

IMPLANTACION SUBCUTANEA DE MEMBRANAS DE PRODUCCION NACIONAL UTILIZADAS EN REGENERACION TISULAR EN RATAS DE LA CEPA CrI:CD1-(ICR)BR: ESTUDIO DE BIOCOMPATIBILIDAD*

Carmen Alicia Cardozo de Martínez**

Ramón Pereira Ebratt**

Elena Jaramillo Uribe**

RESUMEN

Se presenta un estudio en la modalidad descriptiva sobre la utilización de una prueba de implantación subcutánea en ratones albinos suizos de la colonia no consanguínea CrI:CD1-(ICR)BR, a los cuales se les colocó con una técnica específica atraumática de trocar un fragmento de una membrana de producción nacional utilizada clínicamente para regeneración tisular; se les monitoreó durante ocho semanas al cabo de las cuales se realizaron estudios histológicos de necropsia donde se pudo evidenciar la persistencia de reacción de tipo inflamatorio a la presencia de cuerpo extraño.

INTRODUCCION

La experimentación animal se remonta a la época de Aristóteles (384-322 A de C), cuando prohibidas las autopsias en cadáveres humanos, los científicos buscaron en los animales el origen y las características de los procesos patológicos humanos mediante la deducción de semejanzas. Con la era de las bacterias y sus principales investigadores: Pasteur y Koch, se inició una importante y decisiva utilización de los animales de laboratorio (conejos, curules, ratones, ratas, hurones, hamsters, etc.) para la identificación de los gérmenes etiológicos de las enfermedades contagiosas. Sin los animales de laboratorio no se habrían podido probar las hipótesis sobre las vacunas contra el carbón bacteriano y la rabia.

El perro (canis doméstico) fue uno de los primeros animales que se utilizó en patología comparada, Du Hamel De Monceau en 1741 estableció en él la importancia del pronóstico en la reparación de una fractura. Según Keler, el ratón blanco como animal de laboratorio era conocido y utilizado por Aristóteles al igual que el ratón pardo en la China mil años antes de Cristo.

La cría de ratones en colonias fue el primer intento de obtener animales de experimentación con un criterio científico, dentro de los cuales el ratón blanco, orden RODENTIA, familia MURIDAE, género MUS o MUSCULINUS es el preferido en investigaciones biológicas.

En los diversos estudios para los cuales se seleccione la utilización de estos modelos debe haber claridad en la selección del animal a utilizar con el fin que los análisis hechos tengan validez, es por ello que Leader y Padgett desde 1980 establecieron los requisitos del modelo animal así:

- Deben permitir una adecuada reproducción de la enfermedad o lesión a estudiar.
- Ser asequible a múltiples investigadores en diversos medios.
- Ser exportable.
- Permitir la obtención de múltiples muestreos o biopsias.
- Ser fácilmente manipulable por varios investigadores.

En odontología los modelos más utilizados han sido el conejo,

la rata, el mono especialmente el macaca y el perro. Para estudios de biomateriales el mas utilizado ha sido la rata que es un animal fácilmente manipulable, normalizable, transportable, reproducible y de muy bajo costo.

Williams en 1981 define la biocompatibilidad como el estado que permite que un material permanezca dentro de los tejidos sin modificar sus condiciones fisiológicas, sin que él actúe sobre el organismo ni que éste a su vez lo modifique. De modo ideal un material que va a ser usado en la cavidad oral debe ser inocuo para los tejidos con los cuales va a estar en contacto (Phillips, 1986 Smith, 1982, Bergman, 1977). Igualmente el mismo autor hace referencia a que los materiales no deben contener sustancias tóxicas que puedan ser absorbidas por el sistema circulatorio y desencadenen una respuesta tóxica general ni deben tener agentes sensibilizantes potenciales que pudieran llevar a una respuesta alérgica, generando "bioaceptación".

Actualmente el documento No. 41 del Instituto de Normas Nacionales Americanas, ANSI, y la Sociedad Dental Americana ADA, recopilan las pruebas necesarias para la evaluación biológica de los materiales de uso odontológico (Guzmán, 1990), clasificadas básicamente en tres niveles: Las de nivel I son pruebas de detección mediante las cuales se investiga si el material causa toxicidad generalizada o posee potenciales citotóxicos irritativos, alérgicos o carcinogénicos. Pruebas de nivel II el material se valora

en animales de experimentación bajo condiciones que simulan el uso clínico; si las pruebas anteriores muestran que el material es seguro, se prueba en seres humanos en busca de reacciones y para valorar su rendimiento en situaciones clínicas constituyéndose entonces estas en pruebas de nivel III. Desde los puntos de vista ético y legal, ya no se acepta realizar pruebas en el hombre antes de una adecuada valoración en animales (Phillips, 1986).

