

20



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y  
ZOOTECNIA

EVALUACION DE LA REGENERACION OSEA EN  
FRACTURAS CON LESION CRITICA,  
REPARADAS CON ALOIMPLANTES DE HUESO  
DESMINERALIZADO. ESTUDIO EXPERIMENTAL  
EN RATAS.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
PRESENTA

CLAUDIA DIAZ VELASCO

ASESORES: M.V.Z ALFREDO CORTES ARCOS  
M.V.Z. CLAUDIA V. RIVERA CERECEDO  
M.V.Z. LUIS I. MONTESINOS RAMIREZ



MEXICO, D. F.

2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

EVALUACIÓN DE LA REGENERACIÓN OSEA EN FRACTURAS CON LESION  
CRITICA, REPARADAS CON ALOIMPLANTES DE HUESO DESMINERALIZADO.  
ESTUDIO EXPERIMENTAL EN RATAS.

Tesis presentada ante la  
División de estudios profesionales de la  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

de la

Universidad Nacional Autónoma de México

Para la obtención del título de  
Medico Veterinario Zootecnista

Por

Claudia Díaz Velasco

Asesores: M.V.Z Alfredo Cortés Arcos

M.V.Z Claudia V. Rivera Cercedo

M.V.Z Luis I Montesinos Ramírez

*DEDICATORIAS*

*A mis padres*

*Graciela Velasco Jiménez y Erasmo Díaz León.*

*Por darme la vida y por todo el cariño y amor que me han dado.*

*A mis hermanos*

*Edith, Rubén e Israel. Por todo su apoyo.*

*A mi abuela*

*Amayalá. Por que tu me motivas a seguir adelante.*

*A la M. V. F. Claudia V. Herrera Coronado Por tu motivación y apoyo para terminar este trabajo.*

*A la M. V. F. Alfredo Cortés Acea Por confiar en mí y compartir sus conocimientos y experiencias profesionales.*

## AGRADECIMIENTOS

A Dios. Por estar siempre conmigo.

A mis padres Graciela Velasco Jiménez y Crescencio Díaz Corón. Por confiar en mí y por que es la mejor herencia que me han dejado. Espero no haberlos defraudado.

A mi tía

Catalina Velasco Jiménez. Por todo su apoyo.

A mis exores

M. M. V. F. Alfredo Coatis Aras. Por darme la oportunidad de trabajar con usted

A la M. V. F. Claudia V Rivera Corcoba. Por tu amistad y estar conmigo en las buenas y en las malas. Este triunfo también es tuyo. Gracias

M. M. V. F. Luis J. Montalinos. Por su orientación en la elaboración de este trabajo.

A los miembros del jurado

M. V. F. Rosa Elena Mondos Aguilera M. V. F. Lourdes Aras Carreras M. V. F. Carlos Samcoy Mejía  
M. V. F. Armando Arevalo Borrero

A M. V. F. Benjamín Vargas. Por su apoyo y colaboración en el estudio radiográfico realizado en este trabajo.

A la Dra. Guadalupe Justica Jiménez. Por la colaboración del trabajo clínico histopatológico

A D. Luis Manuel Siverio. Por su colaboración en la interpretación de los hallazgos

IV

*M. M. V. F. Marco A. Montes Mata* Por todo lo que compartimos y tu apoyo incondicional.

*M. M. V. F. Armando Rojas*. Por todos los buenos momentos y ayudarme a tomar la decisión correcta. Gracias.

*M. M. V. F. Carlos A. Tena B.* y a la *M. V. F. Verónica Graullera* Por su confianza y permitirme trabajar con los animales de laboratorio

*A lo que siempre citas con mígo y me permitiste terminar este trabajo.*

*A mis amigos Patricia Durán, Leticia Juárez, Orlando Casarosa, Gabriela Vázquez, Luis Leonardo Ochoa, Celis Talavera y Fernando Almada* por compartir alegrías tristezas triunfos y fracasos.

*A la gente que trabaja en el Instituto de Fisiología Celular M. V. F. Hector Malagón, Dra. Alejandra Lara, Sara Lara, Irma L., Ricardo L., Federico L., Jesús L., Gabriel L., Salvador y Sr. David* por su apoyo en la realización de este trabajo.

*A la Universidad Nacional Autónoma de México.*

*A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*

*A el Instituto de Fisiología Celular*

*A el departamento de patología de Hospital General de México*

*A todos los animales que colaboraron en este trabajo.*

**CONTENIDO**

	<u>Página</u>
RESUMEN .....	1
INTRODUCCIÓN .....	3
MATERIAL Y METODOS .....	7
RESULTADOS .....	12
DISCUSIÓN .....	18
CONCLUSIONES .....	22
LITRATURA CITADA .....	24
FIGURAS .....	25

## RESUMEN

**DÍAZ VELASCO CLAUDIA.** Evaluación de la regeneración ósea en fracturas con lesión crítica, reparadas con aloimplantes de hueso desmineralizado. Estudio experimental en ratas (bajo la dirección de. MVZ Alfredo Cortés Arcos, MVZ Cláudia V. Rivera Cerecedo y MVZ Luis I. Montesinos Ramírez).

El objetivo del presente trabajo fué evaluar la regeneración ósea de fracturas con lesión crítica, utilizando aloimplantes de hueso desmineralizado. Se utilizaron 20 ratas cepa Wistar divididas en dos grupos de 10 ratas cada uno, el grupo A (experimental) y el grupo B (testigo). Al grupo A se le provocó una lesión ósea y se colocó un aloimplante de hueso desmineralizado. Al grupo B únicamente se le produjo la lesión ósea, para demostrar que con un espacio de 5-7 mm (espacio crítico) no existe unión ósea, pero colocando un aloimplante (de hueso desmineralizado) longitudinalmente a la fractura se regenera el hueso lesionado.

Se realizaron estudios radiográficos, macroscópicos e histológicos para valorar la regeneración ósea en cada uno de los animales, esta evaluación se llevó acabo de la primera a la décima semana.



