

# **ESTUDIO DE BIOCOMPATIBILIDAD Y REABSORCIÓN DE UNA MEMBRANA DE COLÁGENO BOVINO DE ORIGEN NACIONAL CINÉTICA DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA – REPARATIVA EN RATAS DE EXPERIMENTACIÓN**

Dr. Facundo Caride M.S.  
Dr Diego M. Bernales  
Dr. Martín Laguens  
Prof. Dr. Edgardo Rodolfo Caride

**Revista Pilares**

Año 6 – NUMERO 12 – DIC. 2002

## **RESUMEN**

Las membranas reabsorbibles de colágeno son ampliamente utilizadas en Periodoncia para regeneración tisular guiada (RTG), y en Implantología para Regeneración ósea guiada (ROG). En este trabajo presentaremos un estudio realizado en ratas de experimentación donde se evaluará, la biocompatibilidad y el tiempo de reabsorción de una membrana de colágeno de origen nacional: Membracel-O.

Collagen reabsorbable membranes are widely used in Periodontis in Implant dentistry for guided tissue regeneration (GTR) and guided bone regeneration (GBR). In this article we will evaluate the biocompatibility and resorption time of an Argentinian collagen membrane (Membracel-O). An experimental study in rats.

## **INTRODUCCIÓN**

Desde los trabajos iniciales de Nyman, Karring, y Lindhe, publicados en 1982 (1), surge en la terapia periodontal uno de los conceptos más revolucionarios en cicatriza-ción de los tejidos periodontales perdidos: la Regeneración Tisular Guiada (RTG). Esta nueva modalidad de tratamiento regenerativo se ha basado en el principio biológico de guiar la proliferación de varios componentes del tejido periodontal. Esto implica la formación de una nueva inserción del tejido conectivo, nuevo cemento y nuevo hueso. La utilización clínica de la (RTG) en la terapia periodontal involucra la colocación de una barrera física o membrana para facilitar que la superficie radicular desinsertada se recubra con células del ligamento periodontal. La aplicación del principio de la (RTG) dio los fundamentos para el nacimiento de la técnica de la Regeneración Ósea Guiada (ROG). A través de ésta se logra la creación de un espacio cerrado que capacita al hueso existente para repoblar la zona con células formadoras de hueso, logrando de esta manera la neoformación del tejido óseo. Dahlim et al en 1988 (2), fue un pionero en la investigación de este principio en un trabajo experimental en ratas.

En los últimos años las barreras fueron confeccionadas con dis-tintos biomateriales, dividiéndose en dos grandes grupos:

no reabsorbibles, (PTFE-e), y reabsorbibles, siendo las más utilizadas dentro de este grupo las de colágeno (3).

El colágeno tiene ventajas adicionales tales como:

Hemostasis, quimiotaxis para fibroblastos periodontales (4) y gingivales (5), una débil reacción inmunogénica (6), y sirve como sostén de la migración celular (7). Es además un material de fácil manipulación. Su biocompatibilidad ha sido evaluada en injertos de colágeno humano tanto in vivo como in vitro, dando como resultado una mínima respuesta inmunológica (8).

Tanto en animales como en seres humanos las pruebas con ba-rreras colágenas fueron hechas en distintas especies animales (bovinos, porcinos, etc.), y colocadas en distintos sitios anatóni-cos en lesiones periodontales (RTG) o en implantes (ROG). (9), (10).

En el presente trabajo se evaluó la cinética de la respuesta inflamatoria reparativa a una membrana colágena bovina de origen nacional (Membracel-O®) colocada en el músculo masetero de ratas Wistar, de acuerdo al siguiente modelo experimental.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **DESCRIPCIÓN DE LA MEMBRANA DE COLÁGENO MEMBRACEL-O®**

Elaboración de la membrana

Para su confección se emplean fracciones de piel de colágeno bovino conservadas en frío, las que luego son descongeladas y tratadas con HONa (hidróxido de sodio), posteriormente se le agrega una solución acética, que luego es homogeneizada en ácido láctico y glicerol obteniendo así un gel de colágeno nativo que se conserva en bidones a 0.5 °C.

Una vez obtenido el gel se siembra en bandejas, se seca en estufa hasta obtener la membrana seca. Luego se envasa en sobres individuales y se esteriliza a través de Rayos Ionizantes.

### **COMPOSICIÓN DE LA MEMBRANA**

Esta técnica permite obtener una membrana cuya composición es:

-Colágeno nativo tipo I: 0,29 cada 100 cm

-Ácido Láctico (vestigios)

-Glicerol (vestigios)

Características Físico-químicas:

Es semitranslúcida, porosa, de textura lisa y ligeramente amarilla.

Es insoluble en agua y solventes orgánicos y aumenta la resistencia a la tracción cuando es humedecida en solución fisiológica o en agua.

Animales:

Se utilizaron 30 ratas macho Wistar de entre 400-450 grs

### **ESQUEMA EXPERIMENTAL**

Los animales fueron separados en tres grupos de 10 animales cada uno, los cuales fueron sacrificados a los 20, 40 y 60 días.

