

# Acta Ortopédica Mexicana

Volumen  
*Volume* 16

Número  
*Number* 4

Julio-Agosto  
*July-August* 2002

*Artículo:*

## Alternativas para obtener un injerto óseo

Derechos reservados, Copyright © 2002:  
Sociedad Mexicana de Ortopedia, AC

Otras secciones de  
este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

*Others sections in  
this web site:*

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



Medigraphic.com

## Procedimientos, técnicas y comunicaciones en injerto óseo, investigación e información en ortopedia

### Alternativas para obtener un injerto óseo

M. en C. Sara Rojas Dotor,\* Dr. en C Víctor Manuel Domínguez Hernández\*\*

Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI-IMSS, Ciudad de México.  
Centro Nacional de Rehabilitación, Ciudad de México.

**SUMMARY.** One of the biggest problems in orthopedics is the reconstruction of bony defects after infections, trauma or block resection of bone tumors, since bone allografts availability is limited. For that reason, alternatives to obtain a viable bone graft are studied: 1) cultured *in vitro* bone cells (osteoblasts) as their osteoinduction and biocompatibility characteristics, make them an attractive option, 2) human recombinant bone morphoprotein-2 (rhMBP-2), that is useful for reconstruction big segments, 3) growth factors (IGF I y II, TGF- $\beta$ , FGFa,b, PDGF and BMP) have a potential to increase bone mass, however their role in bone remodeling and their capacity to increase bone mineral density are still unknown. Additionally, they can form neoplasms, if they are not managed appropriately, 4) the frozen and demineralized bone reduces the immune response and favor osteoinduction, 5) autologous cancellous bone, is considered the ideal graft, since it provides osteoprogenitor cells (osteoblasts) with appropriate biomechanical strength. However, their availability is limited and, 6) cytokines produced by osteoblasts (IL-1, IL-6) that participate in the bony formation and resorption; as well as cytokines produced by osteoclasts (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , INF- $\gamma$  and annexin II) that maintain hematopoiesis and normal immune function. Biomechanical properties of bone grafts are analyzed, as well as the experimental animal models that are used to evaluate them.

**Key words:** bony cell culture, graft, osteoconductivity.

Resumen en Español al final

El hueso es un órgano en constante cambio con capacidad de crecimiento, remodelación y reparación. Estas funciones se realizan principalmente por tres tipos de células: osteoblastos (activos en la formación de la matriz ósea), osteocitos (participan en las funciones metabólicas) y osteoclastos (funcionan en la resorción ósea).<sup>41</sup>

La formación de hueso resulta de un proceso complejo que incluye proliferación de células del mesénquima, maduración a osteoblastos, formación de matriz orgánica (compuesta principalmente de fibras de colágena, proteoglicanos, factores de crecimiento, proteínas no colágenas como la osteocalcina, osteopontina, sialoproteínas etc.) y finalmente la mineralización de la matriz caracterizada por depósitos de cristales de hidroxiapatita.<sup>9,14,23,27,59,73</sup>

Para profundizar en la estructura y funcionamiento del hueso se han utilizado diferentes métodos experimentales en los que destacan: estudios ultraestructurales, histológicos, radioactivos, morfológicos, bioquímicos, biofísicos, microscopía electrónica y de luz etc. Estas técnicas también se han usado para estudiar las propiedades de las células óseas en cultivo, y para confirmar los diferentes eventos que transcurren en la formación del hueso.<sup>2,35,36,40,52,74</sup>

Biderman y McCulloch,<sup>22,68</sup> proponen que en condiciones de cultivo es importante reconocer el fenotipo que caracteriza a los osteoblastos, el que se identifica por su capacidad para las siguientes funciones: 1) formar una matriz de colágena mineralizada bien definida, compuesta principalmente de colágena tipo I e hidroxiapatita, 2) regular los procesos de remodelación por medio de síntesis de hormonas locales como las prostaglandinas; moléculas específicas como la osteocalcina; y por enzimas colagenasa y fosfatasa alcalina, 3) responder a las hormonas como la HPT (hormona paratiroides) y esteroides (testosterona); metabolitos de la vitamina D y proteoglicanos, 4) responder a la estimulación mecánica<sup>22,68</sup> y 5) se han realizado numerosas investigaciones en cultivos de osteoblastos para determinar proliferación celular, producción de matriz orgánica y mineralización.<sup>45,60,70</sup>

**Modelos en cultivos celulares.** Tenenbaum y col.<sup>26</sup> desarrollaron un modelo para demostrar que la mineraliza-

\* Unidad de Investigación Médica. Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI-IMSS.

\*\* Laboratorio de Biomecánica. Centro Nacional de Rehabilitación-Ortopedia Secretaría de Salud.

Dirección para correspondencia:

M. en C. Sara Rojas Dotor. México, D.F., C.P. 03020. México. Tel. y Fax. (525) 627-69-43 y 59-99-10-00. Ext. 16167, 16166.