En los estudios radiográficos se incluyeron dos proyecciones cráneo-caudal y medio-lateral que no tuvieron calidad diagnóstica y por lo tanto no se pudo confirmar por este medio la formación de callo óseo.

En el estudio macroscópico se encontró alineación del hueso, así como la formación de tejido fibroso alrededor de la fractura en los animales con implante.

En el estudio histopatológico se realizaron cortes longitudinales del hueso, en los cuales se efectuaron tinciones de Hematoxilina-Eosina (HE) y tricrómica de Masson. Se encontró que los animales del grupo experimental A presentan metaplasia cartilaginosa a partir de la primera y segunda semana; los osteoblastos con matriz osteoide se hacen evidentes a la tercera semana indicando así el principio de la regeneración ósea, que fue aumentando semana tras semana hasta presentar osteocitos y hueso trabecular en la décima semana; mientras que en el grupo testigo se observó abundante infiltrado inflamatorio, condroblastos, angioblastos, tejido conjuntivo fibroso proveniente de periostio y del tejido muscular a partir de la quinta semana también se observaron los extremos del hueso fracturado con actividad osteoclástica y osteoblástica, así como osteocitos a partir de la séptima semana. Finalizando en la décima semana con cierre del espacio con tejido conjuntivo fibroso formando una pseudoartrosis

## INTRODUCCIÓN.

En el año de 1688, fueron registrados los primeros trabajos experimentales con trasplantes de órganos, cuando Meekren aplicó un injerto de bóveda craneal en un paciente seriamente lesionado. (1) Años más tarde, las investigaciones continuaron con Hunters y Fluorens quienes aportaron casos aislados en donde el injerto óseo se considero como un avance en la ortopedia, pero fue hasta el año de 1911 cuando Fred H. Albee informó por primera vez del uso de injerto óseo con fines terapéuticos.

En 1931 Huggins utilizó hueso desmineralizado como matriz inductora considerando que el hueso desmineralizado libera proteínas que producen osteoinducción, más adelante en 1950 Seen fué el primero en utilizar implantes de hueso desmineralizado de buey para reparar defectos de cráneo en perros y defectos de tibia producidos por osteomielitis en pacientes humanos. (1,2).

Urist demostró que la matriz de hueso, descalcificado con ácido clorhídrico inducía osteogénesis intramuscular en conejo, rata, ratón y cobayo, al igual que la dentina descalcificada y junto con Huggis utilizaron el hueso descalcificado en un estudio de fosfatasa alcalina para observar la osteoinducción. (2)

Es necesario tener en claro la diferencia entre injerto e implante El **injerto** es la transferencia de tejido vivo y fresco que no ha tenido algún tratamiento y en el cual las células son viables. El implante, consiste en tejido no vivo, preservado por desecamiento, congelamiento o por liofilización pudiendo ser un material no biológico.

Los implantes óseos, son componentes no vivos, cuya matriz celular ha sido eliminada mediante un proceso de desmineralización proteica, así como las células de las partes blandas de la superficie vascular y de las trabéculas óseas(1) Los implantes se clasifican en: homoiimplantes o aloimplante que se obtienen y se implantan en individuos de la misma especie sin relación genética, isoiimplantes que se obtienen y se

implantan en individuos, que son genéticamente idénticos como el producto del mismo cigoto; xenoimplantes o heteroimplantes que se obtienen y usan en individuos de diferente especie; implantes autólogos o autógenos se obtienen del mismo individuo pero se colocan en un sitio diferente al de su lugar de origen (7).

Al momento de colocar un aloimplante, se origina una reacción inflamatoria como respuesta al proceso necrótico del implante, seguida de manera paulatina por la formación de tejido de granulación y finalmente de regeneración, simultáneamente proliferan las células progenitoras del periostio (proceso al que se denomina osteoconducción); por otro lado se presenta un mecanismo en el cual el tejido es inducido para que forme elementos osteogénicos; a este proceso se le conoce como osteoinducción. La inducción requiere de un estímulo como pueden ser fragmentos óseos o una célula osteogénica (3).

Es importante mencionar que el sistema esquelético se encuentra formado por tejido óseo que por su rigidez es susceptible a fracturarse (5); al momento de producirse una fractura, se pone en marcha el proceso de reparación (6). Este proceso consiste en una progresión de sucesos que comienzan casi inmediatamente después de ocurrida la fractura.

La reparación en general de los huesos largos se presenta en dos diferentes procesos: a) por la reparación Haversiana directa; b) por el desarrollo del callo perióstico y endóstico.

La primera se presenta cuando hay una fijación interna rígida y da como resultado la unión ósea por crecimiento directo de los sistemas haversianos a través de la fractura. La lesión del suministro sanguíneo a las osteonas cerca del área de fractura estimula una intensa actividad en los sistemas haversianos del área. Los osteoblastos forman puntas de lanza en los extremos de los canales haversianos cerca del área de fractura,

y aumenta de tamaño como preparación para la formación de un nuevo sistema. La reparación se produce cuando se desarrollan nuevas osteonas que cruzan el área de fractura para sustituir las antiguas que fueron privadas de suministro sanguíneo. Si existe un espacio entre los fragmentos de la fractura o si la inmovilización no es rígida esta reparación no se produce.

La segunda comienza con una respuesta inflamatoria edematosa de los tejidos blandos y del hueso, al cabo de muy poco tiempo en la capa externa del periostio, hay movilización y proliferación de fibroblastos que se proyectan fuera del hueso, después la proliferación de las células del endostio determina su engrosamiento. Esta misma movilización se da también en el tejido conectivo adyacente. Simultáneamente con la proliferación fibroblástica, las células osteogénicas de la capa del periostio comienzan a migrar y proliferar.

