

# **Liofilizado de fibrina combinado con injerto óseo autólogo en artrodesis posterolateral. Estudio en conejos de Nueva Zelanda**

Barón Zárate-Kalfópolos, \* Eréndira Estrada-Villaseñor, \*\* Hugo Lecona-Buitrón, \*\*\*  
María de la Luz Arenas-Soto, ° Ana Celia Garza-Hernández, \* Alejandro Reyes-Sánchez<sup>¶</sup>

## Resumen

**Introducción:** Existen diversas estrategias para tratar de aumentar las tasas de consolidación de la artrodesis de columna en presencia de injerto autólogo. Los adhesivos de fibrina tienen aplicaciones múltiples en el campo de la cirugía, aunque existe controversia acerca de su utilidad como reforzadores óseos. El objetivo aquí es determinar la efectividad del liofilizado de fibrina como potenciador óseo en artrodesis posterolateral.

**Material y métodos:** 10 conejos de Nueva Zelanda a los cuales se efectuó artrodesis posterolateral de L5-L6, colocando injerto autólogo del lado izquierdo (segmento control) e injerto autólogo + 1 ml de liofilizado de fibrina (segmento estudio) en el lado derecho. Se realizó eutanasia con resección del bloque lumbar a las ocho semanas del posoperatorio. Los segmentos fueron examinados radiográficamente, por palpación manual y microscopia de luz.

**Resultados:** Se observó artrodesis sólida en 100 % de los segmentos control y únicamente en 60 % de los segmentos estudio. En cuanto al método para determinar artrodesis, no existieron diferencias entre el examen radiográfico, palpación manual y examen histológico. De los cuatro segmentos no fusionados, únicamente en uno (10 %) se encontró fibrocartílago; en los otros tres se observó tejido inflamatorio en el sitio de la artrodesis.

**Conclusiones:** El liofilizado de fibrina no tuvo efecto positivo para lograr artrodesis posterolateral sólida en conejos, por el contrario, su utilización disminuyó de manera significativa la artrodesis sólida, por lo no se recomienda como reforzador óseo.

**Palabras clave:** Artrodesis de columna, liofilizado de fibrina, potenciador óseo, injerto óseo.

## Summary

**Background:** Currently there are different strategies to increase the fusion rate in spine surgery in the presence of autologous bone graft. The use of fibrin glue has multiple applications in surgery, but there is controversy about the use of fibrin glue as a bone enhancer.

**Methods:** The purpose of the study was to determinate the effectiveness of fibrin glue as a bone enhancer in posterolateral arthrodesis in New Zealand rabbits. Posterolateral arthrodesis was done in ten New Zealand rabbits at the level of L5-L6 using autologous bone graft in the right side (control side) and autologous bone graft plus fibrin glue in the left side (study side). The rabbits were harvested at 8 weeks, obtaining the lumbar spine for radiological, manual palpation and light microscopic analysis.

**Results:** Solid arthrodesis was obtained in 100 % of the controls and in only 60 % of the study animals. There were no differences among methods for determination of solid arthrodesis whether by radiological, manual palpation or light microscopic analysis. In 40 % of non-unions, only in one (10 %) was fibrocartilage obtained. In the remaining 30 %, only inflammatory cells were obtained in the gap between the transverse process.

**Conclusions:** Fibrin glue does not have a positive effect in the success of solid fusion in posterolateral arthrodesis in rabbits. The use of fibrin glue significantly decreased the rate of solid fusion; therefore, we do not recommend its use as a bone enhancer.

**Key words:** Spinal fusion, fibrin glue, bone enhancer, bone graft.

## Introducción

En cirugía de columna se realizan procedimientos quirúrgicos en los que se coloca injerto óseo.<sup>1</sup> El injerto autólogo de hueso esponjoso representa el estándar de oro,<sup>2</sup> pues tiene propiedades osteogénicas, osteoconductivas y osteoinductivas.<sup>3</sup> Sin embargo, en artrodesis posterolateral se asocia con no unión en 50 % de los casos sin instrumentación y en 10 a 15 % de aquellos con instrumentación.<sup>4</sup> Otros inconvenientes es que el injerto autólogo se encuentra en cantidades limitadas, existe morbilidad asociada

\* Residente de posgrado en Cirugía de Columna Vertebral.