E-mail: srdotor@yahoo.com.mx

ción ósea formada en cultivos de periostio de pollo es idéntico al formado *in vivo*. Realizaron estudios ultraestructurales encontrando un extenso retículo endoplásmico rugoso, un notable aparato de Golgi, núcleo polarizado y morfología cuboidal que son características clásicas de los osteoblastos. Los cultivos mostraron la mineralización a los seis días que, por difracción electrónica, se comprobó que eran cristales de hidroxiapatita.<sup>8</sup>

Tsujit y Chavassieux<sup>4,5</sup> realizaron cultivos con formación ósea a base de osteoblastos. Para afirmar que estas células fueron las empleadas se determinó: fosfatasa alcalina, colágena tipo I y osteocalcina.

Aronow y col.<sup>28</sup> sugieren que la formación de matriz colágena depende del ácido ascórbico y demostraron que es esencial para la formación de tejido óseo *in vitro*. En cultivos de osteoblastos de embriones de pollo, observaron la mineralización a los 15 días. Posteriormente este hallazgo fue confirmado por Stein, Kassem, y Ecarot-Charrier<sup>6,18,49</sup> que también desarrollaron el proceso de mineralización en presencia de ácido ascórbico y betaglicerolfosfato, en un tiempo de 18 días, en cultivos de cráneo de rata, ratón y embriones de pollo. Asimismo, Bellows<sup>58</sup> obtuvo nódulos mineralizados en cultivos de médula ósea humana en 17 días, mientras que Gestenferd y col.<sup>61</sup> y Oshiro y col.<sup>54</sup> redujeron el período de mineralización a 12 y 10 días respectivamente en cultivos de cráneo de ratón y rata. Los resultados de los experimentos realizados en presencia de sustancias como andrógenos, fluoruro de sodio y concentraciones elevadas de calcio, sugieren que pueden ser mitógenos en cultivos de osteoblastos humanos, de ratón y de monocitos.<sup>32,47,53,69</sup>

Estudios histoquímicos y morfológicos demostraron que los proteoglicanos (PG) también están involucrados en el proceso de mineralización *in vivo*;<sup>53</sup> mientras Nefussi y col.<sup>30</sup> encontraron que los osteoblastos en medio de cultivo sintetizan proteoglicanos en forma de filamentos densos entre las fibras de colágena.

**Mecanismos regulatorios.** Todos los eventos que ocurren en la formación ósea están regulados por citocinas y factores de crecimiento.<sup>10,16,25,31,37</sup> Un número de factores de crecimiento fueron aislados y caracterizados de extractos de hueso, identificados como: factor de crecimiento semejante a la insulina (IGF I y II), factor de crecimiento transformante beta (TGF-β), factor de crecimiento fibroblástico ácido y básico (FGF a, b), factor de crecimiento derivado de plaqueta (PDGF) y proteínas morfogenéticas del hueso (BMP). En general, los factores de crecimiento tienen diferentes funciones biológicas como actividad mitogénica, diferenciación quimiostática y actividad osteolítica.<sup>11</sup>

Las citocinas producidas por osteoblastos incluyen interleucina 1 (IL-1), IL-6, IL-11 regulan la formación y resorción ósea, adicionalmente estos factores pueden tener su principal impacto en la función del sistema inmune, crecimiento celular y en la hematopoyesis (*Cuadro 1*).<sup>64</sup> Las citocinas producidas por osteoclastos son IL-6, factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α), IL-1β, TGF-β, anexina II,

**Cuadro 1. Factores producidos por osteoblastos.**

Factor	Efectos sobre la hematopoyesis
GM-CSF	Aumenta la hematopoyesis
G-CSF	Aumenta la granulopoyesis
M-CSF	Aumenta el crecimiento de precursores de macrófagos
SCF	Aumenta la sobrevivencia de células stem hematopoyéticas
EGF	Aumenta el crecimiento de fibroblastos
LIF	Induce la maduración de megacariocitos
HGF	Aumenta la eritropoyesis
TNF-α	Inhibe la eritropoyesis
PDGF	Aumenta el crecimiento de fibroblastos
TGF-β	Inhibe la hematopoyesis
IL-8	Activa los neutrófilos
IL-6	Incrementa la producción de plaquetas
IL-11	Incrementa el crecimiento de CFU-GM
IL-18	Induce la producción de las células T de GM-CSF
IGF	Aumenta la eritropoyesis
Ligando	
RANK	Aumenta la capacidad de las células dendríticas para estimular el crecimiento de células T.
GM-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos,
G-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos,
EGF	Factor de crecimiento epidermal,
LIF	Factor inhibidor de leucemia,
HGF	Factor de crecimiento de hepatocitos,
IGF	Factor de crecimiento semejante a la insulina,
TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa,
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas,
IL	Interleucina,
TGF-β	Factor de crecimiento transformante beta,
RANK	Activador del receptor NF <sub>κ</sub> B,
SCF	Factor celular stem.