Mientras avanzan estos procesos en el periostio, una migración y proliferación celular similar ocurre en la superficie ósea de la cavidad medular. Las células proliferantes avanzan hacia el área de lesión, depositando matriz fibrosa de colágeno. Este tejido neoformado se llama callo, ya sea que este en la cavidad medular (callo endosteal) o en la circunferencia del hueso (callo periosteal)

El callo se forma a corta distancia de la línea de fractura, en el periostio y endostio no dañados, en pocos días se forma un anillo de tejido fibroso alrededor de cada fragmento óseo. A medida que este callo se agranda, va levantando la capa fibrosa del periostio superpuesta. Mientras el proceso avanza, las células osteogénicas más cercanas a la superficie ósea, van depositando la matriz de colágeno que rápidamente se calcifica

En cuanto las células osteogénicas proliferantes se van alejando del aporte de oxígeno, se diferencian en condroblastos, en osteoblastos, y a su vez comienzan a formar cartílago.

A pesar de que el hueso tiene la gran propiedad de regenerarse, existen situaciones en las que ésta pueda ser incompleta, pueden presentar defectos congénitos, adquiridos o traumáticos por lo tanto requiere de un injerto o un implante; por tal motivo en cirugía se han desarrollado técnicas para tal fin (1).

En el presente trabajo se pretende conocer la capacidad del aloimplante de hueso desmineralizado como osteoinductor y osteoconductor en fracturas de huesos largos con incapacidad de regeneración.

#### **HIPÓTESIS.**

El uso de aloimplante de hueso desmineralizado en bloque favorece la osteogénesis en fracturas de fémur que presenten lesión crítica.

#### **OBJETIVOS.**

Evaluar en forma macroscópica, radiográfica e histopatológica la capacidad de regeneración ósea mediante el uso de aloimplante de hueso desmineralizado de ratas Wistar en fracturas inducidas de fémur con lesión crítica de regeneración.

#### **MATERIAL Y METODOS.**

##### **MATERIAL**

###### **a Localización.**

El presente estudio se realizó en el Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México, los estudios radiográficos se realizaron en clínica privada y los estudios histopatológicos se llevaron a cabo en el Departamento de Patología del Hospital General de México y la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM

## **1.2 ANIMALES EXPERIMENTALES**

Se utilizaron 20 ratas de la cepa Wistar, hembras adultas de 2.5 a 3 meses de edad con un peso promedio de 250 gr. Fueron divididas en 2 grupos de 10 ratas cada uno.

Los implantes se obtuvieron de fémures de cadáveres de ratas Wistar donadas por el Bioterio del Instituto de Fisiología Celular, con un peso promedio de 250 gr. Estos fémures se limpiaron con legras retirando restos musculares y grasa, se lavaron con agua y jabón y se secaron al medio ambiente. Después fueron cortadas con una guillotina las epifisis y metáfisis, dejando las diáfisis de un tamaño de 5-7 mm de largo, y posteriormente se desmineralizaron con ácido clorhídrico. Este proceso de desmineralización duro 15 días, una vez desmineralizados los huesos se lavaron con agua bidestilada, retirando el excedente de ácido clorhídrico, se secaron al medio ambiente y fueron empaquetados en bolsas y esterilizados con gas (óxido de etileno).

El material complementario incluye: Instrumental de cirugía ( pinzas Halstead curvas y rectas, hoja de bisturí No 11 y mango de bisturí del número 3, sonda canalada, porta agujas, pinzas de disección, tijeras, clavos de Steiman, alambre quirúrgico de acero inoxidable para el amarre, pijamas quirúrgicas y campos quirúrgicos estériles, maquina rasuradora, motor de baja intensidad, pieza de mano dental, guantes estériles y material de antisepsia (yodo povidona) y gasas.

## **METODOS**

Del total de animales programados se hicieron dos grupos de 10 cada uno, los cuales se clasificaron en "A" y "B".

**Grupo A (Experimental):** A los animales de este grupo se les retiró una porción de 5 mm de hueso y se colocó un clavo intramedular, un aloimplante de hueso desmineralizado y se afrontaron los extremos con el alambre haciendo un amarre.

**Grupo "B" (Testigo):** A estos animales únicamente se les retiró una porción de la diáfisis (5 mm) y se le colocó clavo intramedular y el alambre.

Para su identificación, a cada rata le fueron practicadas muescas en las orejas derecha e izquierda, en diferentes posiciones dándoles un valor numérico con la finalidad de llevar un control adecuado de las fechas de cirugía y sacrificio de cada animal. Las intervenciones quirúrgicas se realizaron en un número de seis por semana. La secuencia del trabajo experimental se detalla a continuación.

## **PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO.**

### **Grupo A**

Todas las ratas fueron anestesiadas con Clorhidrato de Ketamina a una dosis de 15 mg/100 gr de peso vivo por vía intramuscular y Droperidol a una dosis de 0.25 mg/100 gr de peso vivo por vía subcutánea

1. Se rasuró la región femoral.
2. La cirugía fue manejada con la debida antisepsia en la zona quirúrgica, y dentro de un quirófano.
3. El abordaje quirúrgico fué el siguiente: Se incidió piel a lo largo del borde craneo-lateral del cuerpo del fémur desde el nivel del trocánter mayor al nivel de la patela. La grasa subcutánea y la fascia superficial se inciden con la piel. Los márgenes de la piel se disecan y se retraen, la capa superficial de la fascia lata se incide a todo lo largo de los músculos bíceps y femoral (Esta incisión se extiende a todo lo largo de la incisión de la piel) Se retrae caudalmente el músculo bíceps femoral y se expone el cuerpo del

fémur, esto nos permite tener mejor campo quirúrgico para poder fracturar el hueso.(10,11)

4. Con el uso de un motor de baja intensidad utilizando fresas odontológicas, se hizo un corte en la porción proximal y otro en la distal del fémur, retirando 5 mm de hueso. Se realizaron 2 perforaciones con una fresa de bola en el extremo distal del fémur y 2 en el extremo proximal del mismo para poder colocar un hemicerclaje; se colocó un clavo intramedular de Steinmann dentro del canal medular, posteriormente un aloimplante de hueso desmineralizado y finalmente se unieron ambos extremos del hueso, se cerró y cortó el amarre.

5. Se procedió al cierre de los planos anatómicos, con suturas dexon 5/0, se cerró la fascia lata desde el borde craneal del bíceps con un surgete continuo; la grasa subcutánea y la fascia en una segunda capa, junto con la piel usando sutura nylon monofilamento 4/0.