\*\* Servicio de Anatomía Patológica.

\*\*\* Jefe del Servicio de Bioterio.

° Servicio de Genética.

¶ Jefe de la División de Cirugía Especial.

Instituto Nacional de Rehabilitación

Solicitud de sobretiros:

Alejandro Reyes-Sánchez, Instituto Nacional de Rehabilitación, Calzada México-Xochimilco 289, Col. Arenal de Guadalupe, 14389 México, D. F. Tel.: 5999 1000, extensión 12511. E-mail: alereyes@inr.gob.mx

Recibido para publicación: 20-10-2006

Aceptado para publicación: 04-12-2006

con la obtención del injerto y aumento de los costos con su uso.<sup>5</sup> Por ello, se han ideado estrategias para tratar de aumentar las tasas de consolidación ósea en presencia de injerto óseo autólogo; a los materiales con potencial generador de hueso se les conoce como extensores y potenciadores óseos.<sup>6</sup>

La primera utilidad clínica de los adhesivos de fibrina fue para reparación de nervios periféricos. Desde entonces se han convertido en sustancias de fácil adquisición y su empleo se ha extendido a múltiples campos de la cirugía. Su utilización en ortopedia incluye la reparación de defectos osteocondrales, como agentes hemostáticos y potenciadores óseos.<sup>7</sup> Existe controversia acerca del uso del liofilizado de fibrina como potenciador óseo, con argumentos a favor<sup>8-14</sup> y en contra.<sup>15-18</sup> Entre algunos cirujanos de columna es una práctica común utilizar liofilizado de fibrina en artrodesis posterolateral, en el entendimiento de que mantiene el injerto en su lugar y favorece el proceso de consolidación ósea, actuando como agente osteoconductor y osteoinductor.<sup>18</sup>

Las características del liofilizado de fibrina para que pudieran constituirlo como reforzador óseo son su efecto estimulador de células mesenquimatosas, efecto angiotrópico y prevención de migración del injerto.<sup>19</sup>

El objetivo del presente estudio es valorar la utilidad del liofilizado de fibrina como potenciador óseo en la artrodesis posterolateral, utilizando un modelo experimental validado en conejos de Nueva Zelanda.<sup>20</sup>

## Material y métodos

**Artrodesis posterolateral L5-L6.** Se utilizaron 10 conejos de Nueva Zelanda con peso entre 3.5 y 4.5 kg. Anestesia general con inyección subcutánea de ketamina (35 mg/kg) y xylazina (18 mg/kg). Se rasuró zona quirúrgica y realizó asepsia y antisepsia con isodine espuma. Incisiones de 2 cm a nivel de ambas crestas ilíacas posterosuperiores, incisión de fascia, disección subperióstica de las crestas ilíacas y obtención de 2 cm<sup>3</sup> de injerto autólogo de hueso esponjoso. Incisión en la línea media a nivel de L5-L6, dos incisiones paramediales de la fascia, disección del plano entre el *multifidus* y el *longissimus* del dorso, localización de apófisis transversas, decorticación de apófisis transversas utilizando fresa neumática (Midas Rex® Medtronic). Colocación de injerto autólogo adicionado con 1 ml de liofilizado de fibrina (Beriplas®) en el lado derecho de la artrodesis (segmento estudio) y colocación de injerto autólogo solo en el lado izquierdo (segmento control). Cierre de las heridas con sutura absorbible (Poliglactina 910) de 2-0 en fascia y monofilamento de nailon de 3-0 en la piel.

Los conejos realizaron actividades libres en su jaula durante las siguientes ocho semanas hasta el momento de la eutanasia, que se llevó a cabo mediante administración de fenobarbital intravenoso. Se realizó resección del bloque lumbar mediante abordaje anterior.

**Ánálisis radiográfico.** Se obtuvieron radiografías posteroanteriores y laterales a las ocho semanas del posoperatorio, con una distancia tubo-chasis de 90 cm; fueron evaluadas por los autores del estudio de manera ciega y se establecieron dos criterios: artrodesis sólida y no sólida, con base en la presencia de patrón trabecular continuo entre las apófisis transversas.