**Cuadro 2. Factores producidos por osteoclastos.**

Factor	Efectos en la hematopoyesis
IL-1	Aumenta el crecimiento de las células stem hematopoyéticas
IL-6	Aumenta la megacariopoyesis
Anexina II	Induce la producción de GM-CSF por células estromales y células T
MIP-1α	Inhibe la hematopoyesis
TNF-α	Inhibe la eritropoyesis
INF-γ	Inhibe el crecimiento de CFU-GM
CFU-GM	Unidad formadora de colonias de granulocitos macrófagos,
GM-CSF	Factor estimulante de granulocitos macrófagos,
INF-γ	Interferón gamma,
IL	Interleucina,
MIP-1α	Proteína inflamatoria de macrófagos uno alfa,
TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa.

IFN-γ, proteína inflamatoria de macrófagos (MIP-1α) (*Cuadro 2*). La interacción paracrína entre las células del esqueleto y otras células en el ambiente óseo, juega un papel crítico para mantener la hematopoyesis normal y la función celular inmune.<sup>1,44</sup>

Estudios en los cuales se examinaron los mecanismos de estimulación de formación ósea por prostaglandinas (PGE) y hormona paratiroides (PTH) *in vivo* y su inhibición por glucocorticoides, señalan el control de la apoptosis de osteoblastos como un posible mecanismo regulatorio. La formación ósea inducida por PGE1 y PGE2 incrementa el ci-

clo de adenosin monofosfato (AMPc) en células osteoblásicas *in vitro*, sin embargo, no son mitógenas. El PGF2a, el cual es mitogénico *in vitro*, no estimula la formación ósea *in vivo*. Experimentos con células obtenidas de periostio muestran que PGE actúa vía AMPc suprimiendo la apoptosis por estimulación de la esfingocina-1 cinasa e incrementa los niveles de esfingosina-1-fosfatasa.<sup>15</sup> En el caso de PTH, un potente agente anabólico óseo, la estimulación de formación ósea no se acompañó de mitosis de osteoblastos *in vivo*.<sup>42</sup>

Los hallazgos de que el hueso es una casa-almacén de factores de crecimiento y que las células en cultivo producen y responden a ellos, sugieren que pueden estar actuando como formadores potenciales de hueso local<sup>38</sup> e interactuando entre ellos en su microambiente celular.<sup>13,34,63</sup> Estudios comparativos de crecimiento de células en medio de cultivo, entre fibroblastos y osteoblastos, indican que la tasa de proliferación aumentó al agregar factor de crecimiento derivado de plaqueta y se elevó mucho más con una combinación de factores de crecimiento (PDGF, TGF-β y EGF); por el contrario, los fibroblastos no proliferaron bajo estas condiciones.<sup>7,48</sup> Canalis y col.,<sup>57</sup> reportaron que solamente el IGF y FGFs estimulan la síntesis de osteocalcina y se ve aumentada por la 1,25 dihidroxivitamina D3.<sup>72</sup>

Los estudios en hueso y cultivos celulares demostraron que la síntesis de osteocalcina, depende de la madurez de los osteoblastos y la presencia de la vitamina D3, único metabolito con actividad biológica,<sup>66</sup> por lo que es evidente que existen receptores para la vitamina D en los osteoblastos y se ha comprobado que no existen en los osteoclastos, lo que permite pensar que las células blanco para el metabolito activo de la vitamina D son los osteoblastos.<sup>29,43</sup>

Nolan,<sup>50</sup> afirma que los homoinjertos humanos confieren resistencia mecánica pero no tienen osteoblastos vivos. Su uso puede llevar a riesgos de infección, cuando son frescos y hasta el rechazo del injerto. Esta respuesta inmune puede ser disminuida por desmineralización y congelamiento; además, la desmineralización provoca que se expongan un grupo de factores de crecimiento de la matriz que favorece la osteoinducción, por lo que el hueso desmineralizado es mejor que el homoinjerto sin tratamiento, porque tiene la habilidad intrínseca de formar hueso, aunque puede tener menor resistencia mecánica.

**Marcadores óseos.** La osteocalcina contiene tres residuos de aminoácidos del ácido carboxiglutámico y representa el 3% del total de la proteína ósea.<sup>56,75</sup> El incremento de esta proteína está asociada con la formación de matriz colágena, sin embargo, la función exacta de la osteocalcina no es conocida, pero es una proteína sintetizada específicamente por osteoblastos y es considerada como un marcador óseo.

Actualmente se cuenta con una serie de marcadores del metabolismo óseo, que permiten detectar formación ósea por osteoblastos y resorción ósea por osteoclastos.

La fosfatasa alcalina, hidroxiprolina y la osteocalcina son los tres principales marcadores del metabolismo óseo, su determinación permite estimar la escala de mineraliza-

ción y resorción ósea.<sup>12,55</sup> También se ha visto en diversos experimentos con células obtenidas en medio de cultivo que producen formación de hueso cuando son implantadas en un medio ambiente vivo, por ejemplo, células de médula ósea de rata y matriz de hueso descalcificado fueron implantados dentro de una cámara de difusión, detectándose formación de cartílago y hueso después de 28 días.<sup>65</sup>

Urist<sup>33,65,67</sup> reportó que con implantaciones intramusculares de hueso desmineralizado se obtenía autoinducción de hueso nuevo. Esta formación ósea fue atribuida a la proteína morfogenética ósea (osteocalcina, osteogenina) descubierta por este autor.