### Grupo B

En los animales de este grupo, se realizó la misma técnica que en el grupo A, pero a estos animales no se les colocó el aloimplante de hueso desmineralizado con el propósito de observar que no exista unión de ambos extremos de la fractura.

### **POSOPERATORIO.**

Los cuidados posoperatorios fueron los siguientes:

1 Se administró fluorfenicol por vía oral en dosis de 1 mg/ 100 gr de peso. Las ratas se mantuvieron en condiciones de bioterio, con el alimento y agua *ad libitum*, y los



cuidados fueron los apegados al Reglamento para el Cuidado de los Animales de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (\*).

2. Se observó diariamente, el estado anímico del animal, se palpó la región femoral ubicando la alineación de la fractura y detectar posibles alteraciones, valorando la exclusión o permanencia en el trabajo experimental.

Cada semana se sacrificaron utilizando una sobredosis de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal 2 ratas una del grupo A y otra del grupo B; para evaluar la regeneración ósea semanalmente (de la primera a la décima semana).

Una vez sacrificadas las ratas se procedió realizar el estudio radiográfico, posteriormente se realizó el estudio macroscópico por observación directa realizando una disección de la región femoral para ver la alineación del hueso, la formación de tejido fibroso alrededor de la fractura; posteriormente se retiró el fémur y se realizó la limpieza del hueso retirando todo el tejido muscular, dejando el fémur con tejido fibroso formado alrededor de la fractura, se retiró el alambre y el clavo intramedular y se procedió a realizar el estudio histopatológico.

\*Aceptado el 23 de Marzo de 1988 por el H. Consejo Rector de la FMVZ de la UNAM

## RESULTADOS

En el presente estudio los resultados de la evaluación de la regeneración ósea a lo largo de diez semanas, indican que existió una gran variación entre el grupo testigo y el grupo experimental en los estudios radiográficos, macroscópicos e histopatológicos.

Todos los animales se revisaron para valorar el estado anímico, alineación de la fractura, inflamación y posibles infecciones. En el primer día posterior a la cirugía se encontró: inflamación, claudicación, dolor, anorexia y depresión, estos signos disminuyeron el segundo día, desaparecieron por completo el tercer día. Las suturas fueron retiradas al décimo día, fecha en la cual la piel se encontraba completamente cicatrizada y cubierta de pelo.

En el estudio radiográfico no se obtuvieron resultados satisfactorios, debido a que las radiografías carecían de calidad diagnóstica y por lo tanto no se observó la formación de callo óseo alrededor de la fractura.

En la interpretación macroscópica se encontró que en el grupo A (experimental) a partir de la primera semana, los extremos de la fractura se encontraron unidos, mientras que en el grupo B (testigo) los extremos de la fractura se observaron totalmente separados; a la quinta semana en ambos grupos se observó la formación de tejido fibroso alrededor del sitio de fractura, haciéndose más evidente en el grupo testigo, además de observarse mejor alineación en el grupo experimental; en los animales de la décima semana se observó en el grupo B mayor formación de tejido fibroso con el cierre total de los extremos de la fractura, mientras que en el grupo A se observó la unión de hueso fracturado, además de menor cantidad de tejido fibroso.

## INTERPRETACION HISTOPATOLÓGICA GRUPO A

### Grupo experimental (con implante)

**PRIMERA SEMANA:** Se realizó corte histológico del hueso en el que se observó fractura transversa en la cual los bordes se encontraron unidos por tejido fibroso constituido principalmente por fibroblastos, fibrocitos entremezclados con focos de necrosis con infiltrado inflamatorio de leucocitos polimorfonucleares (neutrófilos), escasas células mononucleares (macrófagos). Además en los extremos de la fractura se observó metaplasia cartilaginosa incipiente y la presencia de células multinucleadas en moderada cantidad.

Se realizó tinción tricrómica de Masson en la que se aprecia escasa proliferación de colágena.

**SEGUNDA Y TERCERA SEMANA:** Se revisó corte histológico del hueso en el que se observó fractura transversa con los extremos unidos por tejido fibroso; constituido principalmente por fibroblastos, fibrocitos y angioblastos, además que en los extremos de la fractura se observan extensas áreas de metaplasia cartilaginosa y focos de osteoblastos con matriz osteoide.

Se realizó tinción tricrómica de Masson en la que se aprecia colágena medianamente laxa.

**CUARTA y QUINTA SEMANA:** Se revisó corte histológico del hueso en el que se observó fractura transversa con los extremos unidos por tejido fibroso; constituido principalmente por fibroblastos, fibrocitos y angioblastos, además en los extremos de la fractura se observaron extensas áreas de metaplasia cartilaginosa y focos de osteoblastos con matriz osteoide.

Se realizó tinción tricrómica de Masson en la que se apreció colágena densa y extensas áreas de metaplasia cartilaginosa

**SEXTA Y SEPTIMA SEMANA:** Se revisó corte histológico del hueso en el que se observaron unidos los extremos de la fractura por delgadas trabéculas de tejido conjuntivo fibroso laxo constituido por fibroblastos, fibrocitos y angioblastos además se observó entre este tejido cantidad importante del implante, estas trabéculas rodean el centro de la fractura.

Se realizó tinción tricrómica de Masson en la que se apreció colágena densa madura.

**OCTAVA Y NOVENA SEMANA:** Se revisó corte histológico del hueso en el que se observaron unidos los extremos de la fractura por delgadas trabéculas de tejido conjuntivo fibroso laxo constituido por fibroblastos, fibrocitos y angioblastos, se observó entre este tejido abundantes angioblastos con gran cantidad de matriz osteoide.

Se realizó tinción tricrómica de Masson en la que se apreció colágena densa madura.

**DECIMA SEMANA:** Se revisó corte histológico del hueso en el que se observaron unidos los extremos de la fractura por escasas trabéculas de tejido conjuntivo fibroso, restos de metaplasia cartilaginosa (densidad rosa homogénea) constituida por osteoblastos, osteocitos y hueso trabecular.

