

**IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA DE FIJACIÓN PARA DEFECTO ÓSEO
CRÍTICO EN RATAS**

MARÍA DEL MAR TOBAR BURBANO

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE OCCIDENTE
FACULTAD DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE AUTOMÁTICA Y ELECTRÓNICA
INGENIERÍA BIOMÉDICA
SANTIAGO DE CALI
2014**

**IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA DE FIJACIÓN PARA DEFECTO ÓSEO
CRÍTICO EN RATAS**

MARÍA DEL MAR TOBAR BURBANO – CÓDIGO. 2086847

Pasantía de investigación para optar el título de

INGENIERA BIOMÉDICA

**Director: WILFREDO AGREDO
M.Sc. Ciencias Biomédicas**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE OCCIDENTE
FACULTAD DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE AUTOMÁTICA Y ELECTRÓNICA
PROGRAMA DE INGENIERÍA BIOMÉDICA
SANTIAGO DE CALI
2014**

Nota de aceptación:

Aprobado por el comité de Grado en cumplimiento de los requisitos exigidos por la universidad Autónoma de Occidente para optar el título de Ingeniera Biomédica

PAOLA ANDREA NEUTA ARCINIEGAS

JURADO

WILFREDO AGREDO

DIRECTOR

Santiago de Cali, 25 de febrero de 2014

CONTENIDO

	pág.
RESUMEN	9
INTRODUCCIÓN	11
1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	15
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
2. JUSTIFICACIÓN	17
3. OBETIVOS	19
3.1 OBJETIVO GENERAL	19
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
4. MARCO REFERENCIAL	20
4.1 ANTECEDENTES	20
4.2 MARCO TEÓRICO	24
5. DISEÑO METODOLÓGICO	32
5.1 FASE BASE	32
5.2 FASE 1: Elección del sistema de fijación	32
5.3 FASE 2: Elección del material	33
5.4 FASE 3: Pruebas de resistencia del material	33
5.4.1 Prueba de tensión según la normativa ASTM D638 -08	33
5.4.2 Prueba de compresión según la normativa ASTM D695	35
5.5 FASE 4: Pruebas del sistema de fijación	36
5.6 FASE 5: Generación del defecto óseo crítico	36

5.7 FASE 6: Pruebas de rayos x para observar el correcto funcionamiento del sistema de fijación	37
6. RESULTADOS	38
6.1 FASE 1: Elección del sistema de fijación	38
6.2 FASE 2: Elección del material	40
6.3 FASE 3: Pruebas de resistencia del material	40
6.3.1 Prueba de tensión según la normativa ASTM D638 -08	40
6.3.2 Prueba de compresión según la normativa ASTM D695	43
6.4 FASE 4: Pruebas del sistema de fijación	44
6.5 FASE 5: Generación del defecto óseo crítico	45
7. CONCLUSIONES	47
8. DISCUSIÓN	49
BIBLIOGRAFÍA	51
ANEXOS	61

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Dimensiones de los tipos de probetas para realizar la prueba de tensión, columna amarilla, modelo seleccionado.	35
Cuadro 2. Valores de rigidez y resistencia del PLA	42
Cuadro 3. Valores de resistencia del PLA	45

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Alambres de Kirschner	26
Figura 2. Probeta empleada para prueba de tensión	36
Figura 3. Probeta cilíndrica para prueba de compresión	37
Figura 4. Sistema de fijación	39
Figura 5. Sistema de fijación empleado	40
Figura 6. Gráfica de Ensayo prueba de tensión PLA	43
Figura 7. Gráfica de Ensayo prueba de compresión PLA	45
Figura 8. Sistema de fijación en acero inoxidable	46
Figura 9. Intervención quirúrgica para posicionamiento del sistema de fijación. A) realización del corte longitudinal en muslo derecho de la rata. B) Incisión hasta el hueso evitando daño en los tejidos circundantes. C) Generación defecto óseo. D) Segmento de 6mm de hueso retirado.	47

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Pruebas de tensión cinco probetas	62
Anexo B. Pruebas de compresión cinco probetas	66

RESÚMEN

Los casos de fracturas, como de defectos óseos (críticos y no críticos) generan gran impacto en la persona que los padece, pues aparte de que el tratamiento y recuperación de estos suelen ser periodos largos de tiempo y con cierta complicación según el tipo y la ubicación de la afección ósea, se han convertido en un reto desde el punto de vista biomecánico para poder dar respuesta a esta problemática la cual nadie está exento de padecer.

Se ha buscado implementar diferentes tratamientos en los cuales el tiempo de recuperación se vea disminuido debido a un proceso de regeneración óseo más rápido, por lo que se han propuesto nuevas técnicas en modelos animales a nivel experimental, para luego proceder a su aplicación en humanos.

Teniendo en cuenta el tiempo de regeneración de los tejidos óseos (inferior al de los demás), se ha buscado la forma de inducir la reparación mediante la aplicación de biomateriales y sistemas de fijación de menor complejidad a los ya existentes, que disminuyan el tiempo de recuperación y que garanticen la proliferación de las células formadoras de hueso y agilicen el proceso de osteogénesis.

Debido a la gran incidencia tanto de accidentes de tránsito como industriales, domésticos y las lesiones provocadas por estos mismos, en Colombia y el mundo, se buscó trabajar en el área de regeneración ósea, para lo cual se llevó a cabo la implementación de un sistema de fijación en el fémur de una rata Wistar.

El sistema de fijación elegido e implementado, consistió en una placa rectangular de 3mm de grosor por 18mm de largo con dos agujeros en cada uno de sus extremos los cuales se encargaron de proporcionar el agarre o fijación del sistema en el hueso mediante la introducción de alambres de Kirschner roscados para la correcta sujeción garantizando que el defecto óseo crítico generado de 6mm de longitud en el fémur de la rata, no se regenerara espontáneamente sino mediante la introducción de una matriz de biopolímeros.

El sistema fue implementado en un material reconocido en el medio por sus propiedades físicas, químicas, biológicas y mecánicas, permitiéndole tener cantidad de aplicaciones en varios ámbitos, más no solo en el de la salud, ya que se trata de un biopolímero termoplástico, llamado ácido poliláctico (PLA).

Para la elección y aplicación de este en el sistema de fijación implementado, se tuvo en cuenta dos de sus características más importantes, la biocompatibilidad y biodegradabilidad sin olvidar la facilidad de acceso que se tiene en el mercado y a su costo.

Finalmente haciendo uso de imágenes de diagnóstico se observó cómo el sistema de fijación logró desempeñarse de forma esperada, manteniendo la estabilidad del defecto óseo crítico sin ningún tipo de complicación y evitando la regeneración del hueso bajo sus propios medios biológicos.

Palabras clave: Sistema de fijación, biomateriales, biodegradabilidad, biocompatibilidad, regeneración ósea, ácido poliláctico, biopolímero termoplástico, osteogénesis, defecto óseo crítico y no crítico.

INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas un número considerable de diferentes modelos animales se han utilizado para estudiar los mecanismos de curación del hueso. Anteriormente los modelos animales grandes se usaban más, incluido el perro^{1,2,3}, el conejo⁴ y las ovejas^{5,6} debido a la noción de que el proceso de curación del hueso en ellos es similar al de los seres humanos. Sin embargo, debido a las diferentes ventajas (fácil manejo y bajo costo) la rata se empezó a utilizar también para estudios de curación ósea desde la década de 1940^{7,8,9}.

Mediante diferentes experimentos y trabajos realizados con estos animales (ratas en su mayoría) se ha reconocido cómo los factores biomecánicos son de gran importancia en los procesos de regeneración ósea. El déficit de hueso en determinadas zonas del esqueleto supone un mayor problema que en otras zonas. Así la pérdida de gran cantidad de tejido óseo tanto en extremidades superiores como inferiores, constituye una problemática actual que aumenta a causa de la actividad diaria de la persona¹⁰.

El hueso presenta un potencial de reparación muy elevado a través de un proceso dinámico de remodelación que involucra la neoformación y reabsorción ósea. A pesar de ello algunos defectos óseos no presentan remodelación espontánea, necesitando factores que estimulen la reparación (Jensen *et al.*, 2006). La velocidad de reparación del hueso es inferior a la de otros tejidos, motivo por el cual en algunos casos es necesaria la utilización de materiales de reconstrucción

¹ CLARK HB, HAYES PA. A study of the comparative effects of "rigid" and "semirigid" fixation on the healing of fractures of the mandible in dogs. *J Bone Joint Surg Am* 1963;45:731–41.

² Olerud S, Danckwardt-Lillieström G. Fracture healing in compression osteosynthesis in the dog. *J Bone Joint Surg Br* 1968;50:844–51.

³ PERREN SM, RUSSENBARGER M, STEINEMANN S, MÜLLER ME, ALLGÖWER M. A dynamic compression plate. *Acta Orthop Scand Suppl* 1969;125:31–41. [4] Veneroni G, Boccadoro B, Pluchino F. Fixation of P-32 in the focus of a fracture and in osseous callus in the long bones in rabbits. *Arch Orthop* 1962;75:1338–41.

⁴ LETTIN AW. The effects of axial compression on the healing of experimental fractures of the rabbit tibia. *Proc R Soc Med* 1965;58:882–6.

⁵ NUNAMAKER DM, PERREN SM. A radiological and histological analysis of fracture healing using prebending of compression plates. *Clin Orthop Relat Res* 1979;138:167–74.

⁶ PERREN SM, RAHN BA. Biomechanics of fracture healing. *Can J Surg* 1980;23:228–32 Review.

⁷ PRITCHARD JJ. Repair of fractures of the parietal bone in rats. *J Anat* 1946;80: 55–60.

⁸ ESKEKUND V, PLUM CM. Experimental investigations into the healing of fractures. *Acta Orthop Scand* 1949;19:433–75.

⁹ URIST MR, MCLEAN FC. Bone repairs in rats with multiple fractures. *Am J Surg* 1950;80:685–95.

¹⁰ SALVADO M, RODRIGUEZ M, FERNANDEZ C, DOMINGUIZ J, MUÑOZ C, BLANCO J. Study of bone regeneration by endomedullar implant of biomaterials. *Patología del Aparato Locomotor*, 2005; 3 (1): 24-30.

ósea que actúen como injertos y auxilien el proceso de reparación del hueso (Hing *et al.*, 2007)¹¹.

Las fracturas así como los defectos óseos (carencia de un segmento óseo pequeño o grande) causan un gran costo económico a la sociedad y a la persona que los padece. Los periodos de tratamiento pueden llegar a ser largos y complicados^{12,13}, lo que lleva a considerar la realización de estudios, tratamientos y nuevos materiales aplicados en modelos animales que disminuyan el tiempo de recuperación y permitan en el futuro su aplicación en humanos.

El tiempo necesario para la recuperación de las propiedades mecánicas depende de numerosos parámetros, como el tipo y tamaño de fractura o defecto, el tipo de hueso, las características del paciente y el tratamiento aplicado^{14,15,16}. La rapidez de reparación del tejido óseo en general, es inferior a la de otros tejidos por lo que es necesario el estudio de nuevos materiales y estrategias que favorezcan la reparación sin dañar al hueso^{17,18,19}. Para llevar a cabo este tipo de estudios es deseable contar con modelos animales que sean de fácil manejo y de bajo costo, para poder experimentar con estos nuevos materiales, sustancias, entramados o combinaciones de estos capaces de sustituir al hueso en el tratamiento de defectos óseos de diferente etiología (traumática, tumoral, infecciosa o retiro de material de osteosíntesis)^{20,21,22,23,24,25}.

¹¹ DUQUE H., CHAVES N; OLATE S; MIRANDA M; DE ALBERGARIAJ, MAZZONETTO R. Histological Analyses of Osseous Repair Defects. Recognized of Critic Defects. *Int. J. Morphol.*, 27(4):1121-1127, 2009.

¹² PAPE HC, PUFE TH. Bone defect and nonunions-What role does vascularity play in filling the gap? *Injury* 2010; (41): 553-554.

¹³ KEIBL C, FÜGL A, ZANONI G, TANGL S, WOLBANK S, REDL H, GRIENSVEN M. Human adipose derived stem cells reduce callus volume upon BMP-2 administration in bone regeneration. *Injury Int J Care Injured* 2011.

¹⁴ ALBERT H, BURSTEIN PH D, TIMOTHY M, WRIGHT PH D. Fundamentals of orthopaedic biomechanic. Edit. Williams and Wilkins. (Baltimore, Maryland USA), 1994.

¹⁵ buckwalter ja, einhorn ta, marsh IJ. Bone and joint Healing. CH8, RP-FPRG-0627. www.lww.com.

¹⁶ DIMITRIOU R, TSIRIDIS E, GIANNOUDIS PV. Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury. Int J Care Injured* 2005; (36): 392-1404.

¹⁷ DINATALE E, GUERCIO E. Regeneración ósea guiada (GBR). Revisión de la literatura. *Acta Odontol Venez* 2008; 46(4): 554-561.

¹⁸ LIZARBE MA. Sustitutivos de tejidos: de los biomateriales a la ingeniería tisular. *Rev R Acad Cienc Exact Fís Nat (Esp)* 2007; 101(1): 227-249.

¹⁹ GIANNOUDIS PV, DINOPOULOS H, TSIRIDIS E. Bone substitutes: An update. *Injury. Int J Care Injured* 2005; (36S): S20-S27.

²⁰ PAPE. Op. cit., p 13

²¹ OCHOANDIANO S. Relleno de cavidades óseas en cirugía maxilofacial con materiales aloplásticos. *Rev Esp Cirug Oral y Maxilofac[online]*. 2007, vol.29, n.1, pp. 21-32. ISSN 1130-0558. Disponible en url: <http://dx.doi.org/10.4321/S1130-05582007000100003>.

Existen dos tipos de defectos óseos, los defectos óseos no críticos que son aquellos que durante su curso temporal se reparan espontáneamente y los defectos óseos críticos que son los que no llegan a repararse espontáneamente^{26,27,28}.

En los años 1880 y 1890 se desarrollaron placas, tornillos y alambres para dar solución al tratamiento de defectos óseos y fracturas, pero se vieron comprometidos por infección, diseño del implante, alergias a los metales y la mala comprensión de la biología de curación de fracturas o defectos subyacentes. Las técnicas y los principios de fijación de fracturas implementadas en la década de 1950 y los avances científicos más recientes en la comprensión mecánica y biológica de los defectos óseos para su curación, han dado lugar a los modernos métodos de evaluación, gestión y fijación del hueso²⁹, entre los cuales se encuentran los sistemas de fijación externos e internos.

Los sistemas de fijación interna son aquellos dispositivos utilizados en la osteosíntesis con el fin de mantener la posición de la fractura en la alineación apropiada para la corrección de defectos esqueléticos. Entre estos se encuentran placas metálicas, abrazaderas, barras, clavos y anclajes intramedulares, etc. Estos dispositivos se usan también para la artrodesis (fusión de una articulación), osteotomías correctoras (cortar el hueso para corregir un ángulo anormal o huesos cortos) y para tratar ciertos trastornos de articulaciones³⁰.