**Palpación manual.** Posterior a la obtención del bloque lumbar se realizó análisis macroscópico del segmento fusionado y palpación entre las apófisis transversas del segmento fusionado y un nivel por arriba y por abajo del mismo, con lo cual se simula la exploración de la fusión mediante palpación en humanos, estándar de oro para distinguir artrodesis sólidas de no uniones. Cada segmento fue valorado y se establecieron criterios de fusión sólida y no sólida. Únicamente los niveles considerados como sólidos fueron considerados artrodesados.

**Ánálisis por microscopía de luz.** Una vez obtenidos los segmentos lumbares se fijaron con formol durante 24 horas, se realizaron cortes sagitales y fijaron durante una semana más con etanol a 70%; posteriormente las muestras se deshidrataron en soluciones de etanol a 95 y 100%. Una vez que las muestras se descalcificaron, se realizaron cortes de 5 µm y se tiñeron las muestras con hematoxilina-eosina. Se estableció criterio de artrodesis con base en la continuidad del patrón trabecular entre apófisis transversas y apófisis transversas del segmento artrodesado.

**Ánálisis estadístico.** Se realizó con el programa SPSS 6.1.3 (SPSS Inc., Chicago, IL). La presencia de artrodesis se determinó con  $\chi^2$  cuando se llevó a cabo palpación manual y estudios radiográficos.

## Resultados

**Técnica quirúrgica.** Un conejo presentó exudado a través de la herida quirúrgica durante la primera semana del posoperatorio, que cedió de manera espontánea al tercer día, por lo que la morbilidad fue de 10%. No existió mortalidad perioperatoria.

**Ánálisis radiográfico.** A las ocho semanas se observó consolidación radiográfica en 100% de los segmentos del lado izquierdo (controles), contra 60% del lado derecho de la artrodesis (de estudio).

**Palpación manual.** Se establecieron criterios de no movilidad en 100% de los segmentos izquierdos y de movilidad en 60% de los derechos (figuras 1 y 2).

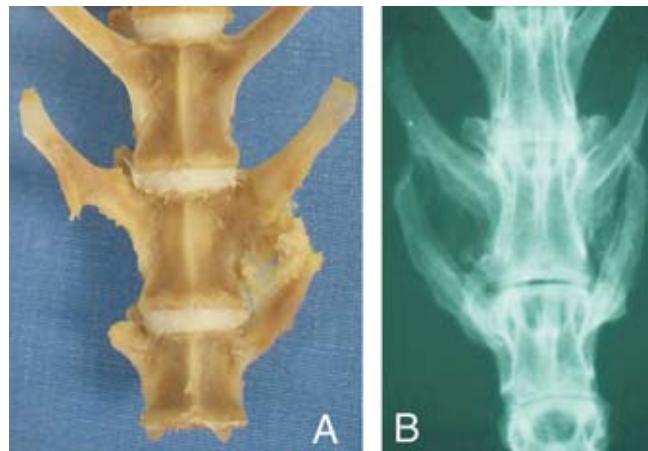
**Ánálisis histológico.** Se observó continuidad ósea entre las apófisis transversas con patrón trabecular intercalado y hueso de características normales en 100% de los segmentos derecho de la artrodesis y únicamente en 60% de los izquierdos. Entre los que no se observó formación ósea, en un caso (10%) hubo formación de tejido fibrocartilaginoso y en tres (30%) únicamente tejido fibroso (figura 3, cuadro I).

**Ánálisis estadístico:** Se obtuvo diferencia estadísticamente significativa con  $\chi^2$  entre ambos grupos comparando la artrodesis contra la no unión, con p de 0.0001.



**Figura 1.** Conejo 6.

- A) Muestra macroscópica con técnica de osteoconservación.  
 B) Análisis radiográfico de la muestra. Se observa consolidación en ambos lados de la artrodesis.