Recientemente se ha demostrado que recombinaciones con proteína morfogenética 2, se forman grandes segmentos óseos en perros; además, datos *in vitro* indican que la osteogenina estimula la expresión del fenotipo de los osteoblastos y juega un papel importante en la formación y reparación del hueso.<sup>50,51</sup> Okubo<sup>17</sup> reporta que la proteína morfogenética 2 recombinante humana (rhBMP-2) colágena tipo I como un acarreador efectivo y porto de hidroxiapatita pueden ser utilizados en la reconstrucción de grandes defectos óseos, como un biomaterial con actividad osteoinductiva en mandíbulas de conejo, y con implantes en dosis de 150 a 600 mg de rhBMP-2 en perros.<sup>24</sup>

**Biomateriales.** Los homoinjertos como alternativa para sustituir hueso se han utilizado desde la década de los años sesenta.<sup>46</sup> A la fecha se ha visto que el material ideal de injerto es el hueso esponjoso autólogo, el cual proporciona osteoblastos vivos y da apoyo mecánico; sin embargo, existe morbilidad en el sitio donador y su disponibilidad es limitada sobre todo en cirugía pediátrica.<sup>50</sup> Para superar en parte estas dificultades, se han desarrollado y aplicado un gran número de materiales como los sintéticos, llamados también biorreactores, como son aleaciones metálicas, polímeros, cerámicas, hidroxiapatita, biocerámicas y cementos óseos (fosfatos de calcio, sulfatos); o de origen natural como son hueso autólogo o heterólogo, derivados de hueso (colágena, BMP, factores de crecimiento, citocinas, así como otras proteínas de matriz), polímeros naturales, preparaciones de hueso de animales y humanos mineralizado y desmineralizado y corales (carbonato de calcio). Dentro de los polímeros el ácido poliláctico (PLA) produce una respuesta mínima de inflamación, a la vez que son prácticamente biodegradables.<sup>20</sup>

El material que conforman las biocerámicas es una combinación de fosfato tricálcico e hidroxiapatita (coral marino).<sup>46</sup> El uso de las biocerámicas, como los corales marinos del género *goniopora*,<sup>50</sup> tienen una microestructura semejante a la del hueso esponjoso y se ha visto que funcionan principalmente en los procesos de resorción, lo que puede inhibir más que promover la formación ósea, además proporcionan resistencia mecánica limitada y no tienen propiedades plásticas debido a la ausencia de matriz colágena, por lo que no hay crecimiento óseo nuevo.

**Aspectos biomecánicos.** El desempeño biomecánico de los injertos está determinado por tres factores: (1) las pro-

piedades mecánicas del injerto, (2) la mecánica de la interfase injerto-huésped, y (3) la naturaleza de las cargas aplicadas.<sup>19</sup> Las propiedades mecánicas del injerto son su rigidez, resistencia mecánica y resistencia a la fatiga.

La rigidez se refiere a la oposición de un cuerpo a deformarse cuando se le aplica una carga externa, lo cual significa que ante una misma carga aplicada a dos cuerpos diferentes, se deformará más el cuerpo que es menos rígido, o más flexible. La resistencia a la carga es la máxima carga que soporta un cuerpo antes de llegar a la falla. Debido a que existen distintas clases de carga que se le puede aplicar a un cuerpo, se tiene una resistencia a la tensión, o distacción; una resistencia a la compresión; resistencia a la torsión o rotación y por último, resistencia a la flexión o doblez. Las cargas repetitivas o cíclicas, ocasionan que las piezas fallen aun cuando su intensidad sea menor que la resistencia del material. El fenómeno de la fatiga se debe a que dentro del material se forman microgrietas, las cuales por efecto de las cargas repetitivas se van propagando, hasta que la falla se presenta.

La interfase injerto-huésped, particularmente el grado de unión, juega un papel importante en la transferencia de cargas entre el huésped y el injerto. Para lograr la unión es necesario que exista un mínimo de estabilidad entre las partes.

La biología de la incorporación del injerto determina su capacidad biomecánica. El proceso de incorporación está determinado por varios factores, no obstante se basa predominantemente en la vascularidad del injerto.

Después de un lapso, las propiedades biomecánicas del injerto tienden a disminuir. Si el proceso de incorporación es exitoso, las propiedades biomecánicas se recuperan con el tiempo hasta lograr niveles normales. Si el desempeño del injerto respecto a las cargas fisiológicas disminuye por debajo de un nivel crítico, ocurre la falla.

La consolidación de la interfase injerto-huésped es esencial para el proceso de incorporación y es el causante de un número importante de fracasos en los procedimientos con injertos.<sup>21</sup> El proceso de unión entre un injerto cortical y el huésped tiene características similares al proceso de consolidación de fracturas, que incluye el establecimiento de un puente óseo calloso, tejido fibroso, fibrocartílago y su reemplazo por osificación endocondral. De igual forma que con la consolidación de las fracturas, una interfase inestable hueso-injerto puede resultar en retardos en la unión, o pseudoartrosis.