Se realizó tinción tricrómica de Masson en la que se apreció colágena densa madura.

## **ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO GRUPO B**

### **Grupo (testigo) sin implante**

**PRIMERA SEMANA:** Se revisó corte histológico del hueso en el que se observó fractura transversa en la parte medial de la diáfisis con los extremos separados y en estos se apreció tejido de neoformación constituido por fibroblastos, fibrocitos y angioblastos entremezclados con infiltrado inflamatorio constituido por abundantes leucocitos, neutrófilos y en mediana cantidad macrófagos. Además se encontraron abundantes esquizas óseas y extensas áreas de necrosis coagulativa.

Se realizó tinción tricrómica de Masson en la que se apreció escasa proliferación de colágena.

**SEGUNDA y TERCERA SEMANA:** Se revisó corte histológico del hueso en el que se observó fractura transversa en la parte medial de la diáfisis con los extremos separados y en estos se apreció tejido de neoformación constituido por fibroblastos, fibrocitos y angioblastos entremezclados con infiltrado inflamatorio; constituido por abundantes leucocitos neutrófilos y en menor cantidad macrófagos. Además se observaron osteoclastos, pequeñas áreas de metaplasia cartilaginosa y necrosis coagulativa con extensión a los tejidos blandos adyacentes.

Se realizó tinción tricrómica de Masson en la que se apreció escasa proliferación de colágena.

**CUARTA Y QUINTA SEXTA SEMANA:** Se revisó corte histológico del hueso en el que se observó fractura transversa de la parte medial de la diáfisis con los extremos unidos por tejido conjuntivo fibroso que provenían principalmente del periostio y músculos que circundan la lesión. Este tejido se encontró constituido principalmente por fibroblastos, fibrocitos y angioblastos, entremezclado con infiltrado inflamatorio, formado por leucocitos, neutrofilos y macrófagos en cantidad moderada. En los extremos de la fractura se observó discreta actividad osteoclástica y osteoblástica así como metaplasia cartilaginosa moderada difusa.

Se realizó tinción tricrómica de Masson en la que se apreció moderada proliferación de colágena.

**SEXTA Y SÉPTIMA SEMANA:** Se revisó corte histológico del hueso en el que se observó fractura transversa de la parte medial de la diáfisis con los extremos unidos por tejido cicatrizal constituido por abundantes fibroblastos, fibrocitos y angioblastos, que provienen del periostio y tejido adyacente a la lesión. Este tejido se encontró entremezclado con infiltrado inflamatorio constituido por moderada cantidad de macrófagos. En los extremos del hueso fracturado se observó metaplasia cartilaginosa moderada difusa, actividad osteoblástica, osteocitos, así como esquirlas óseas rodeadas por osteoclastos en cantidad moderada y focal.

Se realizó tinción tricrómica a de Masson en la que se apreció colágena moderadamente densa.

**OCTAVA Y NOVENA SEMANA:** Se revisó corte histológico del hueso en el que se observó fractura transversa de la parte medial de la diáfisis con los extremos unidos por tejido de regeneración constituido por gran cantidad de fibroblastos, fibrocitos y angioblastos. Entremezclado con este tejido se observó infiltrado inflamatorio constituido por abundantes macrófagos y neutrófilos. Entre otras áreas se apreció

necrosis coagulativa y en los extremos de la fractura se observó actividad osteoblástica y metaplasia cartilaginosa moderada multifocal.

Se realizó tinción tricrómica de Masson en la que se observó abundante colágena densa.



**DECIMA SEMANA:** Se revisó corte histológico del hueso en el que se observó fractura transversa de la parte medial de la diáfisis con los extremos unidos por tejido de regeneración, constituido por gran cantidad de fibroblastos, fibrocitos y angioblastos. Este tejido se encontró entremezclado con macrófagos y neutrófilos rodeando extensas áreas de necrosis coagulativa. En los extremos de la fractura se observó metaplasia cartilaginosa moderada multifocal.

Se realizó tinción tricrómica de Masson en la que se observó abundante colágena densa

## DISCUSION

### SELECCIÓN DE ANIMALES

Los animales seleccionados en el presente trabajo fueron ratas de 2.5 a 3 meses de edad, debido a que a este peso y edad ya no existe acelerado desarrollo óseo, con la finalidad de disminuir las variantes, ya que de otra manera con animales mas jóvenes o mas viejos los resultados hubieran estado sujetos a errores de interpretación.

### TÉCNICA QUIRÚRGICA

El abordaje quirúrgico empleado se apegó a la técnica descrita por Brinker,(10) Este procedimiento cumplió con lo previsto.

La técnica de fijación fue adaptada para el tamaño del roedor, debido a que para este tipo de animales no existe literatura ortopédica por ser su uso poco frecuente. Inicialmente se realizó una fijación utilizando clavos de Steinmann en forma triangular para evitar la rotación del hueso, ese propósito se cumplió, pero no se pudo evitar el desplazamiento del clavo hacia fuera del espacio intramedular ocasionando inestabilidad de la fractura, lesión muscular, inflamación e infección llevando el trabajo al fracaso. Por ello se mejoró la técnica de fijación, con el uso de un clavo de Steinmann de 2 cm de largo adecuado al tamaño del fémur y se decidió utilizar un amarre para afrontar ambos extremos del fémur, logrando así la estabilidad de la fractura.

### CUIDADOS POSOPERATORIOS

Los cuidados pos-operatorios fueron los mismos para todos los animales de la muestra, se mantuvieron con alimento y agua adlibitum; se alojaron en jaula colectiva, en número no mayor de 5 animales; la cama de cada jaula fue cambiada tres veces por



semana, utilizando viruta de madera esterilizada y afortunadamente no se dieron animales de baja por infección.

### TÉCNICA RADIOLÓGICA.

El seguimiento radiográfico se llevó a cabo semanalmente en la "Clínica Veterinaria Oriental". La técnica radiológica fue 40 K.v. y 60 m.A. con 1/10 seg. de exposición, se utilizó chasis de 8 X 10 pulgadas con pantalla intensificadora\* y radiografías TMG/RA\*\*.

