

## Injertos óseos - Nueva alternativa. Fase II. Evaluación de las propiedades osteoinductoras de las proteínas morfogenéticas óseas parcialmente purificadas, implantadas en tejido subcutáneo de un modelo experimental lapino.

Jairo A Rivera<sup>1</sup>, MVZ, PhD; Carlos H Riaño<sup>1</sup>, MVZ, Esp; Paula A Monsalve<sup>1</sup>, MV;  
Luis Fernando Restrepo<sup>1</sup>, Est, Esp; Diego A Aranzazu<sup>2</sup>, MV, Esp; Gloria E Giraldo<sup>2</sup>, MV MSc;  
Gildardo J Alzate<sup>1</sup>, MV, Esp; Carlos D Jaramillo<sup>1</sup>, MV; María V. De León<sup>2</sup>, MV; Elizabeth Hernández<sup>2</sup> MV.

<sup>1</sup>Grupo Biomateriales, Facultad de Ingeniería. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

<sup>2</sup>Grupo Centauros, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias,  
Universidad de Antioquia, A.A.1226 Medellín · Colombia.  
jairoriveraposada@yahoo.com

(Recibido: 13 febrero, 2003; aceptado: 29 agosto, 2003)

### *Resumen*

*El propósito de esta investigación fue evaluar las características osteoinductivas de las Proteínas Morfogenéticas Óseas (PMO) parcialmente purificadas de hueso bovino, mediante implantación subcutánea en un modelo experimental lapino, para ser utilizadas posteriormente como material de injerto óseo en combinación con un material osteoconductor. El procedimiento se llevó a cabo mediante la implantación subcutánea de ocho mg de PMO en la región dorsal a nivel de la escápula, en 21 conejos de Raza Blanca de Nueva Zelanda, los cuales se distribuyeron en 6 grupos de evaluación así: tres, seis, nueve, doce, veintiún días y ocho semanas de evolución, transcurridos estos tiempos se retiraron los implantes para ser evaluados histopatológicamente por microscopía óptica convencional y así caracterizar los diferentes elementos tisulares. Los resultados obtenidos se analizaron utilizando el método factorial de correspondencias múltiples con clasificación jerárquica, el cual mostró que las PMO estimulan la inducción de hueso en sitios ectópicos, teniendo actividad osteogénica ya que se observó presencia de trabéculas óseas en todas las muestras tomadas a partir del sexto día post-implante.*

**Palabras Clave:** *factores de crecimiento, implantes, osteoinducción.*

### **Introducción**

La corrección de defectos óseos es un problema que se plantea con frecuencia, motivo por el cual, los cirujanos utilizan distintas técnicas quirúrgicas y una amplia gama de materiales de sustitución ósea. Estos materiales pueden ser de origen natural o sintético; deben tener buenas propiedades mecánicas, ser bio-compatibles, es decir atóxicos, inertes desde el punto de vista inmunitario, no carcinógenos, y favorecer o inducir una respuesta en el tejido óseo (1, 7, 12).

Entre los materiales biológicos utilizados se encuentran las PMO, estas son péptidos producidos localmente por los osteoblastos, regulados por mecanismos endocrinos. Se encuentran distribuidas a lo largo de las fibras colágenas del hueso normal, en células perios-teales y mesenquimales de la médula ósea (15, 22, 25).

Las PMO tienen propiedades osteoinductivas, se consideran el mayor componente activo en el hueso

desmineralizado, y hacen que las células recipientes circundantes (mesenquimales indiferenciadas) se recluten y se diferencien en condroblastos o en células formadoras de hueso (osteoblastos), contribuyendo así a la regeneración del hueso por promoción de la producción ósea desde células en el sitio del defecto (17, 18, 23).

Las PMO estimulan la actividad de inducción de hueso en sitios ectópicos u ortópticos, obteniéndose un proceso de osificación endocondral o intramembranosa, el cual es indistinguible entre PMO obtenidas de diferentes especies (6, 10, 20).

El concepto de reemplazo óseo utilizando osteoinducción es atractivo ya que el hueso inducido resultante es enteramente autólogo y por lo tanto no habría morbilidad del sitio donador ni limitaciones por disponibilidad, ni cantidad de material de injerto utilizado, reduciéndose el tiempo de consolidación y reconstrucción de defectos óseos (8, 11, 19).

Este estudio pretendió evaluar las características osteoinductoras de las Proteínas Morfogenéticas Óseas (PMO) obtenidas en una investigación anterior (14).