**Figura 2.** Conejo 4.

- A) Muestra macroscópica con técnica de osteoconservación.  
 B) Análisis radiográfico de la muestra. Únicamente se observa consolidación del lado izquierdo de la muestra, sitio donde se colocó injerto autólogo (control). No hay datos de formación ósea en el lado derecho (estudio).

## Discusión

A principios del siglo pasado, el liofilizado de fibrina se utilizó sólo para restablecer la hemostasia. En 1940, Young y Medawar combinaron la trombina con fibrinógeno obtenido del plasma para producir el primer adhesivo biológico, el cual se empleó en microcirugía vascular.<sup>21</sup> Desde entonces, los avances científicos y tecnológicos han permitido aumentar las propiedades elásticas, adhesivas, tensiles y de resistencia del liofilizado de fibrina; en la

actualidad, el liofilizado de fibrina tiene concentraciones ricas en plaquetas y fibrinógeno.<sup>22</sup> Inicialmente su empleo en cirugía ortopédica se limitó como agente hemostático, sin embargo, se han llevado a cabo estudios que tratan de determinar su utilidad como reforzador óseo, debido al efecto angiotrópico de la fibrina, a su capacidad para estimular las células mesenquimatosas<sup>21</sup> y a sus propiedades adhesivas que evitan la migración del injerto.<sup>18</sup>

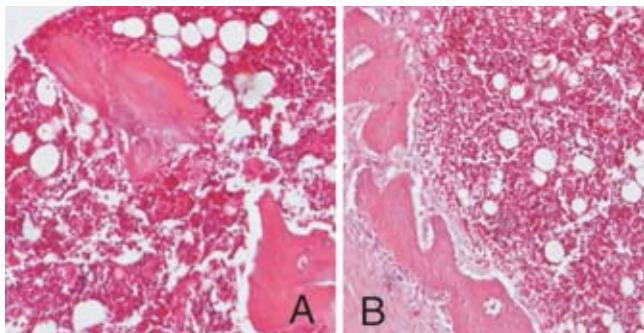
Existe controversia acerca de si el liofilizado de fibrina favorece la consolidación ósea, con argumentos en favor y en contra.

**Cuadro I.** Resultados de la consolidación de artrodesis posterolateral en 10 conejos de Nueva Zelanda

Conejo Número	Examen radiográfico a las 8 semanas		Palpación manual		Análisis histológico	
	Segmento		Segmento		Segmento	
	Control (izquierdo)	Estudio (derecho)	Control (izquierdo)	Estudio (derecho)	Control (izquierdo)	Estudio (derecho)
1	Sólida	No sólida	Sólida	No sólida	Consolidación ósea	Fibrosis
2	Sólida	Sólida	Sólida	Sólida	Consolidación ósea	Consolidación ósea
3	Sólida	No sólida	Sólida	No sólida	Consolidación ósea	Fibrosis
4	Sólida	No sólida	Sólida	No sólida	Consolidación ósea	Fibrosis
5	Sólida	Sólida	Sólida	Sólida	Consolidación ósea	Consolidación ósea
6	Sólida	No sólida	Sólida	No sólida	Consolidación ósea	Fibrocartílago
7	Sólida	Sólida	Sólida	Sólida	Consolidación ósea	Consolidación ósea
8	Sólida	Sólida	Sólida	Sólida	Consolidación ósea	Consolidación ósea
9	Sólida	Sólida	Sólida	Sólida	Consolidación ósea	Consolidación ósea
10	Sólida	Sólida	Sólida	Sólida	Consolidación ósea	Consolidación ósea

Segmento control (lado izquierdo) = injerto autólogo solo

Segmento estudio (lado derecho) = injerto autólogo + 1 ml de liofilizado de fibrina



**Figura 3.** Los segmentos con liofilizado (A) y sin liofilizado (B) tienen características histológicas semejantes. Se observan zonas de consolidación y datos histológicos característicos de hueso esponjoso. Tejido adiposo que alterna con elementos hematopoyéticos en el espacio intertrabecular. Adyacentes a estas zonas hay trabéculas óseas que muestran osteocitos.