ESTUDIO MACROSCÓPICO: Este se realizó mediante la observación directa del hueso, evaluando su alineación, formación de tejido fibroso alrededor de la fractura y la unión de ambos extremos del hueso.

En los animales experimentales la formación de tejido fibroso alrededor de la fractura y la alineación del hueso indican mayor estabilidad de la fractura y la formación de callo óseo, estos cambios se observan a partir de la primera semana haciéndose más evidentes a la quinta, octava y décima semana.

Mientras que en el grupo testigo, los estudios macroscópicos indican la *falta de unión* que se presenta en las fracturas con espacio crítico de regeneración; en estos animales nunca existió unión de los fragmentos óseos, esto no quiere decir que no haya formación de tejido fibroso, si la hay, pero nunca alcanza a ambos extremos del hueso por lo tanto hay una solución de continuidad del canal medular.

En ambos casos (grupo experimental y testigo) se presentan dos complicaciones en la regeneración de la fractura: *unión retrasada* y *falta de unión*; la *unión retrasada* se presenta en ambos grupos, esto se debe a que el espacio de la fractura es muy grande y por lo tanto requieren de mayor tiempo para su consolidación.

\* LANEX KODAK

\*\* KODAK

De acuerdo a la literatura el problema de *falta de unión* se presenta cuando existe distancia excesiva de los fragmentos; exceso de movilidad en el foco de fractura; irrigación sanguínea inadecuada; desaparición del hematoma en el sitio fracturado, por presencia de fibrinolisin (líquido sinovial); por osteomielitis, presencia de tumores óseos; etc.

Con base a lo anterior en el caso del grupo testigo el problema de falta de unión se presenta por la distancia excesiva de los fragmentos óseos, exceso de movimiento de la fractura y falta de irrigación de la misma, esta última causa se debe a que el sitio donde se realizó la fractura (diáfisis) es una zona en la cuál no existe tejido esponjoso y por lo tanto no hay una adecuada irrigación, retrasando la consolidación de la fractura.

En cuanto al estudio histopatológico en el grupo experimental (ratas con implante) la presencia de metaplasia cartilaginosa en la primera y segunda semana; así como los osteoblastos con matriz osteoide en la tercera semana, indican el principio de la regeneración de la fractura, que va aumentando semana tras semana hasta presentar osteoblastos, osteocitos y hueso trabecular en la décima semana.

Con relación a lo anterior se puede decir, que la presencia del infiltrado inflamatorio es un proceso normal debido a que existe un espacio muy grande de separación entre ambos extremos, esto genera inestabilidad de la fractura y movimiento de la misma, dicho movimiento lesiona la microvasculanzación de la zona afectada y favorece el retraso en la consolidación de la fractura.

Mientras que en el grupo testigo a partir de la primera semana y hasta la décima se observa abundante infiltrado inflamatorio, que es indicativo de un proceso crónico y en este caso es ocasionado por el movimiento de la fractura.

La presencia de gran cantidad de tejido conjuntivo fibroso (fibroblastos y fibrocitos) indica la formación de callo óseo exuberante; este se presenta como un mecanismo normal para tratar de estabilizar la fractura, ya que el espacio que se encuentra entre ambos fragmentos es muy grande, este callo se mineraliza sin formar puentes de unión entre ambos extremos del hueso, ocasionando falta de unión.

A partir de la quinta semana; se observa metaplasia cartilaginosa, angioblastos, tejido conjuntivo fibroso proveniente del periostio en los extremos del hueso fracturado lo cual nos indica el intento de reparación de la fractura.

De igual forma se observa actividad osteoclástica y osteoblástica, así como osteocitos a partir de la séptima semana lo que indica la osificación de los extremos del hueso fracturado pero no existe la unión de estos.

La presencia de angioblastos indica la neoformación de vasos sanguíneos en la zona de fractura.

## **CONCLUSIONES**

Tomando en cuenta los estudios macroscópico e histopatológico se puede concluir que el uso de aloimplantes de hueso desmineralizado favorece la osteoconducción y la osteoinducción en el manejo de fracturas de huesos largos con espacio crítico de regeneración, esto se confirma histológicamente por la presencia de metaplasia cartilaginosa en la primera y segunda semana; así como los osteoblastos con matriz osteoide en la tercera semana, que indican el principio de la regeneración de la fractura, que va aumentando semana tras semana hasta presentar osteoblastos, osteocitos y hueso trabecular a la décima semana.

También el uso de aloimplantes de hueso desmineralizado pueden ser una alternativa para la corrección de fracturas en las cuales exista una pérdida excesiva de hueso.

Hay que tomar en cuenta que en condiciones normales la regeneración de una fractura es aproximadamente de 10 a 14 semanas; por lo que una fractura con espacio crítico de regeneración, retrasa su consolidación, ya que se necesita la formación de un callo óseo de mayor tamaño para unir ambos extremos; debido a lo anterior no se obtuvo una regeneración completa de la fractura, pero sin embargo se puede decir que el uso de aloimplantes de hueso desmineralizado proporciona estabilidad de la fractura, así como osteoinducción y osteoconducción en el proceso de regeneración.

Se recomienda que en próximos estudios se amplíe el tiempo de experimentación tomando en cuenta que la reparación de una fractura con espacio crítico de regeneración tarda mas en consolidar

Sería conveniente diseñar un mejor método de fijación de la fractura y emplear un modelo experimental de mayor tamaño para facilitar el manejo quirúrgico.

En cuanto al estudio radiográfico se recomienda tomar un estudio posquirúrgico mediato, un intermedio y uno al final del trabajo experimental empleando chasis con pantalla intensificadora de alto detalle o bien películas radiográficas sin pantalla intensificadora, con el fin de optimizar la calidad diagnóstica y favorecer la visualización del callo óseo.

