



Universitat de Lleida

Estudio experimental sobre la influencia de la lesión encefálica en la consolidación de fracturas

Adolfo Lafuente Cuenca

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tesisenxarxa.net) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tesisenred.net) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tesisenxarxa.net) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

**ESTUDIO EXPERIMENTAL
SOBRE LA INFLUENCIA
DE LA LESIÓN ENCEFÁLICA
EN LA CONSOLIDACIÓN
DE FRACTURAS**

UNIVERSITAT DE LLEIDA

Facultat de Medicina

Departament de Medicina i Cirurgia

LAFUENTE CUENCA, ALONSO
Medicina i Cirurgia
14/10/93
93/94 2

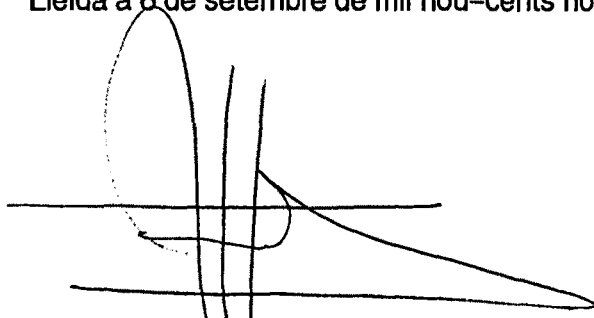
Josep Joan Fernández i Martínez, Professor Titular de Patologia Quirúrgica de la Facultat de Medicina de la Universitat de Lleida

Josep Esquerda i Colell, Catedràtic d'Histologia de la Facultat de Medicina de la Universitat de Lleida,

CERTIFIQUEN: que el Sr. *Adolfo Lafuente i Cuenca* ha realitzat sota la nostra direcció conjunta, la tesi doctoral titulada "ESTUDIO EXPERIMENTAL SOBRE LA INFLUENCIA DE LA LESIÓN ENCEFÁLICA EN LA CONSOLIDACIÓN DE FRACTURAS"

El treball reuneix la metodologia, casuística, revisió bibliogràfica i condicions generals necessàries que li han possibilitat arribar a conclusions vàlides que l'habiliten per optar al títol de Doctor en Cirurgia.

Que la tesi està en condicions de ser llegida davant el Tribunal corresponent. I, perquè així consti, signem la present certificació als efectes que corresponguin. A Lleida a 6 de setembre de mil nou-cents noranta-tres.



Prof. Dr. J.J. Fernández i Martínez



Prof. Dr. J. Esquerda i Colell



**Universitat
de Lleida**

**Facultat de Medicina
Departament de Medicina
i Cirurgia**

**ESTUDIO EXPERIMENTAL
SOBRE LA INFLUENCIA
DE LA LESIÓN ENCEFÁLICA
EN LA CONSOLIDACIÓN
DE FRACTURAS**

ADOLFO LAFUENTE CUENCA

Septiembre 1993

DIRECTOR DE TESIS: Profesor D. José Juan Fernández Martínez.
Profesor titular de Patología Quirúrgica del Departamento
de Medicina y Cirugía de la Facultad de Medicina
de la Universitat de Lleida.

COORDIRECTOR DE TESIS: Profesor D. Josep Esquerda i Colell.
Catedrático de Histología de la Facultad de Medicina
de la Universitat de Lleida.

A Blanca
A mis hijos Carlos y Elena.

AGRADECIMIENTOS

Al Profesor D. José J. Fernández que ha sabido hacer de su profesión un arte, por sus enseñanzas y por haberme dado la oportunidad de realizar este trabajo experimental para acceder al grado de Doctor.

Al Profesor D. Josep E. Esquerda por su asesoramiento y porque su dedicación a la investigación y a la Facultad de Medicina es para mí un ejemplo a imitar.

Al Sr. Pablo Peleato y a la Sra. M^a Teresa Abad que han constituido el equipo colaborador que ha hecho posible este estudio experimental.

A D. Xavier Colomarde y a la Dra. Anna Casanovas por su apoyo y asesoramiento técnico.

A D. Luis del Río, a la Sra. Patricia Reyner y a CETIR por su colaboración en el estudio densitométrico.

A D. Pedro Godoy y a D. Xavier Doménech por su asesoramiento en el análisis estadístico de los resultados.

A D. Manolo Santiago por el celo y cariño con que trata a los animales del estabulario.

A D. José María Soler Balagueró por su aliento y por las facilidades recibidas para poderme dedicar a la realización de este trabajo de investigación.

A D. Josep Santamaría y a D. Andrés C. Escudero por su estímulo en los momentos de mayor dificultad y desánimo que han hecho que este objetivo tan importante para mí se haya podido culminar.

Al Departamento de Ciencias Médicas Básicas por haberme facilitado medios y asesoramiento para la conclusión de éste estudio.

Al Departamento de Medicina y Cirugía, a la Facultad de Medicina y a la Universitat de Lleida por haberme permitido realizar esta Tesis Doctoral.

A mis padres y hermano a quienes debo todo lo que soy.

ÍNDICE

CAPÍTULO I - INTRODUCCIÓN

1.- SISTEMA ÓSEO.....	10
1.1. Composición.....	11
1.1.1. Sustancia orgánica.....	11
1.1.2. Sustancia inorgánica.....	15
1.2. Estructura y morfología.....	15
1.2.1. Tejido óseo laminar.....	15
1.2.2. Tejido óseo no laminar.....	21
2.- SISTEMA NERVIOSO.....	22
2.1. Sistema nervioso periférico.....	22
2.2. Sistema nervioso central.....	23
3.- CICATRIZACIÓN ÓSEA (Reparación del foco de fractura).....	26
3.1. El papel de las diferentes estructuras óseas.....	27
3.1.1. Células osteoformadoras.....	27
3.1.2. Periostio.....	28
3.1.3. Endostio.....	28
3.1.4. Médula ósea.....	28
3.1.5. Extremidades fracturarias.....	29
3.2. Consolidación de las diáfisis de los huesos largos.....	29
3.3. Otros aspectos de la consolidación.....	35
3.3.1. Metabolismo y bioquímica del callo.....	35
3.3.2. Vascularización del callo.....	36
3.3.3. Criterios biofísicos.....	37

2.2.3. Procedimientos histológicos.....	64
2.2.4. Procedimientos tomodensitométricos.....	68
2.3. Método de valoración.....	68
2.3.1. Estudio macroscópico.....	68
2.3.2. Estudio radiológico.....	69
2.3.3. Estudio histológico e histomorfométrico.....	69
2.3.4. Estudio densitométrico.....	74
CAPÍTULO IV - RESULTADOS	
1.- SUPERVIVENCIA.....	76
2.- ANÁLISIS MACROSCÓPICO.....	77
2.1. Lesión encefálica.....	77
2.2. Lesión femoral.....	77
3.- ANÁLISIS RADIOLÓGICO.....	81
4.- ANÁLISIS HISTOLÓGICO.....	85
4.1. Lesión encefálica.....	85
4.2. Lesión femoral.....	86
5.- ANÁLISIS DENSITOMÉTRICO.....	90
CAPÍTULO V - DISCUSIÓN	94
CAPÍTULO VI - CONCLUSIONES	102
TABLAS DE RESULTADOS	104
BIBLIOGRAFÍA	116

CAPÍTULO I
INTRODUCCIÓN

1.- SISTEMA ÓSEO

El hueso puede ser considerado como un tejido conectivo altamente especializado, caracterizado por su dureza, como consecuencia de la mineralización de la sustancia orgánica intercelular.

Tiene encomendadas dos funciones fisiológicas, la primera es una función de sostén y de protección de órganos nobles gracias a su resistencia y solidez, y en segundo lugar una función metabólica constituyendo un banco de reserva mineral dinámica que le permite intervenir en el equilibrio homeostático humoral de los organismos superiores (19).

Las células del hueso -osteoblastos, osteocitos y osteoclastos- actúan a la vez como profesionales de la construcción y como entidades bancarias metabólicas, papeles dobles que a menudo entran en conflicto.

El crecimiento y desarrollo del esqueleto comienza en el útero y continua tras el nacimiento mediante una serie de acontecimientos determinados genéticamente y regulados por procesos endocrinos centrales, biofísicos y bioquímicos periféricos.

El hueso normal se forma ya sea por osificación intramembranosa a partir de osteoblastos o por osificación endocondral a partir de un modelo cartilaginosa preexistente.

Los huesos aumentan de tamaño por una combinación de estos dos procesos. Por ejemplo, el crecimiento latitudinal de la diáfisis de un hueso largo es un proceso intramembranoso; la deposición subperióstica de hueso nuevo ensancha la diáfisis, mientras que la reabsorción endóstica ensancha la medular; el crecimiento longitudinal de los huesos largos se realiza por proliferación cartilaginosa a nivel de la placa de crecimiento, en un proceso complicado de osificación endocondral.

1.1. COMPOSICIÓN

El hueso está formado por un componente orgánico -células y matriz ósea- que representa alrededor del 30% del mismo y un componente inorgánico o mineral del hueso -hidroxiapatita e iones- que corresponde al 70% del peso seco del hueso (23). (*Fig. 1*).

En su composición química se refleja el principio de estabilidad óptima, concretamente en el empleo de las proporciones de material orgánico elástico y de material inorgánico duro. Con la edad, la composición se modifica de tal modo que la calcificación aumenta a expensas de la elasticidad (54).

1.1.1. SUSTANCIA ORGÁNICA

Las células óseas -osteoblasto, osteocito y osteoclasto- representan sólo una pequeña proporción, el 2% de todos los componentes orgánicos del hueso, la mayor parte de los cuales, el 98% está constituido por matriz ósea u osteoide producido por los osteoblastos.

LAS CÉLULAS ÓSEAS

El OSTEOBLASTO, o célula formadora de hueso, con capacidad de sintetizar proteínas; tiene aproximadamente 20 μm de diámetro, contiene un único núcleo voluminoso y excéntrico colocado en el polo opuesto de la superficie ósea en vías de formación y su citoplasma es basófilo. (*Fig. 2*).

Su precursor es todavía desconocido, aunque se cree que es una célula osteoprogenitora de tejido fijo y de estirpe fibroblástica (92). Los osteoblastos requieren un andamiaje -perióstico, endóstico, trabecular o superficie haversiana- sobre el que sintetizar el osteoide. En la síntesis de la osteoide y presidiendo su

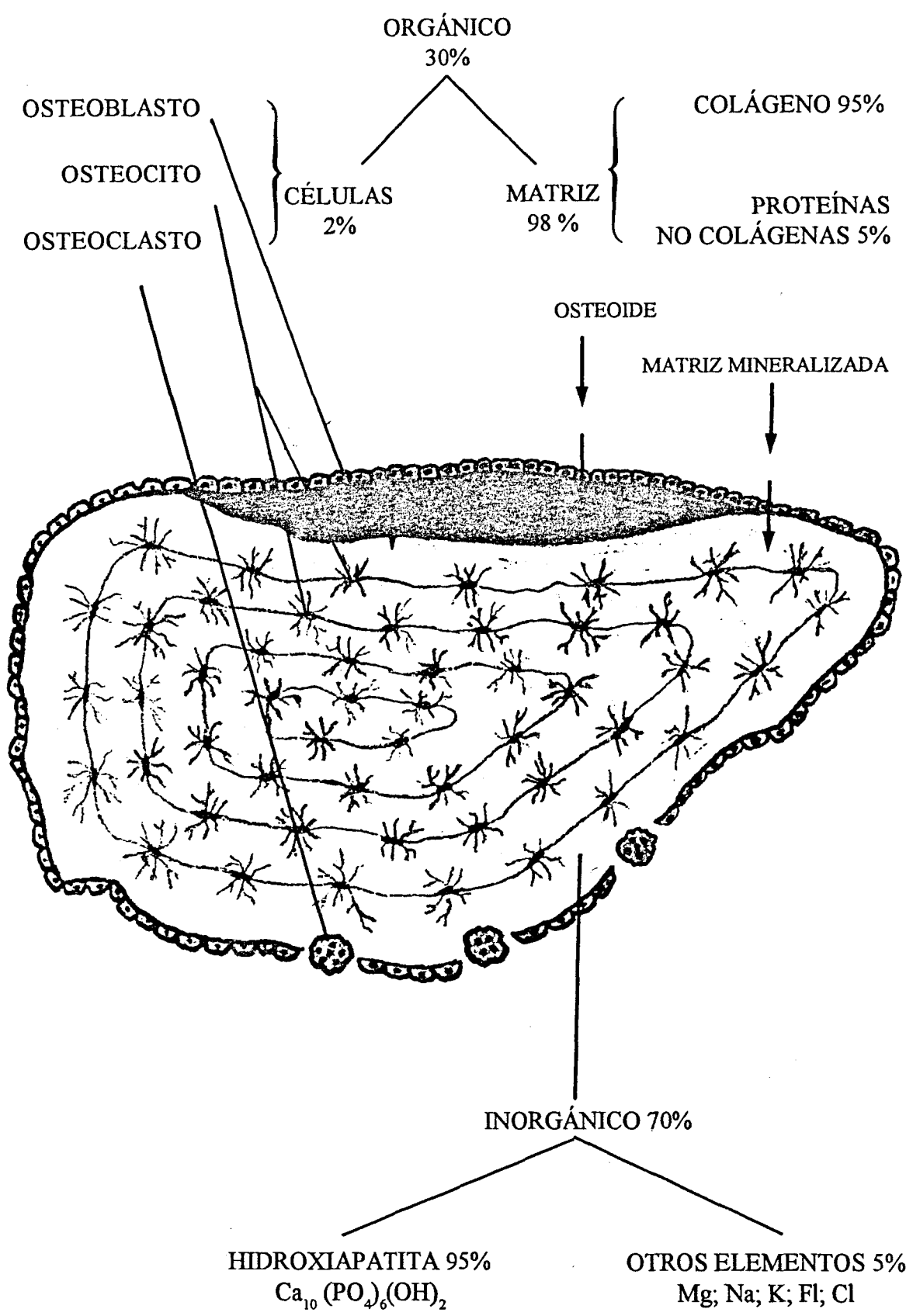


Fig. 1.- Composición del hueso.

crecimiento mineral, el osteoblasto fabrica grandes cantidades de fosfatasa alcalina ósea, una importante enzima que prepara el osteoide para su mineralización.

El OSTEOCITO maduro, derivado del osteoblasto, es una célula ovalada de unas 20 a 60 μm de longitud enterrada profundamente dentro de la matriz ósea mineralizada en una pequeña caverna denominada laguna. Su estructura es similar a la del osteoblasto, salvo que pierde la capacidad de sintetizar proteínas. Varias prolongaciones se extienden desde la superficie celular y abandonan la laguna a través de una red de conductos o canaliculos; éstas prolongaciones se extienden en el sistema canalicular y toman contacto con las prolongaciones de otros osteocitos. Este extenso entramado de osteocitos y canaliculos parece que desempeña un papel vital en el transporte de metabolitos celulares, en la comunicación entre células y en la regulación de la homeostasis mineral. (70), (78). (Fig. 2).