Jin-Young y colaboradores investigaron el efecto del plasma rico en plaquetas más liofilizado de fibrina como reforzador óseo en un defecto mandibular en perros; realizaron biopsias y estudios radiográficos a las seis semanas y concluyeron que las redes de fibrina formadas por el fibrinógeno en combinación con factores de crecimiento presentes en la combinación plasma rico en plaquetas y liofilizado de fibrina, estimula la formación de hueso en la zona de colocación de injerto.<sup>10</sup>

También el liofilizado de fibrina se ha utilizado como andamio biológico para el desarrollo celular en técnicas de ingeniería de tejidos óseos.<sup>23</sup> Shi-Jiang y colaboradores compararon el uso de plasma rico en plaquetas y plasma rico en plaquetas más liofilizado de fibrina como reforzadores óseos en tejido subcutáneo. Utilizaron células mesenquimatosas obtenidas de la médula ósea más proteínas morfogenéticas del hueso (BMP) y las mezclaron con plasma rico en plaquetas (PRP) o plasma rico en plaquetas con liofilizado de fibrina. A los doce semanas observaron que los volúmenes de nódulos subcutáneos fueron mayores con PRP + liofilizado de fibrina ( $135 \pm 25$  mm) que cuando sólo se utilizó plasma rico en plaquetas ( $55 \pm 18$  mm). Con lo que concluyeron que en la ingeniería de tejidos óseos, las características osteogénicas del complejo plasma rico en plaquetas + liofilizado de fibrina es superior que el plasma rico en plaquetas solo.<sup>24</sup>

Existen también estudios que están en contra de la utilización del liofilizado de fibrina como reforzador óseo. Jarzem y colaboradores realizaron un estudio en un modelo animal (perros) donde compararon el aloinjerto con liofilizado de fibrina con aloinjerto en artrodesis posterolateral L5-L6. Observaron menores tasas de consolidación en el lado donde se colocó liofilizado de fibrina por lo que concluyeron que el adhesivo de fibrina retarda de manera significativa la consolidación del aloinjerto de la artrodesis posterolateral L5-L6 en perros.<sup>18</sup>

Hasta nuestro mejor conocimiento, no se ha realizado un estudio en el conejo de Nueva Zelanda donde se utilice liofilizado

de fibrina con autoinjerto óseo obtenido de la cresta ilíaca. Éste es un modelo animal validado que tiene las características de proveer un ambiente y tasas de consolidación similares a las obtenidas en el humano, por lo que se consideró necesaria la realización del presente estudio. Lo que se pudo observar en esta serie de 10 conejos es que cuando se utiliza el liofilizado de fibrina en combinación con injerto autólogo, se obtienen tasas de consolidación significativamente menores ( $p < 0.0001$ ) que cuando se utiliza el injerto autólogo solo. Además, en los casos en lo que se obtuvo consolidación bilateral no se observaron diferencias en la cantidad o calidad de hueso de manera macroscópica e histológica, por lo que su uso en este modelo experimental no brinda ninguna ventaja. Debido a que el liofilizado de fibrina es un agente adhesivo, tiene propiedades impermeables que pueden impedir el reclutamiento celular de factores de crecimiento y células madre osteoprogenitoras, elementos necesarios para la consolidación ósea. Por lo que con base en el desarrollo experimental de este trabajo no recomendamos la utilización del liofilizado de fibrina como reforzador óseo; su utilización puede afectar de manera negativa el proceso de consolidación ósea, lo que se traduce en menores tasas de consolidación de la artrodesis y produce un mayor costo del procedimiento quirúrgico.

## Conclusiones

La combinación de injerto autólogo y liofilizado de fibrina se traduce en menores tasas de consolidación de la artrodesis posterolateral en conejos de Nueva Zelanda, en comparación con la utilización de injerto autólogo de cresta ilíaca solo.

El liofilizado de fibrina puede tener efectos negativos en el proceso de consolidación ósea, por lo que no se recomienda como potenciador óseo.