Los sistemas de fijación externa se han convertido desde hace varios años, en un arma terapéutica eficaz para resolver las lesiones del aparato locomotor. Son una prótesis externa al organismo que va fijada al hueso mediante clavos o tornillos a

²² REICHERTA JC, SAIFZADEHA S, WULLSCHLEGERA ME, EPARIA DR, SCHUTZA MA, DUDAC GN, ET AL. The challenge of establishing preclinical models for segmental bone defect research. *Biomaterials* 2009; (30): 2149-2163.

²³ ROJAS S, DOMÍNGUEZ VM. Procedimientos, técnicas y comunicaciones en injertos óseos, investigación e información en ortopedia. *Acta Ortopédica Mexicana* 2002; (16): 225-230.

²⁴ LUTOLF MP, WEBER FE, SCHMOEKEL HG, SCHENSE JC, KOHLER T, MÜLLER R, HUBBELL JA. Repair of bone defects using synthetic mimetics of collagenous extracellular matrices. *Nature Biotechnology* 2003; (21): 513-518.

²⁵ LIEBSCHNER MAK. Biomechanical considerations of animal models used in tissue engineering of bone. *Biomaterials* 2004; (25): 1697-1714.

²⁶ KEIBL. Op. cit., p. 13

²⁷ LUTOLF. Op., cit., p. 13

²⁸ HERNÁNDEZ FLORES C, DELGADO A, DOMINGUEZ HERNÁNDES V.M. Evaluación biomecánica de un modelo de defecto óseo en tibia de rata. *Revista mexicana de ingeniería biomédica*. Vol XXXII Num 1. 2011. Pp 12 - 19

²⁹ Disponible en URL: <http://www.nav-ynn.com/fijacion-fractura-a02375292.htm>

³⁰ ROCHAT, M. Tratamiento de fracturas: fijación interna. Paso robles veterinary medical clinic.

través de los tejidos blandos. Todos los dispositivos utilizados tienen en común el uso de clavos o agujas para su anclaje al tejido óseo. Dicho anclaje debe imprescindiblemente ser estable durante el tiempo que dure su función para la correcta cicatrización ósea^{31,32,33}.

Cuando una fractura se estabiliza por medio de materiales de osteosíntesis como clavos intramedulares, tornillos y fijadores externos^{34, 35}, se puede presentar inestabilidad mecánica debido a los micro movimientos derivados de la variación natural del diámetro del canal medular y/o problemas relacionados con la presencia de materiales extraños al tejido óseo que pueden causar alteraciones en la respuesta biológica^{36,37}.

En el presente trabajo se pretende implementar un sistema de fijación interno, con el fin de mantener la estabilidad de un defecto óseo crítico de 6mm de longitud realizado en el fémur de una rata Wistar. El sistema de fijación busca evitar la regeneración del hueso bajo sus propios medios biológicos, brindando soporte y firmeza a la fractura realizada.

³¹ ARON, D.N.; TOOMBS, J.P.; "Update principles of external skeletal fixation." Comp. Cont. Ed. Pract. Vet. 6; 845-859; 1984.

³² MATTHEW, L.S.; HIRSCH, C.; "Temperature measured in human cortical bone when drilling." J.Bone joint surg. 54 A: 297. 1972.

³³ DI TOLLO, C.; PISTANI, J. R.; MISCIONE, H. "Estudio de los efectos de diferentes variables de perforación en la estabilidad de clavos y clavijas utilizadas en fijadores externos." [Revista](#) de la Asociación Argentina de Ortopedia y Traumatología de la República Argentina. Vol 61. N°4. 501-514. Oct-Nov. De 1996.

³⁴ Navarro M, Michiardi A, Castano O, Planell JA. Biomaterials in Orthopaedics. J R Soc Interface 2008; (5): 1137-1158. [online] disponible en url: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2706047/>.

³⁵ Andreassen TT, Fledelius Ch, Ejlersted Ch, Oxlund H. Increases in callus formation and mechanical strength of healing fractures in old rats treated with parathyroid hormone. Acta Orthop Scand 2001; 72(3): 304–307.

³⁶ BUCKWALTER. Op.cit.,p.13

³⁷ REICHERTA. Op. cit., p.13

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El aumento de casos de defectos óseos o pérdida de hueso por diferentes causas como fracturas por la edad o por patologías óseas, lesiones traumáticas, accidentes laborales, domésticos, deportivos, de tránsito o caídas inesperadas, entre otros son un importante problema mundial de salud, pues al año se registran aproximadamente 37,3 millones de casos que requieren atención médica³⁸.

Las cifras y los estudios sobre la alta accidentalidad, cuantifican el aumento de muertes en accidentes de tránsito según el Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Bogotá. En el año 2008 se registraron 536 muertes en accidentes de tránsito y 3.080 casos de lesiones por lo mismo, es decir, una tasa de 43,7% de personas lesionadas por cada 100 mil habitantes, donde los peatones fueron las principales víctimas de lesiones por accidentalidad vial (35%), siguen pasajeros (29%) y los motociclistas (23%)³⁹. Estadísticas que muestran cómo el número de personas lesionadas son una problemática actual de gran incidencia.

Aun así los accidentes de tránsito no son los únicos causantes de afecciones óseas por pérdida de hueso debido a que no son la única causa de patologías óseas, puesto que es común encontrar defectos por traumatismos, infección, tumor, y/o por retiro de material de osteosíntesis. Dichos casos generan un gran costo económico a los sistemas nacionales de atención de salud, a la persona que los padece y a la sociedad en general, ya que los periodos de tratamiento pueden llegar a ser largos y complicados^{40,41}.

³⁸ ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Caídas. Octubre de 2012. Disponible en URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs344/es/>

³⁹ OBSERVATORIO DE MOVILIDAD, BOLETIN DE ACCIDENTALIDAD VIAL, cámara de comercio Bogotá, universidad los Andes, Disponible en URL: http://camara.ccb.org.co/documentos/4419_boletin_de_accidentalidad.pdf

⁴⁰ PAPE HC, PUFE TH. Bone defect and nonunions-What role does vascularity play in filling the gap? *Injury* 2010; (41): 553-554.

⁴¹ KEIBL C, FÜGL A, ZANONI G, TANGL S, WOLBANK S, REDL H, GRIENSVEN M. Human adipose derived stem cells reduce callus volume upon BMP-2 administration in bone regeneration. *Injury Int J Care Injured* 2011.

La incidencia de los casos mencionados anteriormente en las entidades médicas del país, ha llevado a inquietarse sobre la necesidad de que el paciente acorte su estadía en un hospital y que su tratamiento sea en un tiempo menor que lógicamente genere menos costos.

Mediante la implementación de un sistema de fijación interno para la estabilización del defecto óseo crítico para la posterior implantación de una matriz de biopolímeros con el fin de inducir la proliferación de células generadoras de hueso, se busca reducir el tiempo de recuperación de la misma, tanto en tratamiento como en costos. De esta manera permitir que el mundo científico pueda ofrecer mejores oportunidades a quienes sufren algún evento que genere pérdida ósea, comenzando así su aplicación en ratas como modelo experimental.

A partir de lo anterior se formula la pregunta de investigación a desarrollar mediante este proyecto, la cual está definida por: ¿La implementación de un sistema fijación interno en el fémur de una rata Wistar, generará la estabilidad necesaria de un defecto óseo crítico, para la posterior implantación de una matriz de biopolímeros que induzca la regeneración ósea?

2. JUSTIFICACIÓN

Las altas cifras de traumatismos óseos por diferentes causas (37,3 millones de lesiones) y por accidentes de tránsito (43,7) personas lesionadas por cada 100 mil habitantes), más el aumento de la incidencia de casos de pacientes con patologías óseas de tipo traumático, infeccioso, tumoral o de retiro de material de osteosíntesis, y el alto costo económico que estas generan a las entidades prestadoras de servicios de salud a nivel nacional y mundial (\$518.000 millones anuales, de los que aproximadamente \$65.000 millones corresponden a los países en desarrollo⁴², entre ellos Colombia) ha generado gran interés en el ámbito de la salud para brindar solución a dicha problemática que incurre en largos procesos de recuperación y altos costos en el tratamiento del paciente.

En muchos hospitales de países de ingresos bajos y medios, los traumatismos óseos representan aproximadamente la tercera parte del número de pacientes graves y entre el 30% y el 86% de todas las hospitalizaciones por lesiones⁴³.

Es necesario modificar y/o plantear alternativas que brinden solución a la problemática actual experimentada en el área de la salud y el mundo de la medicina teniendo en cuenta las estadísticas, mediante la implementación, creación y producción de técnicas, dispositivos, sistemas o procesos haciendo uso de la tecnología existente, para brindar soluciones dirigidas a todos aquellos pacientes que sufren de alguna lesión traumática que trae como consecuencia la generación de una fractura o un defecto óseo, para así poder contribuir al desarrollo normal de las actividades cotidianas de dichas personas y de su calidad de vida.

Los estudios han demostrado que la rata es para la medicina un animal con características en su estructura física, ósea, orgánica y funcional con semejanzas a la anatomía humana la cual responde a muchas de las inquietudes médicas⁴⁴ por lo que se considera la especie adecuada para desarrollar el proyecto teniendo en cuenta además la facilidad de conseguirlas, manejo, crianza y cuidados circunstancias que posibilitan procesos de investigación que le permitirán a la ciencia médica implementar en el hombre técnicas y herramientas a nivel traumatológico para tratamiento de fracturas y/o defectos óseos y regeneración de

⁴² JACOBS G, AARON-THOMAS A, ASTROP A. Estimating global road fatalities. London, Transport Research Laboratory, 2000 (TRL Report No. 445)

⁴³ ODERO W, GARNER P, ZWI A. Road traffic injuries in developing countries: a comprehensive review of epidemiological studies. *Tropical Medicine and International Health* 1997; 2:445–460.

⁴⁴ TORRES CISNEROS E. Anatomía macroscópica de los sistemas de órganos en la rata. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Agosto 2011.

tejidos, que disminuyan tiempos en cuanto a la estadía del paciente durante su recuperación en la entidad médica, pretendiendo con este proyecto acortar tiempos de estadía - recuperación, mejorar las condiciones físicas del paciente y disminuir costos.

La estabilización de la fractura y/o defecto óseo por medio de la implementación de un sistema de fijación interno (después de producida la fractura) pretende permitir la posterior implantación de una matriz de biopolímeros que induzca la formación del tejido óseo que se ha perdido, y que haya una recuperación del mismo en menos tiempo, minimizando la estadía del paciente en el hospital, disminuyendo costos al sistema de salud y al paciente como tal.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Implementar un sistema de fijación para defecto óseo crítico en miembro inferior de ratas Wistar.

3.2. OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Realizar proceso de selección de un sistema de fijación para defecto óseo en miembro inferior de ratas.
- Generar un defecto óseo crítico en miembro inferior en ratas.
- Verificar la estabilidad del defecto óseo generado en el fémur de la rata mediante la ayuda de imágenes de diagnóstico.

4. MARCO REFERENCIAL

4.1 ANTECEDENTES

Con el fin de aportar nuevas soluciones a los problemas generados por patologías óseas, fracturas y/o pérdida de hueso se han realizado diferentes experimentos con ratas con los que se ha ido adquiriendo un creciente interés en los estudios de regeneración ósea para estudiar los mecanismos celulares y moleculares de la curación de fracturas. Según Histing et al⁴⁵, se deben considerar algunas variables que deben ser controladas cuidadosamente en el diseño de estos experimentos, como lo son: la edad, el sexo de los animales, los anestésicos, los antibióticos, los analgésicos postoperatorios y la elección de la técnica de fijación de la fractura considerando (sistemas de fijación interna y externa). Se ha desarrollado una variedad de implantes, altamente sofisticados para la fijación de fracturas en animales pequeños (ratas), siendo los sistemas de fijación rígida con placas de bloqueo intramembranoso, o fijadores externos los sistemas más predominantes para este tipo de procesos⁴⁶.

Los siguientes métodos de fijación son las técnicas actualmente disponibles para estabilizar fracturas de huesos largos, utilizadas principalmente en modelos de fractura de fémur en ratas:

Pin intramedular, el cual consiste en un pasador de acero inoxidable, es una de las técnicas quirúrgicas más simples y menos invasivas, entre sus desventajas se encuentran la falta de estabilidad rotacional y axial y la inducción de daño a la cavidad intramedular^{47,48,49}.

⁴⁵ HISTING T, GARCIA P, HOLSTEIN JH , KLEIN M, MATTHYS R, NUETZI R , STECK R, LASCHKE MW, WEHNER T, BINDL R, RECKNAGEL S, STUERMER EK, VOLLMAR B, WILDEMANN. Small animal bone healing models: Standards, tips, and pitfalls results of a consensus meeting.

⁴⁶ Ibid., p 597.

⁴⁷ KRISCHAK GD, AUGAT P, SORG T, BLAKYTNY R, KINZL L, CLAES L, BECK A. Effects of diclofenac on periosteal callus maturation in osteotomy healing in an animal

⁴⁸ BECK A, KRISCHAK G, SORG T, AUGAT P, FARKER K, MERKEL U, et al. Influence of diclofenac (group of nonsteroidal anti-inflammatory drugs) on fracture healing. Arch Orthop Trauma Surg 2003;123:327–32.

⁴⁹ KRISCHAK GD, AUGAT P, BLAKYTNY R, CLAES L, KINZL L, BECK A. The non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac reduces appearance of osteoblasts in bone defect healing in rats. Arch Orthop Trauma Surg 2007;127:453–8.

Tornillo de compresión intramedular, consta de una cabeza distal en forma de cono y un hilo de compresión, brinda estabilidad rotacional y axial después de la fijación de la fractura mediante compresión interfragmentaria. Entre las ventajas de esta técnica se encuentran que levemente invasiva y el bajo peso del implante. Las desventajas se encuentran la inducción de daño a la cavidad intramedular y los costos del implante^{50,51}.

El dispositivo de pin-clip representa un modelo abierto que brinda gran estabilidad al hueso, utilizando un clavo intramedular en junto con un clip extramedular para la fijación de fracturas de fémur en ratones⁵². Las ventajas de esta técnica son: la alta estabilidad axial y de rotación, el peso bajo del implante y el costo. Las principales desventajas son, la necesidad de un procedimiento quirúrgico invasivo altamente complejo, incluyendo la inducción de daño a la cavidad intramedular⁵³.

El sistema de clavos entrelazados, consiste en una rosca proximal y dos orificios para los pasadores de bloqueo, tiene 4 agujeros para cuatro pins. Estos clavos proporcionan gran estabilidad para la fijación de fracturas de fémur en ratones y ratas. Estabilizan además defectos óseos críticos de diferentes tamaños diferentes tamaños⁵⁴. La ventaja de la utilización de estos implantes es la alta estabilidad axial y de rotación. Las principales desventajas son la necesidad de un procedimiento quirúrgico invasivo altamente complejo, incluyendo la inducción de daño a la cavidad intramedular. Además, los costos para el implante son sustancialmente más altos en comparación con otros dispositivos⁵⁵.