## **Materiales y métodos**

### *Selección del grupo de animales*

Se utilizó el protocolo experimental F 981-93 de ASTM (American Society for Testing and Materials, organización americana encargada del desarrollo de estándares internacionales de materiales, productos, sistemas y servicios) para evaluar la reacción de los tejidos a biomateriales utilizados en injertos quirúrgicos. Se trabajó con un número total de 21 conejos machos, raza blanca Nueva Zelanda de 75 días de edad y 2.2 kg peso promedio. Los cuales se distribuyeron en 6 grupos de evaluación y se realizaron biopsias a los tres, seis, nueve, 12, 21 y 56 días de evolución, para valorar las características del implante.

### *Procedimiento quirúrgico*

Los individuos fueron preparados para intervención quirúrgica previa depilación y lavado de la zona con gluconato de clorhexidina al 0.2%, posteriormente con alcohol isopropílico al 70%; anestesiados mediante inyección intramuscular de ketamina a dosis terapéutica (20 mg/kg). Se realizaron incisiones de 1.5 cm en la piel de la región dorsal a la escápula, donde

se injertó la proteína morfogenética ósea extraída en la fase I en tejido subcutáneo, a una dosis de 8 mg. Para la sutura se utilizó sutura sintética absorbible Dexon 3-0 (ácido Poliglicólico, Davis & Geck Inc). El postoperatorio incluyó terapia antibiótica con Ampicilina vía I.M. a dosis terapéutica (10 mg/kg.) cada 12 horas durante cinco días, limpieza y desinfección del área quirúrgica dos veces al día con Povidone iodine, hasta que la cicatrización superficial fue completa (promedio 10 días).

### *Evaluación clínica*

Se evaluaron los siguientes parámetros al examen clínico diario: aumento de la temperatura, edema, (categorías leve, moderado y severo) exudado y toma de alimento

### *Evaluación histológica*

La toma de biopsias para evaluación histopatológica se realizó a los tres, seis, nueve, doce, veintiún y cincuenta y seis días a partir de la intervención, mediante una incisión sobre la región dorsal a la escápula de 2.5 cm, bajo anestesia general mediante inyección intramuscular de ketamina a dosis terapéutica (20 mg/kg).

Las muestras obtenidas de un tamaño aproximado de 2 cm, fueron sumergidas en formalina tamponada al 10% como líquido fijador. Se enviaron a patología con las respectivas descripciones macroscópicas, las cuales fueron destinadas a estudio mediante microscopía óptica convencional, descalcificándose con ácido nítrico al 5% en formalina al 10%, durante tres a cuatro días, comprobando a diario el grado de descalcificación, para evitar que un sobretratamiento ácido de las muestras pudiera deteriorarlas. Una vez descalcificadas, las muestras fueron deshidratadas con alcohol etílico de concentración creciente, pasadas por xilol y preincluidas en parafina en un «Procesador de Tejidos VIP 2000» de Bayer. Finalmente se realizaron secciones de 5 micras de espesor en un micrótomoto motorizado Reichert 2025, que fueron teñidas con el método convencional de hematoxilina-eosina y el tricrómico de Masson, adecuado para caracterizar los diferentes componentes mesenquimales.

Los parámetros valorados fueron:

1. Trabeculaciones óseas.
2. Tejido conectivo vascular (vasculítis).

3. Infiltrado mononuclear.
4. Infiltrado polimorfonuclea (eosinófilos, neutrófilos).
5. Células gigantes.
6. Tejido de granulación.
7. Necrosis.( leve, moderada, severa)

#### *Análisis estadístico*

Los resultados obtenidos se analizaron aplicando el método de Análisis Factorial de Correspondencias Múltiples con clasificación jerárquica, cuyo objetivo es permitir relacionar todas las variables de índole cualitativo a fin de ver similitudes y disimilitudes entre modalidades, entendiéndose por modalidad las diferentes alternativas que adopta una variable.

### **Resultados**

#### *Observaciones Macroscópicas*

Se presentó un aumento leve de temperatura, en promedio 39.7°C al día 2 de la implantación en el 30% de los animales; no se observó alteración alguna en el consumo de alimento y se presentó un edema moderado entre los días 2-5 posimplante en el 28% de los animales.

El día 3, se observó un material amorfo con apariencia caseosa de color blanco amarillento y poco consistente. Del día 6 al 56, las muestras presentaron una apariencia de masa redondeada, carnosas y encapsuladas, muy vascularizadas y de consistencia firme.