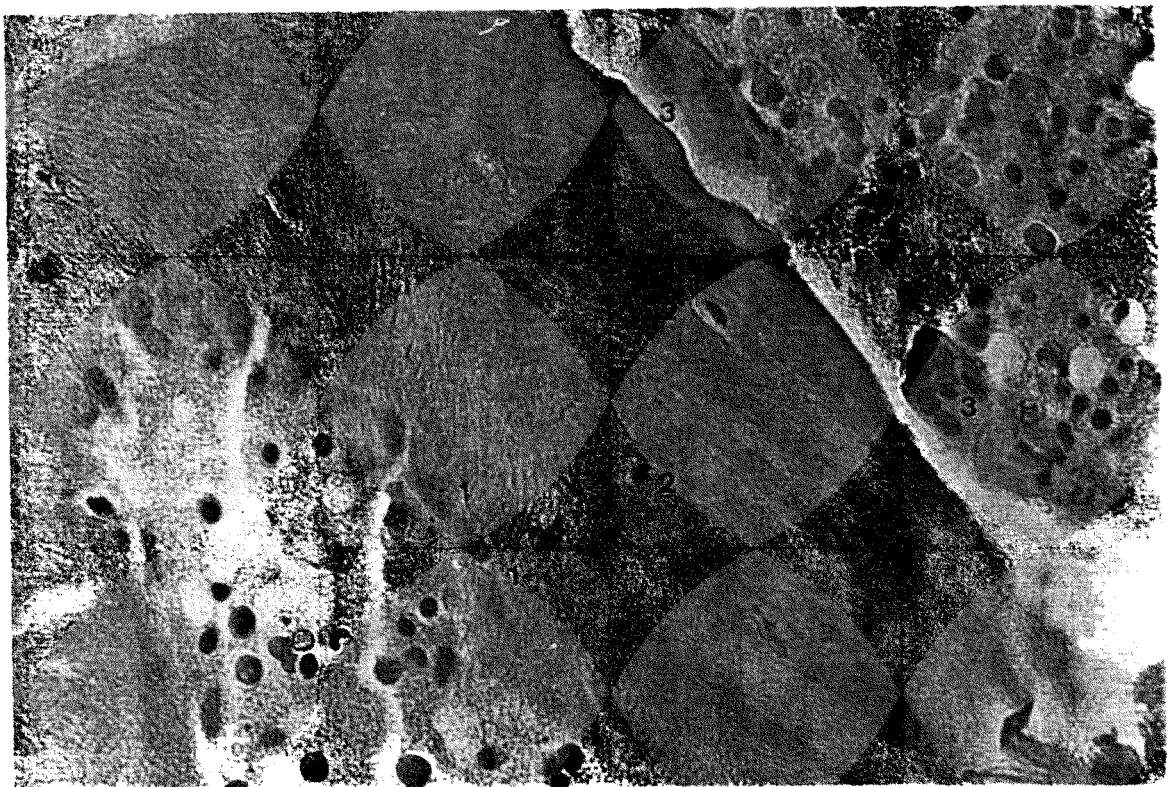


Fig. 2.-
1. Osteoblasto
2. Osteocito
3. Osteoclasto

El OSTEOCLASTO, reabsorbe matriz ósea mineralizada, es una célula grande de hasta 100 μm de diámetro y que contiene hasta 100 núcleos por célula. De citoplasma acidófilo es rica en enzimas lisosomiales -incluyendo fosfatasa ácida- y posee una membrana celular con numerosos y profundos repliegues, especializada en lugares donde se produce la reabsorción activa de hueso. Se encuentra en la superficie ósea en una pequeña depresión denominada laguna de Howship o cono penetrante. A diferencia del osteoblasto y del osteocito, el osteoclasto se cree que deriva de células circulantes de la médula, o preosteoclastos, de la línea celular de los macrófagos-monocitos (24), (57), (71); Hanaoka (62) aduce, que su origen es local, no hematopoyético, probablemente de células mesenquimatosas perivasculares. (Fig. 2).

LA SUBSTANCIA INTERCELULAR ORGÁNICA

Respecto a la matriz ósea, EL COLÁGENO -predominantemente de tipo I- es el principal componente orgánico del hueso, representando hasta el 95% del osteoide.

Está constituido por fibras de espesor variable formadas por la unión de microfibrillas de 425 a 600 μm de ancho y estas a su vez por la alineación de moléculas de tropocolágeno de 3.000 μm de largo y 15 μm de ancho. La molécula de tropocolágeno está formada por tres cadenas polipeptídicas dispuestas helicoidalmente: dos cadenas α_1 y una cadena α_2 compuestas de alrededor de un millar de aminoácidos idénticos y con estructura conocida: Glicocola 26%, Prolina 14%, Hidroxiprolina 13%, pequeñas cantidades de Lisina e Hidroxilisina y alrededor de un 6% de Hexosa. Está desprovisto de Cistina y Triptófano aminoácidos que están presentes en la mayoría de proteínas del organismo.

El colágeno óseo se deposita a lo largo de las líneas de estrés mecánico de acuerdo con la ley de Wolff y proporciona una importante plantilla pasiva para el depósito de cristal óseo.

Las PROTEÍNAS NO COLÁGENAS constituyen el 5% del peso del osteoide y desempeñan un importante papel en el metabolismo óseo y en la mineralización de

la matriz ósea. Las principales proteínas no colágenas exclusivas del hueso incluyen la osteonectina, osteocalcina -proteína Gla ósea-, el proteoglicano óseo, el proteolípido óseo, la sialoproteína ósea, la proteína morfogénica ósea y la fosfoproteína ósea.

1.1.2. SUSTANCIA INORGÁNICA

La APATITA ÓSEA es un análogo de la hidroxiapatita rica en carbonato y que constituye el principal componente inorgánico -el 95% del total-. Es mas pequeña y menos perfecta que la hidroxiapatita pura, siendo la apatita ósea más soluble y por tanto mas fácilmente disponible para la actividad metabólica y para el intercambio de líquidos corporales. Además de incorporar carbonato, la apatita ósea posee la capacidad de incorporar magnesio, sodio, potasio, cloruro, fluoruro, estroncio y otros elementos que se fijan al hueso y que constituyen el 5% restante de la sustancia inorgánica.

1.2. MORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA

Todo el hueso adulto normal es hueso laminar, tanto si su estructura es cortical como trabecular. El hueso no laminar -inmaduro o fibroso- lo podemos observar en los periodos de crecimiento -embrión-, y en los adultos en procesos normales de consolidación de fracturas o en condiciones patológicas como el hiperparatiroidismo o la enfermedad de Paget.

1.2.1. TEJIDO ÓSEO LAMINAR

El esqueleto adulto normal contiene exclusivamente dos tipos de hueso, cortical -compacto- que forma la cortical de los huesos largos y trabecular -esponjoso- que constituye los cuerpos vertebrales, la mayor parte de los huesos planos y las metafiso-epífisis de los huesos largos. (*Fig. 3*).

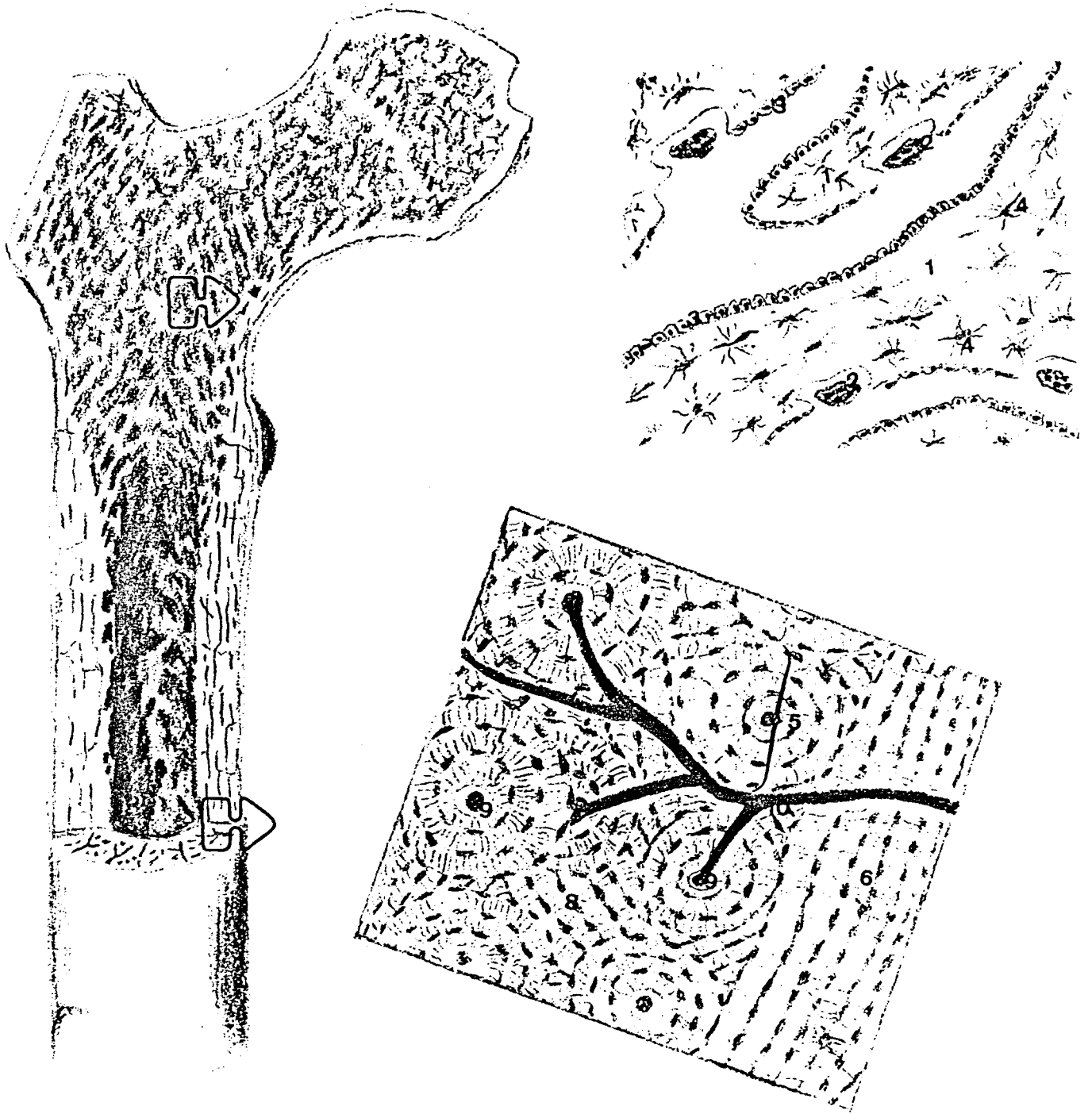


Fig. 3.- A. Sección de hueso trabecular
 1. Trabéculas; 2. Osteoclasto; 3. Osteoblasto; 4. Osteocito
 B. Sección de hueso cortical
 5. Osteona; 6. Laminillas subperiósticas circunferenciales;
 7. Laminillas concéntricas; 8. Laminillas intersticiales;
 9. Capilares deconductos de Havers; 10. Capilares de Volkman

Morfológicamente estos dos tipos histológicos están representados en un hueso largo como el fémur. La superficie articular del fémur está cubierta por una capa de cartílago hialino, que está mejor preparada que el hueso para soportar la fricción y el movimiento de la articulación. El resto de la superficie exterior del hueso está cubierta de periostio, un tejido conjuntivo fibroso denso. En el hueso en crecimiento, la superficie interna del periostio contiene células osteógenas que están depositando activamente hojas de matriz ósea. A medida que se depositan las capas de hueso, haces de fibras de colágena se introducen en ellas formando, las fibras perforantes de Sharpey.

La capa interna de la cortical de un hueso largo está cubierta de endósteo, cuyas células poseen capacidad osteogénica que se expresa en el proceso de curación de las fracturas.

ESTRUCTURA DEL HUESO CORTICAL

La unidad funcional del hueso cortical es la OSTEONA, o Sistema Haversiano, (*Fig. 4*) una estructura cilíndrica que mide unas 250 μm . de diámetro por 1 a 5 cm. (85). La osteona consiste en capas concéntricas de laminillas óseas, cada una de ellas de 2 a 3 μm de grosor que rodean un conducto de Havers central de 30 a 70 μm de diámetro, por el que discurre el aporte sanguíneo y nervioso del hueso -vaso sanguíneo, canal linfático y nervios-. Las ramas laterales, denominadas conductos de Volkmann, incorporan también vasos sanguíneos que transcurren de una a otra osteona y que provienen del periostio y de la cavidad medular, alcanzan los canales de Havers.

Cada laminilla cilíndrica dentro de la osteona está cubierta por una población dispersa de osteocitos regularmente dispuestos en celdas o lagunas que se comunican unos con otros a través de extensiones celulares que discurren por unos conductos que se denominan canalículos. Además de las osteonas, el collar compacto de un hueso largo contiene en su perifería laminillas circunferenciales subperiósticas, que son depositadas por la capa interna del periostio.

El tejido óseo se encuentra en constante actividad; los sistemas de Havers en fase de resorción tienen un borde irregular a lo largo del cual se encuentran grandes

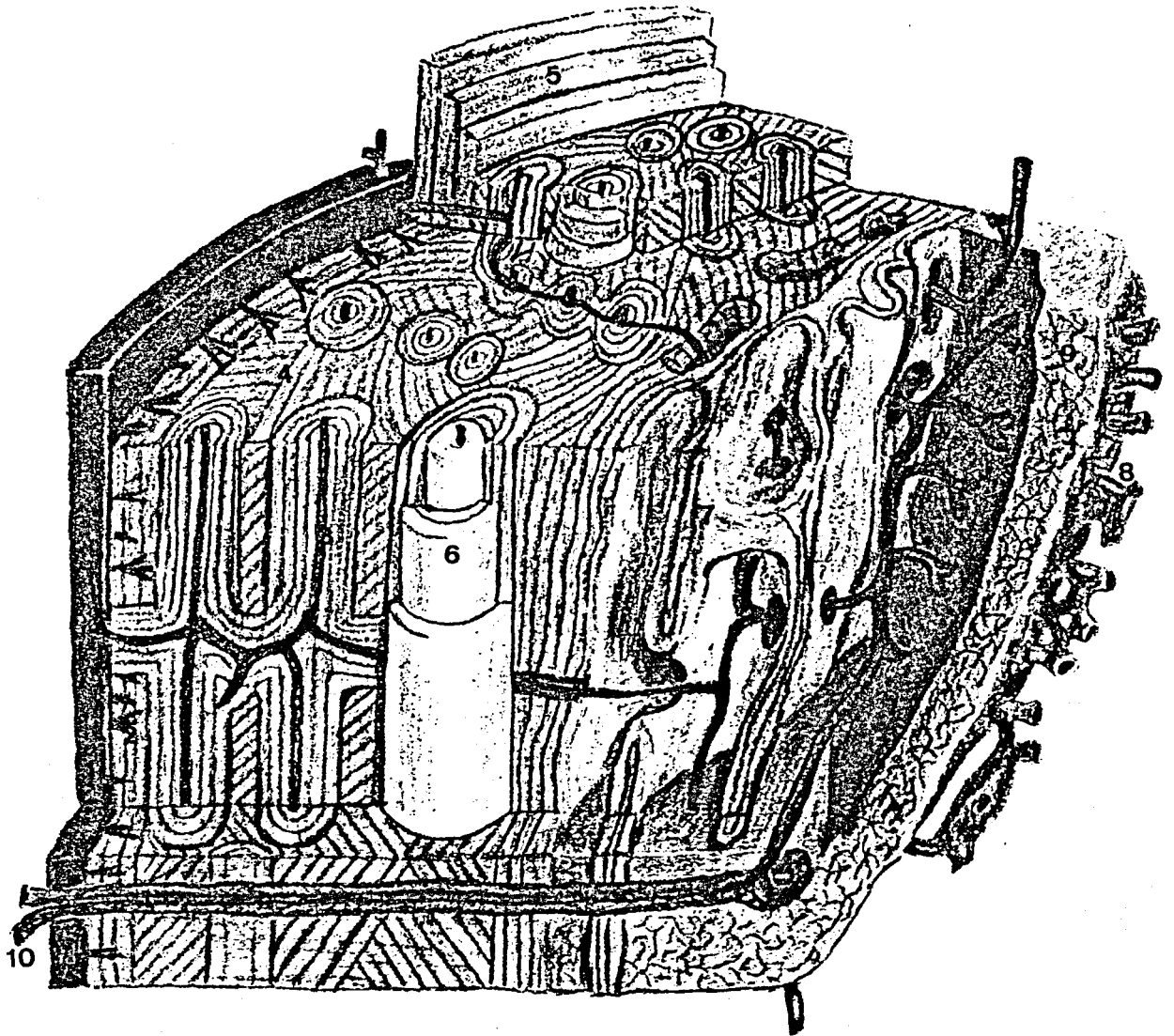


Fig. 4.- Estructura del hueso cortical
1. Periostio; 2. Fibras perforantes de Sharpey; 3. Capilares conductos de Havers; 4. Láminas intersticiales; 5. Láminas circunferenciales externas; 6. Láminas concéntricas que forman la osteona; 7. Trabéculas que se proyectan en la cavidad medular; 8. Sinusoides; 9. Médula hematopoyética; 10. Arteria nutricia.

células multinucleadas: los osteoclastos; mientras que en los sistemas en fase de formación están bordeados de células más pequeñas mononucleadas: osteoblastos. Una vez se ha eliminado el hueso, se depositan nuevas laminillas en capas concéntricas, desde fuera hacia dentro hasta que se forma una osteona completamente nueva. En algunas osteonas viejas estos procesos destructivos han ocurrido con tanta frecuencia que sólo permanecen pequeñas porciones de laminillas originales. Estos restos que pueden incluir también porciones de laminillas circunferenciales se denominan laminillas intersticiales (17), (23), (100).

La calcificación completa de las osteonas es muy lenta, el 70% de los minerales son depositados entre 1 y 2 días después de la formación de la sustancia orgánica, mientras que el depósito complementario de minerales necesita varios meses (43). Por esta razón pueden observarse grandes variaciones en el grado de mineralización de las diferentes osteonas.

La irrigación sanguínea arterial de la corteza ósea se realiza a través de arterias nutricias que penetran desde la cavidad medular; arteriolas periósticas irrigan aproximadamente un tercio de la corteza externa de un hueso largo. Una malla anastomótica perfectamente desarrollada conecta el sistema arterial perióstico centrípeto con el sistema arterial endóstico centrífugo. El drenaje venoso de la corteza se realiza a través de un amplio plexo venoso situado en la cavidad medular.