Las placa de bloqueo, son dispositivos que se fijan al hueso por medio de tornillos de bloqueo, siendo utilizadas para modelos de fractura abierta^{56,57}. La placa fue

⁵⁰ CLAES L, SCHMALENBACH J, HERRMANN M, OLKÜ I, GARCIA P, HISTING T, et al. Hyperhomocysteinemia is associated with impaired fracture healing in mice. *Calcif Tissue Int* 2009;85:17–21.

⁵¹ HOLSTEIN JH, MATTHYS R, HISTING T, BECKER SC, FIEDLER M, GARCIA P, et al. Development of a stable closed femoral fracture model in mice. *J Surg Res* 2009;153:71–5.

⁵² GARCIA P, HOLSTEIN JH, HISTING T, BURKHARDT M, CULEMANN U, PIZANIS A, et al. A new technique for internal fixation of femoral fractures in mice: impact of stability on fracture healing. *J Biomech* 2008;41:1689–96.

⁵³ GARCIA P, HOLSTEIN JH, MAIER S, SCHAUMLÖFFEL H, AL-MARRAWI F, HANNIG M, et al. Development of a reliable non-union model in mice. *J Surg Res* 2008;147:84–91

⁵⁴ GARCIA P, HERWERTH S, MATTHYS R, HOLSTEIN JH, HISTING T, MENGER MD, et al. The Locking Mouse Nail — a new implant for standardized stable osteosynthesis in mice. *J Surg Res* 2009;10 [Epub ahead of print].

⁵⁵ SCHOEN M, ROTTER R, SCHATNER S, MITTLMEIER T, CLAES L, VOLLMAR B, et al. Introduction of a new interlocked intramedullary nailing device for stabilization of critically sized femoral defects in the rat: a combined

⁵⁶ MATTHYS R, PERREN SM. Internal fixator for use in the mouse. *Injury* 2009;Suppl 4:103–9.

diseñada con el fin de minimizar el contacto hueso-implante y generar una fijación rígida con alta estabilidad, aun así también se puede utilizar para proporcionar una fijación más flexible^{58,59}. Si se compara con el dispositivo pin-clip, la placa también permite estudiar la curación de defectos óseos mediante la estabilización de estos y sus diferentes tamaños.

El fijador externo se compone de un elemento fijador que reside fuera de la extremidad del animal y de cuatro tornillos de penetración de la piel y el hueso. Este sistema puede ser usado para fijación de fracturas con cierto grado de rigidez. En los ratones, incluso mecanismos relativamente rígidos han demostrado la formación de callo con una mezcla de osificación intramembranosa y endocondral^{60,61}. Por otro lado, Thompson et al⁶² observó la estabilización de las fracturas prácticamente sin evidencia de cartílago, lo que indica la osificación predominantemente intramembranosa.

La principal ventaja de este sistema de fijación es el hecho de que la zona de fractura no se ve afectada por la presencia de un implante. Una ventaja adicional del fijador externo es la posibilidad de cambiar la rigidez de la estabilización durante el proceso sin operación⁶³.

La ventaja de utilizar un fijador externo es la alta estabilidad axial y rotacional, el simple ajuste de la estabilidad de la fijación y entre las desventajas se encuentran

⁵⁷ WILLIE B, ADKINS K, ZHENG X, SIMON U, CLAES L. Mechanical characterization of external fixator stiffness for a rat femoral fracture model. *J Orthop Res* 2009;27:687–93.

⁵⁸ GRÖNGRÖFT I, HEIL P, MATTHYS R, LEZUO P, TAMI A, PERREN S, et al. Fixation compliance in a mouse osteotomy model induces two different processes of bone healing but does not lead to delayed union. *J Biomech* 2009;42:2089–96.

⁵⁹ STECK R, UENO M, GREGORY L, RIJKEN N, WULLSCHLEGER M, ITOMAN M, SCHUETZ M. Influence of internal fixator flexibility on murine fracture healing as characterized by mechanical testing and microCT imaging. *J Orthop Res* 2011;29:1245–50.

⁶⁰ RÖNTGEN V, BLAKYTNY R, MATTHYS R, LANDAUER M, WEHNER T, GÖCKELMANN M, et al. Fracture healing in mice under controlled rigid and flexible conditions using an adjustable external fixator. *J Orthop Res* 2010;28:1456–62.

⁶¹ CLAES L, SCHMALENBACH J, HERRMANN M, OLKÜ I, GARCIA P, HISTING T, et al. Hyperhomocysteinemia is associated with impaired fracture healing in mice. *Calcif Tissue Int* 2009;85:17–21.

⁶² THOMPSON Z, MICLAU T, HU D, HELMS JA. A model for intramembranous ossification during fracture healing. *J Orthop Res* 2002;20:1091–8

⁶³ CLAES L, BLAKYTNY R, GOCKELMANN M, SCHOEN M, IGNATIUS A, WILLIE B. Early dynamization by reduced fixation stiffness does not improve fracture healing in a rat femoral osteotomy model. *J Orthop Res* 2009;27:22–7.

la necesidad de un procedimiento quirúrgico complejo, altamente invasivo, el peso relativamente alto y los costos⁶⁴.

Las placas de bloqueo, fijadores externos, tornillos intramedulares, el clavo de bloqueo y el dispositivo de pin-clip permiten diferentes grados de estabilidad resultantes en diversas cantidades de regeneración endocondral e intramembranoso, mientras el uso de clavijas comunes que no proporcionan la estabilidad rotacional y axial durante la estabilización de la fractura se debe desaconsejar en el futuro⁶⁵.

Teniendo en cuenta la cantidad de sistemas de fijación tanto internos como externos, se ha debatido sobre la utilización de estos en grandes defectos óseos. Algunos autores optan por fijadores externos⁶⁶ y otros por sistemas de fijación internos, al igual que en este estudio, se opta por los fijadores internos. El distinto acercamiento entre los extremos de la lesión puede tener diferentes consecuencias en la estimulación mecánica de los implantes y los extremos de resección diafisarios. Según Martín et al,^{67,68} quizá dicha estimulación mecánica sea mayor por la utilización de un fijador externo (elástico) y menor o nula por la utilización de un fijador interno (rígido). Pero las desventajas que puede tener la colocación de placas y tornillos, como fijadores externos es que necesitan su posterior extracción.

Un modelo experimental válido aplicado en conejos, para el estudio de la osteoregeneración se basa en la resección de un defecto diafisario suficiente para impedir la reparación espontánea. La originalidad del tema elegido se cimenta en la utilización, *in vivo* en el animal, de un biomaterial que está compuesto de una base estructural de polimetacrilato de metilo (PMMA), al que se añade hidroxiapatita (HA) como material osteoconductor y además, un factor de

⁶⁴ HISTING T, GARCIA P, HOLSTEIN JH, KLEIN M, MATTHYS R, NUETZI R, STECK R, LASCHKE MW, WEHNER T, BINDL R, RECKNAGEL S, STUERMER EK, VOLLMAR B, WILDEMANN. Small animal bone healing models: Standards, tips, and pitfalls results of consensus meeting. Arch Orthop Trauma Surg 2007;127:3-9.

⁶⁵ Ibid., p 592

⁶⁶ KON E, MURAGLIA A, CORSI A, BIANCO P, MARCACCIM, MARTIN I, BOYDE A, RUSPANTINI I, CHISTOLINI P, ROCCA M, GIARDINO R, CANCEDDA R, QUARTO R. Autologous bone marrow stromal cells loaded onto porous hydroxyapatite ceramic accelerate bone repair in critical-size defects of sheep long bones. J Biomed Mater Res. 2000; 49:328-337.

⁶⁷ MARTIN I, MURAGLIA A, CAMPANILE G, CANCEDDA R, QUARTO R. Fibroblast growth factor-2 supports ex vivo expansion and maintenance of osteogenic precursors from human bone marrow. Endocrinology. 1997; 138: 4456-4462.

⁶⁸ M. SALVADO MUÑOZ, A. P. MARTÍN RODRIGUEZ, F. COLLIA FERNÁNDEZ, et al. 30

crecimiento fibroblástico (FGF) como osteoinductor. Tras una pérdida ósea por accidente, tumor o infección se plantean algunas posibilidades de reconstrucción en las cuales tras 2, 4 y 8 semanas después de la resección (20mm) e implantación endomedular de tres barras de 25mm de longitud, se procede al análisis evolutivo del hueso. La regeneración ósea en el presente modelo sigue un patrón de desarrollo que va desde los extremos de resección diafisario a la zona media y siempre a expensas de la cortical radial. De los tres modelos de barras utilizados, los formados por PMMA, HA y bFGF, presentan un proceso de reparación más avanzado, hecho observado tanto radiológica como histológicamente⁶⁹.

4.2 MARCO TEÓRICO

En los últimos años, se han desarrollado diversos implantes que permiten la estabilización de fracturas en modelos abiertos y cerrados en ratas^{70,71,72, 73,74}. De igual forma se han introducido otros modelos de fijación para el análisis y curación de grandes defectos óseos^{75,76}.

Los defectos óseos en las extremidades pueden surgir como consecuencia de fracturas abiertas y la consiguiente pérdida de un fragmento de este hueso o por efectos secundarios, tumores, pseudoartrosis, malformaciones congénitas u

⁶⁹ NYMAN R, MAGNUSSON M, SENNERBY L, NYMAN S, LUNDGREN D. Membrane-guided bone regeneration. Segmental radius defects studied in the rabbit. *Acta Orthop Scand*. 1995; 66(2): 169-173

⁷⁰ HOLSTEIN JH, MENGER MD, CULEMANN U, MEIER C, POHLEMANN T. Development of a locking femur nail for mice. *J Biomech* 2007;40:215–9.

⁷¹ RÖNTGEN V, BLAKYTNY R, MATTHYS R, LANDAUER M, WEHNER T, GÖCKELMANN M, et al. Fracture healing in mice under controlled rigid and flexible conditions using an adjustable external fixator. *J Orthop Res* 2010;28:1456–62.

⁷² CLAES L, MAURER-KLEIN N, HENKE T, GERNGROSS H, MELNYK M, AUGAT P. Moderate soft tissue trauma delays new bone formation only in the early phase of fracture healing. *J Orthop Res* 2006;24:1178–85.

⁷³ CONNOLLY CK, LI G, BUNN JR, MUSHIPE M, DICKSON GR, MARSH DR. A reliable externally fixated murine femoral fracture model that accounts for variation in movement between animals. *J Orthop Res* 2003;21:843–9.

⁷⁴ WILDEMANN B, BAMDAD P, HOLMERCH, HAAS NP, RASCHKE M, SCHMIDMAIER G. Local delivery of growth factors from coated titanium plates increases osteotomy healing in rats. *Bone* 2004;34:862–8.

⁷⁵ GARCIA P, HOLSTEIN JH, MAIER S, SCHAUMLÖFFEL H, AL-MARRAWI F, HANNIG M, et al. Development of a reliable non-union model in mice. *J Surg Res* 2008;147:84–91.

⁷⁶ CHOI P, OGILVIE C, THOMPSON Z, MICLAU T, HELMS JA. Cellular and molecular characterization of a murine non-union model. *J Orthop Res* 2004;22:1100–7.

osteomielitis^{77,78}, los cuales representan un importante desafío en la cirugía reconstructiva de los miembros. En estos casos, la decisión terapéutica surgirá de una correcta evaluación de las lesiones y de las características propias del paciente como demanda funcional, adaptación al tratamiento y aceptación social.

Los defectos óseos que no se regeneran espontáneamente con el transcurso del tiempo se conocen como defectos de tamaño crítico y fueron inicialmente descritos por Schmitz y Hollinger^{79,80}. El espacio entre los extremos del defecto son invadidos por músculo y tejido fibroso evitando la formación de tejido óseo⁸¹. Por tanto cualquier defecto que tenga capacidad de regeneración espontánea se llamará de tamaño no crítico.

El defecto de tamaño crítico es difícil de regenerar y necesita casi siempre hueso autólogo (hueso que se toma del cuerpo del propio paciente y se le implanta nuevamente en el defecto). Normalmente en humanos son defectos postraumáticos o defectos causados por la cirugía oncológica ablativa⁸².

La regeneración ósea guiada para defectos óseos no críticos, supone proporcionar las condiciones adecuadas para que tenga lugar el proceso espontáneo y natural de reparación mediante la neoformación⁸³.

Para la corrección de defectos óseos se han diseñado diferentes tipos de sistemas de fijación, tanto internos como externos, los cuales consisten en dispositivos que

⁷⁷ MALIZOS KN, ZALAVRASCHG, DAILIANA Z, BERIS A. The free vascularized fibula graft. IN: Reconstructive microsurgery. Texas: Landesbiocience; 2003. p. 154- 64.

⁷⁸ MALIZOS K, ZALAVRAS C, SOUCACOS P, BERIS A, URBAINIAK J. Free vascularized fibular grafts for reconstruction of skeletal defects. J Am AcadOrthopSurg, Vol 12, No 5, September/October 2004, 360-369

⁷⁹ SCHMITZ J, HOLLINGER J. The critical size defect as an experimental model for craniomandibular non junction. *ClinOrthopRel Res* 1986;205:299-304.

⁸⁰ HOLLINGER JO, KLEINSCHMIDT JC. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *J CraniofacSurg* 1990;2:237-43.

⁸¹ IP WY. Polylactide membranes and sponges in the treatment of segmental defects in rabbit radii. *Injury*.2002; 33 S-B: 66-70.

⁸² OCHANDIANO CAICOYA, S. Relleno de cavidades óseas en cirugía.maxilofacial con materiales aloplásticos. Bone cavity filling with alloplastic material in maxillofacial surgery.

⁸³ VELÁZQUEZ CAYÓN R, MACIÁN A, PÉREZ DORAO B, TORRES D, GUTIÉRREZ J. Cicatriz fibrosa postquisteomía: importancia de la regeneración ósea guiada. Máster de Cirugía Bucal de la Universidad de Sevilla.

mediante clavos y/o alambres los cirujanos unen los fragmentos de los huesos para estabilizar fracturas y corregir defectos óseos.⁸⁴

En los sistemas de fijación externos con el uso de sistemas de sujeción se intenta a distancia producir algunos movimientos necesarios para la reducción o aplicación de fuerzas desplazantes a los extremos óseos (fuerza de compresión, de distracción, deflexivas, cizallantes o de arrastre). No siempre la fijación externa es para aplicar fuerzas o para el intento de reducción, sino simplemente para sostener. Aparte de las fracturas, son ejemplos de simple sostenimiento, los casos de fijaciones externas para inmovilizar articulaciones en posición funcional mientras se curan sus tejidos blandos lesionados, o, para sostener transitoriamente "injertos por colgajos a pierna cruzada"⁸⁵.