Los animales fueron anestesiados con Ketamina por vía intra-peritoneal, empleando 100 mgr/kg. de peso y Cilacina 40 mgr/Kg. Los músculos maseteros fueron anestesiados localmente en forma infiltrativa con Xylocaina al 2% y 1:100.000 de epinefrina. Las zonas fueron rasuradas y desinfectadas con Iodopovidona. Se efectuó una incisión con hoja de bisturí N° 15 a través de piel hasta lograr reparo óseo en zona mandibular. En cada uno de los animales, sobre el masetero izquierdo, se colocó una membrana de colágeno Membracel-O® de 3 x 5 mm en disposición paralela al eje mayor del músculo, con sus bordes laterales orientados en forma antero-posterior, de manera tal que la misma quedó totalmente incluida en el espesor del músculo, con sus caras paralelas a los grupos fibrilares del mismo. Una vez controlada la hemostasia, se cierra piel con sutura de Seda 5-0.

Los músculos maseteros contralaterales sirvieron como control y fueron tratados de la misma manera, aunque se obvió la colocación de la membrana.

Los animales se colocaron en cajas plásticas individuales, con acceso libre a alimentación blanda y agua. Fueron monitoreados cada 24 hs.

Posteriormente fueron sedados con inyección peritoneal de Ketamina y Cilacina, y una vez anestesiados fueron sacrificados con Dióxido de Carbono (CO<sub>2</sub>).

### **ANÁLISIS HISTOLÓGICO**

Los músculos maseteros fueron disecados en su totalidad, fijados en solución tamponada de formaldehído al 10% pH 6.8 durante 20 horas, deshidratados por pasajes en alcoholes de graduación creciente e incluidos en parafina. Se realizaron cortes con micrótomos de deslizamiento de 6 µm de espesor, de manera tal que el espacio ocupado por la membrana fuera incidido transversalmente. Los cortes fueron teñidos con hematoxilina y eosina y observados en un microscopio de luz.

## RESULTADOS

A los 20 días luego de la operación (post-operatorio) se apreciaron en todas las muestras de músculo con implante de membrana, importantes granulomas con células gigantes multinucleadas de tipo cuerpo extraño, que rodeaban restos fragmentados de membrana, un denso infiltrado inflamatorio linfomonocitario, y ausencia de signos de fibrosis

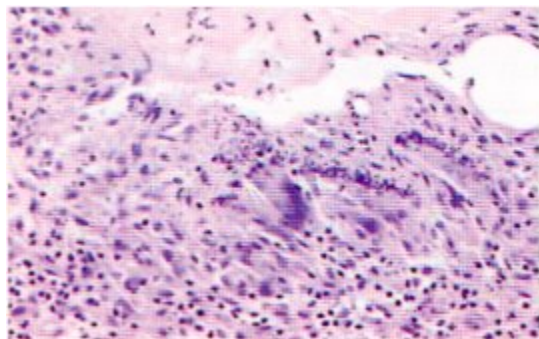


Figura 1-A: Imagen con mayor detalle donde se aprecian restos de la membrana hacia la porción superior de la imagen, y un intenso infiltrado inflamatorio con células “en empalizada” y células gigantes multinucleadas (H&E – 200X).



Figura 1-B: Imagen panorámica del músculo (sobre el área izquierda de la imagen), cuyo intersticio aparece profusamente infiltrado por un exudado linfo-monocitario dispuesto en parches, en los que se pueden apreciar restos de membrana (H&E – 34X).

A los 40 días (P.O.), la intensidad del proceso granulomatoso en los músculos con membrana, disminuyó en aproximadamente un 50% de los animales, no observándose en ellos restos de membrana

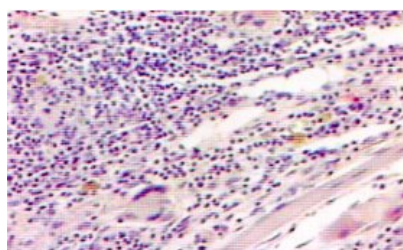


Figura 2-A: Detalle de otro sector de músculo implantado, donde se aprecia tejido muscular en su ángulo inferior derecho, infiltrado por linfocitos, un exudado inflamatorio que domina el cuadro, con células gigantes multinucleadas, y presencia de macrófagos cargados de pigmento de aspecto ceroides (H&E – 100X).



Figura 2-B: Imagen de tejido muscular infiltrado en su perimio por un proceso inflamatorio crónico linfocitario, con inicios de fibrosis, evidente en el ángulo inferior derecho de la imagen (H&E – 100X).

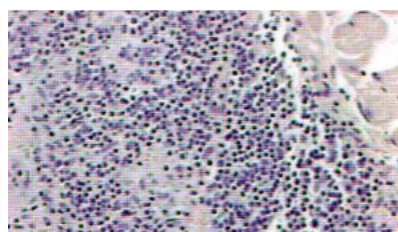


Figura 3-A: Intersticio muscular infiltrado por un proceso inflamatorio crónico linfocitario, con áreas de fibroblastos jóvenes (H&E – 100X).

La mitad remanente de los animales mostró granulomas de mayor intensidad, rodeando restos de membrana. El exudado linfocitario fue intenso en un 50% de los animales, mostrando una merma en el 50% restante, existiendo en 3 animales, signos de fibrosis incipiente. No hubo correlación entre la fibrosis, la intensidad del infiltrado inflamatorio, la intensidad de los granulomas ni la presencia o ausencia de membrana.