La presencia de tejido necrótico que no sea reparado puede crear el riesgo de fallas por fatiga, aun cuando existan uniones sólidas.

Es posible generar cerámicas a base de fosfato de calcio de modo que tenga la resistencia mecánica similar a la del hueso trabecular. No obstante, las cerámicas son más rígidas que el hueso esponjoso, por lo que un injerto hecho con este material resulta ser muy rígido. De igual forma la cerámica es más frágil (quebradiza) y absorbe menos energía antes de romperse.

En el otro extremo se encuentran los materiales sintéticos con bajas propiedades biomecánicas, las cuales se en-

focan en la capacidad osteogénica. Estos materiales funcionan como portadores de factores bioactivos y están orientados a compensar la falta de resistencia mecánica mediante la acelerada osteogénesis u osteoinducción.

Los modelos experimentales para estudiar el proceso de fractura en animales, han sido llevados a cabo en animales que varían desde el ratón hasta el caballo, e incluyen la rata, conejo, gato, perro, oveja y primates.<sup>39</sup>

El ratón es un modelo que se usa frecuentemente en los estudios de consolidación ósea. Su bajo costo permite emplear grandes grupos en los estudios. Debido a que su genoma es el que se ha estudiado con mayor amplitud, se emplean con frecuencia en estudios de biología molecular.

Las ratas han sido el modelo más popular para estudiar la consolidación de los injertos. El fémur, la tibia, el cúbito, radio, cráneo, metatarso y húmero han sido empleados como modelos. La fijación intramedular antes de la fractura o la osteotomía han sido empleados.<sup>62,71</sup> Debido a que la rata es más grande que el ratón, las pruebas mecánicas son más sencillas de realizar. El costo es relativamente bajo.

El gato se ha empleado como modelo experimental para estudiar consolidación de injertos.<sup>3</sup>

**Comentarios.** Los injertos óseos son ampliamente usados en cirugía ortopédica y maxilofacial. El material ideal de injerto es el hueso esponjoso autólogo (tomado de la cresta ilíaca o de la epífisis proximal de la tibia), sin embargo puede existir morbilidad en el sitio donador, además la cantidad requerida frecuentemente excede a lo que se tiene disponible, por lo que se han sugerido diferentes alternativas del uso de biomateriales de injerto. Actualmente se ha visto que representan gran utilidad los cultivos celulares (osteoblastos humanos), sobre preparaciones de hueso humano y animal desmineralizados, o el uso de factores derivados del hueso (colágeno- BMP, factores de crecimiento, citocinas u otras proteínas de la matriz ósea).<sup>1,11,16,17,44,64</sup>

La desmineralización del hueso, disminuye la respuesta inmune y expone los diversos factores de crecimiento de la matriz, los cuales tienen participación directa en las funciones de osteogénesis, osteoconducción, remodelación, realización y homeostasis en el microambiente celular óseo.

Se ha mostrado que la formación de hueso nuevo puede ser inducida con rhBMP-2 en animales, en diferentes sitios esqueléticos (defectos del cráneo, cubitales, femorales, espiniales, etc.),<sup>24</sup> sin embargo, estudios de este tipo no han sido aplicados aún.

Las biocerámicas (compuestos de una combinación de fosfato tricálcico e hidroxiapatita) usados como injertos proporcionan resistencia mecánica limitada y carecen de la capacidad inherente para formar hueso, sin embargo podrían servir como estructura temporal, usados en cultivos celulares.

La alternativa idónea consiste en desarrollar cultivo de osteoblastos autólogos, multiplicados en forma masiva, colocados sobre un material biodegradable que tenga la función de anclaje celular, y de este modo conserven su potencial osteogénico, además de que expresan su fenotipo, para

así eliminar posibles células contaminantes (fibroblastos) y de este modo obtener un injerto óseo con propiedades biológicas adecuadas; además se evita la respuesta inmune que se tendría con el uso de material heterólogo (rechazo del injerto). Finalmente, se realizarían las pruebas biomecánicas orientadas a determinar las propiedades biomecánicas del injerto en sí; de la adhesión injerto-huésped; y finalmente, del conjunto injerto-huésped. Se debería desarrollar un modelo animal de consolidación del injerto, el cual incluyera pruebas biomecánicas a diferentes plazos de tiempo. Los animales más adecuados para tal efecto son la rata y el gato.