Para proporcionar la sujeción de los sistemas de fijación interna existen diferentes herramientas que varían según el dispositivo empleado como lo es el caso de los clavos y alambres de Kirschner. Los alambres de Kirschner son un filamento metálico, semiflexible, roscado o liso, con diferente diámetro que se usa para estabilizar fragmentos de hueso, generalmente usados en huesos pequeños como las falanges. Estos alambres son taladrados a través del hueso y la piel si es necesario para luego colocar los fragmentos en su lugar⁸⁶ (ver figura 1).

⁸⁴ LEYTONA, GLAVISE, GARCIAJ, MACHADO A, Echeverry A. Modelo de elementos finites para el analisis y diseño de fijadores externos para fracturas de huesos. VI congreso colombiano de elementos finitos y modelamiento numérico. Bogota. Mayo 2012.

⁸⁵ ORIHUELA D. Tratamiento integral de fracturas expuestas complejas con gran exposición óseo y tendinoso en miembros inferiores en el Hospital EsSalud La Oroya, 1995-2004. Lima- peru. 2008.

⁸⁶ RAMSÉS PÉREZ A. Desarrollo de un proceso de fabricación en serie de clavos de schanz y alambres de Kirschner. Universidad Central de Venezuela.

Figura 1. Alambres de Kirschner.



Fuente: Gestión de pines y almbres [en línea]. Neuhausen ob Eck: Secure Europe GmbH, 2013 [consultado 21 de enero de 2014]. Disponible en Internet: <http://www.securos-europe.eu/productos/gestion-de-pines-y-lambres/?L=2>

Autores como Ikada⁸⁷, Meyer⁸⁸, Estrada⁸⁹ y Barrere⁹⁰ destacan características a considerar para la implantación de materiales que tengan contacto continuo con los tejidos corporales para evitar rechazo, infección y/o complicaciones inesperadas en el proceso de recuperación de la fractura. Por tratarse de un sistema de fijación interno el que se va a implementar debe cumplir características de biocompatibilidad, biodegradabilidad, resistencia y compatibilidad mecánica, osteoconductividad, osteoinductividad, radiolucidez. El desarrollo de la ingeniería de tejidos en el área de biomateriales exhibe materiales que cumplen en mayor o menor grado estas propiedades, en este caso es el ácido poliláctico el material a tratar.

El ácido láctico es utilizado ampliamente en la industria alimenticia, química, farmacéutica, del plástico, textil, la agricultura, la alimentación animal, entre otros⁹¹, sin embargo, la aplicación más interesante del ácido láctico radica en la

⁸⁷ IKADA DE. Challenges in tissue engineering. En Journal of The Royal Society Interface. 01/11/2006;3(10):589-601.

⁸⁸MEYER U, MEYER TH, HANDSCHEL J, WIESMANN HP. Fundamentals of tissue engineering and regenerative medicine. New York: Springer; 2009.

⁸⁹ GARZÓN AA. Ingeniería de tejido óseo: Consideraciones Básicas. Revista EIA. 2006;5:93-100. ISSN 1794-1237.

⁹⁰ BARRÈRE GU, et al. Advanced biomaterials for skeletal tissue regeneration: Instructive and smart functions. J Materials Science and Engineering. 2008;59:38-71.

⁹¹ SURIDERP C. Ullman's enciclopedia od industrial chemistry: ácido láctico. 5 edition. De barabra elvers, 1995. P97 – 104

posibilidad que ofrece de producir ácido poliláctico (PLA), el cual es su molécula precursora^{92,93,94,95}. Al PLA es un biopolímero termoplástico utilizado para la producción de hilo para sutura, implantes, cápsulas para la liberación lenta de fármacos, prótesis, producción de envases y empaques para alimentos y producción de películas para la protección de cultivos en estadios primarios;^{96,97} este biopolímero ha despertado el interés de investigadores, productores y procesadores ya que fuera de su degradabilidad, propiedades de barrera y reabsorción en diferentes campos, se ha encontrado que puede ser un gran competidor frente a otros plásticos de origen petroquímico por su amplio rango inusual de propiedades físicas, biológicas y mecánicas⁹⁸.

Debido a sus propiedades biológicas y mecánicas los polímeros de ácido poliláctico o los copolímeros PLA tienen desde hace varios años aplicaciones terapéuticas muy diversas que dan testimonio de su biocompatibilidad y de sus propiedades reabsorbibles, así como de su ausencia de toxicidad. Entre estas aplicaciones cabe destacar su empleo como material de sutura absorbible, como exfoliante en dermatología y en forma de membranas para la regeneración tisular guiada en periodoncia⁹⁹.

Las propiedades tanto físicas, como mecánica, farmacéuticas y de reabsorción dependen de la composición del polímero, de su peso molecular y de su cristalinidad.

El PLA puede ser tan duro como el acrílico o tan blando como el polietileno, rígido como el poliestireno o flexible como un elastómero. Puede además ser formulado para dar una variedad de resistencias. Las resinas de PLA pueden ser sometidas

⁹² HUIJANEN M, LINKO S. effect of temperatura and various nitrogen sources on L(+) lactic acid production by lactobacillus casei. microbiology biotechnology. 45, 1996, p 307 – 313

⁹³ CHANG D, JUNG H, RHEE J, PAN J. homofermentative production of D- or L- lactate in metabolically engineered escherichia coli RRI". Environmental microbiology. 65 (4) 1999. P 1384 – 1389

⁹⁴ HUIJANEN M, LINKO S, LINKO. optimization of media and cultivation conditions for L(+) (S)- lactic acid production by lactobacillus casei NRRL B-441". microbiology and biotechnology. Springer verlag. 2001; DOI 10.1007/s002530000501.

⁹⁵ DANNER H, MADZINGAIDZO L, THOMASSER C. "thermophilic production of lactic acid using integratd membrane bioreactor systems coupled with monopolar electrodialysis". microbiology and teconology. Springer verlag. 2002.

⁹⁶ VICK ROY T, "lactic acid". Comprehensive biotechnology. 3, 1985. P 761 – 789.

⁹⁷ LITCHFIELD J, microbial production of lactic acid. Microbiology. 42, 1996, p 45 – 95.

⁹⁸ SERNA L, RODRIGUEZ A, ALBAN F. Acido polilactico (PLA): aplicaciones y propiedades. vol 5 - No 1. 2013

⁹⁹ MARÍN RUIZ, M, SAN HIPÓLITO MARÍN L, BELARRA ARENAS C, MARTÍN GÓMEZ F, MARTÍNEZ-GONZÁLEZ JM. Injertos sustitutos no óseos. Aportaciones del ácido poliláctico y poliglicólico. Av Periodon Implantol. 2009; 21, 1: 45-52.

a esterilización con rayos gama y es estable cuando se expone a los rayos ultravioleta. El PLA se le atribuyen también propiedades de interés como la suavidad y resistencia al rayado y al desgaste¹⁰⁰.

Entre las aplicaciones médicas, encontramos como el PLA tiene gran influencia en la medicina, los materiales disponibles en el mercado son: material de sutura reabsorbible (cirugía oftalmológica, conjuntival, toracoabdominal, anastomosis neurológicas), material de cirugía ortopédica (implantes reabsorbibles), en forma de miniplacas y tornillos, broches, placas, grapas, fijación ósea, reconstrucción para la osteosíntesis, en forma de materiales termoplásticos en cirugía orbitaria, en forma de microesferas que permiten modificar ciertos parámetros cinéticos y la biodistribución de moléculas farmacológicas, para cirugía reconstructiva craneofacial y maxilofacial (tejidos óseos y tejidos blandos)^{101,102}.

El PLA es utilizado en la creación de matrices para regeneración guiada de tejidos como piel, cartílagos, huesos, estructuras cardiovasculares, intestino, tejido urinario entre otros¹⁰³.

Es utilizado para microencapsular y nanocapsular medicamentos de liberación lenta como insulina¹⁰⁴; Antiinflamatorios¹⁰⁵, también se utiliza en la aplicación de quimioterapia anticancerosa¹⁰⁶ o en contracepción¹⁰⁷.

Una de las características más importantes de este tipo de polímero, es la biodegradabilidad, pues la degradación del PLA es más lenta si la cristalinidad es elevada, si el contenido de PLA es fuerte y si el peso molecular es elevado.^{108,109}

¹⁰⁰ NAITIOVE M, se prevé una bonanza de los biopolímeros más allá de los degradables. Tecnología de plásticos. 63, 1998l.

¹⁰¹ PURAC. Mediacal and pharmaceutical implants. Documentation Purac. Disponible en URL: [http:// www.purac.com.hollande](http://www.purac.com.hollande) 1998

¹⁰² SURIDERP. Op. cit., p. 22

¹⁰³ MARLER J, UPTON J, LANGER R, VACANTI J. transplanted cells in matrices for tissue regeneration. Advanced drug delivery reviews 1998. 33: 1-2:165 – 182.

¹⁰⁴ TAKENAGA M, YAMAGUCHI Y, KITAGAWA A, OGAWA Y, Mizushima, Igarashi R. a novel sustained release formulation of insulin with dramatic reduction in initial rapid release. Journal of controlled release. 2002. 79: 1-3. P 81-91

¹⁰⁵ LAMPRECHT A, RODERO H, SCHÁFER U, LEER C. biodegradable microparticles as a two-drug controlled release formulation: a potential treatment of inflammatory bowel disease. Journal of controlled release. 2000. 69:3:445 – 454.

¹⁰⁶ BOSTMAN O. foreign body reactions to fracture fixation implants on biodegradable synthetic polymers. J bone joint surg. (72B). 1990. P 592. -6.

¹⁰⁷ EITENMULLER J, DAVID A, POMMER A, MURHR G. Surgical treatment of ankle joint fractures with biodegradable screws and plates of poly – l – actide. Chirurg. 1996. 67 (4) p 413 – 418.

En presencia de PLA, los microorganismos (bacterias y hongos) colonizan la superficie del polímero y son capaces de segregar enzimas que rompen en pequeños fragmentos el polímero; la colonización de la superficie depende de factores tales como la tensión superficial, porosidad y textura superficial y accesibilidad a las cadenas de polímeros. Los grupos hidrófilos de las enzimas (-COOH, -OH, -NH₂) atacan los grupos éster de las cadenas de polímeros mediante reacciones de hidrólisis seguida por reacciones de oxidación, de esa forma reducen el polímero a fragmentos de peso molecular inferiores a 500 g/mol, los cuales pueden ser digeridos por los microorganismos. Las reacciones enzimáticas ocurren generalmente en medio acuoso. Las condiciones necesarias para que se pueda producir el proceso de biodegradación son: Presencia de microorganismos, oxígeno, humedad, nutrientes minerales, temperaturas entre 20 a 60°C dependiendo del microorganismo y Ph entre 5 – 8^{110,111}.

En cuanto a la Bioabsorción, en los tejidos vivos, el PLA se despolimeriza totalmente por hidrólisis química. La degradación del polímero comienza por una pérdida de peso molecular (sin pérdida de masa) y se termina por una pérdida de masa, con descomposición del polímero en monómeros y fagocitosis por los macrófagos^{112,113}.

El hecho de que no haya un proceso enzimático, realizado por la reabsorción del polímero acarrea una débil reacción de los tejidos, que se limita a una reacción a cuerpo extraño. Después de la solubilización, el ácido láctico se degrada por vía de los lactatos y piruvatos, seguidamente es eliminado en forma de CO₂, esencialmente por vía respiratoria^{114,115,116}.

¹⁰⁸ SPENLEHAUER G. microspheres a base de cisplatine et de polymeres bioresorbables du type poly-alpha-hydroxy-acides pour chimio- embolisation. Sciences pharmaceutiques. Universite paris sud. 1987.

¹⁰⁹ SERNA. Op. cit., p. 22.

¹¹⁰ PEINADO C, CATALINA F, CORRALES T. materiales polímeros degradables. Revista plásticos modernos. (479). 1996.

¹¹¹ SERNA. Op. cit., p. 23

¹¹² KIMURA H, OGURA, MORITERA T, TABATA, IKADA. In vitro phagocytosis of polyactide microspheres by retinal pigment epithelial cells and intracellular drug release. Curr. Eye Res. 13(5). 1994. P 353 - 60

¹¹³ BOSTMAN O. Clinical biocompatibility and degradation of polylevolute screws in the ankle. Clin orth 320. 1995. P 101 – 109-

¹¹⁴ ATHANASIOU K, NIEDERAUER G, AGRAWAL C, LANDSMAN A. applications of biodegradable lactides and glycolides in podiatry. Implantable biomaterials 12(3). 1995. P 475 – 495.

¹¹⁵ BIOTECH. El implante del futuro. Disponible en UR: www.new_fill.com biotech industry .A.1999.

¹¹⁶ SERNA. Op. cit., p. 23

Por el amplio rango de aplicaciones y sus propiedades tanto físicas, químicas y mecánicas anteriormente mencionadas del PLA y debido también a su facilidad de acceso (económico) y consecución en el mercado, hacen que este sea el candidato ideal para implementar el sistema de fijación, este material se somete a una variedad de ensayos para corroborar sus propiedades anteriormente mencionadas. Donde se simulan las condiciones de trabajo real y se estudia su aplicación. La clasificación de los ensayos se da según la característica a analizar, según la rigurosidad del material se realizan ensayos científicos y tecnológicos; según la naturaleza, se realizan pruebas químicas, físicas, metalográficas y para análisis de pruebas mecánicas y según la utilidad de la pieza se realizan pruebas destructivas y no destructivas.

La utilidad de la pieza es entonces el punto de interés para lo cual se practican ensayos destructivos que son aquellos en los que los materiales sufren rotura o daño en su estructura para así poder corroborar que el material es apto para ser implementado. El sistema de fijación se ubica en el fémur de la rata, hueso que está sometido a diferentes fuerzas entre ellas tensión y compresión que son generadas por el peso del animal y por la necesidad de moverse, lo que conlleva a practicar ensayos de tensión y compresión según las especificaciones de las normas (ASTM 695 para la prueba de compresión y norma ASTM D638 - 08 para la de tensión).

El acero inoxidable es un material que por sus características de biocompatibilidad, resistencia a la corrosión y propiedades de fabricación tanto mecánicas como físicas, se considera como segunda opción al producirse algún evento inesperado que genere la falla del PLA por alteración de alguna de sus propiedades; sabiendo que los aceros inoxidables tienen una resistencia elevada a la fatiga durante aplicaciones de cargas cíclicas y la integración ósea, alta resistencia al desgaste, resistencia a temperaturas elevadas, una muy buena resistencia a la corrosión bajo tensión y además permite la transformación del material en gran variedad de productos¹¹⁷.