**REFERENCIAS CITADAS**

1. Jandete, D, G. H. Estudio comparativo de osteogenesis con xenoimplantes de hueso desmineralizado, en polvo y en bloque, en cráneos trepanados de ratas. Tesis de licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoo. Universidad Nacional Autónoma de México.
2. Domínguez, B.C. Uso de implantes biológicos de hueso esponjoso. Sustituto de hueso autólogo. Rev. Mex. Ortop. Traum.1992 (6),4 114-118.
3. Slatler, H. D. Texto de cirugía de los pequeños animales. Salvat editores. España. 1989
4. Dellman D. Histología veterinaria Acribia. España. 1994.73-74
5. Abbas, KA; Lichtman, HA;Pober SJ:Inmunología celular y molecular. Interamericana, España 1995;378-379.
6. Junqueira C L y Carneiro J. Histología Básica 3ra. Ed. Salvat España.1987,155-162.
7. Horst D. Histología Veterinaria. Ed. Acribia España 1980;73-74.
8. Trigo T. Patología General Veterinaria. 2ªEd. Interamericana. México 1993,258-269.
9. Colchero, RF; Olvera BJ. La consolidación de las fracturas, su fisiología y otros datos de importancia Rev. Mex. Ortop. Traum.1983,4:374-379

10. Piermattie L. D. Atlas de abordajes quirúrgicos de huesos y articulaciones en perros y gatos. 3ra ed. Interamericana. España, 1993;270-271.
11. Smith, S. Toma de decisiones en cirugía ortopédica de los pequeños animales. Interamericana. México. 1992
12. William G. Wittick D.V.M. Canine orthopedics. 2da. ed. Mc Graw-hill. Philadelphia. 1990.
13. Martínez, M., Larrea, A. Radiología veterinaria en pequeños animales. Interamericana. México. 1992.