ESTRUCTURA DEL HUESO TRABECULAR

En contraste con la estructura compacta del hueso cortical, el hueso trabecular es una malla compleja de tubos que se entrecruzan, una verdadera red tridimensional de trabéculas anastomosadas. Esta disposición permite que el hueso mantenga una buena resistencia respecto a las fuerzas de presión y tracción. (*Fig. 5*).

El hueso dentro de cada trabécula es hueso laminar maduro, donde los osteocitos están orientados concéntricamente y tienen una red canalicular bien desarrollada. Las trabéculas están cubiertas por un envoltorio de células fusiformes que separan éstas del espacio medular (17).

En un hueso trabecular en crecimiento o en fase de remodelación, el depósito de hueso nuevo por parte de los osteoblastos está compensado por la eliminación de

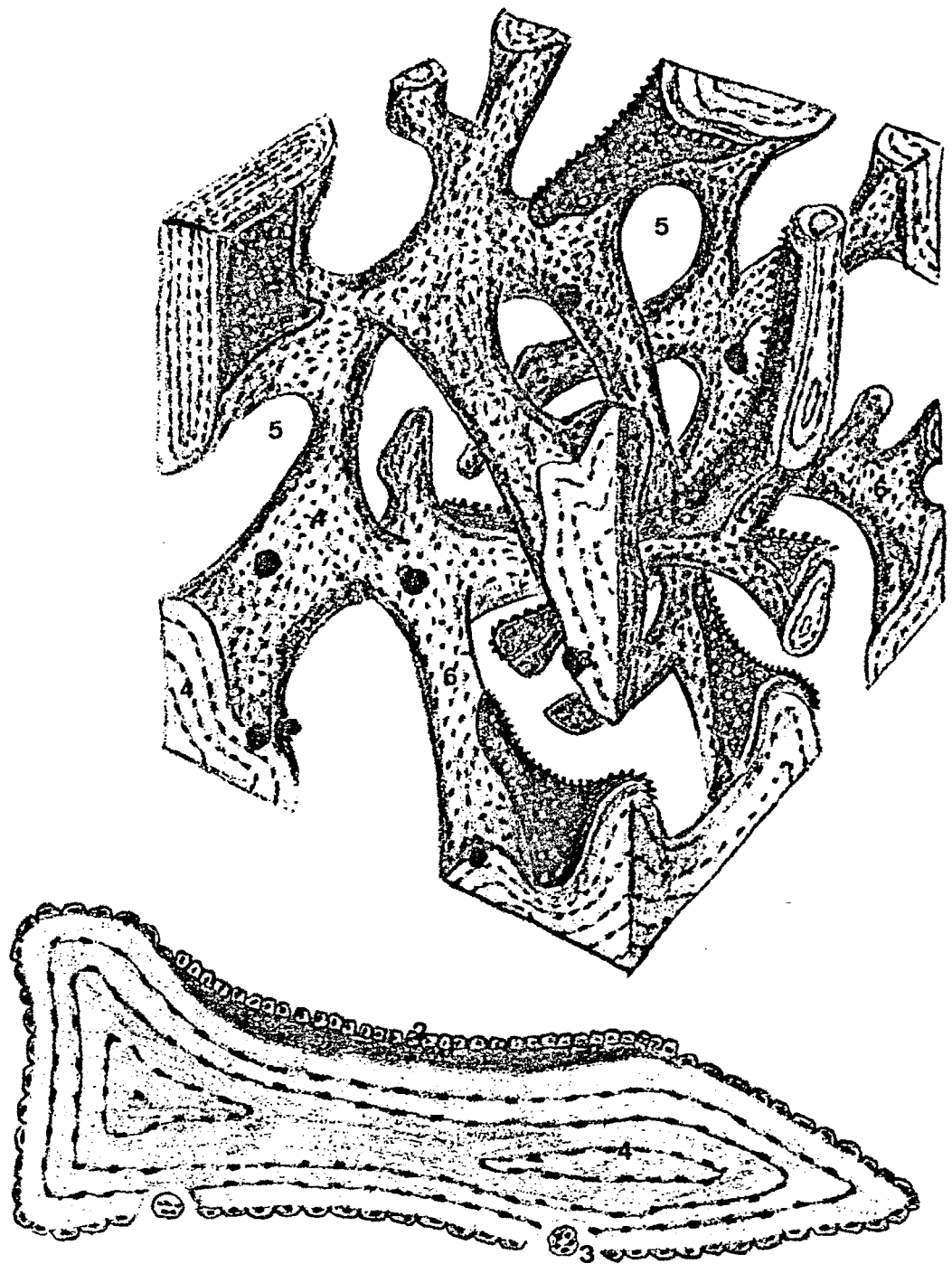


Fig. 5.- Estructura del hueso trabecular
 1. Osteoide (matriz poco mineralizada); 2. Osteoblastos activos (que producen osteoide); 3. Osteoclastos; 4. Osteocitos; 5. Espacios medulares (de células hematopoyéticas y grasa); 6. Trabéculas.

hueso por los osteoclastos en la superficie opuesta de la trabécula; por lo que ésta puede cambiar de posición dentro del hueso como consecuencia de este procedimiento de deposición y resorción coordinadas (78), (94).

1.2.2. TEJIDO ÓSEO NO LAMINAR

El tejido óseo no laminar, trabecular grosero o hueso fibroso, se encuentra en el hueso embrionario en crecimiento y en los procesos de cicatrización ósea o reparación de fracturas.

Los osteocitos son más numerosos y están situados en lagunas de mayor tamaño y de forma irregular. Las fibras de colágena son más gruesas y dispuestas irregularmente, predominando el colágeno de tipo II sobre el de tipo I. Por otra parte la densidad mineral del hueso fibroso es menor, contrariamente a lo que ocurre en el hueso laminar donde el mineral parece estar muy unido a la matriz orgánica.

2.- SISTEMA NERVIOSO

Durante más de un siglo, la rata ha sido usualmente utilizada como modelo de animal de experimentación para estudios relacionados con el sistema nervioso; sin embargo no debemos dejar de reconocer como dice Hebel (63), la gran complejidad que presenta, con su impenetrable selva de núcleos, subnúcleos, proyecciones y nombres alfabéticos neuroquímicos que se presentan por si mismos.

La rata, como animal mamífero, presenta un sistema nervioso periférico y un sistema nervioso central (04).

2.1. SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO

Está compuesto por 34 pares de nervios espinales: 8 cervicales, 13 torácicos, 6 lumbares, 4 sacros y 3 caudales. Estos pares emergen del cordón espinal entre los forámenes intervertebrales; cada nervio está formado por una raíz ventral y otra dorsal.

Desde D-2 ó D-3 hasta los primeros nervios sacros, pares de ramas comunicantes conectan los nervios espinales con ganglios del sistema nervioso simpático.

Los plexos habituales se forman en las regiones cérvico-braquial y lumbo-sacra por las divisiones ventrales de los nervios espinales. Los nervios espinales caudales y el filum terminal se denominan colectivamente cola de caballo.

Los pares craneales se incluyen también como parte del sistema nervioso periférico.

El sistema nervioso autónomo se compone de 2 troncos simpáticos, con 24 pares de ganglios dispuestos paralelamente a ambos lados de la columna vertebral. Cada tronco establece comunicación con las raíces ventrales de los nervios espinales.

2.2. SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Compuesto por encéfalo y cordón espinal, se halla recubierto por tres estratos membranosos llamados meninges. La más externa es la duramadre, que penetra en el cerebro entre los dos hemisferios formando la hoz del cerebro y entre cerebro y cerebelo el tentorium cerebeli. A lo largo del cordón espinal, la duramadre se sitúa externamente como un fuerte abrigo fibroso, rodeando cada nervio espinal que parte de la médula hasta una distancia determinada de la salida de cada rama. La más interna de las meninges es fina y delicada, la piamadre, adherida tanto al encéfalo como a la médula espinal. Entre la duramadre y la piamadre se interpone una malla de finas fibras denominada aracnoides.

El cerebro está compuesto por dos pequeños y alargados hemisferios cerebrales separados por una fisura medial interhemisférica. Los lóbulos frontales no están claramente diferenciados de los alargados y más caudales lóbulos temporales. Dos largos bulbos olfatorios se proyectan hasta el rostral final del cerebro y conectan con los lóbulos del hipocampo a través de los tractos olfatorios. (*Fig. 6*)

El retorcido o enroscado cerebelo ocupa la mayor parte de la porción caudal del encéfalo; está formado por el vermix central y dos hemisferios posteriores.

Entre los hemisferios cerebrales y el vermix del cerebelo se disponen cuatro corpúsculos redondeados, los corpúsculos cuadrigéminos, los dos caudales asociados con áreas auditivas y los craneales con áreas visuales.

La porción más caudal del encéfalo, la forma el tronco del encéfalo, que se continua hacia atrás con la médula espinal.

En la cara ventral del encéfalo se puede observar el origen de los nervios craneales. Otras estructuras importantes son, la glándula pituitaria, en forma de tallo, la neuro y la adeno-hipófisis.

A cada lado del infundíbulo se disponen tractos nerviosos que conectan el cerebro con el tronco del encéfalo, son los pedúnculos cerebrales. Más caudales a

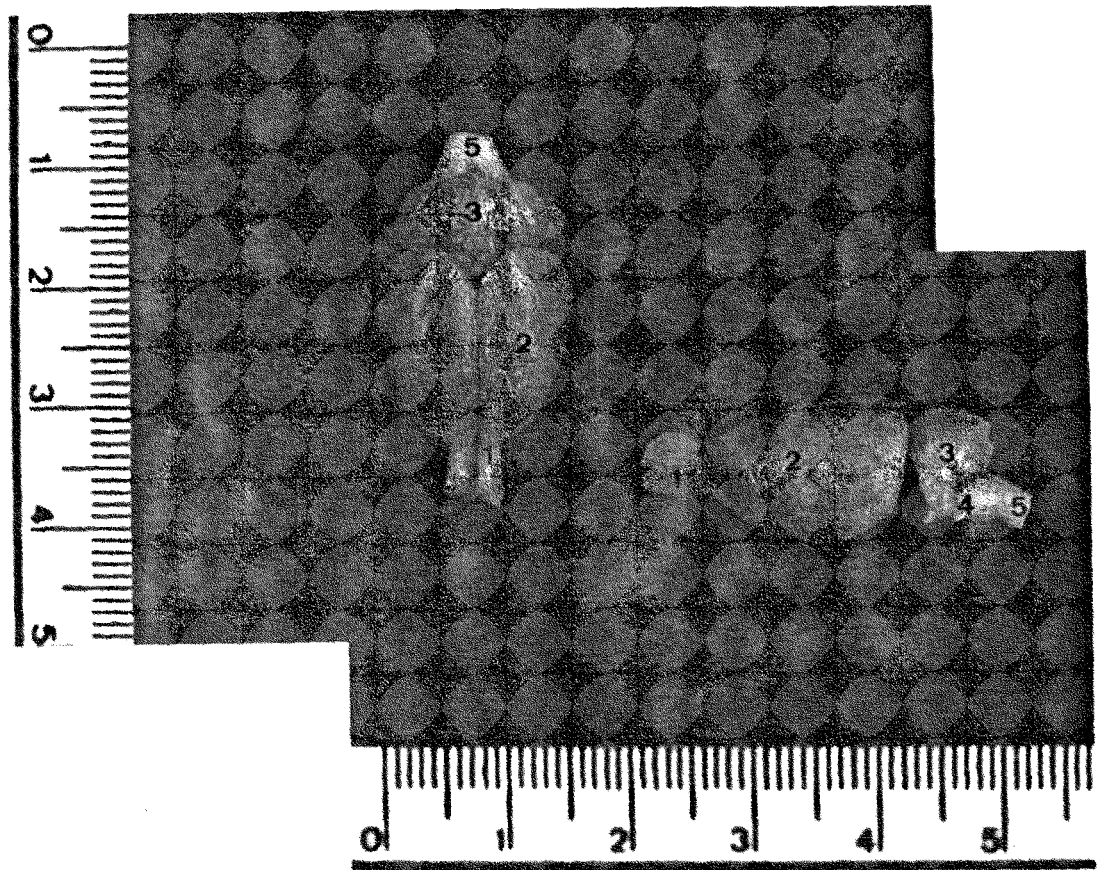


Fig. 6.- Sistema nervioso central de la rata
1. Lóbulo olfatorio; 2. Hemisferio cerebral; 3. Cerebelo; 4. Tronco encéfalo;
5. Médula espinal.

la hipófisis aparecen tractos fibrosos nerviosos y los núcleos del puente, que se sitúan como centros intermedios en la conexión de los hemisferios cerebelosos con el cortex cerebral. Extendiéndose más caudales a los puentes, en la cara ventral del tronco del encéfalo, aparecen las pirámides. Estos tractos fibrosos llevan información desde el cortex cerebral a centros incluidos en la médula espinal.

El cerebro cuando es observado según un corte sagital muestra un prominente cuerpo calloso, es una banda de fibras de sustancia blanca que conecta entre sí ambos hemisferios.

Una estructura circular reposa en el centro del tercer ventrículo, es la denominada masa del tálamo. Un fino cordón de fibras se dispone entre el rostral y la masa intermedia, es la comisura rostral; ésta, está íntimamente relacionada con otro tracto de fibras blancas que conecta los hemisferios cerebrales, el fórnix, que transcurre ventralmente al cuerpo calloso.

También son identificables los pedúnculos cerebrales, dos gruesas masas de fibras que se disponen en el suelo del cerebro.

En el telencéfalo, llama la atención el prominente desarrollo del bulbo olfatorio y la ausencia de circunvoluciones y surcos es un hecho destacable.

La superficie total del cortex cerebral es de 278,78 mm², 129,04 mm² - aproximadamente el 46%- pertenecen al isocortex y 149,04 mm² -aproximadamente el 54%- al allocortex (114). Según Yanai (125) existen diferencias entre macho y hembra en la superficie de las áreas cerebrales.

El lóbulo frontal, motivo de estudio en nuestro trabajo, está constituido por una zona periférica, la corteza cerebral -fronto polar cortex y frontal cortex-, de sustancia gris con una estructura microscópica que consta de una población intrincada de células y fibras nerviosas, neuroglía y vasos sanguíneos. Los diferentes tipos celulares se distribuyen en las seis capas clásicas de la corteza cerebral estudiadas por Cajal, Golgi, Nissel y Weigerf; y una zona central de sustancia blanca constituida por fibras nerviosas mielínicas, bien por fibras aferentes o eferentes, bien por fibras que unen entre sí los dos hemisferios.

3.- CICATRIZACIÓN ÓSEA

La consolidación de una fractura es un proceso de cicatrización, cuyo objetivo es la reconstrucción ad integrum del tejido lesionado.

La consolidación es un fenómeno natural en el que se observan dos grandes etapas, la primera constituye el periodo de unión en el que el hueso reencuentra su continuidad anatómica; seguida de la fase de remodelaje, mucho más prolongada, que restituye su forma, su resistencia y su estructura original.

La reparación ósea resume el proceso de evolución en la formación de la estructura ósea. El tejido óseo fibrilar, no laminar del callo primario, característico de la vida embrionaria y postnatal temprana, es eliminado y sustituido por tejido óseo laminar adulto con sistemas haversianos.

El estudio de la cicatrización ósea puede enfocarse desde varios prismas: histológico, metabólico, bioquímico, físico o mecánico, encontrándonos en la actualidad todavía en situaciones hipotéticas y con análisis controvertidos en algunos de ellos.

Tenemos muy pocos datos sobre la influencia del sistema nervioso en la consolidación de fracturas; son cuestiones por resolver si la destrucción nerviosa local que se produce -la inervación del periostio, el sistema nervioso de la cavidad medular,...- influye en el curso de la reparación, y si el sistema nervioso modula mecanismos locales de acción o inhibición que influyan en los pormenores de la reparación.

3.1. EL PAPEL DE LAS DIFERENTES ESTRUCTURAS ÓSEAS

3.1.1. CÉLULAS OSTEOFORMADORAS

A pesar de los últimos avances en el campo de la histología, ligados a los estudios de microscopía electrónica y a los marcadores radioactivos, el origen de las células osteogénicas responsables de la cicatrización ósea es todavía discutido. Existen dos teorías dispares, unos autores como es el caso de Ham y Harris (60) y Owen (92) explican la formación de hueso y cartílago a partir de células osteoformadoras predeterminadas que provienen de células osteoprogenitoras especializadas; otros como Leriche y Policard (76) originalmente y Collins (25), McLean y Urist (80) defienden la hipótesis contraria, argumentando que las células con capacidad osteogénica proceden en su mayoría de otras células del tejido conectivo -fibroblastos- que desarrollan su potencial osteogénico en presencia de estímulos apropiados. Un tercer grupo cree que la osificación consecutiva a la fractura se efectúa tanto por la estimulación del potencial osteogénico del periostio, del endostio y de determinadas células de la médula ósea como por la inducción de células osteoformadoras -metaplasia- a partir de fibroblastos o de otras células no diferenciables en la actualidad por los procedimientos histoquímicos conocidos.