## Referencias

1. Sandhu HS, et al. Bone grafting for spinal fusion. *Orthop Clin North Am* 1999;30:658-698.
2. Gazdag AR, Lane JM, Glaser D, Forster RA. Alternatives to autogenous bone graft: efficacy and indications. *J Am Acad Orthop Surg* 1995;3:1-8.
3. Boden S. Overview of the biology of lumbar spine fusion and principles in selecting a bone graft substitute. *Spine* 2002;27:26-31.
4. Greenwald S, Boden S, Goldberg V, Khan Y, Laurencin C. Bone graft substitutes: facts, fictions and applications. *J Bone Joint Surg* 2001;83:S98-103.
5. Whan PG, Wang JC. Bone graft substitutes for spinal fusion. *Spine J* 2003;3:155-165.
6. Zárate-Kalfópulos B, Reyes-Sánchez A. Injertos óseos en cirugía ortopédica. *Cir Ciruj* 2006;74:217-222.
7. Miyamoto S, Takaoka K, Okasda T, Yoshikawa H, Hashimoto J, Suzuki S, Ono K. Evaluation of poly(lactic acid) homopolymers as carriers for bone morphogenetic protein. *Clin Orthop Relat Res* 1992;278:274-285.
8. Meyers MH, Herron M. A fibrin adhesive seal for the repair of osteochondral fracture fragments. *Clin Orthop Relat Res* 1984;258-263.
9. Geiger M, Li RH, Friess W. Collagen sponges for bone regeneration with rhBMP-2. *Adv Drug Deliv Rev* 2003;55:1613-1629.

10. Jin-Young H, Byung-Ho C, Shi-Jiang Z, et al. The effect of platelet-enriched fibrin glue on bone regeneration in autogenous bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101:426-431.
11. Ono K, Shikata J, Shimizu K, et al. Bone-fibrin mixture in spinal surgery. *Clin Orthop* 1992;133-139.
12. Brennan M. Fibrin glue. *Blood Rev* 1991;5:240-244.
13. Okubo Y, Bessho K, Fujimara K, et al. Expression of bone morphogenetic protein in the course of osteoinduction by recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Clin Oral Implants Res* 2002;13:80-85.
14. Reyes-Sánchez A, Hernández O, Rosales LM, Miramontes V, Alpízar A. Fibrin lyophilized's efficiency and security in the posterolateral spine fusion. *Columna* 2005;4:33-36.
15. Albrektsson T, Bach A, Edshage S, et al. Fibrin adhesive system (FAS) influence on bone healing rate: a microradiographical evaluation using the bone growth chamber. *Acta Orthop Scand* 1982;53:757-763.
16. Turgut M, Erkut M, Tavus N. The effect of fibrin adhesive (Tisseel) on interbody allograft fusion: an experimental study in cats. *Acta Neurochir (Wien)* 1999;141:273-278.
17. Pinholt EM, Solheim E, Bang G, et al. Bone induction by composites of biresorbable carriers and demineralized bone in rats: a comparative study of fibrin-collagen paste, fibrin sealant and polyorthoester with gentamicin. *J Oral Maxillofac Surg* 1992;50:1300-1304.
18. Jarzem P, Harvey EJ, Shenker R, et al. The effect of fibrin sealant on spinal fusions using allograft in dogs. *Spine* 1996;21:1307-1312.
19. Abramam S, Varma HK, Umashankar P, John A. Fibrin glue as an osteoinductive protein in a mouse model. *Biomaterials* 2002;23:3023-3031.
20. Boden S, Schimandle J, Hutton W. An experimental lumbar intertransverse process spinal fusion model. *Spine* 1995;4:412-420.
21. Young JZ, Medawar PB. Fibrin suture of peripheral nerves. *Lancet* 1940;1:126-130.
22. Thorn JJ, Sorensen H, Wis-Fogh U, Andersen M. Autologous fibrin glue with growth factors in reconstructive maxillofacial surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004;33:95-100.
23. Shi-Jiang Z, Byung-Ho C, Jae-Hyung J, et al. A comparative histologic analysis of tissue-engineered bone using platelet-rich plasma and platelet-enriched fibrin glue. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102:157-159.
24. Shi-Jiang Z, Byung-Ho C, Jae-Hyung J, et al. A comparative histologic analysis of tissue-engineered bone using platelet-rich plasma and platelet-enriched fibrin glue. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102:157-159.