#### *Resultados histopatológicos*

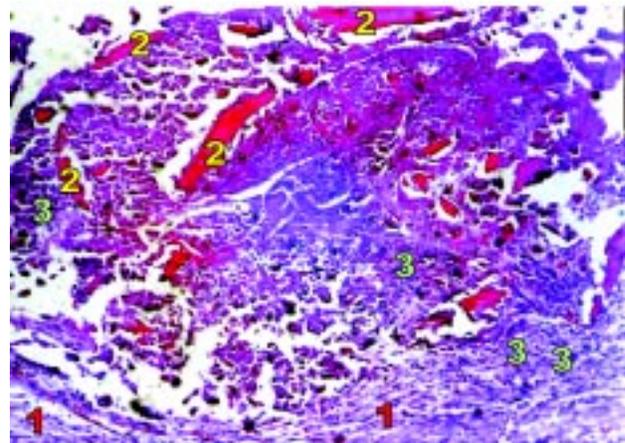
*Día 3.* En el grupo de 3 días la lesión se caracterizó por la presencia de abundante infiltrado de tipo eosinofílico el cual se localizó principalmente a nivel perivascular. El tejido conectivo circundante presentó necrosis hemorrágica.

*Día 6.* Los hallazgos histopatológicos más significativos para este grupo de animales fueron presencia de trabeculaciones óseas abundantes, hemorragia severa, células gigantes multinucleadas en forma moderada rodeando las trabéculas neoformadas, ligera vasculitis y severa necrosis de coagulación.

*Día 9.* En los conejos de este grupo se encontró como en el caso anterior formación severa de trabéculas óseas y tejido conectivo activo. El infiltrado inflama-

torio fue de tipo eosinofílico principalmente y células gigantes multinucleadas en forma leve.

*Día 12.* La presencia de trabeculaciones óseas continua siendo un hallazgo histopatológico característico, que para el grupo de animales de 12 días postimplante se acompaña de un abundante infiltrado de tipo mixto (mononucleares y polimorfonucleares), presencia de tejido de granulación y necrosis de coagulación (véase Figura 1).



**Figura 1.** Evidencia de formación trabecular a los 12 días postimplante

<sup>1</sup>Tejido conectivo :haces de fibras colágenas, fibroblastos

<sup>2</sup>Tejido óseo en formación, capa de osteoblastos rodeando las estructuras recién formadas.

<sup>3</sup>Presencia de granulocitos neutrófilos, eosinófilos y células plasmáticas.

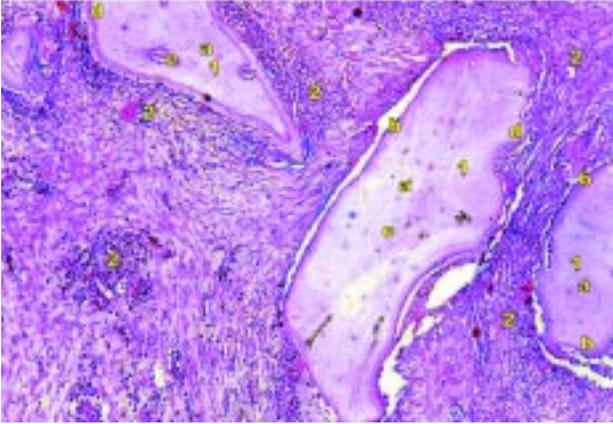
estructuras

*Día 21.* Se encontró severa trabeculación ósea en las muestras analizadas. El infiltrado apareció en cantidad leve a moderada formado por células de tipo polimorfonuclear y células gigantes multinucleadas. Como en el caso anterior se evidenció formación de tejido de granulación en forma moderada (véase Figura 2).

*Día 56.* En el grupo de 8 semanas se detectó la formación de una cápsula de tejido conectivo denso rodeando trabeculaciones óseas abundantes y bien definidas, infiltrado inflamatorio mixto y tejido de granulación (véase Figura 3).

#### *Hallazgos asociados a formación trabecular*

A partir de los 6 días post implante, en todos los grupos hubo formación de trabéculas óseas abundantes y bien definidas, sólo en dos casos fue moderada con variaciones en el grado de calcificación según el tiempo de evolución. Así, en 16 de las muestras (76.2%) se observó severa trabeculación ósea y en éstas siempre hubo infiltrado eosinofílico, siendo severo en el 83.3%



**Figura 2.** Formación trabecular a los 21 días postimplante.

<sup>1</sup> Trabéculas de tejido óseo recién formado, a. osteocitos, b. osteoblastos, c. matriz ósea calcificada, d. osteoide, e. formación médula ósea.  
<sup>2</sup> Reacción inflamatoria en tejido conectivo, donde se observan linfocitos, macrófagos, células plasmáticas, granulocitos neutrófilos y células gigantes.

de los casos. Por el contrario, no se observó infiltrado mononuclear en el 58.3% de las muestras con formación trabecular severa, además en el 78.9% de éstas, no se evidenció vasculitis. La observación de vasculitis sólo se presentó en dos muestras de forma moderada y severa pertenecientes a los días 6 y 21 respectivamente; en el resto de los periodos no se evidenció esta variable.