Los últimos estudios experimentales hablan del origen diferente de osteoblastos y osteoclastos. Según la hipótesis actual prevalente (12), (42), las células de la línea osteogénica que engloba a osteoblastos y condroblastos derivan de una célula madre del estroma medular, o de la división de la capa interna del periostio, o de células de la médula ósea especializadas -DOPC-. Hanaoka (62) ha analizado recientemente las experiencias y diferentes conclusiones sobre el origen de los osteoclastos, y piensa que dicho origen es local, no hematopoyético, descendiendo probablemente de células mesenquimales perivasculares.

3.1.2. PERIOSTIO

Ha estado durante largo tiempo en controversia, como simple membrana limitante para algunos como McEwen -1912- (79), o como órgano osteoformador, Ollier -1894- (90).

El periostio está formado por dos capas:

- Una capa externa fibrosa que actúa como cápsula y que no interviene normalmente en la osteogénesis; está formada por varias capas de células de tipo fibroblástico dispuestas paralelamente entre las fibras de colágena.

- Una capa interna o capa osteogénica de Ollier que está formada por varios tipos de células, células precursoras osteoprogenitoras, osteoblastos, osteoclastos y células endoteliales vasculares. En los organismos en crecimiento la capa mas superficial está ocupada por preosteoblastos similares a los fibroblastos y la mas interna por osteoblastos. En los organismos que han terminado el crecimiento la capa mas interna se reduce a unas células alargadas semejantes a fibroblastos.

3.1.3. ENDOSTIO

Membrana de un solo espesor que tapiza la cara interna de la cortical y rodea la médula ósea y las trabéculas de hueso esponjoso; está compuesta de osteoblastos con forma cúbica y de células alargadas en el borde.

Cuando se produce una fractura existe una proliferación de células semejantes a los fibroblastos en la cavidad medular, cerca de la médula necrosada; estas células se acompañan de proliferación vascular y son el origen del tejido fibroso que invade eventualmente la superficie interfragmentaria. Como en el periostio, es imposible diferenciar los fibroblastos jóvenes de las células con capacidad osteogénica.

3.1.4. MÉDULA ÓSEA

Está demostrado que células de la médula ósea tienen capacidad de formar hueso incluso si son trasplantadas, pero su papel en la consolidación ósea está mal definido.

Las denominadas DOPC -determinal osteogenic precursor cells- son células de la médula ósea con capacidad de formar hueso, similares a los fibroblastos y que son independientes del sistema hematopoyético.

3.1.5. LAS EXTREMIDADES FRACTURARIAS

Tienen un papel pasivo en la consolidación de las fracturas. Se necrosan más o menos en dependencia del desplazamiento de los fragmentos y de sus trazos y juegan el papel de estabilizadores temporales, produciéndose también en ellas una transformación local bioquímica de materiales reutilizables.

3.2. CONSOLIDACIÓN DE LAS DIÁFISIS DE LOS HUESOS

En la gran mayoría de las fracturas el proceso de cicatrización ósea se realiza por reparación secundaria. Este, tiene lugar en dos etapas:

A. Fase de unión, que consta de cuatro periodos: (*Fig. 7*)

- 1.- Hemorragia, necrosis y proceso inflamatorio.
- 2.- Proliferación del tej. de granulación y de células osteogénicas que producen callo.
- 3.- Formación de cartílago y hueso nuevo alrededor del foco de fractura que dará lugar a la unión provisional.
- 4.- Mineralización del callo y unión sólida de la solución de continuidad de la fractura.

B. Fase de remodelaje, con remodelación del callo y reconstrucción de la estructura ósea original.

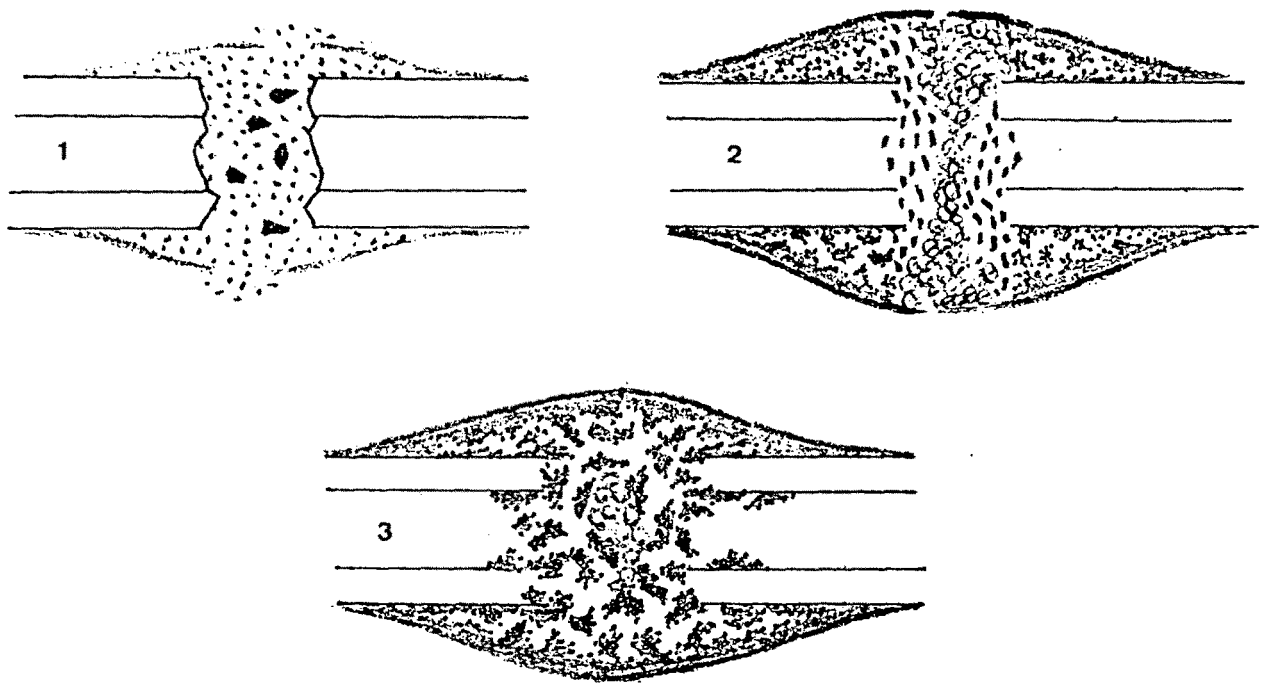


Fig. 7.- 1. Fase inflamatoria. Hematoma.
 2. Callo primario.
 3. Callo de unión.

A. 1. Tras el traumatismo, se produce una hemorragia a nivel del foco de fractura que proviene de las extremidades fracturarias y de los tejidos blandos de alrededor. La importancia del hematoma en la consolidación de las fracturas está en controversia, algunos opinan que la fibrina del coagulo actúa como andamiaje para la invasión celular favoreciendo la reparación (83), pero otros sugieren que la hemorragia retrasa la unión (115), (05).

El proceso inflamatorio agudo se inicia inmediatamente después del traumatismo y dura hasta 1 semana aproximadamente, con un punto álgido a las 24 h. La hiperemia se extiende ampliamente e invade gran parte de la médula, la cortical y los tejidos circundantes; la proliferación celular, el edema y la invasión vascular disocian las fibras musculares explicando la tumefacción. La extraordinaria proliferación vascular periósea forma lo que Rhineland (101) llama la vascularización extraósea, respon-

sable de la restauración de la continuidad vascular cuya interrupción es proporcional a la energía del traumatismo y al desplazamiento de los fragmentos.

Uno de los puntos significativos de este estadio es la necrosis de las extremidades fracturarias. El desgarro de los vasos que transcurren por los canales de Havers y especialmente de la arteria nutricia en su camino a la cortical, provoca la destrucción de los osteocitos. La pérdida de los osteocitos es el rasgo histológico distintivo, pero puede tardar días en aparecer (106). Leucocitos polimorfonucleares, macrófagos y células gigantes multinucleadas a cuerpo extraño que pueden ser difíciles de distinguir de los osteoclastos, se agrupan alrededor del colágeno fragmentado y de otros materiales destruidos, digeriéndolos.

A.2. Las células precursoras sensibilizadas y los factores mediadores locales inducen la producción y diferenciación de nuevas células dando lugar a la formación de nuevos vasos; a la proliferación, migración y diferenciación de fibroblastos y otras células del tejido conectivo y a la proliferación de células osteogénicas y su diferenciación a osteoclastos y osteoblastos. Colectivamente forman un tejido de granulación blando en el espacio interfragmentario, pudiendo afectar a los tejidos perifracturarios.

A.3. La división celular mas activa se encuentra en la vanguardia de la invasión fibrovascular, a cierta distancia del foco de fractura, formándose un collarín de tejido muy celular en el que se incluyen células osteogénicas que proceden de la capa interna del periostio, dando lugar al callo de anclaje. La proliferación perióstica tiene lugar a ambos lados del foco de fractura, quedando libre del callo la zona central inmediatamente adyacente a la fractura, hasta que se completan los puentes de tejido de un extremo a otro constituyendo el callo en puente. La capa externa del periostio es separada de la cortical por el tejido de proliferación y si no se desgarra forma una cápsula fibrosa externa.

Debajo del callo en puente queda un espacio que se continua con el foco de fractura invadido en un primer momento por el coágulo y detritus, y con posterioridad por histiocitos fibroblastos y otras células. Este espacio puede ser fibroso, cartilaginoso, osteocartilaginoso u óseo y su naturaleza influirá en cual será el modo de unión final. El cartílago es eliminado progresivamente por osificación endocondral y es sustitui-

do por una regresión a hueso reticular; las fibras de colágena están dispuestas en forma irregular y los osteocitos parece que estén distribuidos al azar, es hueso no laminar similar al hueso embrionario sobre todo cuando ha sido mineralizado.

El cartílago encontrado en el callo precoz es de tipo hialino y su cantidad varía en función de diversos factores: (108)

- cuanto mas callo perióstico haya es más probable encontrar mayor cantidad de cartílago.
- la estabilidad de la fractura es un factor importante, el movimiento favorece la condrogénesis así como la formación de callo.
- el aporte vascular local es el responsable de una PO_2 local elevada que favorece sin duda la transformación de los condrocitos en osteocitos. La isquemia, la hipoxia y el aumento de la presión de CO_2 favorecen la formación de cartílago.

A.4. La mineralización que se inicia en las extremidades del callo o en la periferia si el periostio ha sido simplemente despegado, se propone invadir todo el callo en un verdadero frente de mineralización endondral, que se denomina "formación ósea indirecta"; diferenciada de la formación ósea directa más típica del hueso esponjoso y que se caracteriza en la radiología por un aumento progresivo de la densidad en el espacio interfragmentario, contrariamente al alargamiento que se produce en presencia de fibrocartilago, y que tiene lugar con poco o ningún tejido de granulacion (30).

CALLO INTERNO, MEDULAR O ENDÓSTICO

Este callo medular es mucho más importante en la consolidación de fracturas de hueso esponjoso como en las fracturas de cuerpo vertebral, e incluso en las metafisarias como en la metafisis distal del radio (107).

Paralelamente a la formación del callo periférico de anclaje, se desarrolla un callo medular o endóstico cuya importancia mecánica es mucho menor que la del callo externo, precisa de estabilidad en el foco para su formación y éste no pasa normalmente por un proceso de mineralización encondral.

LA CORTICAL

El fenómeno de consolidación de las fracturas no se limita exclusivamente al periostio, endostio, cavidad medular y tejidos blandos perifracturarios; la cortical sufre también importantes cambios. Tras producirse la necrosis de las extremidades fracturarias, los vasos de la cavidad medular o de cualquier otra procedencia crecen en el interior de los canales corticales de Havers; éstos se ensanchan como consecuencia de la tunelización osteoclástica a través de la matriz ósea, los osteoblastos maduran a partir de las células osteogénicas que crecen en el interior de los canales, depositándose hueso neoformado a medida que se elimina el hueso necrótico, simulando un proceso de remodelaje acelerado.

La unión del callo externo de origen perióstico y el callo interno endóstico en el receso interfragmentario constituye el callo de unión y marca el final del primer periodo de la consolidación ósea, pudiendo iniciarse el segundo periodo mucho más largo de la remodelación-modelación ósea.

B. FASE DE REMODELADO Y MODELADO

B.1. REMODELACIÓN

Una vez ha terminado la unión de los dos fragmentos, el hueso neoformado debe adaptar su estructura a su nueva función. En el hueso maduro las fibras de colágena están orientadas espacialmente en sistemas Haversianos o sistemas circunferenciales internos, o bien en láminas intersticiales o sistemas circunferenciales externos.

En el remodelaje se produce un proceso simultáneo de reabsorción osteoclástica y de aposición osteoblástica acompañando a los nuevos vasos, similar al que se produce de forma continuada en el esqueleto normal permaneciendo así su estructura y su función. El remodelaje del callo mineralizado se realiza enigmáticamente por islotes; el hueso inmaduro es reemplazado por paquetes de hueso nuevo trabecular. El callo induce su propio remodelaje por la puesta en marcha de una serie de mediadores desconocidos, llamado por Frost las BMU "Basic multicellular unit" (43), (44). Este proceso de remodelaje por BMU tiene cuatro acciones:

- Reemplazar todo el cartílago mineralizado por hueso inmaduro para formar hueso esponjoso primario.
- Reemplazar este hueso esponjoso, así como cualquier otro tipo de hueso inmaduro por paquetes de hueso laminar.
- Reemplazar el callo que existe entre las extremidades fracturarias corticales por osteonas secundarias de hueso laminar que se alinean según la ley de Wolf (122) paralelamente a las sollicitaciones que se producen en una y otra parte de la antigua fractura.
- Limpiar la cavidad medular de cualquier callo obstructivo.

El proceso completo de remodelaje puede durar de meses a años, realizándose rápidamente en el primer tercio del reemplazamiento y enlenteciéndose progresivamente en los dos tercios restantes.

B.2. MODELAJE

Se realiza al mismo tiempo que el remodelaje y su finalidad es devolverle al hueso su forma original. El callo externo se reabsorbe, pudiendo ser completo el modelaje en niños y casi completo en adolescentes, pero nunca en el adulto, permaneciendo las deformidades producidas por rotación y acortamiento.

3.3. OTROS ASPECTOS DE LA CONSOLIDACIÓN

3.3.1. METABOLISMO Y BIOQUÍMICA DEL CALLO

La formación de tejido de granulación del callo y el inicio de las actividades de remodelaje-modelaje necesita la activación de células precursoras. En los últimos trabajos realizados por Urist (119) se ha puesto en evidencia un factor bioquímico capaz de inducir la diferenciación de células mesenquimatosas en células de línea osteogénica. La BMP -Bone Morphogenetic Protein- es una proteína no colágena obtenida por desmineralización ácida del hueso de ratas, conejos, bovinos y humanos. En las experiencias realizadas la cantidad de hueso neoformado parece ser proporcional a la cantidad de BMP, el papel de la BMP en la consolidación ósea está todavía en estudio

La presión de O_2 juega un papel fundamental en el proceso de calcificación. Experiencias antiguas (06) sobre cultivos de células mesenquimatosas, muestran que en ausencia de O_2 se produce una metaplasia cartilaginosa, mientras que el hueso aparece en presencia de concentraciones óptimas.

Diferentes trabajos de investigación han demostrado efectos beneficiosos sobre la cicatrización de las fracturas en ratas sometidas a oxigenoterapia hiperbárica, produciéndose aceleración en la reparación, mayor mineralización y aumento de la resistencia a la fractura, formación acelerada de colágeno y mayor cantidad de callo y minerales (124), (87), (27), (96). Por contra una sobresaturación de O_2 es tóxica, inhibe la consolidación y disminuye la resistencia de las fracturas en reparación (108), (123).

Tras la producción de una fractura tienen lugar una serie de cambios humorales, entre los que destaca una situación de acidosis metabólica *in situ* (105); en condiciones de alcalosis metabólica local se favorece la precipitación de sales de calcio, acelerándose el proceso de consolidación (18), (37).

El callo de fractura contiene al igual que el hueso, una proporción variable de proteoglicanos, colágeno, minerales y agua. La cantidad de proteoglicanos presenta

un máximo hacia la 1ª y 2ª semanas para disminuir posteriormente. La relación hexosamina/hidroxi prolina también disminuye, traduciéndose en la disminución de los glicosaminoglicanos y aumento simultáneo del colágeno. Existen diferentes tipos de colágeno en función de la consolidación: al principio cuando el callo es fibroso encontramos los tres tipos de colágeno; en la fase de callo blando encontramos sobretodo colágeno de tipo II, como en el hueso embrionario, y en la fase de callo duro el colágeno es sobretodo de tipo I.

Respecto al agua y minerales, se ha observado un máximo alrededor de la 1ª semana, y en particular el calcio aumenta entre el 10º y 16º día.