¹¹⁷ RODRIGUEZ MILIÁN, L.M. Aceros inoxidables para implantes ortopédicos utilizados en la industria ortopédica del COOI "Frank País". Complejo ortopédico Internacional "Frank País". [en línea]: <http://cencomed.sld.cu/socbio2007/trabajos/pdf/t029.pdf>

5. DISEÑO METODOLÓGICO

Para el desarrollo del proyecto se realizó un estudio de investigación básica aplicada en un modelo animal en el cual para poder cumplir con los objetivos propuestos, se consideraron las siguientes fases:

5.1. FASE BASE

Estuvo dada por la documentación e información empleada para la implementación de la técnica de fijación según los objetivos de la investigación, se realizó mediante la búsqueda de material en diferentes bases de datos en las cuales el patrón de búsqueda estuvo dado por palabras claves como: creación del defecto óseo, regeneración ósea, sistemas de fijación y su aplicación en ratas. Lo que permitió una filtración de la información, para la obtención de la documentación necesaria según el fin del proyecto.

5.2. FASE 1. ELECCIÓN DEL SISTEMA DE FIJACIÓN

El proceso de elección de sistema de fijación a implementar en las ratas, se realizó mediante una revisión bibliográfica profunda y específica basada en la fase base.

Para la elección del sistema de fijación se consideraron algunos modelos empleados en investigaciones aplicadas en animales con objetivos y fines similares a los planteados inicialmente, logrando diferenciar cuál de estos era la mejor opción teniendo en cuenta que iba a ser implementado (ratas) y considerando factores como el acceso a maquinaria para el desarrollo de este, el tipo de material a emplear, las propiedades tanto físicas como mecánicas de este, la viabilidad económica para la realización e implementación del sistema y la facilidad para disponer de este teniendo en cuenta la cantidad de ensayos a realizar.

5.3. FASE 2. ELECCIÓN DE MATERIAL

Para la elección final del material se tuvo en cuenta propiedades químicas, físicas y mecánicas que permitieran el correcto desarrollo del tejido después de ser implantado teniendo en cuenta el constante contacto con los tejidos internos de la

rata debido a su ubicación (fémur) y el tipo de sistema a implementar (fijador interno).

Entre las características principales se buscaron procesos de biodegradabilidad, biocompatibilidad y resistencia a las fuerzas aplicadas por el animal (tensión - compresión) y el peso. Evitando complicaciones como el rechazo al material, infección de los tejidos, muerte de las células aledañas, falla del material causando el daño del hueso, fatiga por sobre esfuerzos del animal y dificultad para desplazarse.

La facilidad de conseguirlo en el mercado y su bajo costo fueron otros dos factores relevantes que se consideraron para elegir el material finalmente, así como el acceso a la maquinaria necesaria para trabajar el material, siendo esta la impresora 3D donde se realizó cada una de las impresiones del sistema de fijación, estando dicha maquina ubicada en la misma Universidad Autónoma de Occidente, lo que incurrió en la disminución de costos de fabricación

5.4. FASE 3. PRUEBAS DE RESISTENCIA DEL MATERIAL.

Para corroborar que el material seleccionado fue el adecuado, se realizaron dos tipos de pruebas según las especificaciones de la normativa propuesta la ASTM 695 y ASTM D638 - 08 prueba de compresión y prueba de tensión respectivamente, con las cuales se buscaba asegurarse de que el sistema de fijación soporta el peso de la rata y la carga ejercida por este ante el movimiento y/o quietud del animal.

Las pruebas consistieron básicamente en someter al material a fuerzas de compresión y tensión, mediante la ayuda de la máquina universal de ensayos marca INSTRON referencia 3366 para la cual se requirió el diseño de probetas de forma determinada en las especificaciones de la norma según las dimensiones del sistema a implementar:

5.4.1 Prueba de tensión según la normativa ASTM D638 – 08. La prueba de tensión es considerada uno de las más importantes para determinar las propiedades mecánicas de los materiales.

La prueba consistió en someter una pieza (probeta) de dimensiones normalizadas

(estándar según la norma) a un esfuerzo de tracción continuo (tendiendo a estirar el material).

Para la elección de la probeta según los tipos encontrados en el cuadro 1. Se observó cuál de los cinco tipos se adaptaba mejor al tamaño (dimensiones) del sistema de fijación, siendo este el tipo V (columna amarilla) como se puede ver a continuación:

Cuadro 1. Dimensiones de los tipos de probetas para realizar la prueba de tensión, columna amarilla, modelo seleccionado. Unidades en milímetros

Dimensiones	7(0,28) o menos		entre 7 a 14 (0,28 a 0,55)	4(0,16) o menos	
	Tipo I	Tipo II		Tipo IV	Tipo V
			Tipo III		
Ancho de la sección estrecha	13 (0.50)	6 (0.25)	19 (0.75)	6 (0.25)	3.18 (0.125)
Longitud de la sección estrecha	57 (2.25)	57 (2.25)	57 (2.25)	33 (1.30)	9.53 (0.375)
Ancho total, min	19 (0.75)	19 (0.75)	29 (1.13)	19 (0.75)	...
Ancho total, min	9.53 (0.375)
Longitud total, min	165 (6.5)	183 (7.2)	246 (9.7)	115 (4.5)	63.5 (2.5)
Longitud calibradora	50 (2.00)	50 (2.00)	50 (2.00)	...	7.62 (0.300)
Longitud calibradora				25 (1.00)	...
Distancia entre los puños	115 (4.5)	135 (5.3)	115 (4.5)	65 (2.5)	25.4 (1.0)
Radio de	76	76	76 (3.00)	14	12.7 (0.5)

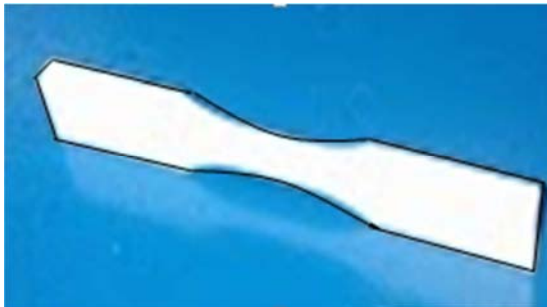
Cuadro 1. (Continuación)

empalme	(3.00)	(3.00)		(0.56)	
Radio exterior (tipo IV)	25 (1.00)	...

Fuente: Standard Test Method for tension Properties of Rigid Plastics D638 – 08

Dimensiones con las cuales se procedió a realizar el diseño de la probeta (ver figura 2) con la ayuda del programa de diseño Solid Works para su posterior impresión en la máquina de impresión 3D (makerbot replicator 2 desktop 3D printer).

Figura 2. Probeta empleada para prueba de tensión.



Fuente: Standard Test Method for tension Properties of Rigid Plastics D638 – 08

Ya con la probeta impresa se realizó la prueba de tensión, ubicando la probeta en la máquina, y configurando adecuadamente el software según la norma (velocidad de alargamiento estándar 1mm/min y frecuencia de muestreo 2 puntos/s).

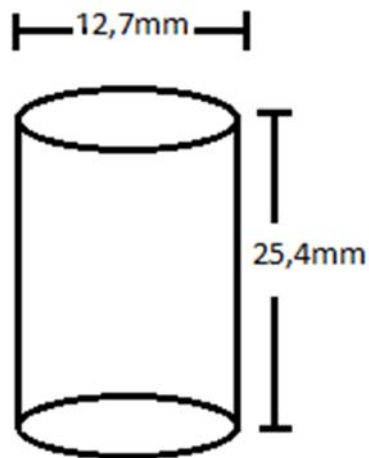
5.4.2 Prueba de compresión según la normativa ASTM 695. Se colocó la probeta entre las placas de compresión paralela a la superficie de la máquina universal de ensayos marca INSTRON referencia 3366, esta se comprimía, a una velocidad uniforme y estándar 1,3mm/min. La carga máxima se registró junto con los datos de tensión-deformación.

El tamaño de la probeta suele ser en forma de bloques o cilindros. Para ASTM, los

bloques típicos son 12,7 x 12,7 x 25,4mm (½ por ½ por 1 pulgada) (ver figura 3), y los cilindros son de 12,7 mm (½ pulgadas) de diámetro y 25,4 mm (1 pulgada) de largo, para este caso se empleó la forma cilíndrica en la probeta.

Con respecto a la configuración de los parámetros del software se tuvo en cuenta una velocidad de compresión estándar 1,3mm/min, frecuencia de muestreo 2 puntos/s, temperatura 23°C y un porcentaje de humedad relativa del 50%. En este caso la temperatura fue de 24°C y el porcentaje de humedad relativa del 61% valores medidos con el termohidrómetro.

Figura 3. Probeta cilíndrica para prueba de compresión.



Fuente: Standard Test Method for Compressive Properties of Rigid Plastics D695 – 02a

5.5. FASE 4. PRUEBAS DEL SISTEMA DE FIJACIÓN

Para efectos de seguridad y confiabilidad se realizaron algunas pruebas *in vitro*, en madera antes de intervenir directamente en el hueso de la rata, para evitar infringir daño en los tejidos del animal por el posible fallo del material o el sistema.

Las pruebas consistieron en implantar el sistema de fijación en pequeños trozos de madera de dimensiones similares a las del hueso de la rata, teniendo en cuenta

que el comportamiento del hueso es muy similar al de la madera, de ahí el por qué probar en este.

Inicialmente con la ayuda de un motortool y una broca se realizaron los orificios en la madera, se posicionó encima de esta el sistema de fijación el cual tenía la guía de los orificios a generar, esto mismo se probó en varios trozos de madera, para así observar las posibles variantes, complicaciones, y plantear los inconvenientes para solucionarlos antes de realizar algún procedimiento *in vivo*.

5.6. FASE 5. GENERACIÓN DEL DEFECTO ÓSEO CRÍTICO

Para la realización de la intervención quirúrgica y generar el defecto óseo se debió inicialmente tener en cuenta la anestesia del animal, y la intubación; para la anestesia se empleó pentobarbital sódico con una dosis de 40mg/Kg vía intraperitoneal y para la intubación, se usó una cánula de 20Ga marca Braun; se procedió a abrir la boca del animal, se sacó un poco la lengua, y con la ayuda de un baja lenguas se abrió espacio para poder observar por donde iba introducido el catéter el cual estaba conectado al ventilador; una vez adentro se encendió el ventilador con una frecuencia de 70 respiraciones por minuto y se comprobó que quedara bien posicionado (notándolo con la obstrucción de la salida de aire para inflar los pulmones).

La incisión se hizo de forma longitudinal sobre el muslo derecho del animal con un bisturí #10, se cortó el tejido entre los músculos sin dañarlos de tal forma que quedara expuesto el fémur desde la cabeza hasta los cóndilos; se retiraron los tejidos que se encontraban sobre el fémur y se abrió espacio con la ayuda de ganchos de piel, un elevador de periostio (marca dimeda) y un elevador artesanal, para así poder trabajar sobre el fémur. Posteriormente se ubicó la placa sobre el hueso y se hicieron los huecos con el motortool con pedal adaptado y una guaya para su fácil manipulación y control; se emplearon brocas de 0.6mm de diámetro. A medida que se abrían los huecos, se posicionaban los alambres de Kirschner (marca KIs Martin).

Para crear el defecto óseo, fue necesario retirar tres de los alambres de la placa dejándola ajustada solo por uno de estos (en el extremo cercano a la cadera), para correr la placa sin perder la posición del sistema de fijación y poder crear el defecto.

Para generar el defecto se usó una sierra oscilante la cual se creó a partir de una

sierra circular de joyería. Esta sierra se adaptó al dremel (motortool) para ser usada y cortar más fácilmente el hueso; Se sacó una porción de hueso de aproximadamente 6mm, el cual se ubicó en una posición central tanto de la placa como del hueso. Ya creado el defecto se fijó de nuevamente la placa.

5.7. FASE 6. PRUEBA DE RAYOS X PARA OBSERVAR EL CORRECTO FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA APLICADO.

Se realizaron tres pruebas de rayos x por animal en las cuales, en la etapa inicial (primera prueba) se buscaba observar el hueso de la rata para su posterior intervención siendo esta la intervención quirúrgica para el posicionamiento del sistema de fijación y la generación del defecto óseo crítico. Una semana después se realizó una segunda prueba radiológica donde se observaron los resultados postquirúrgicos para determinar si el sistema quedó bien ubicado en el fémur de la rata y que de igual forma el defecto óseo haya sido generado correctamente. La última prueba fue tomada tres semanas después de la anterior evidencia y consistió en una forma de control y seguimiento del procedimiento realizado, para garantizar que el sistema de fijación implementado si estuviera cumpliendo con su función, evitar que haya una regeneración espontanea del tejido óseo mediante la correcta sujeción de los extremos de los huesos.

6. RESULTADOS

Se eligió y aplicó de forma adecuada un sistema de fijación interno que brindó y garantizó la estabilidad del defecto óseo después de ser implementado. Proceso que se corroboró mediante la ayuda de imágenes de diagnóstico las cuales permitieron visualizar la estabilidad del hueso brindada por la correcta sujeción del sistema de fijación al fémur de la rata, como se muestra paso a paso a continuación

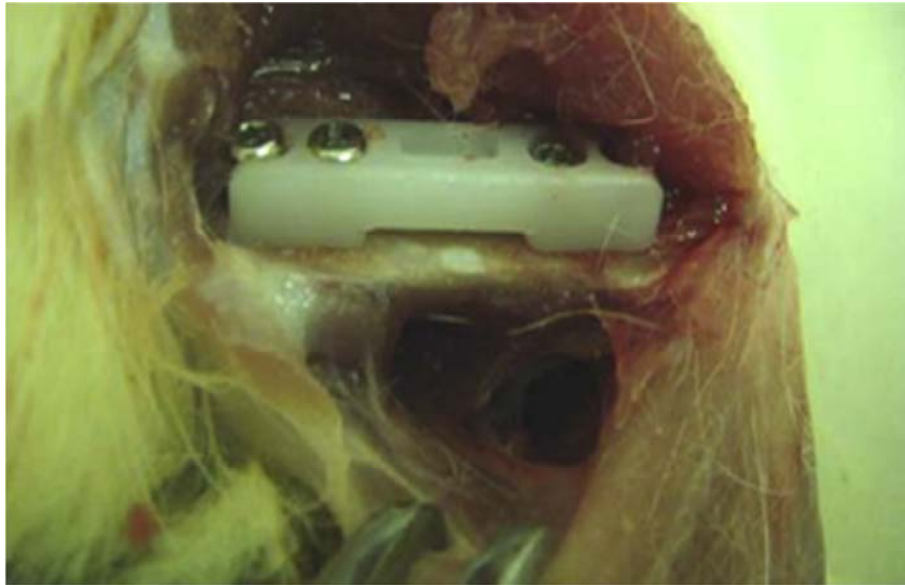
6.1 FASE 1. ELECCIÓN DEL SISTEMA DE FIJACIÓN

Como medida inicial las magnitudes estipuladas para el tamaño real del sistema de fijación se tuvo en cuenta el peso de las ratas (± 300 gramos), por lo que la carga a soportar debe ser 3 veces el peso del animal siendo este un valor de 9N aproximadamente; el tamaño del fémur de las ratas promedio es de 25mm (longitud sin tener en cuenta las cabezas femorales) y el grosor 3mm.