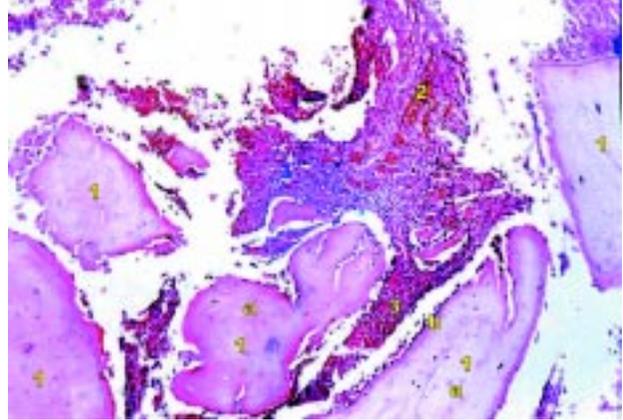
La presencia de trabéculas óseas se acompaña en la mayoría de los casos con formación de tejido de granulación, de acuerdo a la evaluación estadística en el 70% de las muestras.

No hubo presencia de infiltrado polimorfonuclear neutrófilo hasta el noveno día de evolución y fue severo en el 19% de los casos; a partir de este día todas las muestras se caracterizaron por presentar infiltrado tipo mixto (mononuclear moderado, polimorfonuclear de moderado a severo) además tejido de granulación.

La presencia de células gigantes siempre se acompañó de formación trabecular, exceptuando un caso. A diferencia de la presencia de necrosis que se identificó en el 52.4% de los casos.

#### *Hallazgos generales independientes de la formación trabecular*

En términos generales se observó desde el primer periodo de evaluación (3 días) la presencia de infiltrado polimorfonuclear eosinofílico en diferentes grados, correspondiendo a una presentación severa en el 28.6% de los casos, mientras en el 47.6% fue moderado. Con relación a las células gigantes se evidenciaron en el 52.4%



**Figura 3.** Formación ósea a los 56 días postimplante

<sup>1</sup> Trabéculas óseas, a. osteocitos, b. osteoblastos. 2. Vasculitis, 3. Reacción inflamatoria en tejido conectivo, donde se observan linfocitos, macrófagos y granulocitos eosinófilos.

siendo moderada su presencia en el 28.6%. La necrosis observada fue severa en el 42.9% y no se presentó en el 47.6% (véanse Tabla 1 y Figuras 4 y 5).

### **Discusión**

La inducción ósea fue demostrada en 1965 por Urist (9, 21, 26) quien observó que después de la implantación en tejido blando las células mesenquimales perivasculares fueron inducidas a diferenciarse en cartílago y por último en hueso. Las PMO han demostrado una actividad osteogénica significativa en numerosos modelos animales incluyendo los conejos (2, 5, 16). En el presente trabajo, la aplicación subcutánea de las PMO en conejos condujo a la formación ósea.

Boyan *et al* (3) describieron que durante la osificación endocondral inducida por implantación subcutánea o intramuscular de matriz ósea desmineralizada, las células de tejido conectivo respondieron diferenciándose en condroblastos que sintetizan y secretan matriz de cartílago específico, incluyendo colágeno tipo II y proteoglicanos. La matriz cartilaginosa es calcificada, vascularizada y eventualmente reemplazada por nuevas formas de tejido óseo.

De acuerdo con Wozney (24, 25), el efecto más específico observado para estas proteínas es la diferenciación de las células progenitoras mesenquimales en diferentes tipos de células que incluyen condroblastos y osteoblastos. Efectos similares se obtuvieron en este estudio, al presentarse un 76.2% de formación trabecular ósea con evidente actividad osteoblástica.

Tabla 1. Coordenadas, contribuciones y cosenos cuadrados de las modalidades activas en los ejes 1 a 5.