Estudios microquímicos han demostrado que las enzimas que intervienen en la glucólisis anaerobia y aerobia están activadas en el callo durante la proliferación y diferenciación celular (72), (74). El análisis cuantitativo de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en el periostio, muestra tras la fractura en la rata, un aumento rápido en los cinco primeros días que siguen a la fractura. Se sabe también que el glucógeno desaparece a medida que se produce la calcificación del cartílago; se trata de un proceso de glucólisis anaerobia donde intervienen las mitocondrias de los condrocitos ricas en calcio. La baja presión de O₂ estimula la glucólisis anaerobia, que permite salir al calcio de las mitocondrias, provocando la calcificación de la matriz proteica.

Se conoce desde hace mucho tiempo la relación de la fosfatasa alcalina con las células osteogénicas proliferativas, con los osteoblastos y con la formación de matriz ósea. Se ha demostrado gran actividad fosfatásica durante la cicatrización inicial de la fractura en el cartílago hipertrófico y calcificado del callo (72), (74).

3.3.2. VASCULARIZACIÓN DEL CALLO

El hueso diafisario se encuentra vascularizado por dos sistemas: el sistema perióstico que proviene de las arterias musculares y que es el responsable de la vascularización del tercio externo de la cortical; y el sistema centromedular formado por las arterias nutricias y que es el responsable de la vascularización de los dos tercios internos.

Se han podido realizar estudios vasculares de la consolidación mediante la técnica de Spalteholz (111), (106), objetivándose que tras la fractura se produce una vasoconstricción que permite la hemostasia espontánea. En la fase de organización del callo aparece una vasodilatación y proliferación de capilares que invade el tejido neoformado.

Brooks (20) ha demostrado que la vascularización del callo en la rata sigue evolución en tres fases:

- durante la 1ª semana disminución del flujo sanguíneo que afecta sobre todo al flujo perióstico.
- de la 2ª a la 4ª semana aumenta a la vez el flujo perióstico y medular, con un máximo alrededor del día 21.
- tras la 4ª semana el flujo global disminuye lentamente hasta llegar a los valores normales.

La hipervascularización local favorece la proliferación celular y la formación de hueso.

3.3.3. CRITERIOS BIOFÍSICOS

Se han identificado tres tipos diferentes de potenciales eléctricos endógenos:

- La polaridad eléctrica del hueso: En el hueso normal sin lesión, la diáfisis es electropositiva, mientras que las extremidades de un hueso largo son electronegativas (40), (41).

Tras una fractura, la diáfisis se vuelve más electronegativa que las epífisis y metáfisis, y una vez finalizada la consolidación se observa un retorno a la polaridad normal.

- El potencial piezoeléctrico: Es generado en la deformidad de los cristales de hidroxiapatita cuando se aplica un estrés al hueso, provocando una electronegatividad

en el lado cóncavo y una electropositividad en el lado convexo.

- El potencial electrocinético o "streaming potential": Se producen gradientes de presión en la interfase entre los fluidos en movimiento y la superficie sólida, las cargas positivas están presentes en los fluidos, mientras que las superficies óseas están cargadas negativamente.

Esta electronegatividad podría jugar su papel en la consolidación, atrayendo iones positivos como el Ca^{++} .

Experiencias de estimulación osteogénica por aplicación de corrientes en el hueso, demuestran que el hueso se deposita en el cátodo.

3.4. INFLUENCIAS EN LA CONSOLIDACIÓN

3.4.1. FACTORES NUTRICIONALES

Se precisa vitamina C para la síntesis de colágeno, por lo que el escorbuto interfiere la consolidación. Es necesaria una dieta muy pobre en calcio y vitamina D para interferir en la mineralización. Toda alimentación normal contiene suficientes elementos para satisfacer las necesidades del hueso fracturado.

3.4.2. FACTORES BIOELÉCTRICOS

La estimulación eléctrica tiene un efecto positivo en la consolidación; experiencias realizadas en ratas demuestran que dichos factores no aceleran en todo su conjunto el proceso de cicatrización, pero sí la fase de callo blando, obteniendo una estabilización más rápida de la fractura (95).

3.4.3. FACTORES MECÁNICOS

La inmovilización provoca una pérdida de masa ósea, osteopenia, en dependencia de la edad y de la naturaleza del hueso.

La movilidad intempestiva impide la consolidación directa y es el origen en ocasiones de trastornos en la consolidación, si bien la estabilidad absoluta del foco de fractura no es imprescindible para que ésta se produzca, es el caso de las fracturas costales.

La compresión interfragmentaria aumenta la estabilidad, pero no aumenta la osteogénesis. La necesaria rigidez del montaje da lugar a callos de pequeño volumen e impide el inicio del remodelaje, que no se producirá hasta haberse realizado la extracción del material.

3.4.4. FACTORES HORMONALES

La acción de las hormonas sobre la consolidación es similar a la que éstas tienen sobre el cartílago de crecimiento.

La hipofisectomía provoca un retardo de la consolidación, cuyo efecto es paliado con la administración de hormona de crecimiento (GH). La administración aislada de GH tiene pocos efectos sobre la consolidación (88), y cuando estos aparecen no persisten más allá de los estadios precoces de la cicatrización ósea.

La tiroxina no es indispensable para la consolidación, pero su administración parece que la estimula.

La ACTH al igual que la hidrocortisona, pueden a altas dosis, parar o retrasar la consolidación (109); por contra, los adisonianos consolidan normalmente (03).

3.4.5. FACTORES CIRCULATORIOS

Estudiados en particular por Rothman (104) y Heppenstall (65), observando que la anemia con hipovolemia provoca una disminución de la elasticidad del hueso y un retardo de la consolidación.

3.4.6. FACTORES CIRCADIANOS

Se ha demostrado que la calidad de la consolidación depende también de la localización de la fractura en la nictámera, por ejemplo, en la rata la fractura consolida más rápido si ésta se produce de día, y sobre todo hay un aumento del crecimiento óseo. Esto no ocurre en la rata hipofisectomizada, por lo que cabe pensar en la dependencia de la tasa de GH circulante en el momento de la fractura, ya que ésta varía en el curso de la nictámera (105).

4.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La aceleración del periodo de consolidación de las fracturas de extremidades en pacientes que presentan de forma simultánea un T.C.E., se puede englobar dentro del fenómeno hiperosteogénico calificado por Benassy como OSTEOGÉNESIS NEURÓGENA (09).

La osteogénesis neurógena incluye dos tipos de procesos:

1. La formación de osteomas o para-osteo-artropatías (POA), y
2. La consolidación acelerada de fracturas; y que aparecen principalmente en dos condiciones: lesiones medulares y lesiones encefálicas.

Los primeros datos de dicho fenómeno denominado con posterioridad osteogénesis neurógena datan de 1863, cuando Charcot (29) estudia las afecciones articulares tras lesiones cerebrales o de médula espinal, e individualiza las artropatías tabéticas; pero son Mme. Dejerine, Ceillier y Mlle. Dejerine (34) en 1919 quienes identifican el fenómeno como tal, denominándolo PARA-OSTEO-ARTROPATIAS (POA) y lo describen mediante una tríada:

- enormes osificaciones para-articulares,
- decalcificaciones de los segmentos metafisarios e
- integridad de las articulaciones.

Con posterioridad se han dedicado diferentes trabajos al estudio de este fenómeno, si bien la bibliografía no es muy amplia y la mayoría de ellos se polarizan en el estudio de los osteomas o POA, entre otros, Coste 1957 (26), Benassy 1960 (07), Acquaviva 1961 (01), Damanski 1961 (31), Vigoroux 1964 (120), Roig E. 1971 (103), Decoulx 1972 (33), Tempe 1973 (117).

Generalmente se acepta en Traumatología que las fracturas de huesos largos, cuando se asocian a T.C.E., con frecuencia consolidan en un periodo de tiempo inferior al normal y con una excesiva presencia de callo. La escasez de trabajos que estudian el fenómeno suelen presentar disparidad de criterios, se basan en pequeñas series de pacientes tratados con técnicas diferentes y nunca sobre adecuados grupos control, por lo que existen ciertas reticencias a afirmar categóricamente dicho fenómeno.

La mayoría de trabajos, lo confirman, Benassy 1963 (08), Calandriello 1964 (21), Campanacci 1964 (22), Jastrzcabski 1977 (69), Heuwinkel 1978 (67), Heuwinkel 1979 (68), Newman 1987 (86), pero son estudios retrospectivos sobre series cortas de pacientes. Algunos de ellos apuestan incluso por la etiopatogenia del proceso como Benassy (08), (09), (10) y Jastrzcabski (69) que lo justifican como consecuencia de las importantes alteraciones en la oxigenación tisular debido a cambios neurovegetativos, o Newman (86) que apunta a un mecanismo metabólico.

Algunos trabajos como los de Helm 1965 (64), Glenn 1973 (55) y Okhotsky y Klopov 1977 (89), observan el fenómeno pero se centran en el estudio terapéutico de las fracturas en este tipo de pacientes especiales, por su gravedad, por los trastornos hemodinámicos que presentan, por la dificultad de sus cuidados en las unidades de enfermería y por las graves secuelas que suelen aparecer.

Greco y De Palma 1977 (58) constatan el fenómeno y confirman con su serie las observaciones de Knoch 1973 (73), observando una aceleración en el tiempo de consolidación de la fractura del 30% y responsabilizan a los cambios circulatorios y a la alcalosis metabólica que tiene lugar en estos pacientes.

Resulta de interés comparar estas series anteriores con los trabajos de Garland y Toder 1980 (48) realizados sobre fracturas de tibia, Garland y Rothi 1982 (49) sobre fracturas de fémur, de codo Garland y O'Hollaren 1982 (50), y de antebrazo Garland y Dowling 1983 (51), donde establecen que la unión de la fractura se realiza en estos individuos con la misma velocidad y frecuencia que lo hace en la población sin traumatismos craneales; sin embargo estas series carecen de grupos control y no

cuantifican la formación de callo. No obstante es de destacar que en un artículo posterior, Garland 1992 (53) admite, que sólo las fracturas de fémur tratadas quirúrgicamente y asociadas a T.C.E. consolidan con una mayor formación de callo como consecuencia de la osificación heterotópica que se produce al lesionar las partes blandas en la propia intervención.

Como hemos comentado, los estudios clínicos realizados no son amplios, están formados por series no controladas, no ofrecen conclusiones o bien no evidencian una unión acelerada. Existen tres trabajos recientes donde se clarifica un poco más este fenómeno hiperosteogénico. Perkins y Skirving 1987 (97) calculan el volumen de callo radiográfico en fracturas de fémur, encontrándolo significativamente mayor y con un promedio de tiempo de unión inferior a cuatro semanas (12 sobre 16) en aquellos pacientes que presentaban al mismo tiempo un traumatismo craneal. Spencer 1987 (112) calcula también el volumen de callo radiográfico y observa una mayor respuesta de consolidación en aquellos pacientes en los que el traumatismo craneal era mas severo, realizando al mismo tiempo un análisis histológico de los callos de fractura. Sin embargo es Bidner y col. 1990 (14) quien evidencia un mecanismo humoral que intensifica la osteogénesis en aquellos pacientes que presentan una lesión craneal.

En el terreno experimental sólo tres trabajos hacen referencia de alguna manera al fenómeno, pero mientras Herold 1970 (66) lesionando zonas del cerebro en cerdos de ginea encuentra un mayor callo de fractura, Rapaport 1967 (98) obtiene resultados contrarios. Spencer 1990 (113) refiere en su experiencia que el fenómeno está relacionado con la espasticidad.

CLÍNICAMENTE la consolidación acelerada de fracturas de extremidades parece tener una evolución similar tanto en pacientes afectos de lesiones medulares traumáticas, Benassy y Mazabraud 1963 (08), Freehafer 1965 (39), Roig Escofet 1971 (103), Subbarao 1990 (116), como en pacientes que han sufrido un traumatismo cráneo-encefálico.

Nuestra experiencia clínica suele coincidir con la mayoría de los trabajos publicados, objetivándose en un porcentaje importante de estos pacientes, callos hipertróficos y disminución en el periodo de consolidación de las fracturas que presentan, independientemente de las diferentes técnicas terapéuticas aplicadas -cruentas e incruentas-, a pesar del desplazamiento considerable de los fragmentos, de imágenes radiológicas que suscitan la interposición de masas musculares y de las circunstancias tan desfavorables que acompañan a dichos enfermos -excitación psicomotriz, situaciones de extrema gravedad con compromiso cardio-respiratorio o inestabilidad hemodinámica- que dificultan la aplicación de las diferentes medidas terapéuticas.

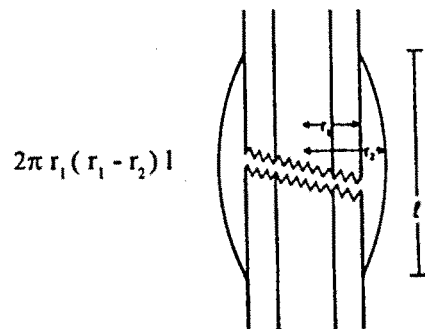
Este fenómeno hiperosteogénico aparece con mayor frecuencia en los traumatismos de localización frontal, independientemente del periodo de duración del estado comatoso; tal circunstancia está directamente relacionada con el hecho de que la causa más común de este tipo de lesiones corresponde a los accidentes de tráfico, con una mayor incidencia de los traumatismos frontales en este tipo de mecanismo lesional. Todos los autores hablan de TCE graves, con frecuencia de localización frontal y donde se produce un estado de coma de mayor o menor duración. Acquaviva 1961 (01) observa que en los EEG practicados a los pacientes estudiados, se objetivan signos de sufrimiento cerebral fronto central y con frecuencia signos de irritación de la base, y en las evaluaciones tardías de estos pacientes se observaba a través de arteriografías cerebrales o neumocencefalografías, atroñas más o menos importantes de los lóbulos frontales con dilatación ventricular moderada. Benassy 1963, 1966 (08), (09) presenta series en las que el 90% de los pacientes presentan TCE de localización frontal y la mayoría graves, con comas prolongados; así mismo afirma junto con Lelievre 1970 (10) que la cirugía del lóbulo frontal es fértil en la producción de osteomas. Weisz 1969 (121), en su estudio sobre la formación de callo en los síndromes de embolismo graso, no encuentra relación entre la gravedad del daño cerebral y la rapidez de consolidación. Spencer 1987 (112) y Perkins 1987 (97), tampoco encuentran correlación entre la respuesta curativa y el tiempo de restablecimiento del nivel neurológico o con el grado de coma a la admisión. Sin embargo Reichelt 1967 (99) refiere una aceleración en la formación del callo a medida que aumenta la gravedad del traumatismo.

Así mismo, dicho proceso parece presentar una práctica exclusividad por el segmento proximal de las extremidades, no objetivándose nunca en el segmento distal. Nosotros no hemos podido constatar el fenómeno a nivel del tercio distal de pierna, tobillo y pie y tampoco en tercio distal de antebrazo muñeca y mano, habiendo objetivado el caso de un paciente con fractura de fémur y tibia homolateral, donde el fémur consolidó de forma precoz mientras la tibia presentó retardo de consolidación; un caso similar es referido en la serie de Acquaviva 1961 (01). La mayoría de los trabajos existentes hacen referencia a las fracturas de fémur, objetivando el fenómeno a dicho nivel; en las series que estudian fracturas de diferentes huesos largos confirmando también el fenómeno, como es el caso de Spencer 1987 (112), no hacen referencia a la localización de las fracturas de tibia; Newman 1987 (86), introduce en su estudio alguna fractura de tibia, pero son todas ellas de localización proximal o de tercio medio-proximal. Campanacci 1968 (22), afirma en su serie no haber observado nunca una clara hiperplasia del callo en fracturas de tibia y antebrazo. Benassy, en sus estudios sobre la osteogénesis neurógena, 1960, 1963, 1966 (07), (08), (09), afirma que el fenómeno se produce con exclusividad a nivel de los dos tercios proximales de los miembros, respetando el tercio distal, e insiste en que las fracturas de tercio distal de tibia y de la muñeca no se acompañan nunca de ningún fenómeno hiperosteogénico, y refiere el caso de un paciente con fractura bifocal de tibia, donde el foco proximal consolidó antes de tiempo mientras el foco distal evolucionó hacia la pseudoartrosis. Junto a Lelievre en 1970 (10) establecen que el hecho más importante a dilucidar es la impunidad de los tejidos distales de los miembros, relacionándolo con las disposiciones particulares del sistema venoso intraóseo y utilizan la tesis de De La Caffiniere (35) sobre la red venosa de la rodilla y los trabajos de Galibert (47) sobre el estudio angiográfico de los miembros inferiores en los diferentes estadios evolutivos de una paraplejia, para explicar dicha impunidad: "el respeto de las regiones distales nos parece debido a las disposiciones especiales del sistema venoso de estos segmentos que drenan directamente en el sistema venoso superficial, oponiéndose de esta manera a los segmentos proximales que solo drenan a la red profunda, en suma la imagen radiológica del fenómeno es un calco de los sistemas venosos profundos".