## Bibliografía

1. Alsina M, Roodman DG. Nonskeletal effects of cytokines secreted by bone cells. In: *Skeletal Growth Factors* Ed. Ernesto Canalís, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA. 2000: 375-383.
2. An Y, Friedman RJ, Parent T, Draughn RA. Production of a standard closed fracture in the rat tibia. *J Orthop Trauma* 1994; 8(2): 111-115.
3. Aronow MA, Gerstenfeld LC, Owen MS, Tassinari TA, Stein GS, Lian JB. Factors that promote progressive development of the osteoblast phenotype in cultured fetal rat calvaria cells. *J Cell Physiol* 1990; 143(2): 213-221.
4. Barone LM, Owen MS, Tassinari TA, Botell R, Stein GS, Lian JB. Developmental expression and hormonal regulation of the rat matrix Gla protein (MGP) gene in chondrogenesis and osteogenesis. *J Cell Biochem* 1991; 46: 351-365.
5. Bellows CG, Ishida H, Aubin JE, Heersche JNM. Parathyroid hormone reversibly suppresses the differentiation of osteoprogenitor cells into functional osteoblast. *Endocrinology* 1990; 127(6): 3111-3116.
6. Bhargava U, Bar-Lev M, Bellows CG, Aubin JE. Ultrastructural analysis of bone nodules formed *in vitro* by isolated fetal rat calvaria cells. *Bone* 1988; 9: 155-163.
7. Binderman I, Verger E, Fine N, Shimson Z, Harell A, Somjen D. Calvaria derived osteogenic cells, phenotypic expression in culture. *Connet Tissue Res* 1989; 20(14): 41-47.
8. Bonnarens F, Einhorn TA. Production of a standard closed fracture in laboratory animal bone. *J Orthop Res* 1984; 2: 97-101.
9. Boskey LA. Mineral-Matrix interaction in bone and cartilage. *Clin Orthop* 1992; 281: 244-273.
10. Canalís E, Lian JB. Effects of bone associated growth factors on DNA, collagen and osteocalcin synthesis in cultured fetal rat calvarie. *Bone* 1988, 9(4): 243-6.
11. Canalís E, McCarthy T, Centella M. Growth factors and regulation of bone remodeling. *J Clin Invest* 1988; 81: 227.
12. Canalís E. Effect of growth factors on bone cell replication and differentiation. *Clin Orthop* 1985; 193: 246-263.
13. Canalís E. The hormonal and local regulation of bone formation. *Endocr Rev* 1983; 4: 62-67.
14. Cassano SM. Allograft transplantation: distal femoral allograft a case study. *Orthop Nurs* 1983; 2(2): 53-59.
15. Chavassieux PM. Influence of experimental conditions on osteoblast activity in human primary bone cell cultures. *J Bone Miner Res* 1990; 5(4): 337-43.
16. Davy DT. Biomechanical issues in bone transplantation. *Orthop Clin North Am* 1999; 30(4): 553-563.
17. Delmas PD, Wilson DM, Mann KG, Riggs BL. Effect of renal function on plasma levels of bone Gla-protein. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 57: 1028-1030.
18. Dobning H, Turner RT. Evidence that intermittent treatment with parathyroid hormone increases bone formation in adult rats by activation of bone lining cells. *Endocrinology* 1995; 136: 3632-3638.
19. Ecarot-Charrier B, Glorieux FH, Van der Rest M, Pereira G. Osteoblast isolated from mouse calvaria initiate matrix mineralization in culture. *J Cell Biol* 1983; 96: 639-643.
20. Ecarot-Charrier B, Shepard N, Charette G, Grynpas M, Glorieux FH. Mineralization in osteoblast culture. A light and electron microscopic study. *Bone* 1988; 9: 147-154.
21. Fell HB. The osteogenic capacity *in vitro* of periosteum and endosteum isolated from the living skeleton of fowl embryos and young chicks. *J Anat* 1950; 66: 157-180.
22. Gaillard PJ. Developmental changes in the composition of body fluids in relation to growth and differentiation of tissue cultures. *Protoplasma* 1934; 23: 145-147.
23. Gestenfeld LC, Chipman SD, Glawacki J, Lian JB. Expression of differentiation function biominerizing cultures of chicken osteoblast. *Dev Biol* 1987; 122(1): 49-60.
24. Globus RK, Plovet J, Gospodarewicz D. Cultured bovine bone cells synthesize basic fibroblast growth factor and store it in their extracellular matrix. *Endocrinology* 1989; 124(3): 1539-1547.
25. Globus RK, Plovet J, Gospodarewics D. Cultured bovine cells synthesize basic fibroblast growth factor and store it in their extracellular matrix. *Endocrinology* 1989; 124(3): 1539-1547.
26. Goldhaber P. Remodeling of bone in tissue culture. *J Dent Res* 1966; 45: 490-99.
27. Goldstein DA, Oda Y, Kurokawa KY, Massry SG. Blood levels of 25-hydroxyvitamin D in nephrotic syndrome. Studies in 26 patients. *Ann Intern Med* 1977; 87: 664-667.
28. Harada K, Oida S, Sasaki S. Chondrogenesis and osteogenesis of bone marrow-derived cells by bone inductive factor. *Bone* 1988; 9: 177-183.
29. Hollick MF. Metabolism of vitamin D. *Endocrinology* Ed. Leslie and Groot 2da. 1984; 56: 902-26.
30. Holliger O, Jeffrey O, Battistone GC. Biodegradable bone repair materials. *Clin Orthop* 1986; 207: 290-305.
31. Kanatani M, Sugimoto T, Fukase M, Fujita T. Effect of elevated extracellular calcium on the proliferation of osteoblastic MC3T3-E cells, its direct and indirect effects via monocytes. *Biol Chem Biophys Res Commun* 1991; 181: 1425-30.
32. Kasperk C, Wergedal JE, Mohan S, Long DL, Lau KHW, Baylink DJ. Interaction of growth factors present in bone matrix and bone cells. Effects on DNA synthesis and alkaline phosphatase. *Growth Factors* 1990; 3(2): 147-158.
33. Kasperk CH, Wergedal JE, Farley JR, Linkhart TA, Turner RT, Baylink DJ. Androgens directly stimulate proliferation of bone cells *in vitro*. *Endocrinology* 1989; 124(3): 1576-8.
34. Kasperk CH, Wergedal JE, Farley JR, Linkhart TA, Turner RT, Baylink DJ. Androgens directly stimulate proliferation of bone cells *in vitro*. *Endocrinology* 1989; 124: 1576-1578.
35. Kassem M, Risteli L, Mosekilde L, Melsen F, Eriksson EF. Formation of osteoblast-like cells from human mononuclear bone marrow. *APMIS* 1991; 99(3): 269-74.
36. Kop JB, Robey PG. Sodium, fluoride lacks mitogenic activity for fetal human bone cells *in vitro*. *J Bone Miner Res* 1990; 1: 137-41.
37. Linkhart TA, Jennings JC, Baylink DJ. Bovine skeletal growth factors in distinct from other polypeptide growth factors. *Calcif Tiss Int* 1983; 35: 9A.
38. Linkhart TA, Jennings JC, Mohan S, Wakley GK, Baylink DJ. Characterization of mitogenic activities extracted from bovine bone matrix. *Bone* 1986; 7: 479-487.
39. Linkhart TA, Jennings JC, Mohan S, Wakley GK, Baylink DJ. Characterization of mitogenic activities extracted from bovine bone matrix. *Bone* 1986; 7: 479-487.
40. Lowry DH, Roberts NR, Wu M, Hixen WS, Crawford D. The quantitative histochemistry of brain. II Enzyme measurements. *J Biol Chem* 1954; 207: 13-19.
41. Luyten EP, Cunningham NS, Vukicervic S, Paralkar V, Ripamonti U, Reddi AH. Advances in osteogenic and related bone morphogenetic proteins in bone induction and repair. *Acta Orthop Belg* 1992; 58(1): 263-267.
42. Machwate M, Rodan SB, Rodan GA. Sphingosine kinase mediates cyclic AMP suppression of apoptosis in rat periosteal cells. *Mol Pharmacol* 1998; 54: 70-77.
43. Martin TJ, Ng KW, Suda T. Bone cell physiology. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1989; 18(4): 833-858.