MODALIDADES		COORDENADAS					CONTRIBUCIONES					COSENOS CUADRADOS						
IDEN	ETIQUETA	P.REL	DIST.	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1.	TRABECULAS																	
MOSE	- MODERASA OSEA	1.19	9.50	-1.93	-1.10	-1.35	1.10	-.09	9.3	4.1	6.5	5.6	.0	.39	.13	.19	.13	.00
SOSA	- SEVERA OSEA	9.52	.31	.36	.07	.27	.07	-.18	2.6	.1	2.1	.2	1.4	0.42	.02	.24	.02	.10
NOP1	- NO PRESENTO	1.79	6.00	-.65	.35	-.55	-1.11	1.02	1.6	.6	1.6	8.7	8.3	.07	.02	.05	.21	.17
					CONTRIBUCIÓN ACUMUL.					13.6	4.9	10.3	14.5	9.7				
2.	TEJIDO DE GRANULACION																	
LGRA	- LEVE GRANULACION	.60	20.00	1.17	-1.13	-.35	-.70	-.89	1.7	2.2	.2	1.2	2.1	.07	.06	.01	.02	.04
MGRA	- MODERADA GRANULACION	4.17	2.00	.61	-.41	-.16	-.20	.82	3.3	2.0	.3	.6	12.4	.19	.8	.01	.02	.33
SGRA	- SEVERA GRANULACION	5.95	1.10	-.37	.47	-.41	.09	-.44	1.8	3.8	3.0	.2	5.2	.13	.20	.15	.01	.18
NOP2	- NO PRESENTO	1.79	6.00	-.57	-.23	1.86	.4	-.14	1.2	.3	18.4	1.1	.2	.05	.01	.57	.03	.00
					CONTRIBUCIÓN ACUMUL.					8.0	8.3	22.0	3.1	19.9				
3.	INFILTRADO MN																	
LMN	- LEVE MN	.60	20.00	1.78	.6	-.58	2.93	2.15	4.0	.6	.6	20.1	12.3	.16	.02	.02	.43	.23
MMN	- MODERADA MN	4.17	2.00	.86	-.55	-.07	-.34	-.38	6.5	3.6	.1	1.9	2.7	.37	.15	.00	.06	.07
SMN	- SEVERA MN	.60	20.00	.60	1.05	-.90	1.09	-2.61	.5	1.9	1.4	2.8	18.1	.02	.06	.04	.06	.34
NOP3	- NO PRESENTO	7.14	.75	-.70	.18	-.16	-.14	.26	7.4	.7	.6	.5	2.2	.65	.04	.04	.03	.09
					CONTRIBUCIÓN ACUMUL.					18.3	6.8	2.7	25.3	35.3				
4.	INFILTRADO PMN EOSINOF																	
LEOS	- LEVE EOSINOF	1.79	6.00	1.02	.71	-.69	1.47	-.61	3.9	2.6	2.5	15.2	2.9	.17	.08	.08	.36	.06
MEOS	- MODERADO EOSINOF	5.95	1.10	.10	-.76	-.18	-.45	.15	.1	9.9	.6	4.7	.6	.01	.52	.03	.18	.02
SEOS	- SEVERA EOSINOF	3.57	2.5	-.18	1.1	.33	-.41	.13	.2	12.5	1.2	2.4	.3	.01	.49	.04	.07	.01
NOP4	- NO PRESENTO	1.19	9.5	-1.5	-.57	.97	1.28	-.26	5.7	1.1	3.3	7.6	.4	.24	.03	.10	.17	.01
					CONTRIBUCIÓN ACUMUL.					10.0	26.1	7.6	29.9	4.2				
5.	INFILTRADO PMN NEUTRO																	
LNEU	- LEVE NEUTRO	1.19	9.50	.83	1.39	-.34	1.48	1.67	1.7	6.6	.4	10.3	14.9	.07	.20	.01	.23	.29
MNEU	- MODERADO NEUTRO	1.79	6.00	.69	-1.17	.90	-.22	.40	1.8	7.1	4.3	.3	1.3	.08	.23	.13	.01	.03
SNEU	- SEVERO NEUTRO	2.38	4.25	-.33	.43	1.12	.10	-.26	.6	1.3	9.0	.1	.7	.03	.04	.30	.00	.02
NOP5	- NO PRESENTO	7.14	0.75	-0.2	-.08	-.54	-.22	-.29	.6	.1	6.3	1.4	2.7	.05	.01	.39	.07	.11
					CONTRIBUCIÓN ACUMUL.					4.7	15.1	20.0	12.1	19.6				
6.	VASCULITIS																	
MVAS	- MODERADA VASCULITIS	.60	20.00	-1.99	-1.40	-1.96	.89	.04	5.0	3.3	6.8	1.9	.0	.20	.10	.19	.04	.00
SVAS	- SEVERA VASCULITIS	.60	20.00	.34	-.22	-.42	-1.18	.30	.1	.1	.3	3.3	.2	.01	.00	.01	.07	.00
NOP6	- NO PRESENTO	11.31	.11	.09	.08	.13	.02	-.02	.2	.2	.5	.0	.0	.07	.07	0.15	0	0
					CONTRIBUCIÓN ACUMUL.					5.3	3.7	7.7	5.1	.3				
7.	CELULAS GIGANTES																	
LCEL	- LEVE CELULAS	3.57	2.50	1.19	-.61	-.04	.12	.27	10.7	3.8	.0	.2	1.1	.57	.15	.00	.01	.03
MCEL	- MODERADA CELULAS	1.79	6.00	-1.56	-.95	-.16	.48	.38	9.2	4.6	7.2	1.6	1.2	.41	.15	.22	.04	.02
SCEL	- SEVERA CELULAS	1.19	9.50	-.79	-.66	2.42	.74	.00	1.6	1.5	20.9	2.6	.0	.07	.05	.62	.06	.00
NOP7	- NO PRESENTO	5.95	1.10	-.09	-.78	-.11	-.36	-.27	.1	10.5	.2	3.1	2.0	.01	.56	.01	.12	.07
					CONTRIBUCIÓN ACUMUL.					21.7	20.4	28.3	7.5	4.3				
8.	NECROSIS																	
LNEC	- LEVE NECROSIS	1.19	9.5	-.39	1.97	-.29	-.68	.98	.4	13.3	.3	2.2	5.1	.02	.41	.01	.05	.10
SNEC	- SEVERA NECROSIS	5.36	1.33	-.88	-.25	.22	.07	.06	8.7	.9	.8	.1	.1	.57	.05	.04	.00	.00
NOP8	- NO PRESENTO	5.95	1.10	.87	-.17	-.14	.07	-.25	9.4	.5	.3	.1	1.7	.68	.03	.02	.01	.06
					CONTRIBUCIÓN ACUMUL.					18.5	14.7	1.4	2.4	6.8				