RADIOLÓGICAMENTE es característica la formación de un callo de fractura sólido y voluminoso, de aspecto irregular y extremadamente anárquico. A nivel femoral el callo suele objetivarse a partir de la 2ª - 3ª semana, consolidando la fractura con una disminución en el periodo de tiempo del 30%, Von Knoch 1973 (73), Greco y De Palma 1977 (58).

Dos autores diferentes han utilizado sendas fórmulas para demostrar el fenómeno cuantificando el callo radiológico.

Perkins y Skirving 1987 (97), utilizan la siguiente fórmula y aproximan la forma del callo a un cilindro, lo cual no es estrictamente correcto, pero proporciona una estimación cuantificable del volumen del callo producido.



donde r_1 es el radio del hueso, r_2 el radio del hueso más el callo y l es la longitud del callo.

Spencer 1987 (112), calcula la respuesta de la curación de fracturas a través de un método aproximativo muy simple, teniendo en cuenta que normalmente la masa es fusiforme, irregular y excéntrica.

Respuesta de la curación de fracturas: A / B



Se realiza el estudio radiográfico a 90°, donde A es el diámetro más largo de la masa formada y B el diámetro del hueso adyacente al lugar de la fractura.

ANALÍTICAMENTE diferentes trabajos y entre ellos Benassy 1966 (09), comprueban el aumento de la presión de O_2 en la sangre venosa de estos pacientes, y observa también alteraciones de la pCO_2 , PH y reserva alcalina, apuntando que la arterialización de la sangre venosa es uno de los motivos que justifican el proceso patogénicamente.

Greco 1977 (58) y Newman 1987 (86) observan también aumento del PH, derivando en una situación de alcalosis metabólica que presentan estos individuos.

Furman y col. 1970 (46), y Benassy y Combelles 1971 (11), demuestran la asociación del fenómeno hiperosteogénico con la elevación de las fosfatasas alcalinas, confirmando las observaciones de Mead y col. 1963 (81), apuntando que la elevación de este valor analítico está proporcionalmente relacionado con la evolución de los osteomas.

Existe una elevación de la hidroxiprolina en orina, como reflejo del aumento de la actividad metabólica del tejido conjuntivo, Benassy y Combelles 1971 (11).

No se objetivan en dicho fenómeno, alteraciones de los valores hemáticos de Ca, P, Na, K y Cl, Benassy 1960 (07), Heuwinkel 1978 (67). Sin embargo Greco y De Palma 1977 (58), observan en contra de los hallazgos de Campanacci y Vellani 1968 (22), hipopotasemia e hipocalcemia durante la primera semana, normalizándose posteriormente; no obstante comentan que el volumen de pacientes es escaso por lo que el estudio no es significativo.

ANATOPATOLÓGICAMENTE sólo algunos trabajos hacen referencia a esta parcela del estudio, y se centran en el análisis de los osteomas (01), (61), (08).

Macroscópicamente, éstos, son formaciones óseas irregulares que aparecen a la altura de las metáfisis y no tienen relación con ninguna forma de miosistis osificante; se sitúan fuera de las articulaciones, encontrándose intactos la sinovial y el cartílago articular.

Microscópicamente, Mazabraud 1963 (08), no ha observado en ninguno de estos osteomas osificación precedida de condrogénesis, recordando el proceso osteogénico de la osteocondromatosis o de las exóstosis; se trata pues de una osificación metaplásica a partir del tejido conectivo denso, convirtiéndose en poco tiempo en hueso esponjoso maduro. Sin embargo Acquaviva 1961 (01) y Hardy 1963 (61) han advertido en sus observaciones la presencia en ocasiones de islotes de tejido cartilaginoso.

De toda la bibliografía consultada, sólo Spencer 1987 (112), afronta anatomopatológicamente el fenómeno de la aceleración en la consolidación de fracturas en estos individuos, realizando un estudio histológico de la masa formada, observando que el material es tejido óseo que tiende a ser maduro en su periferia, y concluye diciendo que "el término callo, en este tipo de pacientes, probablemente no sea el más apropiado".

ETIOPATOGENICAMENTE el fenómeno permanece indemostrado y nos movemos todavía en el terreno de las hipótesis.

Además este proceso no parece ser patrimonio exclusivo de los TCE y de las lesiones medulares traumáticas, pues se ha podido observar también en algunos casos de intervenciones neuroquirúrgicas, patología encefálica de etiología vascular, síndrome de embolismo cerebral graso, situaciones de hipoxia e hipercapnia en accidentes anestésicos o graves trastornos respiratorios e incluso en pacientes psiquiátricos con graves trastornos del carácter o de tipo esquizofrénico, Benassy 1963 (08), Weizz 1969 (121), Benassy y Lelievre 1970 (10).

- Teorías que relacionan el proceso con la miositis osificante deben ser rechazadas por las constataciones operatorias y anatomopatológicas, los osteomas aparecen a nivel de los intersticios musculares, no afectando a sus fibras.

- El papel de la infección en la aparición de los osteomas, defendido por Damansky 1961 (31), es igualmente rechazado.

- La mayoría de estos pacientes presentan una situación de inactividad muscular postraumática debida al propio TCE o inducida farmacológicamente, por lo que Armstrong-Rissy y col. 1957 (02), sugirieron que la disminución de la presión parcial de dióxido de carbono provocado por la disminución del metabolismo del músculo paralizado o en reposo, podría producir una alcalosis favorecedora del depósito de las sales de calcio y fosfato. De todas maneras esta hipótesis no puede explicar todos los casos pues hay pacientes con excitabilidad manifiesta en los que la falta de reposo fue notable.

- Benassy y sus col. (09) confirmando la experiencia centenaria de Claude-Bernard 1859 (09), ponen en evidencia en este tipo de pacientes que las cifras de PH, reserva alcalina, pO_2 y pCO_2 son prácticamente idénticas en la sangre arterial y la sangre venosa del territorio correspondiente. Defienden la hipótesis, de que tras el TCE o traumatismo medular se produce la lesión de los centros del sistema simpático, provocando la apertura de los shunts arterio venosos -canales anastomóticos de Sucquet Hoyer-, adquiriendo la sangre venosa las características de la sangre arterial. La variación del PH de la sangre venosa anormal, permite arrastrar elementos fosfo-cálcicos de las metafisis dando lugar a la salida de un aluvión fosfo cálcico, para depositarse alrededor de las articulaciones o en el foco de fractura.

- Muchos pacientes con TCE graves son susceptibles de hiperventilación asistida que contribuye a la producción de una alcalosis, otros que respiran espontáneamente hiperventilan, dando lugar también a una situación de alcalosis metabólica. Sabemos que alteraciones mínimas del PH son capaces de alterar la cinética de la precipitación de sales de calcio y fosfato, Boulet y Marier 1961 (18); por lo que Newman y col. 1987 (86), sugieren que la alcalosis debida a la hiperventilación traumática o yatrogénica influya modificando el PH de la zona de fractura hacia la alcalinidad, acelerándose el depósito de sales fosfo-cálcicas en el hueso y basa esta hipótesis en la constatación de la alcalosis arterial que presentan los pacientes estudiados en su serie.

- Greco y De Palma 1977 (58), son reticentes a apoyar la hipótesis de la osteogénesis neurógena de Benassy (08) y sostienen que dicha osteogénesis es la

resultante del trastorno metabólico sistémico secundario a una primera lesión encefálica, pero que se desencadena independientemente de ésta; para lo cual sostienen que en este tipo de pacientes con un grave TCE, se produce un trastorno metabólico central con láctico-acidosis del líquido cefalorraquídeo que es el origen de una hiperventilación pulmonar (75) y de una alcalosis metabólica (82); esta alcalosis metabólica determina una hipoxia tisular provocando la apertura de los shunts arterio-venosos modificando la curva de disociación oxígeno-metabólica (77) que favorece la precipitación de sales de calcio (37) y habiéndose demostrado también experimentalmente que el ambiente alcalino favorece la aceleración del proceso de reparación de fracturas (102).

- En este tipo de pacientes la lesión encefálica provoca una serie de cambios metabólicos que podrían ser explicados parcialmente por las actividades alteradas de hormonas cuya liberación es controlada por la pituitaria (32). Haas en 1970 (59), sugirió que la respuesta hipertrófica del hueso podría ser debida a una elevación postraumática de los niveles de somatotropina, hipótesis poco probable, pues se han descrito incrementos de esta hormona en otras patologías que no se asocian con alteraciones en la fisiología del hueso (67).

- Gómez Palacios en 1979 (56), apunta la posibilidad de que el hipotálamo puede ser estimulado por impulsos de diversa índole y en virtud de sus conexiones con los centros nerviosos integradores del nivel cortical, provocan la respuesta ante la agresión, interesando especialmente la vía que desde los núcleos de nivel mesencefálico -núcleo de Gudden particularmente- sigue por el haz de Shutz hasta los últimos eslabones vegetativos de la médula y aquella que vuelve a conectar con el hipotálamo para provocar la liberación de factores actuantes sobre la hipófisis; explicando de esta manera la hipótesis de Benassy y Jastrzebsky (08), (69) donde el fenómeno hiperosteogénico que se produce en pacientes con lesión cerebral se debe a cambios neurovegetativos, pudiendo justificar idénticos hallazgos tras lesiones nerviosa a otros niveles por interrupción de las vías señaladas.

- Smith 1987 (110), comentando los trabajos de Spencer (112) y Perkins (97), sugiere la posibilidad de que si la reparación de fracturas normales depende

probablemente de los osteoblastos presentes ya en el foco de fractura, la osificación heterotópica y probablemente el excesivo callo sea consecuencia de la adición de células mesenquimatosas en la formación osteogénica, para lo cual se necesitan inductores de células osteoprogenitoras.

- Un trabajo reciente, Bidner 1990 (14), intenta abrir una luz en este oscuro campo de las hipótesis en que se encuentra inmerso este fenómeno y demuestran el incremento de factores humorales de crecimiento con actividad para las células de fenotipo osteoblástico en el suero de pacientes con lesión craneal; las muestras de suero extraídas de los grupos de pacientes con lesión cerebral, presentaban mayor actividad mitogénica y producían mayor aumento del número de células con capacidad osteogénica que las muestras pertenecientes a los grupos control sin lesión cerebral. Permanece por resolver si los efectos promotores del crecimiento celular son efectos directos de un factor mitogénico circulante, o bien efectos indirectos debidos a un factor que tendría por diana las células óseas y las induciría a la liberación de un factor de crecimiento, ocurriendo el proceso localmente. También la actividad pudiera ser estimulada directamente por el tejido cerebral al asociarse el traumatismo con una disrupción a nivel de la barrera hematoencefálica. Por otra parte la estimulación podría producirse en zonas periféricas vía neural, o bien simplemente que tejidos dañados próximos a órganos adyacentes, como la hipófisis en el cerebro, fuesen responsables de la estimulación.

CAPÍTULO II

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Y OBJETIVOS

1.- HIPÓTESIS DE TRABAJO

Este trabajo experimental trata de poner de manifiesto, la posible influencia entre los traumatismos cráneo-encefálicos y la consolidación del hueso fracturado; basado en la observación clínica de que determinadas fracturas de huesos proximales de extremidades, asociadas a traumatismos cráneo-encefálicos, presentan disminución de su periodo de consolidación.

2.- OBJETIVOS

- 2.1. Conocer la supervivencia de la rata macho Sprage Dawley frente a una lesión encefálica del lóbulo frontal y fractura de fémur en ambas extremidades posteriores.
- 2.2. Estudiar la relación entre la lesión encefálica frontal y la consolidación de fracturas de fémur, en el mismo animal.
- 2.3. Si se demuestra ésta relación, determinar las posibles influencias en los diferentes tejidos del callo: óseo, fibroso y cartilaginoso.
- 2.4. Establecer la incidencia que la lesión encefálica pueda tener sobre la mineralización del callo fracturario.
- 2.5. Observar si existe correspondencia, ipsolateral, heterolateral o bilateral, tras la lesión del lóbulo frontal izquierdo.

CAPÍTULO III
MATERIAL Y MÉTODO

1.- MATERIAL

1.1. ANIMAL DE EXPERIMENTACIÓN

Rata SPRAGE DAWLEY, Rj:SD, de sexo macho y de 350-375 gr. de peso.

DESCRIPCIÓN: Rata albina de crecimiento rápido, fácil de manipular y utilizada en prácticamente todas las disciplinas de la investigación biomédica.

DATOS ZOOTÉCNICOS: sobre la colonia primaria

Edad de acoplamiento:	10 semanas.
Tipo de acoplamiento:	monogamia permanente.
Número de pequeños nacidos por parto:	10,3.
Número de supervivientes por parto:	10.
Intervalo medio entre partos:	31 días.
Índice de productividad:	1,8.
Esterilidad:	2,6%.

HÁBITAT Y NUTRICIÓN: Animalario en jaulas de dos elementos y alimentadas con pienso LETICA, DIETA IPM R20 de mantenimiento.

1.2. QUIRÓFANO EXPERIMENTAL

A. Material de Anestesia

B. Instrumental Quirúrgico (*Fig. 8*)

- de corte
- de hemostasia y separación
- de corte y remodelación ósea
- de osteosíntesis
- de sutura

C. Motor eléctrico

- Maxicraft 50100. 12-18 volt. 2 Amp., 18.000 TU/m.
- Transformador Maxicraft 50600. 200 v., 50-60 Hz.

D. Aparataje de ampliación de imagen

- microscopio quirúrgico

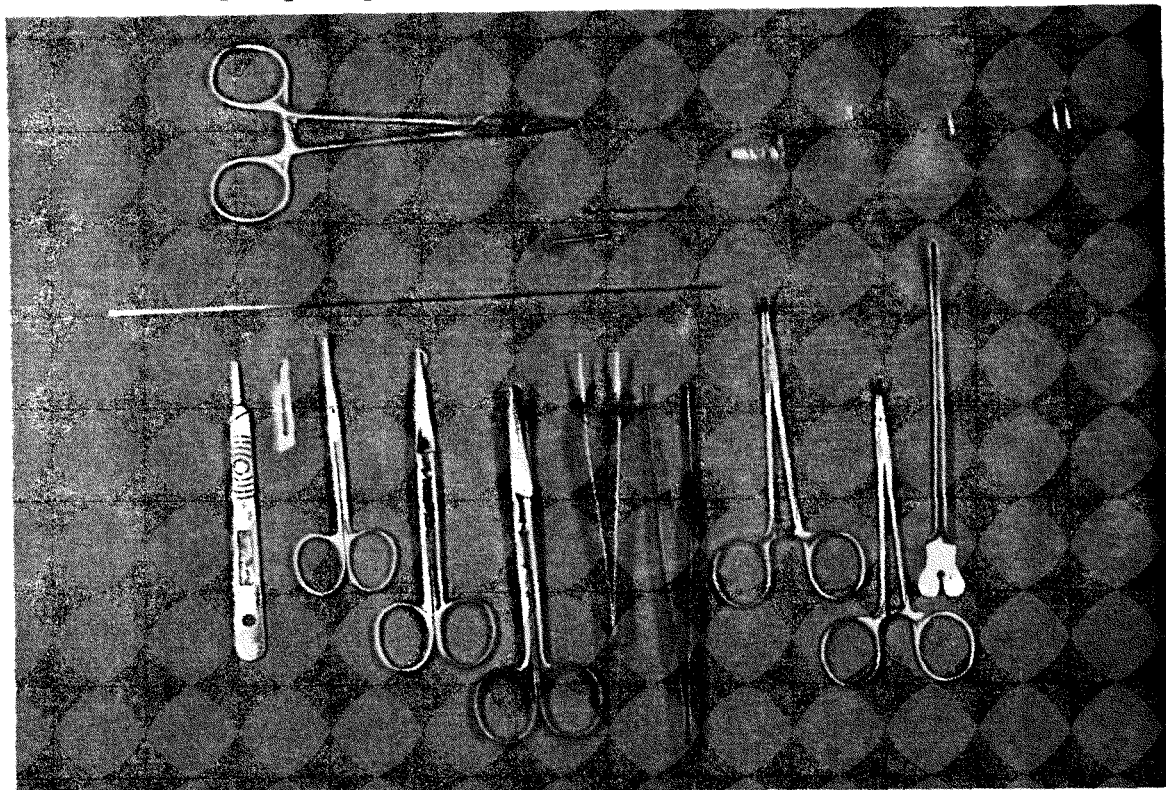


Fig. 8.- Instrumental quirúrgico.