44. McCulloch CAG, Tenenbaum HC, Fair CA, Birek C. Site-Specific regulation of osteogenesis. Maintenance of discrete levels of phenotypic expression *in vitro*. *Anat Rec* 1989; 223(1): 27-34.
45. Mills BG, Frausto A. Cytokines expressed in multinucleated cells: Paget's disease and giant cells tumors *versus* normal bone. *Calcif Tissue Int* 1997; 61: 16-21.
46. Mohan S, Linkhart TA, Farley J, Baylink DJ. Bone-derived growth factors active on bone cells. *Calcif Tissue Int* 1984; 36: S139-S145.
47. Muthukumaran N, Reddi AH. Bone matrix-induced local bone induction. *Clin Orthop* 1985; 200: 159-164.
48. Nefussi JR, Septier D, Collin P, Goldemberg M, Forest N. A comparative ultrahistochemical study glicosaminoglycans with cuprolynic blue in bone formed *in vivo* and *in vitro*. *Calcif Tissue Int* 1989; 44(1): 11-19.
49. Nefussi JR. Histomorphometry and autoradiography of cultured fetal rat long bones. *Anat Rec* 1970; 204(2): 105-12.
50. Nijweide PJ. Embryonic chicken periosteum in tissue culture. Osteoid formation and calcium uptake. *Proc K Ned Akad wet Sev C* 1975; 78: 410-417.
51. Noda M, Vogel R. Fibroblast growth factor enhances type beta 1 transforming growth factor gene expression in osteoblast-like cells. *J Cell Biol* 1989; 109: 2535.
52. Nolan PC, Mollan R, Wilson DJ. Living bone grafts. Cell culture may overcome the limitation of allograft. *BMJ* 1992; 304(6841): 1520-1521.
53. Nunamaker DM. Experimental models of fracture repair. *Clin Orthop* 1998; 355S: S56-S65.
54. Okubo Y, Bessho K, Fujimura K, Kusumoto K, Ogawa Y, Iizuka T. Osteogenesis by recombinant human bone morphogenetic protein-2 at skeletal site. *Clin Orthop* 2000; 375: 295-301.
55. Oshiro T. Ultrastructural studies of initial calcification of mouse fetal parietal bone *in vitro*. *Kanagawa-Shigaku* 1989; 23(4): 469-85.
56. Pacifici R. Role of cytokines in postmenopausal osteoporosis. In: *Skeletal Growth Factors* Ed. Ernesto Canalis, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA. 2000; 411-421.
57. Piche JE, Graves DT. Study of factor requirements of human bone-derived cells. A comparison with human fibroblast. *Bone* 1989; 10(2): 131-138.
58. Price PA. The effect of 1,25 dihydroxyvitamin D3 on the synthesis of the vitamin D dependent protein of bone. In: Cedj KR, Vitamin D, basic and clinical aspects. Editorial The Hague Nijhoff 1984: 397-410.
59. Puech B, Carmeli M, Chanclin JL. Biointegration of massive bone allografts: imaging and histological studies in cat. *Biomaterials* 1990; 11: 75-78.
60. Raisz LG, Dietrich JW, Canalis EM. Factors influencing bone formation in organ culture. *Isr J Med Sci* 1976; 12(2): 108-114.
61. Reynolds JJ, Hollick MF, De Luca HF. The role of vitamin D metabolites in bone resorption. *Calcif Tiss Res* 1973; 12: 295-301.
62. Sartoris DJ, Kusnick C, Resnick D. New concepts in bone grafting. *Orthop Rev* 1987; 16(3): 154-164.
63. Sato T, Urist MR. Bone morphogenetic protein-induced cartilage development in tissue culture. *Clin Orthop* 1984; 183: 180-187.
64. Sciadini MF, Johnson KD. Evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 as a bone-graft substitute in a canine segmental defect model. *J Orthop Res* 2000; 18: 289-312.
65. Sporn MB, Roberts AB, Shull JE, Smith JM, Ward LM, Sodek V. Polypeptide transforming growth factors, isolated from bovine sources and used for wound healing *in vivo*. *Science* 1983; 219: 1329-1331.
66. Stein GS, Lian JB, Gerstenfeld LG, Shalhoub V, Owen TM. The onset and progression of osteoblast differentiation is functionally related to cellular proliferation. *Connet Tissue Res* 1989; 20(1-4): 3-13.
67. Stein GS, Lian JB, Owen MS. Relationship of cell growth to the regulation of tissue-specific gene expression during osteoblast differentiation. *FASEB J* 1990; 4(13): 3111-3123.
68. Subburaman M, David JB. Bone growth factors. *Clin Orthop* 1991; 263: 30-48.
69. Tenenbaum HC, Heersche JNM. Differentiation of osteoblast and formation of mineralized bone *in vitro*. *Calcif Tissue Int* 1982; 34: 76-79.
70. Tenenbaum HC, Palangio KG, Holmyard DP, Pritzker KPH. An ultrastructural study of osteogenesis in chick periosteum *in vitro*. *Bone* 1986; 7: 295-302.
71. Tsujit H, McCulloch CA, Melcher AH. Effects of donor age on osteogenic cells of rat bone marrow *in vitro*. *Mech Ageing Dev* 1990; 51(2): 121-132.
72. Urist MR, De Lange RJ, Finerman GAM. Bone cell differentiation and growth factors. *Science* 1983; 220: 680.
73. Urist MR. Bone. Formation by autoinduction. *Science* 1965; 150: 893.
74. Vander Griend RA. The effect of internal fixation on the healing of large allografts. *J Bone Joint Surg* 1994; 76A: 657.
75. Young FM, Kerr JM, Ibarak K, Heegaard AM, Gehron RP. Structure, expression and regulation of the major noncollagenous matrix proteins of bone. *Clin Orthop* 1992; 281: 275-294.