Permite evaluar la calidad de representación de las distintas modalidades evaluadas para establecer tipologías y grupos cuando se elabora el análisis de cluster. Las coordenadas, la contribución y los cosenos cuadrados, permitieron establecer cuales modalidades están definiendo los ejes de los cuadros y por lo tanto definen el factor a establecer. En el centro se reúne lo más frecuente o común a las observaciones. Entre más se aleja del centro, menos frecuente es.

Según Reedi (13), después de que el hueso es desmineralizado y es injertado subcutáneamente, la proliferación de células mesenquimales ocurre a los 3 días, hay diferenciación de condroblastos a los 5 días y formación de cartílago dentro de los 7 días siguientes a la implantación, la invasión vascular y la calcificación del cartílago comienzan 9 días después de la implantación y la formación de hueso de 10 a 11 días. La formación de médula ósea y proliferación de células hematopoyéticas se presenta dentro de 3 semanas. Histológicamente se observó formación de hueso lamelar entre 8 y 12 semanas.

En este estudio se evaluaron los hallazgos histopatológicos durante los días 3, 6, 9, 12, 21 días y 8 semanas y se observó que una vez las proteínas fueron implantadas hubo formación trabecular después del sexto día, con una marcada fibroplasia que se acompañó de infiltrado eosinófilo en diferentes grados y células epiteloides próximas a un tejido conectivo capsular. La diferenciación celular, la presencia de trabéculas y la vascularización son hallazgos compatibles con los reportados por otros autores (4, 5, 16). Los resultados demostraron que las PMO estimularon la síntesis y la producción de trabeculaciones óseas a partir del sexto día post-implante.