Se realizó la elección del sistema de fijación teniendo en cuenta el modelo de sistema de fijación empleado en un estudio de regeneración ósea también aplicado en ratas¹¹⁸ (ver figura 4).

¹¹⁸ Zhang Z, Teoh S, Chong M, Lee E, Tan L, Mattar C, Fisk N, Choolani M, Chan J. Neo-vascularization and bone formation mediated by fetal mesenchymal stem cell tissue-engineered bone grafts in critical-size femoral defects. *Biomaterials* 31 (2010) 608–620.

Figura 4. Sistema de fijación.



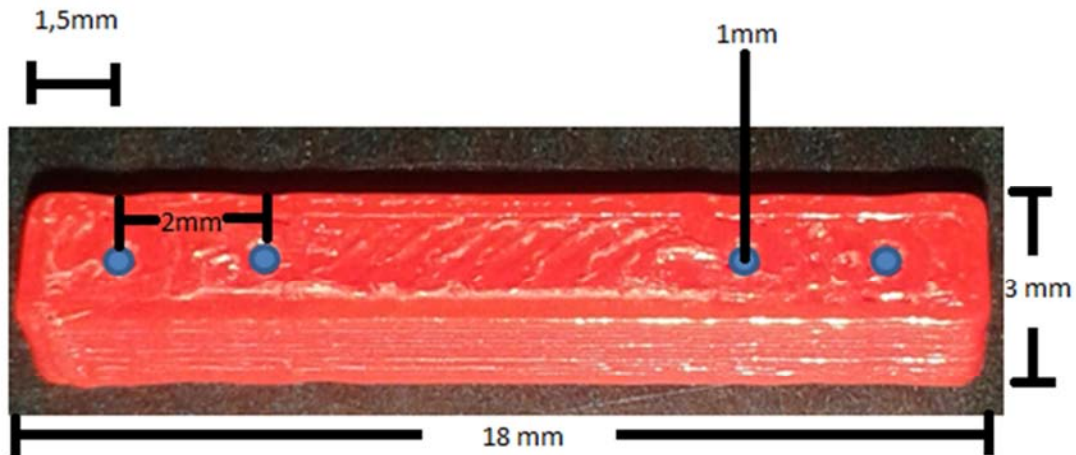
Fuente: Zhang Z, Teoh S, Chong M, Lee E, Tan L, Mattar C, Fisk N, Choolani M, Chan J. Neo-vascularization and bone formation mediated by fetal mesenchymal stem cell tissue-engineered bone grafts in critical-size femoral defects. *Biomaterials* 31 (2010) 608–620.

Y se procedió a desarrollar la caracterización y modificación del sistema de fijación a emplear.

El sistema de fijación final a implementar consistió en una placa rectangular compacta de 3mm de grosor y 18mm de largo, dimensiones que se determinaron teniendo en cuenta el largo del hueso de las ratas a trabajar (30 mm) valor el cual comprende las cabezas femorales, que en este caso no se tendrán en cuenta por lo que se reduce a una longitud de 25mm.

En los extremos de la placa se realizaron dos orificios circulares de 1 mm de diámetro cada uno, a 2mm de separación el uno del otro, los cuales tienen como fin sujetar la placa al hueso para evitar efectos de movimiento o rozamiento entre estos (ver figura 5).

Figura 5. Sistema de fijación empleado.



En los orificios circulares ubicados en los extremos de la placa, para completar la fijación adecuada y correcta, se ubicaron, alambres de Kirschner (referencia K1023) de 1mm de diámetro, siendo estos de acero inoxidable, para evitar la generación de infecciones debido a la exposición y contacto con diferentes fluidos. La longitud determinada para cada alambre es de 25mm, de los cuales entre 4 y 5 mm fueron roscados para que estos queden fijos en el hueso, previniendo la liberación inoportuna de estos con el tiempo. La punta de cada segmento fue en forma de diamante debido a que a la hora de la penetración en el hueso fuera de forma guiada previniendo el daño tanto de la placa como del hueso y el tejido.

6.2. FASE 2. ELECCIÓN DEL MATERIAL

La evaluación de características como biocompatibilidad, biodegradabilidad, bioabsorción, resistencia mecánica y sus propiedades físicas, químicas y mecánicas, además de la facilidad de obtenerlo en el mercado y su costo (50 dólares el carrete de 1Kg) hicieron del PLA el material indicado para la implementación del sistema de fijación empleado.

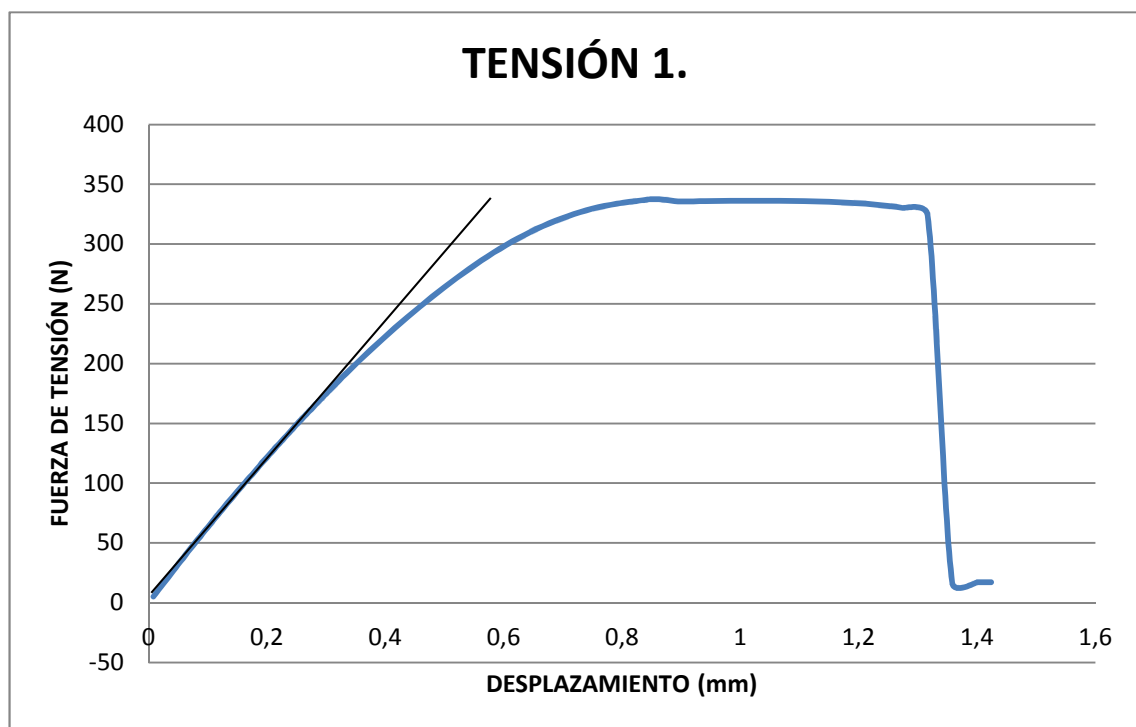
Otro factor importante que se consideró fue la facilidad de acceso a la maquinaria necesaria para trabajar el material, siendo esta la impresora 3D donde se realizó cada una de las impresiones del sistema de fijación, estando dicha máquina ubicada en la misma Universidad Autónoma de Occidente, lo que incurrió en la disminución de costos de fabricación.

6.3. FASE 3. PRUEBAS DE RESISTENCIA DEL MATERIAL.

A continuación se muestran las gráficas obtenidas en el primero de los cinco ensayos realizados al material.

6.3.1. Prueba de tensión según la normativa ASTM D638 – 08

Figura 6. Gráfica de Ensayo 1 prueba de tensión PLA.



En la Gráfica vemos la rigidez del material la cual corresponde a la pendiente de la curva en su porción lineal inicial, siendo esta un valor de 634,80 N/mm, magnitud que cuantifica cuanto resiste el material al sufrir diversas configuraciones de carga, mostrando esta la capacidad de un elemento estructural para soportar esfuerzos sin adquirir grandes deformaciones y/o desplazamientos,

correspondiendo 634,80N/mm al esfuerzo necesario para para producir una deformación permanente o falla del material¹¹⁹.

El valor de la resistencia está dado por la carga máxima que se registró durante el ensayo y corresponde al punto más alto de la gráfica, logrando entonces esta un valor de 337,595N. Valor que indica que el material soporta la carga generada por el peso de la rata y las fuerzas experimentadas en el fémur de este por el continuo movimiento en el que vive, superando por una gran diferencia los 9N que como requisito debía soportar para ser el material apto.

En el siguiente cuadro 2 se muestran los valores obtenidos en los otros cuatro ensayos restantes:

Cuadro 2. Valores de rigidez y resistencia del PLA.

NÚMERO DE ENSAYO	RIGIDEZ (N/mm)	RESISTENCIA (N)
2	754,7904696	397,095
3	594,414214	301,594
4	701,5302288	339,223
5	788,0652994	400,11

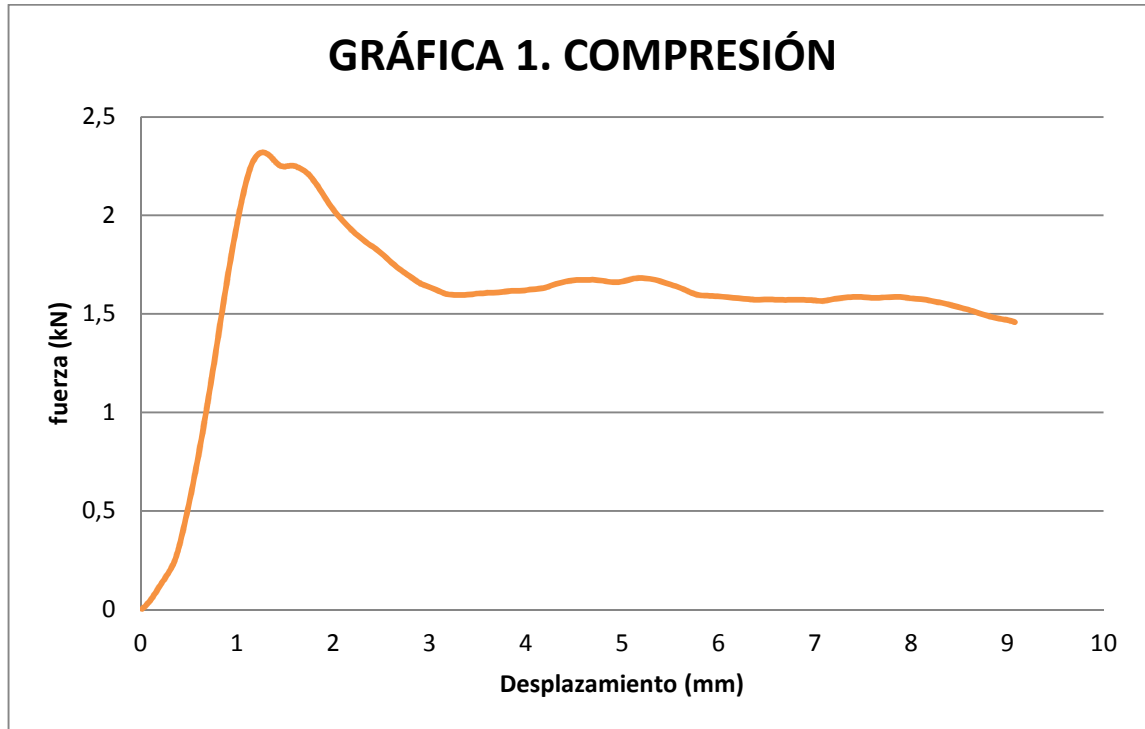
Tabla en la cual vemos como también se superan los 9N por valores muy lejanos, con diferencias mayores a 200N.

Ver anexos A.

¹¹⁹ Alvares manilla A, Anguas P, Salazar A. Evaluación indirecta de los módulos elásticos de rigidez in situ y la relación entre v_p/v_s y el ángulo de fricción interna. Publicación Técnica No. 225 Sanfandila, Qro, 2003.

6.3.2 Prueba de compresión según la normativa ASTM D695

Figura 7. Gráfica de Ensayo prueba de compresión PLA.



Al observar la gráfica vemos como el pico más alto corresponde a 2320,068N siendo este el valor de la resistencia experimentada al sufrir una carga tal que generó la compresión del material, viendo de igual forma como el material elegido (PLA) es el adecuado en cuanto a resistencia puesto que demuestra soportar cargas superiores a 9N, que es el valor mínimo que el material debía resistir pues corresponde a la magnitud triplicada del peso de la rata.

Se observó el mismo patrón en los cinco ensayos realizados como se puede ver en el cuadro 3.

Cuadro 3. Valores de la resistencia del PLA

NÚMERO DE ENSAYO	RESISTENCIA (N)
------------------	-----------------

Cuadro 3. (Continuación)

2	2109,031
3	2137,583
4	2164,008
5	2181,069

Ver anexo B.

6.4 Fase 4. Pruebas del sistema de fijación

Al realizar tres pruebas con tres sistemas de fijación impresos de PLA, se encontró que por ser el material empleado (PLA) un biopolímero termoplástico, con el calor sufre cambios en su estructura hasta llegar a la deformación, situación que se observó al hacer uso del motortool e intentar abrir el agujero en el hueso con el sistema de fijación posicionado en este, cómo la velocidad del motortool inicialmente no se podía disminuir por sus características y botón de graduado, al iniciar la penetración del hueso con la broca a tan alta velocidad por las revoluciones que este maneja, se generó calor, lo que en el primer sistema de fijación probado, resultó siendo un punto a favor, puesto que al introducir el alambre de Kirschner este quedó muy bien sujetado debido a que cuando se enfrió el material, se generó un excelente agarre, situación buscada desde un principio para evitar la posible liberación de estos en la rata pudiendo ocasionar daño en los tejidos del animal.

En el segundo ensayo, se realizó la misma prueba pero en este caso la velocidad a la que gira la broca generó demasiado calor lo que indujo la deformación del sistema de fijación en uno de sus extremos, ocasionado que los dos agujeros de sujeción se volvieran uno entre sí.