Según Coleman (1974) cualquier reacción a un material extraño es una respuesta del sistema inmune, sin embargo, la respuesta inmunológica primaria involucra directa o indirectamente hipersensibilidad al material implantado (Buser, 1994); por consiguiente se deben considerar respuestas antigénicas potenciales en la selección de materiales implantables (Haugen, 1978) dado que sus componentes sintéticos en general no se comportan como antígenos, aunque algunos de los componentes de ciertos polímeros, generalmente monómeros residuales pueden provocar reacciones de hipersensibilidad en algunos pacientes.

Coleman desde 1974 mencionó como todos los materiales sin importar su composición interactúan con el huésped en algún grado (Autian, 1974) y que materiales de composición química diferente, o biomateriales, con la misma base química pero con diferentes macro o microestructuras pueden despertar diferentes tipos de respuesta celular o sistémica.

Este trabajo pertenece al proyecto de investigación Colciencias, Universidad Nacional 022-93.

Respectivamente: Profesora Asociada Facultad de Odontología U. N.; Profesor Asistente Facultad de Odontología U.N.; Profesora Asociada Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia U.N.

MATERIALES Y METODOS

Este estudio se llevó a cabo en el Bioterio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnica de la Universidad Nacional donde se tomaron 10 (diez) RATONES ALBINOS SUIZOS de la colonia no consanguinea CRI:CD1-(ICR)BR, se mantuvieron en un cubículo aislado a las condiciones de temperatura y humedad ideales (16-18°C y 60% respectivamente). Se alimentaron con concentrado para caninos (Kenell Ration). Se prepararon fragmentos estériles de membranas utilizadas para regeneración tisular las cuales fueron suministradas por la casa fabricante nacional.

Con el fin de evitar la realización de incisiones y la aplicación de suturas que en un momento determinado pudieran alterar los resultados de la medición de los niveles de inflamación se diseñó un sistema específico para la colocación de las membranas que obviara los anteriores inconvenientes: colocar la membrana en forma subcutánea con la técnica del trocar; con el fin de localizar más fácilmente la membrana en el período posterior se decidió colocarla siempre por el flanco izquierdo a nivel de la última costilla. Una aguja hipodérmica calibre 18G la cual llevaba en su luz la membrana enrollada sobre sí misma sirvió como vehículo para la implantación subcutánea. Los animales fueron sometidos a anestesia general con Eter Sulfúrico, se rasuraron con máquina de afeitar en la zona de implantación y se tuvieron en cuenta todos los principios de asepsia-antisepsia. Una vez introducida la aguja en el lugar deseado, la membrana se empujó con un émbolo de acero inoxidable, para seguidamente y de manera muy cuidadosa retirar la aguja frotando el orificio con yodo-povidona. El animal señalado como control recibió todo el procedimiento incluyendo la inoculación con el trocar con la diferencia de que no se le introdujo la membrana. Los ratones fueron mantenidos vivos por un período de 8 semanas durante las cuales

se realizó monitoreo diario de los animales marcados como M (machos) y H (hembras). Al cumplirse el tiempo establecido los ejemplares fueron sacrificados dentro de una campana de eutanasia con Eter Sulfúrico. Al tacto se ubicó el sitio de implante de la membrana, se realizó una incisión que incluía la zona de implantación y se realizó una disección tratando de no tocar el material colocado y los tejidos adyacentes; se observó la condición macroscópica de los mismos. El material obtenido se fijó en formalina al 10% para su estudio.

RESULTADOS

Durante las ocho semanas el monitoreo diario permitió concluir que los animales no presentaron ninguna evidencia de malestar, cambio de peso, de comportamiento, de aspecto general o inapetencia. Su desplazamiento y actividad dentro de las jaulas fue similar al del ejemplar señalado como control.

El día del sacrificio se observó minuciosamente desde el punto de vista macroscópico el aspecto, color, textura, aspecto tanto del tejido externo como del interno adyacentes al sitio del implante. Se constató que el implante permanecía en el sitio inicial y no se apreciaron zonas de tumoración o adenopatías que pudieran mostrar reacciones adversas. No se apreciaron zonas de fibrosis ni de desgarramientos evidentes clínicamente.

Los resultados histológicos se describen individualmente:

M2: Extensa reacción inflamatoria subaguda contra cuerpo extraño localizada por debajo del plano muscular aparentemente dérmico y constituida por muy abundantes células macrófagas gigantes rodeando y fagocitando fragmentos refringentes de cuerpo extraño (la membrana), abundantes fagocitos mononucleares conjuntivos histiocíticos, escasos número de linfocitos, células plasmáticas y neutrófilos, moderada

proliferación de fibroblastos y fibrocitos, hiperemia moderada.

M3: Se aprecian fragmentos de cuerpo extraño alargado refringente dérmico rodeado por reacción inflamatoria de menor número de células gigantes de cuerpo extraño, fagocitos mononucleares, neutrófilos, fibroblastos y fibrocitos. No se observan linfocitos ni células plasmáticas, hiperemia activa moderada.