1.3. LABORATORIO DE HISTOLOGÍA

- Material para técnicas de fijación, decalcificación ósea y deshidratación.
- Material para técnicas de inclusión en parafina y cortes con microtomo Reichert-Jung
- Material de técnicas de tinción para microscopía óptica.
- Técnicas de lectura: las observaciones de microscopía óptica se han realizado con un microscopio Leitz Dialux 20 EB; los objetivos utilizados han sido Leitz Fluotar de 04/0,10; 10/0,25; 40/0,65 y 100/1,25 aumentos/obertura numérica -el último de inmersión en aceite-.
- Material fotográfico: aparato Wild MP S45 acoplado al microscopio Leitz. Para las fotografías de las preparaciones se ha utilizado película Perutz Chrome 100 ASA, las copias de papel se han obtenido por sistema directo de Ciba -Cibachrome-
- Técnicas de histomorfometría: equipo MOP-Vidoplan -Kontron- con software

1.4. UNIDAD DE RADIOLOGÍA

- Mamógrafo Senographe 500 T. Senix H.F., General Electric.
- Equipo de revelado CURIX 402, AGFA GEVAERT
- Película AGFA MAMORAY MR3 - II, 18x24 cm.

1.5. UNIDAD DENSITOMÉTRICA

- Equipo LUNAR modelo DPX - L voltaje: 76 Kv. intensidad: 150 mA.
- Software Small Animal V 1.0.
- Tamaño de celdilla: 0,3 x 0,3 mm.
Método de adquisición: Detalle, 40 x 60 mm. campo útil.

2.- MÉTODO

2.1. PROTOCOLIZACIÓN DE LAS SERIES DE INVESTIGACIÓN

El número de animales utilizados en el estudio ha sido de 74, divididos en dos series iguales de 37 animales cada una.

- En la 1ª serie: se practica lesión encefálica a nivel del lóbulo frontal izqdo., fractura de fémur a nivel de 1/3 medio en ambas extremidades posteriores y estabilización mediante osteosíntesis endomedular con aguja de Kirschner.

- En la 2ª serie: constituye el grupo control, se realiza exclusivamente una fractura de fémur a nivel de 1/3 medio en ambas extremidades posteriores, con fijación mediante osteosíntesis endomedular similar.

A las 4 semanas de practicarse las lesiones, se procede al sacrificio de los animales, obteniéndose las piezas a estudio.

De los 74 animales incluidos en el estudio:

- 60 animales -30 de cada serie- seguirán los protocolos de valoración de resultados:

a/ estudio macroscópico.

b/ estudio radiológico.

c/ estudio histológico e histomorfométrico.

- 14 animales -7 de cada serie- seguirán el protocolo de valoración tomodensitométrico.

2.2. MÉTODO DE INVESTIGACIÓN

2.2.1. PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS

2.2.1.1. PROTOCOLO DE ANESTESIA

Administración mediante inyección intraperitoneal, de HIDRATO DE CLORAL al 4,5% y en dosis de 1 cc./100 gr. de peso.

2.2.1.2. PROTOCOLO DE PREPARACIÓN

Se procede a la preparación del campo quirúrgico, mediante rasurado de la cabeza del animal y ambas extremidades posteriores. Desinfección de la piel con betadine.

2.2.1.3. LESIÓN ENCEFÁLICA

Siguiendo los trabajos de Fernandez (38), se practica incisión cutánea longitudinal central, sobre bóveda craneal hasta plano óseo; localización del hueso frontal izqdo., realizándose de forma estandarizada, y en un punto equidistante a 2mm. de la sutura fronto-parietal y de la línea media, orificio de trepanación mediante broca de 1,5 mm. y motor eléctrico, penetrando de forma perpendicular hasta base de cráneo y en la localización representada en las figuras 9 y 10.

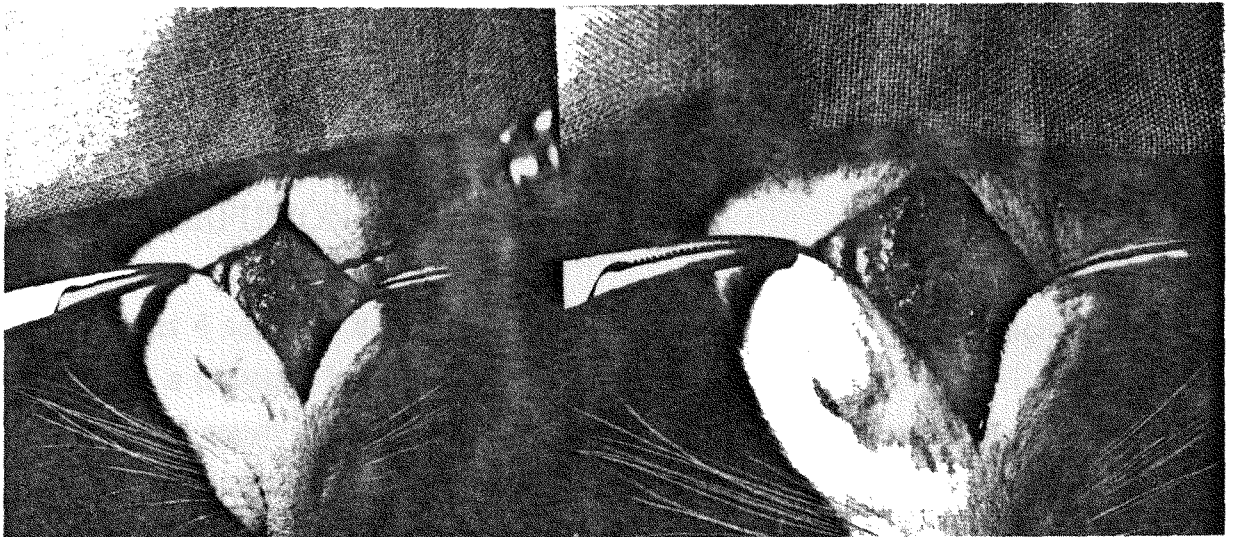
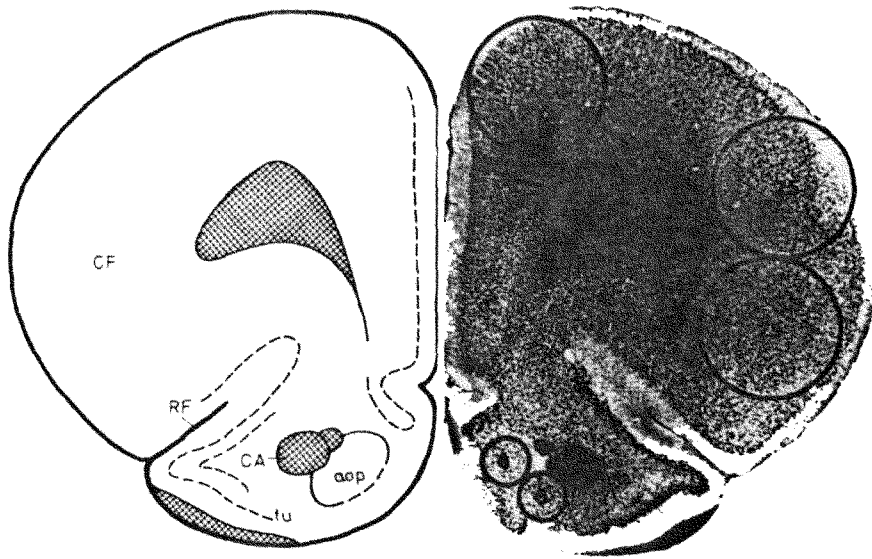
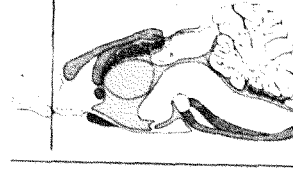
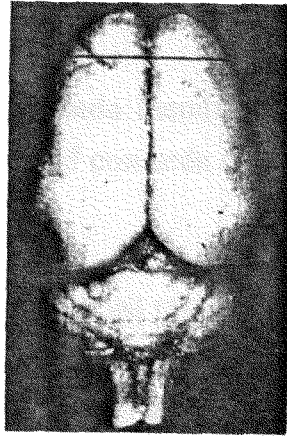


Fig. 9.- Mapa lesional.

Fig. 10.- Técnica de la lesión encefálica.

Lesionando: meninges, cortex frontal, lóbulo frontal izqdo. y tubérculo olfatorio. Sutura de piel con seda de 4/0 y aguja triangular. (*Fig. 9 y 10*).

2.2.1.4. LESIÓN DE EXTREMIDADES POSTERIORES

Se realiza la misma lesión en ambas extremidades posteriores.

Incisión longitudinal de piel, a nivel del muslo del animal y siguiendo la dirección del fémur. Disección por planos hasta hueso femoral, con abordaje entre músculo glúteo superficial y músculo bíceps femoral en el plano superficial, y entre el vasto lateral y adductor magnus en el profundo.

Realizamos osteotomía femoral a nivel del 1/3 medio, mediante sierra eléctrica y de forma estandarizada en todos los animales; procediéndose posteriormente a practicar una osteosíntesis endomedular, para lo cual seccionamos la inserción rotuliana del vasto lateral, desplazamos rótula y practicamos perforación a nivel de la escotadura intercondilea con broca de 1,5 mm., introduciendo por el orificio realizado una aguja de Kirschner de 1,2 mm. enhebrando los dos fragmentos femorales, doblamos la aguja a nivel de los dos extremos del fémur, recortando el segmento sobrante. (*Fig. 11*).

Cierre por planos, reinsertando el vasto lateral en la rótula y suturando la aponeurosis muscular superficial con daxon de 4/0 y sutura cutánea con seda de 4/0 y aguja triangular.

2.2.1.5. PERFUSIÓN INTRACARDÍACA

A las 4 semanas de practicar las lesiones, procedemos al sacrificio de los animales, a través de la siguiente técnica:

Previa anestesia, con idea de conseguir una buena preservación de los tejidos a estudiar, se introduce un cateter en el ventrículo izqdo. del corazón conectado a un equipo de perfusión y seccionando seguidamente la aurícula dcha; ésto permite el paso de líquido a través del sistema de la circulación mayor. Los animales se perfunden previamente con 200 ml. de suero fisiológico para eliminar la sangre del árbol circulatorio, antes de la utilización del fijador: 250 ml. de paraformol al 4%.



Fig. 11.- Técnica de la lesión femoral.
1. Incisión; 2. Disección del fémur; 3. Osteotomía diafisaria a nivel del tercio medio femoral; 4. Lesión femoral; 5. Perforación intercondilia; 6. Osteosíntesis endomedular.

2.2.1.6. OBTENCIÓN DE LAS PIEZAS

Tras la perfusión de los tejidos con la solución de fijación se procede a la disección y extracción de las piezas motivo del estudio -encéfalo y ambos fémures- y se mantienen en la misma solución de fijación

2.2.2. PROCEDIMIENTO RADIOLÓGICO

Se practican mamografías en dos proyecciones de los diferentes fémures, con la intención de aumentar la calidad radiológica del callo de fractura, con mamógrafo senographe 500 T, SENIX H.F. y con las siguientes características: 36 Kv. 5 M As. Dispositivo de ampliación, colocando la pieza motivo del estudio a 30 cm. de la placa, consiguiendo un aumento del 200/100.

Revelado automático con equipo CURIX 402 de AGFA GEVAERT.

2.2.3. PROCEDIMIENTO HISTOLÓGICO

-El fémur seguirá el siguiente proceso histológico: dcalcificación, deshidratación, inclusión en parafina, cortes con microtomo, obtención de las secciones en portas y tinción de las mismas en hematoxilina-eosina.

-El encéfalo: deshidratación, inclusión en parafina, cortes con microtomo, obtención de las secciones en portas y tinción con violeta de cresil.

2.2.3.1. DECALCIFICACIÓN

Mantenemos el fémur en una solución de ac. nítrico al 6%, durante 4 semanas.

Retiramos posteriormente la aguja de Kirschner y procedemos al lavado de la pieza con agua corriente.

2.2.3.2. DESHIDRATACIÓN

Con el siguiente protocolo de actuación:

	fémur	encéfalo
- alcohol 60°.....	1 h.	1 h.
- alcohol 80°.....	1 h.	1 h.
- alcohol 96° I.....	1 h.	1 h.
- alcohol 96° II.....	1 h.	1 h.
- alcohol 96° III.....	1 h.	1 h.
- alcohol 100° I.....	1 h.	1 h.
- alcohol 100° II.....	1 h.	1 h.
- alcohol 100° III.....	12 h.	1 h.
- Xilol I.....	1 h.	1 h.
- Xilol II.....	1 h.	1 h.
- Xilol III.....	4 h.	1 h.

2.2.3.3. INCLUSIÓN EN PARAFINA Y CORTES

Inmersión de las piezas en parafina I líquida durante 24 h. para el fémur y 6 h. para el encéfalo, y posterior inclusión en bloques de parafina II.

Realización de los cortes en microtomo Reichert - Jung a 5-7 μ .

2.2.3.4. TINCIONES PARA MICROSCOPIA ÓPTICA

A. HEMATOXILINA-EOSINA

- Preparación de los colorantes:

1. Hematoxilina de Harris

- Solución A: se mezclan 2,5 g. de hematoxilina en 25 ml. de etanol absoluto.
- Solución B: se disuelven en caliente 50 g. de sulfato aluminico potásico en 0,5 ml. de agua destilada.
- Se mezclan ambas soluciones en caliente y se añaden 1,25 g. de óxido de mercurio. Cuando la solución adquiere un color violado, se retira el recipiente del fuego y se sumerge en un baño con agua fría.
- Antes de utilizarla se añaden 2-4 ml. de ácido acético glacial por cada 100 ml. de solución.

2. Eosina alcohólica.

- Se prepara una solución de eosina madre que contiene 1 g. de eosina en 20 ml. de agua y se añaden 80 ml. de etanol 95%.
- Para la solución de trabajo, se mezclan una parte de eosina madre con tres partes de etanol 80%.
- Antes de ser utilizada se añaden 0.5 ml. de ácido acético glacial por cada 100 ml. de solución.

- Protocolo de tinción:

- Las secciones se desparafinan y se hidratan.
- Se introducen en una cubeta con hematoxilina 15-20 minutos.
- Se lavan con agua corriente para retirar el exceso de colorante.
- Posteriormente se diferencian con 1% de ácido clorhídrico alcohólico.

- Se lavan con agua corriente hasta que las secciones adquieren un color azul (10 minutos aproximadamente).
- Seguidamente se contrastan con eosina durante unos 30 segundos.
- Se deshidratan con alcoholes de graduación creciente (dos baños en etanol al 95% y dos baños en etanol al 100%).
- Las secciones se sumergen en xilol-fenol unos 5 minutos y después se bañan dos veces con xilol durante 5 minutos más.
- Finalmente, se sumergen en xilol-eucaliptol (1:1) durante 5 minutos.

B. VIOLETA DE CRESIL

- Preparación del colorante:

- Se mezcla en un recipiente 0,1 g. de violeta de cresil en 100 ml. de agua destilada y se filtra.
- Se calienta en estufa a 60°.
- Antes de ser utilizada, se añaden 5 gotas de ac. acético glacial por cada 100 ml. de solución.

- Protocolo de tinción:

- 3 baños de xilol, el 1º de 15 minutos y de 10 minutos los restantes.
- 3 baños de etanol al 100%, de 5 minutos cada uno.
- 2 baños de etanol al 95%, de 5 minutos cada uno.
- 1 baño de etanol al 60% de 5 minutos.
- 2 baños de agua destilada, de 5 m. cada uno.
- Se introducen durante 6 minutos en estufa a 60° y en una cubeta que contiene la tinción de violeta de cresil.
- 4 baños rápidos de etanol al 60%, de 20 segundos cada uno.
- 2 baños de etanol al 95%, de 20 segundos el 1º y 2 minutos el 2º.
- 2 baños de etanol al 100%, de 2 minutos el 1º y 5 minutos el 2º.
- 2 baños de xilol de 20 segundos el 1º y 10 minutos el 2º.

- 1 baño de xilol- eucaliptol (1:1), durante más de 5 minutos.
- el montaje de las preparaciones se ha realizado con DPX (BDH).

2.2.4. PROCEDIMIENTO TOMODENSITOMÉTRICO

El método se denomina Mineralometría Ósea Computarizada con Rayos-X (MOC) o Absorciometría Radiológica de Doble Energía, para los anglosajones DEXA -Dual Energy X-ray Absorciometry-.

Representa la evolución más reciente de los métodos densitométricos directos, basados en la medida de la atenuación de un haz de fotones por parte del hueso examinado (16), (91). Permite medir el contenido óseo mineral y la densidad del fémur examinado, de modo altamente estandarizado, gracias al empleo de procedimientos automáticos de análisis.

2.3. MÉTODO DE VALORACIÓN

2.3.1. ESTUDIO MACROSCÓPICO

1.- Una vez disecado el fémur, tras practicar la perfusión intracardiaca con la solución de fijación, procedemos a la valoración de la estabilidad en el foco de fractura y del volumen del callo mediante los siguientes parámetros: (*Fig. 12*)

- movilidad en el foco de fractura con puntuación, 0 ó 1, en dependencia de la existencia o no de movilidad.
- medición del diámetro más ancho en cm., con pie de rey.
- medición del perímetro máximo del callo en cm., tomando como punto de referencia el diámetro más ancho y realizado con pie de rey.