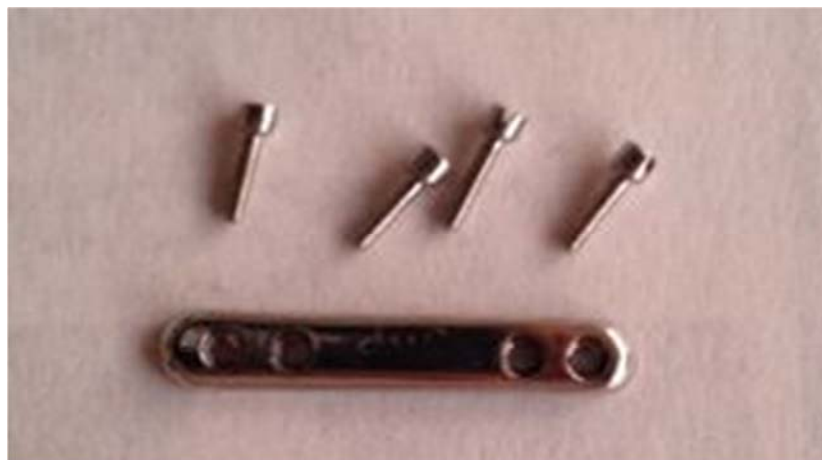
En el tercer ensayo, la velocidad volvió a ser inconveniente, pues el calor que genera al estar posicionado en una misma ubicación genera cambios inmediatos en el material hasta deformarlo por lo que se llegó a la conclusión de buscar un método de poder modificar la velocidad y manipularla de una forma manual definiendo así la cantidad de revoluciones a las que debía girar, para lo cual fue necesario adaptar un sistema mecánico de pedal al motortool y una guaya para

una más fácil manipulación de este y un mejor desempeño a la hora de realizar la intervención.

Otro parámetro importante a tener en cuenta además por las propiedades químicas, físicas y la composición del material es el evitar ubicar mucho tiempo en el mismo punto de penetración la broca, puesto que al estar en una misma posición un tiempo determinado, esto genera cambios en el material por la generación de calor.

A partir de dichos resultados, se consideró necesario tener un segundo sistema de fijación, el cual consistió en la misma placa de iguales dimensiones pero en otro material siendo este el acero inoxidable que por las características anteriormente nombradas resultó ser un material que justifica el uso seguro para ser implementado en el dispositivo de fijación para la estabilidad absoluta de un defecto óseo crítico a largo plazo (ver figura 8).

Figura 8. Sistema de fijación en acero inoxidable.



6.5 Fase 5. Generación del defecto óseo crítico

En la intervención quirúrgica se trabajó con una rata de un peso equivalente a 250 gramos, en la cual se realizó la incisión en el muslo derecho de forma longitudinal con un bisturí #10.

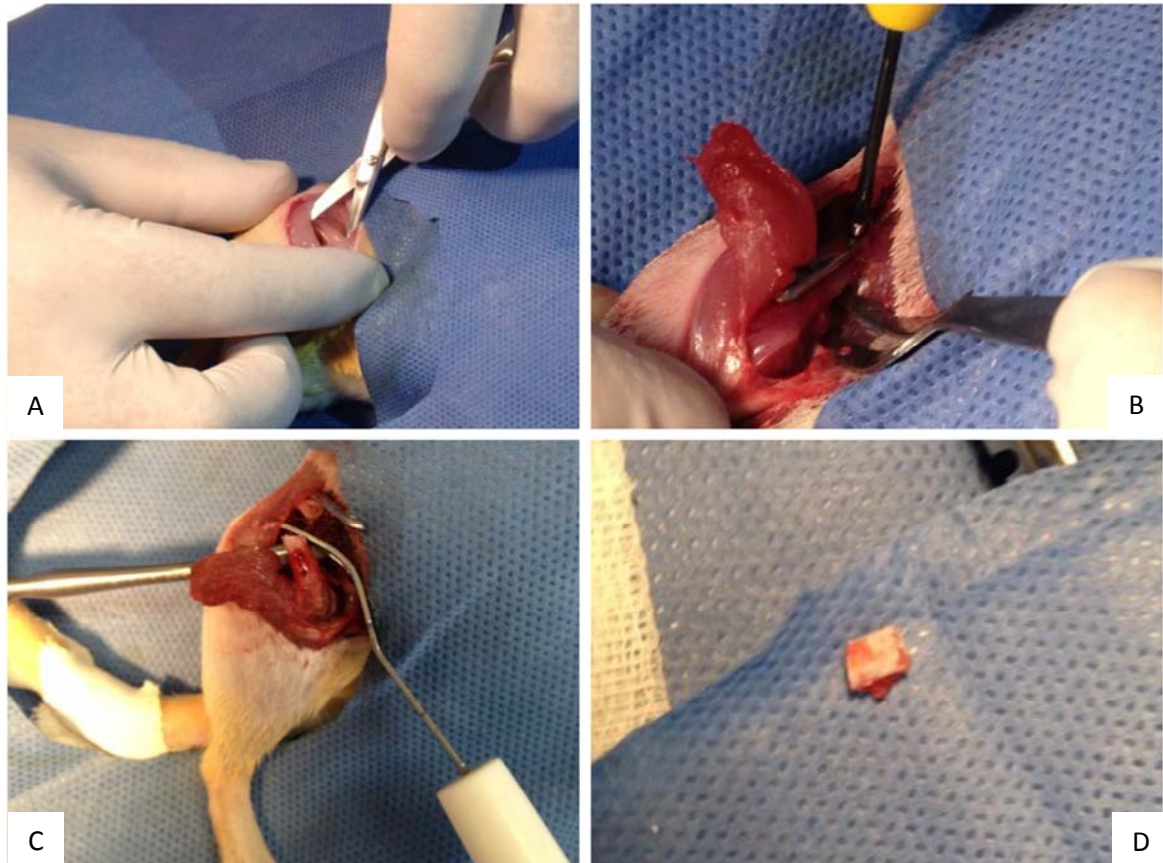
Fue necesario emplear materiales como ganchos de piel, un elevador de periostio y un elevador artesanal (diseñado previamente) para poder abrir espacio suficiente para poder trabajar sobre el fémur evitando el daño de los tejidos circundantes.

Para la realización del defecto óseo crítico fue necesario ubicar inicialmente el sistema de fijación, antes de generar el defecto óseo ya que infringir en el orden de estos dos procesos complicaba la ubicación posterior del sistema de fijación debido a que al sacar la porción de hueso, el fémur quedaba dividido en dos, lo que hubiera generado inestabilidad y una mayor dificultad en el posicionamiento del sistema de fijación.

Lo anteriormente planteado generó un poco de dificultad porque al poner el sistema de fijación y realizar el defecto tocó mover el sistema dejándolo sujeto solo a un extremo, lo que produjo un cambio de posición de los alambres para la adecuada sujeción.

Finalmente se generó el defecto óseo y el correcto posicionamiento del sistema de fijación como lo vemos en la (ver figura 9).

Figura 9. Intervención quirúrgica para posicionamiento del sistema de fijación. A) realización del corte longitudinal en muslo derecho de la rata. B) incisión hasta el hueso evitando daño en los tejidos circundantes. C) Generación defecto óseo. D) Segmento de 6mm de hueso retirado.



7. CONCLUSIONES

Al realizar la elección del sistema de fijación se determinó cómo el trabajar con un sistema de fijación interno evita complicaciones a la hora de realizar la intervención quirúrgica para posicionar dicho sistema y la recuperación con el tiempo del animal. Según la revisión de lo propuesto en la literatura, se confirmó como los sistemas de fijación interna evitan en su gran mayoría posibles agentes generadores de problema como los son la infección por contacto directo con el medio ambiente, la extracción del sistema de fijación, la dificultad para realizar las actividades normales.

Las dimensiones del sistema de fijación y las formas de sujeción (alambres de Kirschner) son de primordial importancia debido al tamaño del hueso de la rata y el grosor, a la hora de realizar penetraciones con la broca, se podía generar la falla inmediata del hueso induciendo una fractura en cualquier momento por lo que el diseño del sistema implementado resultó tener las medidas y distancias adecuadas para evitar infringir en el daño del hueso al penetrarlo varias veces.

Se observó como la resistencia a la carga a la que puede estar expuesto el animal permite definir el poder o no emplear cierto material sin dejar a un lado sus demás propiedades mecánicas, físicas y químicas que lo hacen candidato ideal, por lo que se consideró necesario realizar pruebas de resistencia según la normativa existente, el tipo de material trabajado y las fuerzas a soportar; pudiendo concluir como el PLA fue el material adecuado a emplear en el sistema de fijación debido a que como requerimiento base debía soportar como mínimo tres veces el peso de la rata, valor que tanto en las gráfica de tensión como compresión fue superado por gran diferencia.

Patrones de biodegradabilidad como de biocompatibilidad marcaron la diferencia a la hora que se definió al PLA como el material apto para emplear debido a que estas dos propiedades evitan complicaciones de rechazo, posible infección y/o muerte del tejido circundante.

El realizar pruebas de la implementación del sistema de fijación *in vitro* antes de probar directamente en la rata permitió realizar cambios inmediatos en los implementos, necesarios para lograr el posicionamiento del tutor en el hueso y así evitar complicaciones en la cirugía que conllevaran al sufrimiento del animal.

Se consideró importante tener un segundo sistema de fijación diseñado de iguales dimensiones pero con distinto material en este caso el acero inoxidable, debido a posibles alteraciones en el material inicialmente elegido, ácido poliláctico al generarse calor a la hora de realizar la penetración con la broca en el sistema de fijación por las revoluciones a las que el motortool trabajaba.

Fue necesario establecer la modificación de parámetros y de herramientas como, el tiempo que se demoraba la penetración del sistema de fijación con la broca, puesto que al posicionarse un tiempo considerable en un mismo punto y por tratarse el PLA de un biopolímero termoplástico la tendencia es a deformarse con la presencia el calor, por lo que se debió realizar este procedimiento en un tiempo más corto evitando que se deformara el tutor.

8. DISCUSIÓN

Mediante el desarrollo de la investigación se tuvieron en cuenta diferentes tipos de sistemas de fijación, considerando entre estos sistemas de fijación internos y externos con varios diseños y formas de sujeción, buscando en estos características y propiedades que respondieran de forma adecuada a los objetivos propuestos en el estudio, obteniendo según los resultados de la investigación que implementar un sistema de fijación interno para brindar estabilidad al hueso y evitar la regeneración espontánea del mismo, es el método adecuado para el tratamiento de defectos óseos críticos en ratas Wistar, evitando complicaciones en el proceso de implementación en el animal y su posterior recuperación.

Los sistemas de fijación internos evitan complicaciones referentes a infección por contacto con el medio ambiente, fuerzas de rozamiento o fricción generadas por el continuo movimiento en que la rata se mantiene por ser un animal que en su mayoría de tiempo está activo. Por esto desde un inicio se descartó el uso de los sistemas de fijación externos.

Según las investigaciones recientes y datos bibliográficos, el sistema de fijación interno es el que proporciona mejores condiciones y resultados a la hora de ser implementado permitiendo definirlo como apto, a partir de lo cual el material se convierte en el otro patrón importante que se tuvo en cuenta para el desarrollo de este, debido a que se esperaba que tuviera propiedades de compatibilidad, no presentara proliferación de infecciones, no falla por fatiga o poca resistencia mecánica. Situaciones no observadas en los resultados ya que el PLA cuenta con características y propiedades de biocompatibilidad, biodegradabilidad, bioabsorción y resistencia mecánica, las cuales brindan la confiabilidad en el material por su adecuado desempeño al cumplir la función esperada sin complicaciones, proporcionando la estabilidad necesaria para soportar las cargas mecánicas ejercidas por las fuerzas de compresión y tensión, a las que el fémur de la rata está expuesto.

En cuanto a la resistencia mecánica del material, se esperaba poder soportar la carga ejercida por tres veces el peso del animal (9 Newtons), lo que al realizar las pruebas de tensión y compresión según la normativa existente, se observó cómo dicho valor es superado por diferencias superiores a 300N Y 2000N respectivamente, lo que garantiza que el material soporta las fuerzas experimentadas continuamente en el fémur del animal y descarta la posibilidad de falla del material después de ser implementado en la rata.

La generación del defecto óseo crítico, resultó ser un factor determinante para la adecuada sujeción del sistema de fijación, debido a que para poder realizar la fractura del hueso, fue necesario posicionar el sistema de fijación y al no quedar el espacio necesario para retirar el segmento de fémur, el ortopedista tuvo que retirar el sistema de fijación, situación que hizo perder la exactitud de la ubicación de este, lo que provocó una modificación no esperada de la posición del sistema de fijación al volver a ubicar los alambres de Kirschner para la sujeción final del sistema al hueso.

El método implementado, el material y los procesos realizados para cumplir a cabalidad los objetivos del proyecto fueron los adecuados, obteniendo una respuesta adecuada, ya que no se generaron alteraciones de la biomecánica de la rata (que fallará el hueso por el peso del tutor o sobrecarga continua, que le produjera fatiga, daño en los tejidos circundantes al fémur y/o sufrimiento del animal) situaciones esperadas desde un inicio.

BIBLIOGRAFÍA

ALBERT, H. BURSTEIN PH, D. TIMOTHY, M. WRIGHT PH, D. Fundamentals of orthopaedic biomechanic. Edit. Williams and Wilkins. (Baltimore, Maryland USA), 1994.

ALVARES MANILLA, A. ANGUAS, P. SALAZAR, A. Evaluación indirecta de los módulos elásticos de rigidez in situ y la relación entre ν_p/ν_s y el ángulo de fricción interna. Publicación Técnica No. 225 Sanfandila, Qro, 2003

ANDREASSEN, TT. FLEDELIUS, CH. EJERSTED, CH. OXLUND, H. Increases in callus formation and mechanical strength of healing fractures in old rats treated with parathyroid hormone. Acta Orthop Scand 2001; 72(3): 304–307.

ATHANASIOU, K. NIEDERAUER, G. AGRAWAL, C. LANDSMAN, A. Applications of biodegradable lactides and glycolides in podiatry. Implantable biomaterials 12(3). 1995. P 475 – 495.

BECK A, KRISCHAK G, SORG T, AUGAT P, FARKER K, MERKEL U, et al. Influence of diclofenac (group of nonsteroidal anti-inflammatory drugs) on fracture healing. Arch Orthop Trauma Surg 2003;123:327–32.

BOSTMAN, O. Clinical biocompatibility and degradation of polylevolactide screws in the ankle. Clin orth 320. 1995. P 101 – 109-

------. Foreign body reactions to fracture fixation implants on biodegradable synthetic polymers. J bone joint surg. (72B). 1990. P 592. -6.

BRUDER, S. KRAUS, K. GOLDBERG, V. KADIYALA, S. The effect of implants loaded with autologous mesenchymal stem cells on healing of canine segmental bone defects. *J Bone Joint Surg*. 1998; 80: 985-996.

BUCKWALTER, J. EINHORN, T. MARSH, L. Bone and joint Healing. CH8, RP-FPRG-0627.

CHANG, D. JUNG, H. RHEE, J. PAN, J. Homoferntative production of D- or L-lactate in metabolically engineered escherichia coli RRI". *Enviromental microbiology*. 65 (4) 1999. P 1384 – 1389

CHOI, P. OGILVIE, C. THOMPSON, Z. MICLAU, T, HELMS, JA.. Cellular and molecular characterization of a murine non-union model. *J Orthop Res* 2004;22:1100–7.