M4: Reacción inflamatoria contra cuerpo extraño mucho más severa que la observada en M2, extensa y numerosa en elementos celulares; hiperemia activa interna y periférica muy notorias.

H1: Cápsula conjuntiva continua y amplia constituida por fibroblastos, fibrocitos, muy pocos neutrófilos y moderado número de capilares sanguíneos.

H5: Hiperemia activa interna y periférica moderadas.

H6: Cápsula conjuntiva continua, amplia y en íntimo contacto con cuerpo extraño; constituida por abundantes fibroblastos, fibrocitos, neutrófilos, fagocitos mononucleares histiocíticos que ingieren fragmentos de cuerpo extraño y moderado número de fagocitos gigantes e hiperemia activa.

H7: Abundante reacción inflamatoria contra cuerpo extraño localizada en el plano muscular dérmico con hiperemia activa interna notoria.

H8: Biopsia sin lesiones histopatológicas, correspondiente al denominado Control.

A excepción de H8 que correspondía al control, todos los especímenes se caracterizaron por la presencia de una reacción inflamatoria severa a cuerpo extraño demostrado por la presencia de células multinucleadas gigantes. La membrana se apreció íntegra.

DISCUSION

Es evidente con base en los resultados, la respuesta a cuerpo

extraño en todos los especímenes aun después de 8 semanas, lo cual contrasta con el concepto de biocompatibilidad dado por Williams en 1981 y Phillips en 1986 quienes dicen que ésta se da por la ausencia de reacciones de tipo inflamatorio o alérgico a la colocación de materiales a usar en cavidad oral, inoculados o implantados en animales y analizados en lapsos entre 24 horas y hasta 12 semanas. En este estudio se seleccionaron ocho semanas con base en que es el tiempo promedio de maduración del tejido conjuntivo y al cabo del cual el proceso de cicatrización ha sido completo.

Esto nos lleva a pensar en que tal vez alguno o algunos de los elementos constitutivos de la membrana o su disposición estructural química tienen algún poder irritativo por lo menos evidenciable a nivel local, lo que conduce a proponer más estudios sobre la constitución en sí del material y posiblemente algún compuesto liberable o inestable dentro de la molécula de formación del mismo. Igualmente se observa que a pesar del aparente encapsulamiento la presencia de células sobrepasando esta posible barrera podría indicar un efecto "quematravés" severo y sostenido tal vez producido por algún componente de la membrana, posiblemente con repercusiones clínicas durante su colocación en humanos que pueda afectar la predictibilidad de la técnica en los mismos.

Compartiendo los conceptos de Linde y Albeirus la técnica de regeneración es posible realizarla con Politetrafluoretileno o materiales similares siempre y cuando su comportamiento en contacto con los tejidos sea de bioaceptación, sin embargo en este estudio queda en duda la biocompatibilidad de la membrana por su evidente comportamiento histológico altamente irritativo según la descripción hecha a las 8 semanas.

BIBLIOGRAFIA

AUTIAN, J. General toxicity and screening tests for dental materials. *Int. Dent. j.* 24: 235, 1974.

BERGMEN, B. The effects of prosthodontic materials on oral tissues. *Oral Sci Rev* 10: 75, 1977.

BUSER, D.; DAHLIN, Ch.; SCHENK, R. Guided bone regeneration in implant den-

istry. Quintessence Publishing Co. 101-136, 1994.

COLEMAN, D. L.; KING, R. N.; ANDRADE, J. D. The foreign body reaction: a chronic inflammatory response. *J. Biomed. Res. Mat.* 8: 199, 1974.

GUZMAN, H. Biomateriales odontológicos de uso clínico. *Cat Editores* 27-31. 1990.

HAUGEN, E. Subcutaneous implants for assessments of dental materials with emphasis on periodontal dressings. *J. Period. Res.* 13: 262-269, 1973.

PHOLLIPS, R. La ciencia de los materiales dentales de Skinner. Nueva Editorial Interamericana 1-30, 1986.

RAE, T. Cell bi
tion to the i

se to foreing materi
Res., 1989.

SMITH, D., WILLIAMS, D. Biocompatibility of dental materials. Volume I, 1981.

_____. Biocompatibility of dental materials. CRC Press, Boca Raton Florida, 1982.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y DE ZOOTECNIA

PROGRAMAS DE ESTUDIOS DE POSGRADO

MAGISTER EN SALUD Y PRODUCCION ANIMAL
AREAS DE INVESTIGACION

FISIOLOGIA

NUTRICION ANIMAL

CITOGENETICA Y MEJORAMIENTO ANIMAL

MICROBIOLOGIA Y EPIDEMIOLOGIA

FISIOPATOLOGIA

ICTIOPATOLOGIA

DOCTORADO EN CIENCIAS VETERINARIAS AREAS DE INVESTIGACION

FISIOPATOLOGIA AVIAR

FISIOLOGIA DE LA REPRODUCCION

INFORMACION

Tel: 3681294 – Fax: 3681330
Santafé de Bogotá, D.C. Colombia.