**RESUMEN.** Uno de los mayores problemas en ortopedia es la reconstrucción de defectos óseos que resultan de infecciones, traumas o resección de tumores óseos, porque la disponibilidad de injerto óseo autólogo es limitada. Por ello se estudian alternativas para obtener injerto óseo viable: 1) los cultivos *in vitro* de células óseas (osteoblastos) con sus características de osteoinducción, y biocompatibilidad son una opción atractiva, 2) proteína morfogenética recombinante humana-2 (rhMBP-2), que es útil para reconstruir grandes segmentos, 3) factores de crecimiento (IGF I y II, TGF- $\beta$ , FGFa,b, PDGF y las BMP) como formadores potenciales de hueso, sin embargo se desconoce cuál es su papel en la remodelación ósea y su capacidad para incrementar la densidad mineral ósea. Adicionalmente, pueden formar neoplasias, si no se manejan adecuadamente, 4) hueso desmineralizado y congelado, disminuye la respuesta inmune y favorece la osteoinducción, 5) hueso esponjoso autólogo, se considera el injerto ideal, ya que proporciona células osteoprogenitoras (osteoblastos) con propiedades biomecánicas adecuadas. No obstante, su disponibilidad es limitada y, 6) citocinas producidas por osteoblastos (IL-1, IL-6) que participan en la formación y resorción ósea; y citocinas producidas por osteoclastos (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , INF- $\gamma$  y anexina II), que mantienen la hematopoyesis y respuesta inmune normales. Se analizan las características biomecánicas, así como los modelos experimentales en animales que se emplean para valorar las distintas opciones de injerto.

**Palabras clave:** cultivo células óseas, injerto, osteoconductividad.