2.- Tras la disección del encéfalo, se constata macroscópicamente, la existencia o no de lesión cerebral a nivel del lóbulo frontal izqdo. (*Fig. 12*).

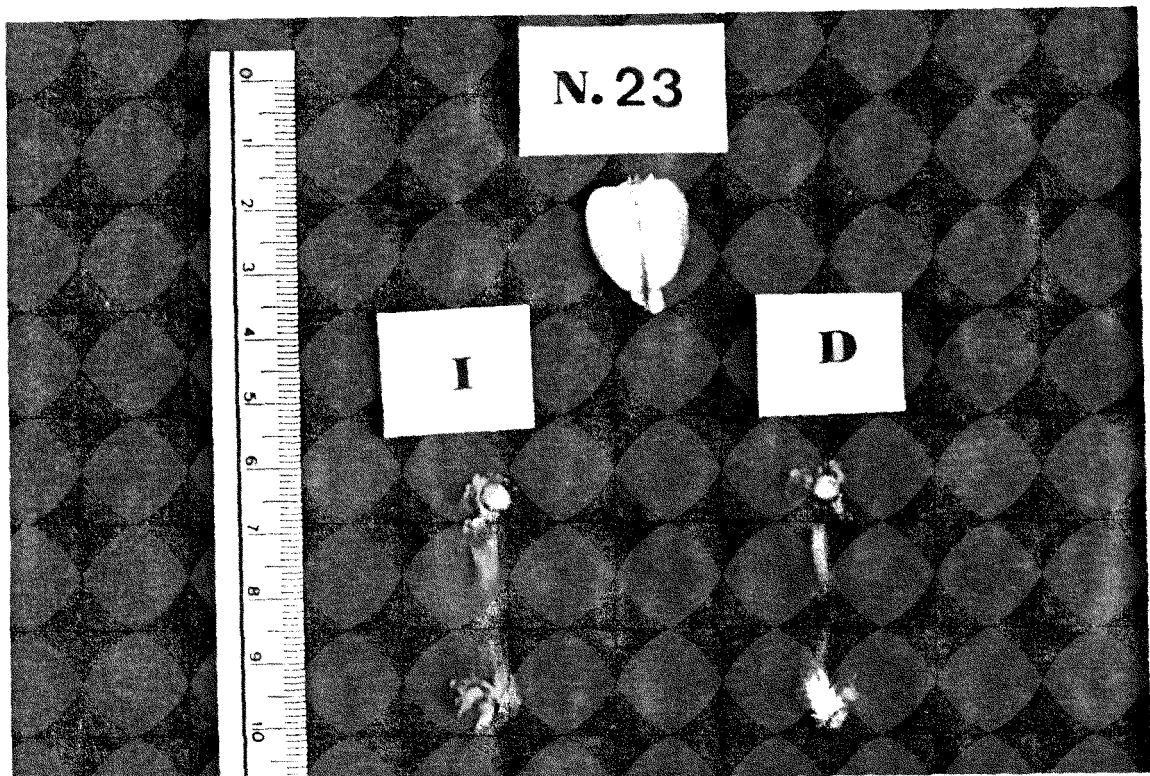


Fig. 12.- Estudio macroscópico.

2.3.2. ESTUDIO RADIOLÓGICO

Practicamos mamografías de cada fémur en dos proyecciones, frente y perfil. Colocamos las mamografías sobre el negatoscopio y realizamos una planigrafía del callo de fractura para cada proyección. Procesamos las planigrafías en un equipo MOP-Videoplan, analizando las imágenes mediante un programa software standar.

El parámetro obtenido corresponde a la suma de las áreas del callo de fractura en cada proyección, valorado en cm^2 . (*Fig. 13*).

2.3.3. ESTUDIO HISTOLÓGICO E HISTOMORFOMÉTRICO

1.- Una vez obtenido el material histológico de cada fémur, se procede a su estudio por microscopía óptica, realizando una planigrafía del callo de fractura y

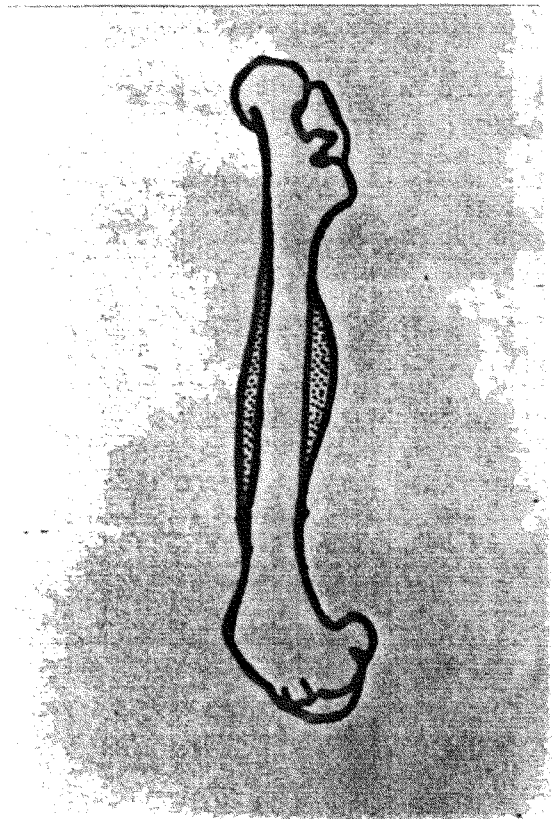
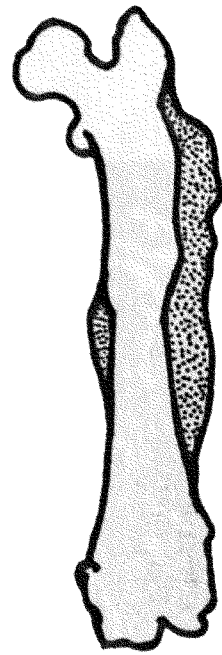
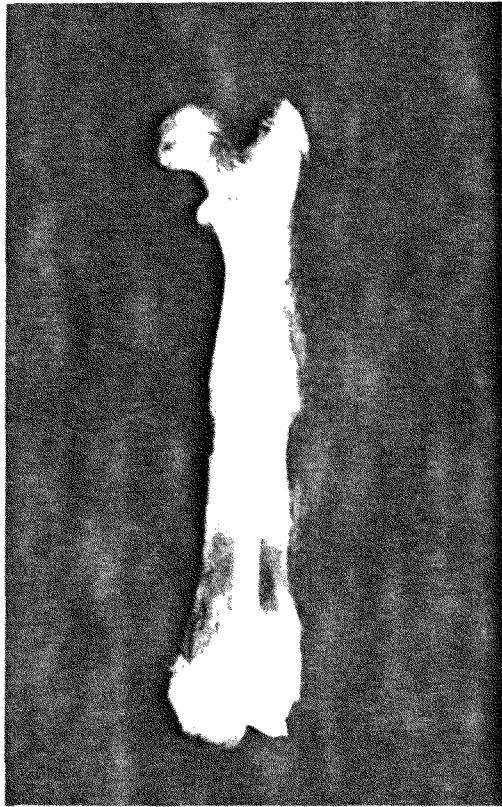


Fig. 13.- Estudio radiológico.
1. Mamografía.
2. Planigrafía tratada con equipo MOP-Videoplan
Fémur 40 I., área total del callo de fractura 3,641 cm²

- Callo perióstico, fémur 11 I.
Sección que corresponde a la 1/4 parte del callo perióstico de dicho fémur. El estudio morfométrico se ha realizado con equipo MOP-Videoplan, resultando un área total de 13,390 mm².

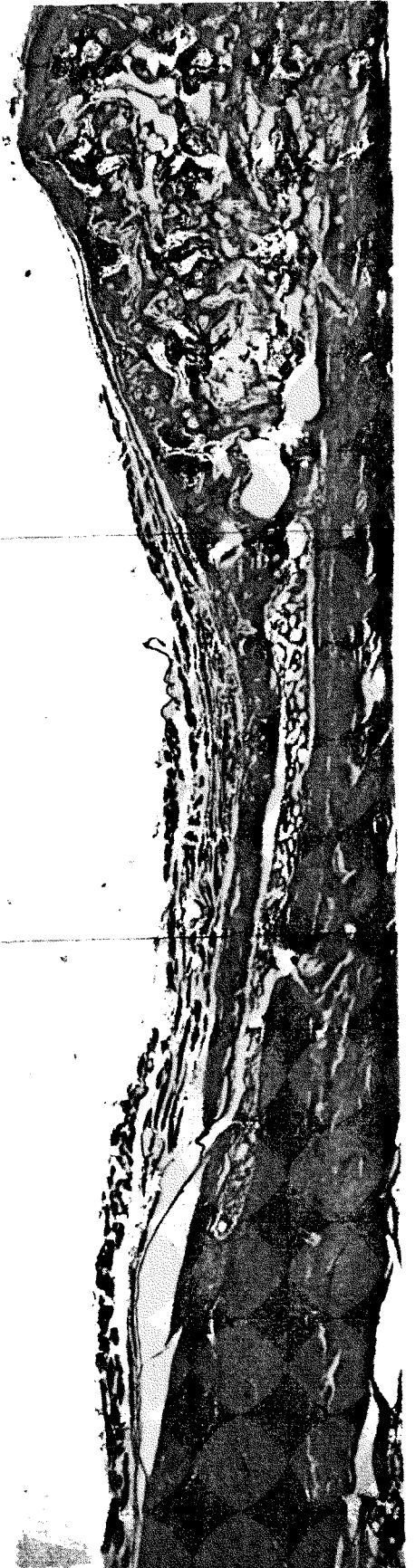


Fig. 14A.- Estudio histomorfométrico callo de fractura.

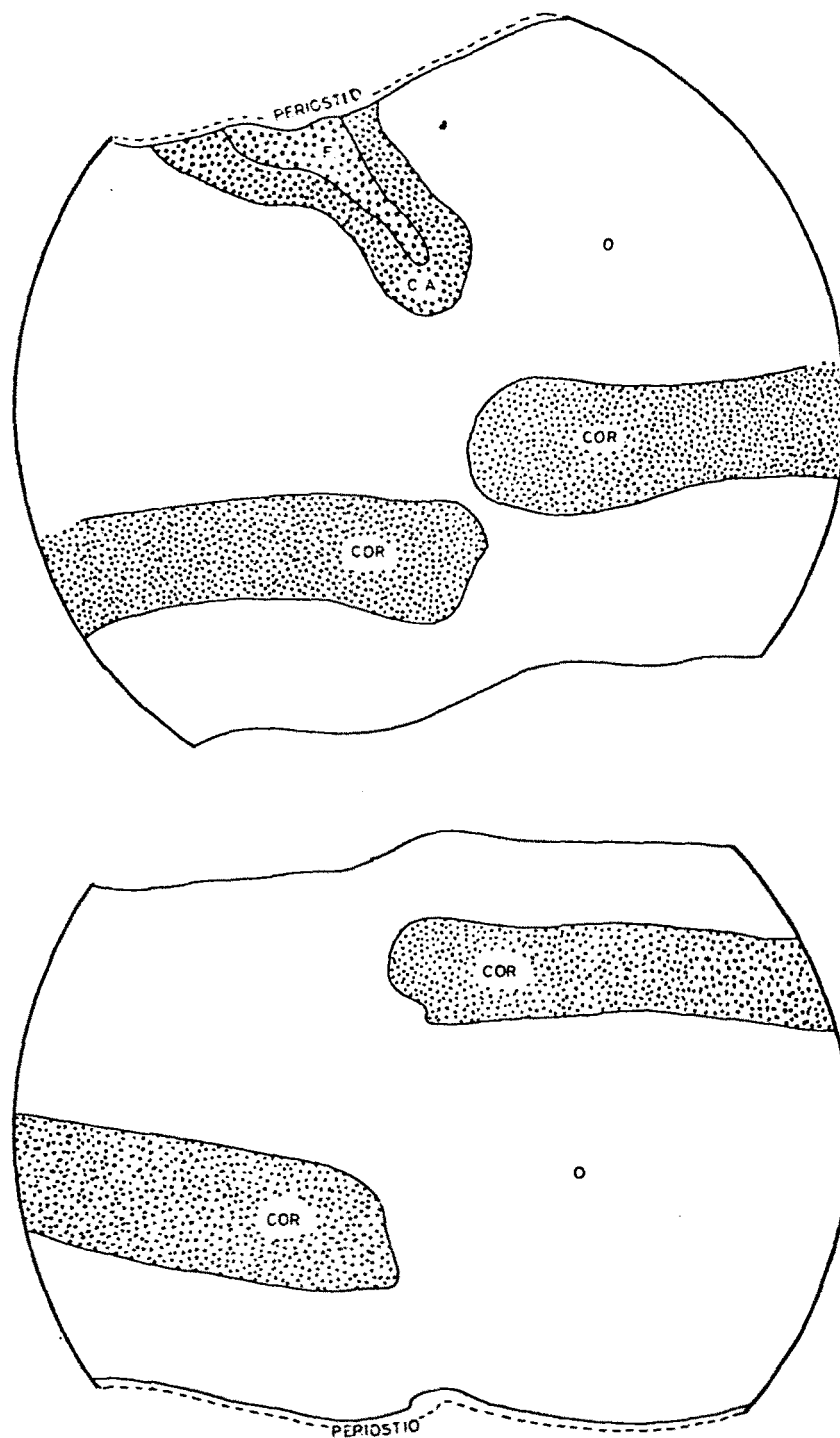


Fig. 14B.- Estudio histomorfométrico callo de fractura.

Planigrafía fémur 48 I

Área: tejido óseo	315.874 μ^2	————	94,5%
Área: tejido fibroso	6.038 μ^2	————	1,7%
Área: tejido cartilaginoso	13.152 μ^2	—	3,8%
Área total	334.074 μ^2	—————	100,0 %

diferenciando cualitativamente el área de ocupación de los diferentes tipos de tejido - fibroso, óseo y cartilaginoso -.

Los estudios morfométricos se han realizado en un MOP-Videoplan (Kontron) y para el procesamiento y análisis de las imágenes se ha aplicado un programa software standar. (Fig. 14).

Los parámetros estudiados han sido:

- Area total del callo perióstico en el corte de máximo diámetro en μ^2 .
- Porcentaje del área de ocupación para cada tipo de tejido en la misma sección.

2.- Estudio histológico del lóbulo frontal, objetivando o no, la zona lesional y confirmando la pérdida de sustancia y la destrucción de tejido neuronal. (Fig. 15).



Fig. 15.- Estudio histológico de la lesión encefálica.

2.3.4. ESTUDIO TOMODENSITOMÉTRICO

Practicamos el método de absorciometría radiológica de doble energía, estableciendo en el fémur tres áreas de idénticas dimensiones y que corresponden:

- A 1: región metafisaria proximal del fémur.
- A 2: región del 1/3 medio de diáfisis femoral, donde se localiza el callo de fractura.
- A 3: región metafisaria distal del fémur.

Se determina la masa ósea mineralizada de cada región en gramos de hidroxapatita por unidad de área $-\text{gr./cm}^2-$, comparando las dos series de animales y teniendo como valores de referencia los de fémures normales de ratas Sprage Dawley machos de 375 gr. de peso. (Fig. 16).

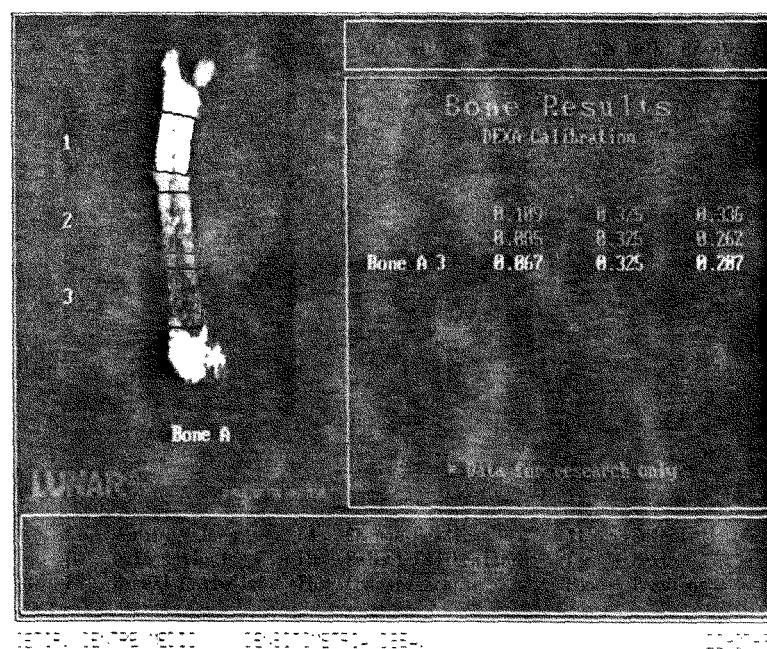


Fig. 16.- Estudio densitométrico. Fémur normal