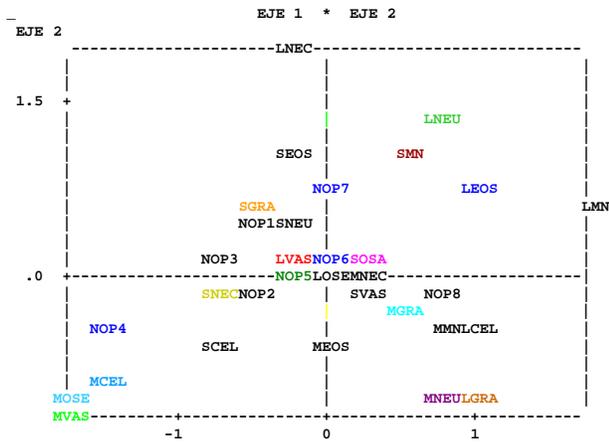


Figura 4. Hallazgos Histológicos

En el plano factorial, se aprecia que lo más frecuente es LVA o ausencia de él (NOPG). No presenta infiltrado de PMN neutrófilos NOP5. SOSA presentación de trabéculas óseas: severa. SNEC Necrosis. Se asocia con la NO presencia de tejido de granulación y células gigantes: severa. SMN: Infiltrado severo de mononucleares. Se asoció más con LNEU Infiltrado de neutrófilos leve, eosinofilia leve y no presencia de células gigantes. MOSE: trabéculas óseas: moderada. Se asoció con MVAS (vasculitis moderada), con MCEL (células gigantes: moderada) y con la no presencia de NOP4. MNEU moderado infiltrado neutrófilos. Se asocia con leve granulación LGRA. SGRA: granulación severa, se asoció con la no presencia de trabéculas y células gigantes, con severo infiltrado de neutrófilos y con severa eosinofilia. MGRA moderada granulación se asoció con severa vasculitis, con no presencia de necrosis, con moderada infiltración de MN y leve presencia de células gigantes.

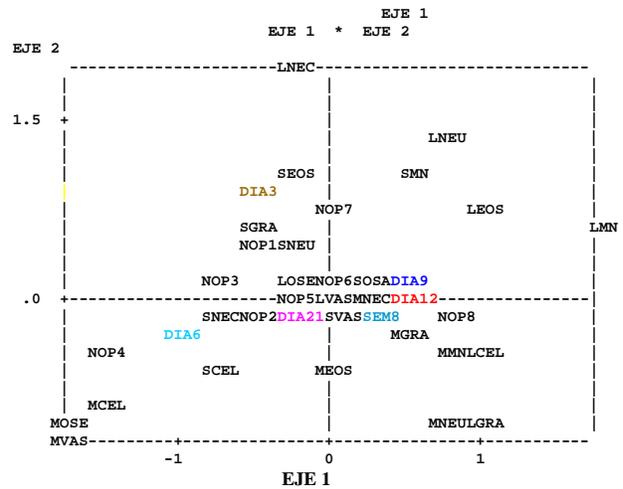


Figura 5. Relación de periodos de evaluación con los hallazgos histológicos

Día 3. se asocia con trabéculas óseas severa, SGRA severa granulación, no presencia de células gigantes, SNEU infiltrado severo de neutrófilos. Día 6. SNEC necrosis severa, no se presentó tejido de granulación, células gigantes SEVERA y no presentó infiltrado PMN. Días 9 y 12. no se presentó diferencia apreciable y se caracterizó por NO presencia de necrosis, trabéculas óseas severas, moderada necrosis (MNEC) leve LVAS leve vascularización. 56 Días: Caracterización similar al día 9, 12 y 21, salvo moderada granulación y trabéculas óseas moderada.

**Agradecimientos:**

A las siguientes personas: Yamile Acosta, Directora Centro de Servicios de Salud, SENA; Marta Quintero Directora Centro Agropecuario La Salada, SENA; Augusto González MV y Neila Moreno. Centro Agropecuario La Salada, SENA; Laboratorio de Patología, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia.

**Summary**

*Osseous Graft-New Alternative. Phase II. Evaluation of the osteoinductive properties of partially purified bone morphogenetic proteins, subcutaneously implanted in an experimental lapin model.*

*The purpose of this research was to evaluate the osteoinductive characteristics of partially purified bone morphogenetic proteins from bovine bone, through subcutaneous implantation in an experimental lapin model, to be used later as bone graft material mixed with an osteoconductive material. The procedure was carried out through subcutaneous implantation of 8 mg of BMP in the dorsal region at scapula level, in 21 New Zealand rabbits. They were distributed into 6 evaluation groups at 3,6,9,12,21 days and 8 weeks of evolution, when the implants were removed and sent to histopatologic evaluation through convencional optic microscopy to characterize different tissue elements, that included bone neoformation. The results were analyzed with multiple correspondence factorial method with jerarquic classification, and showed that BMP stimulate bone induction in ectopic sites, having osteogenic activity, because osseous trabeculae were noticed in all samples taken since day 6 post implantation.*