ESTUDIO MACROSCOPICO



PRIMERA SEMANA SIN IMPLANTE



PRIMERA SEMANA CON IMPLANTE

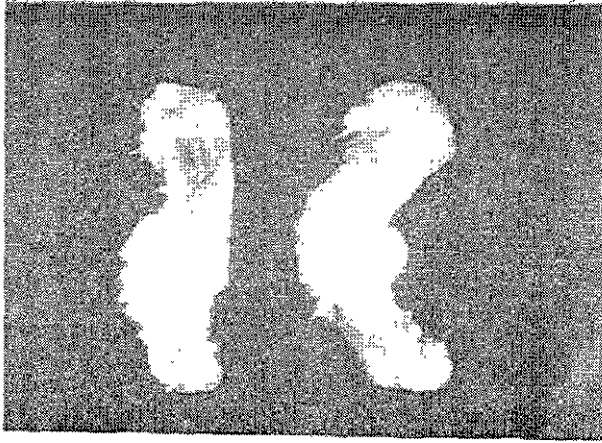




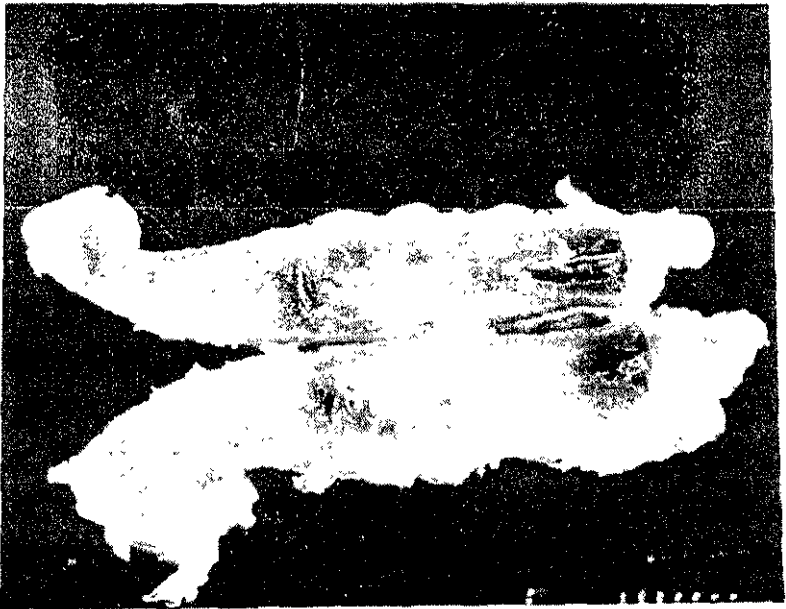
QUINTA SEMANA CON IMPLANTE



QUINTA SEMANA SIN IMPLANTE

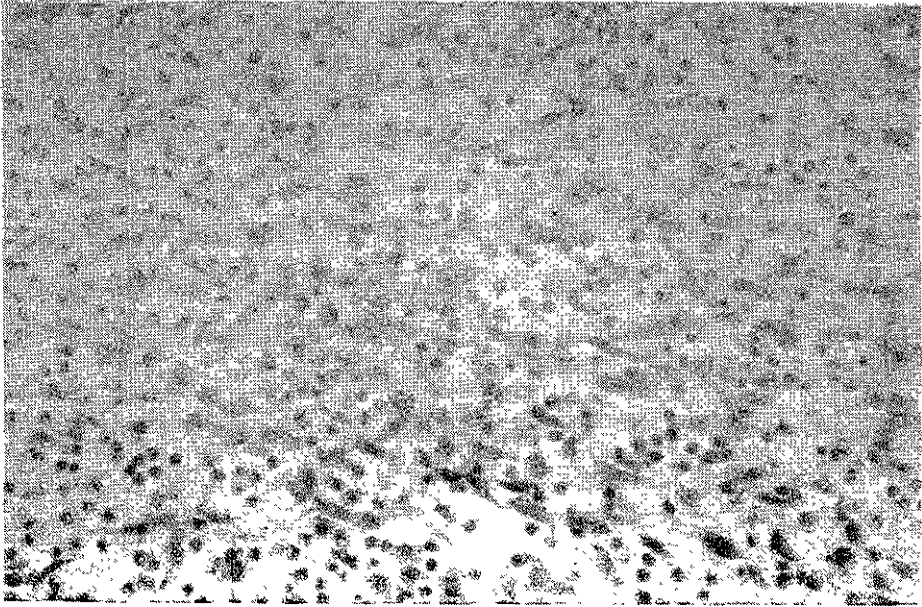


DECIMA SEMANA SIN IMPLANTE



DECIMA SEMANA CON IMPLANTE

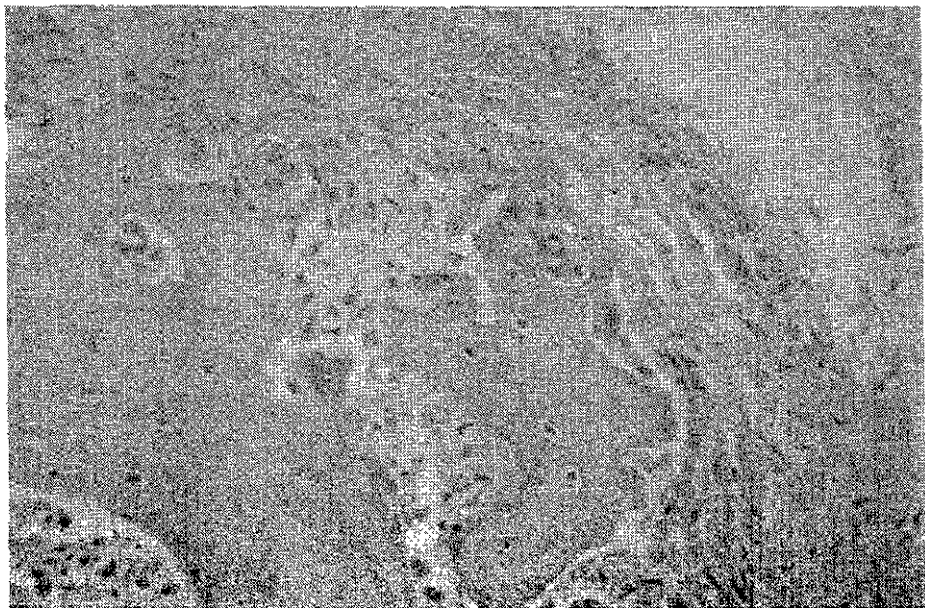
ESTUDIO HISTOPATOLOGICO



PRIMERA SEMANA SIN IMPLANTE



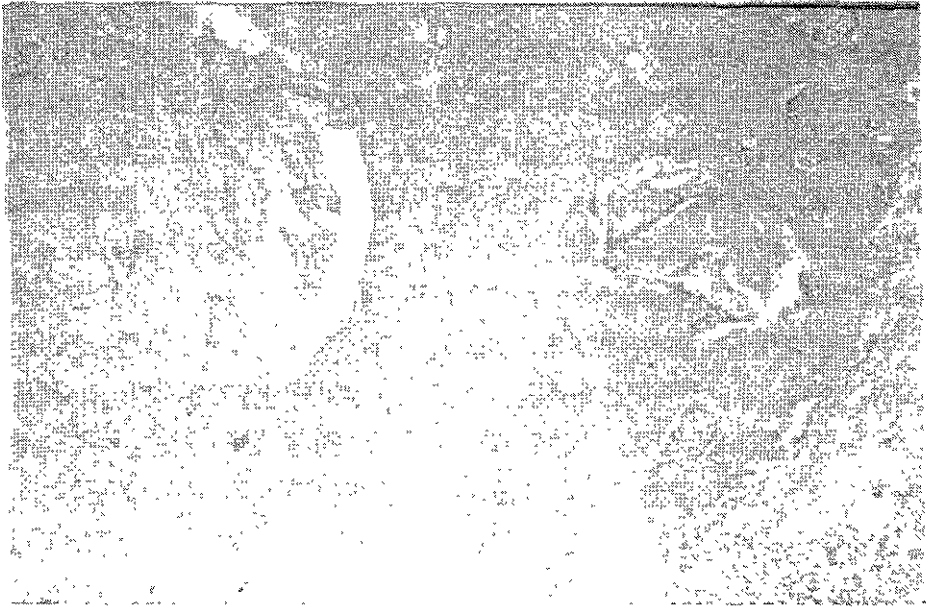
PRIMERA SEMANA CON IMPLANTE



QUINTA SEMANA CON IMPLANTE



QUINTA SEMANA SIN IMPLANTE



DECIMA SEMANA SIN IMPLANTE



DECIMA SEMANA CON IMPLANTE

# CONTROL DE SACRIFICIOS

## RATAS EXPERIMENTALES

(CON IMPLANTE)

### GRUPO A

NO. RATA	NO. DE SEMANA	FECHA DE CIRUGIA	FECHA DE SACRIFICIO
30	02	14 JULIO 1999	28 JULIO 1999
29	01	14 JULIO 1999	21 JULIO 1999
28	03	7 JULIO 1999	28 JULIO 1999
27	04	7 JULIO 1999	4 AGOSTO 1999
26	05	2 JULIO 1999	6 AGOSTO 1999
25	06	2 JULIO 1999	13 AGOSTO 1999
24	07	2 JULIO 1999	20 AGOSTO 1999
23	08	1 JULIO 1999	26 AGOSTO 1999
22	09	1 JULIO 1999	2 SEPTIEMBRE 1999
21	10	1 JULIO 1999	9 SEPTIEMBRE 1999

**RATAS TESTIGO****GRUPO B**

NO. RATA	NO. DE SEMANA	FECHA DE CIRUGIA	FECHA DE SACRIFICIO
01	01	29 JUNIO 1999	6 JULIO 1999
02	02	29 JUNIO 1999	13 JULIO 1999
03	03	29 JUNIO 1999	20 JULIO 1999
18	04	8 JUNIO 1999	6 JULIO 1999
17	05	8 JUNIO 1999	13 JULIO 1999
14	06	27 MAYO 1999	8 JULIO 1999
13	07	27 MAYO 1999	15 JULIO 1999
11	08	25 MAYO 1999	20 JULIO 1999
10	09	12 MAYO 1999	14 JULIO 1999
09	10	12 MAYO 1999	29 JULIO 1999