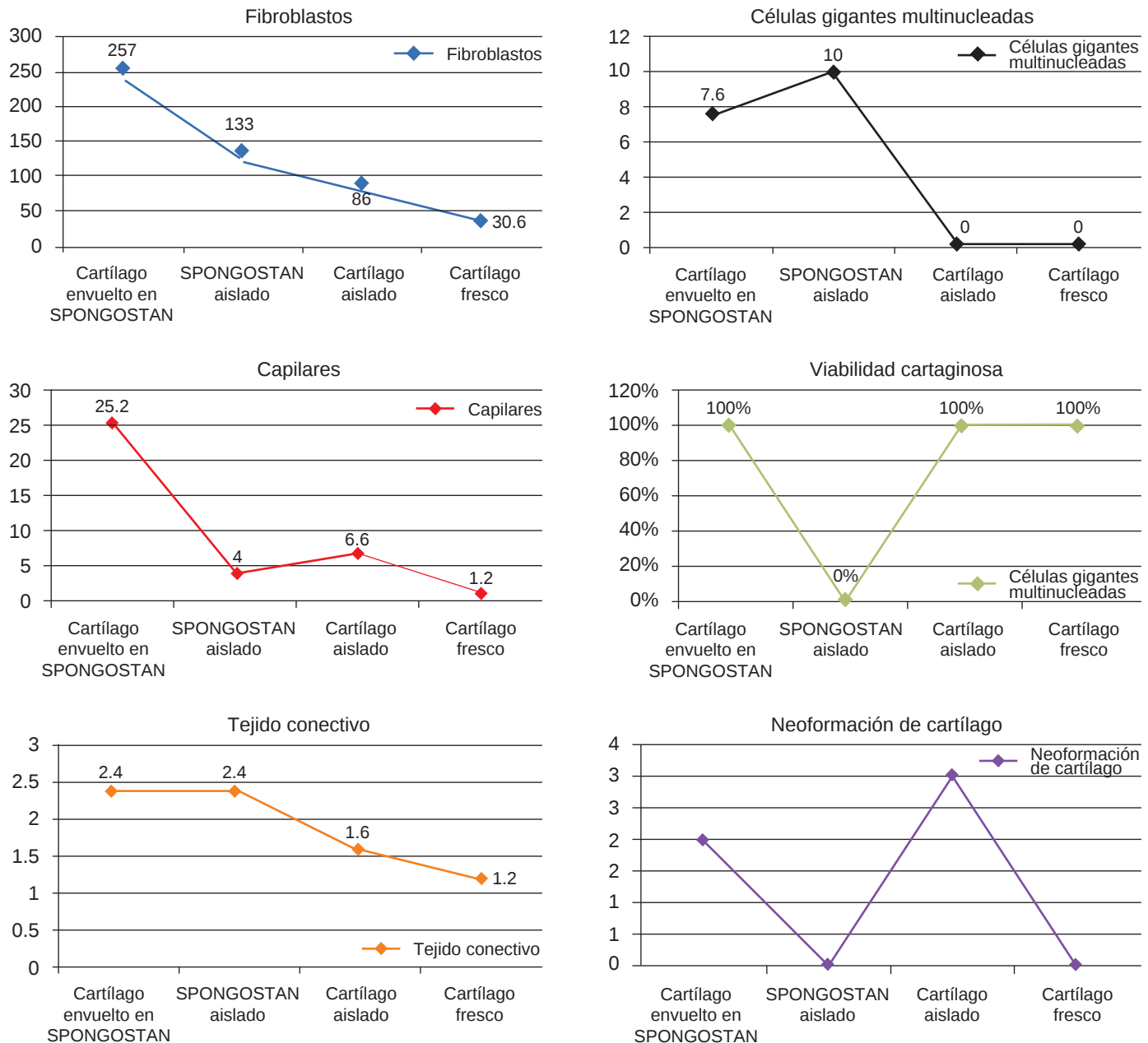


Figura 8. Gráficas que muestran los resultados promedio en los cinco campos de las seis variables estudiadas por histología y que demuestran la gran reacción fibroblástica y capilar periférica asociada al cartílago envuelto en Spongostan®, la viabilidad cartilaginosa del 100% y el potencial de neoformación cartilaginosa a las ocho semanas de su colocación en plano subcutáneo de ratas Wistar.

No existe rastro del biomaterial injertado (Spongostan®) a las ocho semanas, lo cual es evidencia de su reabsorción completa en menos de 8 semanas, que corresponde a lo reportado por el fabricante, y se mantiene el potencial de diferenciación condrocitaria de manera «controlada», al ser 10.21 veces menor que la observada en el injerto de cartílago aislado, lo cual es beneficioso en el caso de la colocación de injertos cartilagosos en el dorso nasal.

REFERENCIAS

- Jenkins HP, Senz EH, Owen H et al. Present status of gelatin sponge for control of hemorrhage. *JAMA* 1946; 132: 614-619.
- Correll JT, Prentice HR, Wise EC. Biologic investigations of a new absorbable sponge. *Surg Gynecol Obstet* 1945; 181: 585-589.
- López IR. *Rinoplastia abierta versus rinoplastia cerrada. Conferencia en la sesión mensual académica de la Asociación Mexicana de Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva*. México, D.F. Agosto de 2011.

4. Erol OO. The Turkish delight: a pliable graft for rhinoplasty. *Plast Reconstr Surg* 2000; 105: 1838-1849.
5. Yilmaz S, Erçögen AR, Can Z et al. Viability of diced, crushed cartilage grafts and the effects of surgicel (oxidized regenerated cellulose) on cartilagegrafts. *Plast Reconstr Surg* 2001; 108: 1054-1060.
6. Guerrerosantos J, Trabanino C, Guerrerosantos F. Multifragmented cartilage wrapped with fascia in augmentation rhinoplasty. *Plast Reconstr Surg* 2006; 117: 804-12.
7. Calvert JW, Brenner K, Daniel RK. Histological analysis of human diced cartilage grafts. *Plast Reconstr Surg* 2006; 118: 230-36.
8. Vallarta RRA, Ortiz LJB, Vázquez AMG. Matriz condrocitaria tridimensional en rinoplastia cerrada. *Cir Plast* 2010; 20(2): 78-86.
9. Zalzal GH, Cotton RT, McAdams AJ. Cartilage grafts: present status. *Head Neck Surg* 1986; 8(5): 363-374.

Dirección para correspondencia:
Dr. José Benjamín Ortiz López
Fundación Clínica Médica Sur
Puente de Piedra Núm. 150,
Torre II, consultorio 418,
Col. Toriello Guerra, 14050,
Tlalpan, México, D.F.
E-mail: ortizjb@gmail.com