**Key words:** *grafts, growth factors, osteoinduction.*

## Referencias

1. Aaboe M, Pinholt E.M, Hjorting-Hansen E. Healing of experimentally created defects: a Review. *Br. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 1995; 33: 312-318.
2. Bostrom MP. Expression of bone morphogenetic proteins in fracture healing. *Clin Orthop* 1998; 335 Suppl: S 116-23.
3. Boyan D. Initial effects of partially purified bone morphogenetic protein on the expression of glycosaminoglycan, collagen and alkaline phosphatase in nonunion cell cultures. *Clinical Orthopaedics and Related Research* May 1992; 278.
4. Breitbart, A S, Staffenberg D, Thorne C, Glat P, Cunningham N, *et al.* Tricalcium phosphate and osteogenin: A bioactive onlay bone graft substitute. *Plastic and Reconstructive Surg.* 1995; 96, 3: 699 - 707.
5. Concannon, M, Boschert M, Puckett C . Bone induction using demineralized bone in the rabbit femur: a long term study. *Plastic and Reconstructive Surg.* 1997; 99, 7: 1983 - 88.
6. Cornell CN, Lane JM. Newest factors in fracture healing. *Clinical Orthopaedics and Related Research* april 1992; 277: 297 – 311.
7. Fitch R. Bone autografts and allografts in dogs. *Compendium on Continuing Education* May 1997; 19, 5: 558-573.
8. Hardouin P. Les Biomatériaux de l'appareil locomoteur. *Rev Rhum Mal Ostéoartic*, 1992; 59(12): 829-833.
9. Kawasaki K, Aihara M. Effects of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on differentiation of cells isolated from human bone, muscle and skin. *Bone* Sept 1998; 23, 3: 223 – 231.
10. Miyamoto S, Takaoka K. Evaluation of polylactic acid homopolymers as carriers for bone morphogenetic protein. *Clinical Orthopaedics and Related Research* may 1992; 278: 274 - 285.
11. Morax S, Hurbli T, Smida R. Greffe osseuse hétérologue d'origine bovine dans la chirurgie orbitaire. *Ann Chir Plast Esthét* 1993; 38(4): 445 – 450.
12. Pasquier G, Hardouin P, Fontaine C, Migaud H, Duquennoy A. Les différents modes de comblement osseux en chirurgie orthopédique. *Rev Rhum Mal Ostéoartic* 1992; 59(12): 821–828.
13. Reedi D. Properties of coralline hydroxiapatite and expanded polytetrafluoroethylene membrane in the immature craniofacial skeleton. *Plastic and Reconstructive Surgery* Jan 1999; 103, N 1: 20-26.
14. Rivera J, Riaño C, Monsalve P, Osorio A. Injertos óseos- Nueva Alternativa. Fase I. Extracción de proteínas morfogenéticas parcialmente purificadas de hueso bovino. *Rev Col Cien.* 2003; 16 (2): 139-146.
15. Sampath R, Muthurumaran N, Reddi AH. Isolation of osteogenin, an extracellular matrix - associated bone - inductive protein, by heparin affinity chromatography. *Proc Natl Acad Sci* October 1987; 84: 7109 – 7113.
16. Torricelli P. Xenogenic demineralized bone matrix: osteoinduction and influence of associated skeletal defects in heterotopic bone formation in rats. *Int Orthop* 1999; 23 (3) : 178–181.
17. Urist, M, Lietze A, Nizutani H, Takagi K, Triffitt J, *et al.* A bovine low molecular weight bone morphogenetic protein (BMP) fraction. *Clinical Orthopaedics and Related Research.* 1982; 162: 219 – 32.
18. Urist, Marshall R. Bone Morphogenetic Agents. United States Patent N° 4795804, January 3, 1989.
19. Urist Marshal R. Lipids closely associated with bone morphogenetic protein (BMP) and induced heterotopic bone formation. with preliminary observations of deficiencies in lipid and osteoinduction in lathyrism in rats. *Connect Tissue Res* 1997; 36 (1): 9 - 20.
20. Viljanen VV, Lindholm TS, Lindholm TC. Partial purification and characterization of bone morphogenetic protein from bone matrix of the premature moose (*Alces alces*) : degradation of bone-Inducing activity during storage. *Eur Surg Res* 1996; 28 (6) : 447-60.
21. Wang A E, Rosen V, Cordes P, Hewick M, Kriz M, *et al* Purification and characterization (BIOCHEMISTRY) of other distinct bone - inducing factors. *Proc Natl Acad Sci* 1988; 85: 9484 – 9488.
22. Wozney JM. The bone morphogenetic protein family: multifunctional cellular regulators in the embryo and adult. *Eur J Oral Sci* 1998; 106 suppl: 160–166.
23. Wozney JM. Bone morphogenetic proteins and their gene expression. Noda M, ed. *Cellular and Molecular Biology of Bone.* New York: Academic Press 1993; 131-167.

24. Wozney JM. BMPs roles in bone development and repair. Portland Bone Symposium; Aug 2-5, 1995; Portland Ore.
25. Wozney JM.. An overview of bone morphogenetic proteins. Genetics Institute, Inc. Cambridge, MA. 1997.
26. Yoon ST, Boden, DS. Osteoinductive molecules in orthopaedics: basic science and preclinical studies. Clinical Orthopaedics and Related Research 2002; 2002: 33-43.