CLAES L, BLAKYTNY R, GOCKELMANN M, SCHOEN M, IGNATIUS A, WILLIE B. Early dynamization by reduced fixation stiffness does not improve fracture healing in a rat femoral osteotomy model. *J Orthop Res* 2009;27:22–7.

CLAES, L. MAURER-KLEIN, N. HENKE, T. GERNGROSS, H. MELNYK, M. AUGAT, P. Moderate softtissue trauma delays new bone formation only in the early phase of fracturehealing. *J Orthop Res* 2006;24:1178–85.

CLAES L, SCHMALENBACH J, HERRMANN M, OLKÜ I, GARCIA P, HISTING T, et al. Hyperhomocysteinemia is associated with impaired fracture healing in mice. *Calcif Tissue Int* 2009;85:17–21.

CONNOLLY, C. Li G, BUNN, J. MUSHIPE, M. DICKSON, G. MARSH, D. A reliable externally fixated murine femoral fracture model that accounts for variation in movementbetween animals. *J Orthop Res* 2003;21:843–9.

DANNER, H. MADZINGAIDZO, L. THOMASSER, C. "thermophilic production of lactic acid using integratd membrane bioreactor systems coupled with monopolar electro dialysis". *microbiology and teconology*. Springer verlag. 2002.

DIMITRIOU, R. TSIRIDIS, E. GIANNOUDIS, PV. Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury. Int J Care Injured* 2005; (36): 392-1404.

DINATALE, E. GUERCIO, E. Regeneración ósea guiada (GBR). Revisión de la literatura. *Acta Odontol Venez* 2008; 46(4): 554-561.

DUQUE, H. CHAVES, N. OLATE, S. MIRANDA, M. DE ALBERGARIAJ. MAZZONETTO, R. Histological Analyses of Osseous Repair Defects. Recognized of Critic Defects. *Int. J. Morphol.* 27(4):1121-1127, 2009.

EITENMULLER, J. DAVID, A. POMMER, A. MURHR, G. Surgical treatment of ankle joint fractures with biodegradable screws and plates of poly – l – actide. *Chirurg.* 1996. 67 (4) p 413 – 418.

ESKELUND, V. PLUM, CM. Experimental investigations into the healing of fractures. *ActaOrthopScand* 1949;19:433–75.

GARCIA P, HERWERTH S, MATTHYS R, HOLSTEIN JH, HISTING T, MENGER MD, et al. The LockingMouseNail — a new implant for standardized stable osteosynthesis in mice. *J Surg Res* 2009;10 [Epub ahead of print].

GARCIA P, HOLSTEIN JH, HISTING T, BURKHARDT M, CULEMANN U, PIZANIS A, et al. A new technique for internal fixation of femoral fractures in mice: impact of stability on fracture healing. *J Biomech* 2008;41:1689–96.

GARCIA P, HOLSTEIN JH, MAIER S, SCHAUMLÖFFEL H, AL-MARRAWI F, HANNIG M, et al. Development of a reliable non-union model in mice. *J Surg Res* 2008;147:84–91

GIANNOUDIS, PV. DINOPOULOS, H., TSIRIDIS, E. Bone substitutes: An update. *Injury. Int J Care Injured* 2005; (36S): S20-S27.

GRÖNGRÖFT I, HEIL P, MATTHYS R, LEZUO P, TAMI A, PERREN S, et al. Fixation compliance in a mouse osteotomy model induces two different processes of bone healing but does not lead to delayed union. *J Biomech* 2009;42:2089–96.

HERNÁNDEZ FLORES, C. DELGADO, A. DOMINGUEZ HERNÁNDES, V.M. Evaluación biomecánica de un modelo de defecto óseo en tibia de rata. *Revista mexicana de ingeniería biomédica.* Vol XXXII Num 1. 2011. Pp 12 - 19

HISTING, T. GARCIA, P. HOLSTEIN, JH. KLEIN, M. MATTHYS, R. NUETZI, R. STECK, R. LASCHKE, MW. WEHNER, T. BINDL, R. RECKNAGEL, S. STUERMER, EK. VOLLMAR. B. WILDEMANN. Small animal bone healing models: Standards, tips, and pitfalls results of a consensus meeting.

HOLLINGER, JO. KLEINSCHMIDT, JC. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *J CraniofacSurg* 1990;2:237-43.

HOLSTEIN JH, MATTHYS R, HISTING T, BECKER SC, FIEDLER M, GARCIA P, et al. Development of a stable closed femoral fracture model in mice. *J Surg Res* 2009;153:71–5.

HOLSTEIN, JH. MENGER, MD. CULEMANN, U. MEIER, C. POHLEMANN, T. Development of a locking femur nail for mice. *J Biomech* 2007;40:215–9.

HUJANEN, M. LINKO, S. LINKO. effect of temperatura and various nitrogen sources on L(+) lactic acid production by lactobacillus casei. *microbiology biotechnology*. 45, 1996, p 307 – 313

----- Optimization of media and cultivation conditions for L(+)(S)- lactic acid production by lactobacillus casei NRRL B-441". *microbiology and biotechnology*. Springer verlag. 2001; DOI 10.1007/s002530000501.

IP W,Y. Polylactide membranes and sponges in the treatment of segmental defects in rabbit radii. *Injury*.2002; 33 S-B: 66-70.

JACOBS, G. AARON, TA. ASTROP, A. Estimating global road fatalities. London, Transport Research Laboratory, 2000 (TRL Report No. 445).

JR CLARK, HB. HAYES, PA. A study of the comparative effects of “rigid” and “semirigid” fixation on the healing of fractures of the mandible in dogs. *J Bone Joint Surg Am* 1963;45:731–41.

KEIBL, C. FÜGI, A. ZANONI, G. TANGL, S. WOLBANK, S. REDL, H. GRIENSVEN, M. Human adipose derived stem cells reduce callus volume upon BMP-2 administration in bone regeneration. *Injury Int J Care Injured* 2011.
KIMURA, H. OGURA. MORITERA, T. TABATA, IKADA. In vitro phagocytosis of polylactide microspheres by retinal pigment epithelial cells and intracellular drug release. *Curr. Eye Res.* 13(5). 1994. P 353 – 60

KON, E. MURAGLIA, A. CORSI, A. BIANCO, P. MARCACCIM. MARTIN I. BOYDE, A. RUSPANTINI, I. CHISTOLINI, P. ROCCA, M. GIARDINO, R. CANCEDDA, R. QUARTO, R. Autologous bone marrow stromal cells loaded onto porous hydroxyapatite ceramic accelerate bone repair in critical-size defects of sheep long bones. *J Biomed Mater Res.* 2000; 49:328-337.

KOPITS, E. CROPPER, M. Traffic fatalities and economic growth. Washington, DC, Banco Mundial, 2003 (PolicyResearchWorkingPaper No. 3035).

KRISCHAK GD, AUGAT P, SORG T, BLAKYTTY R, KINZL L, CLAES L, BECK A. Effects of diclofenac on periosteal callus maturation in osteotomy healing in an animal model. *Arch Orthop Trauma Surg* 2007;127:3–9.

----- . The non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac reduces appearance of osteoblasts in bone defect healing in rats. *Arch Orthop Trauma Surg* 2007;127:453–8.

LAMPRECHT, A. RODERO, H. SCHÁFER, U. LEER, C. biodegradable microparticles as a two- drug controlled release formulation: a pontencial treatment of inflammatory bowel disease. *Journal of controlled release.* 2000. 69:3:445 – 454.

LETTIN AW. The effects of axial compression on the healing of experimental fractures of the rabbit tibia. *Proc R Soc Med* 1965;58:882–6.

LEYTONA. GLAVISE GARCIA, J. MACHADO, A. ECHEVERRY, A.. Modelo de elementos finites para el analisis y diseño de fijadores externos para fracturas de huesos. VI congreso colombiano de elementos finitos y modelamiento numérico. Bogota. Mayo 2012.

LIEBSCHNER, MAK. Biomechanical considerations of animal models used in tissue engineering of bone. *Biomaterials* 2004; (25): 1697-1714.

LITCHFIELD J. Microbial production of lactic acid. *Microbiology.* 42, 1996, p 45 – 95.

LIZARBE, MA. Sustitutivos de tejidos: de los biomateriales a la ingeniería tisular. Rev R Acad Cienc Exact Fís Nat (Esp) 2007; 101(1): 227-249.

LUTOLF, MP. WEBER, FE. SCHMOEKEL, HG. SCHENSE, JC. KOHLER, T. MÜLLER, R. HUBBELL, JA. Repair of bone defects using synthetic mimetics of collagenous extracellular matrices. Nature Biotechnology 2003; (21): 513-518.

MALIZOS, K. ZALAVRAS, C. DAILIANA, Z. BERIS, A. The free vascularized fibula graft. IN: Reconstructive microsurgery. Texas: Landesbiocience; 2003. p. 154- 64.

MALIZOS, K. ZALAVRAS, C. SOUCACOS, P. BERIS, A. URBAINIAK, J. Free vascularized fibular grafts for reconstruction of skeletal defects. J Am AcadOrthopSurg, Vol 12, No 5, September/October 2004, 360-369

MANJULABALA, I. LUI, Y. EPARI, DR. ROSCHGER, P. SHELL, H. FRATZL, P. DUDA, GN. Spatial and temporal variations of mechanical properties and mineral content of the external callus during bone healing. Bone 2009; (45): 185-192.

MARÍN RUIZ, M. SAN HIPÓLITO MARÍN, L. BELARRA ARENAS, C. MARTÍN GÓMEZ, F. MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, JM. *Injertos sustitutos no óseos. Aportaciones del ácido poliláctico y poliglicólico.* Av Periodon Implantol. 2009; 21, 1: 45- 52.

MARLER, J. UPTON, J. LANGER, R. VACANTI, J. transplantation of cells in matrices for tissue regeneration. Advanced drug delivery reviews 1998. 33: 1-2:165 - 182

MARTIN, I. MURAGLIA, A. CAMPANILE, G. CANCEDDA, R. QUARTO, R. Fibroblast growth factor-2 supports ex vivo expansion and maintenance of osteogenic precursors from human bone marrow. *Endocrinology.* 1997; 138: 4456-4462. M. Salvado Muñoz, A. P. Martín Rodríguez, F. Collia Fernández, et al. 30

MATTHYS R, PERREN SM. SM, Internal fixator for use in the mouse. Injury 2009;Suppl 4:103–9.

MURRAY, CJL. LOPEZ, A. eds. The global burden of disease: a comprehensive

assessment of mortality and disability from diseases, injuries and risk factors in 1990 and projected to 2020. Cambridge, MA, Harvard School of Public Health on behalf of the World Health Organization and the World Bank, 1999 (Global Burden of Disease and Injury Series, Vol. I).

NAITIOVE, M. se prevé una bonanza de los biopolímeros más allá de los degradables. Tecnología de plásticos. 63, 1998l.

NAVARRO, M. MICHIARDI, A. CASTANO, O. PLANELL, JA. Biomaterials in orthopaedics. J R Soc Interface 2008; (5): 1137-1158. [online] Disponible en url: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2706047/>.

NUNAMAKER, DM. PERREN, SM. A radiological and histological analysis of fracture healing using prebending of compression plates. ClinOrthopRelat Res 1979;138: 167–74.

NYMAN, R. MAGNUSSON, M. SENNERBY, L. NYMAN, S. LUNDGREN, D. Membrane-guided boneregeneration. Segmental radius defects studied in the rabbit. *ActaOrthop Scand*. 1995; 66(2): 169-173.

OBSERVATORIO DE MOVILIDAD, BOLETÍN DE ACCIDENTALIDAD VIAL, cámara de comercio Bogotá, universidad los Andes, http://camara.ccb.org.co/documentos/4419_boletin_de_accidentalidad.pdf

OCHOANDIANO, S. Relleno de cavidades óseas en cirugía maxilofacial con materiales aloplásticos. Rev Esp Cirug Oral y Maxilofac[online]. 2007, vol.29, n.1, pp. 21-32. ISSN 1130-0558. Disponible en url: <http://dx.doi.org/10.4321/S1130-05582007000100003>.

ODERO, W. GARNER, P. ZWI, A. Road traffic injuries in developing countries: a comprehensive review of epidemiological studies. Tropical Medicine and International Health 1997; 2:445–460.

OLERUD, S. DANCKWARDT-LILLIESTRÖM, G. Fracture healing in compression osteosynthesis in the dog. J Bone Joint Surg Br 1968;50:844–51.

ORIHUELA, D. Tratamiento integral de fracturas expuestas complejas con gran

exposición óseo y tendinoso en miembros inferiores en el Hospital EsSalud La Oroya, 1995-2004. Lima- peru. 2008.

PAPE, HC. PUFE, TH. Bone defect and nonunions-What role does vascularity play in filling the gap? *Injury* 2010; (41): 553-554.

PEINADO, C. CATALINA, F. CORRALES, T. materiales polímeros degradables. *Revista plásticos modernos*. (479). 1996.

PERREN, SM. RAHN, BA. Biomechanics of fracture healing. *Can J Surg* 1980;23:228–32 Review.

PERREN, SM. RUSSENBERGER, M. STEINEMANN, S. MÜLLER, ME. ALLGÖWER, M. A dynamic compression plate. *Acta Orthop Scand Suppl* 1969;125:31–41.[4] Veneroni G, Boccadoro B, Pluchino F. Fixation of P-32 in the focus of a fracture and in osseous callus in the long bones in rabbits. *Arch Orthop* 1962; 75:1338–41.

PESCIALLO, C. VIOLLAZ, G. PASTRIÁN, D. ASTUDILLO, F. PRIMOMO, C. DEL SEL, H. Defecto segmentario de tibia de 14 cm. Transporte óseo con tutor externo monoplanar. *Rev. Asoc. Argent. Ortop. Traumatol.* vol.74 no.1 Ciudad Autónoma de Buenos Aires ene./mar. 2009

PRITCHARD, JJ. Repair of fractures of the parietal bone in rats. *J Anat* 1946;80:55–60.

PURAC. MEDICAL AND PHARMACEUTICAL IMPLANTS. Documentation Purac. Disponible en url: [http:// www.purac.com.hollande](http://www.purac.com.hollande) 1998.

RAMSÉS PÉREZ A. Desarrollo de un proceso de fabricación en serie de clavos de schanz y alambres de Kirschner. Universidad Central de Venezuela.

REICHERTA, JC. SAIFZADEHA, S. WULLSCHLEGERA, ME. EPARIA, DR. SCHUTZA, MA. DUDAC, GN. et al. The challenge of establishing preclinical models for segmental bone defect research. *Biomaterials* 2009; (30): 2149-2163.

RODRIGUEZ MILIÁN, L.M. Aceros inoxidables para implantes ortopédicos utilizados en la industria ortopédica del cono "Frank País". Complejo ortopédico Internacional "Frank País". [en línea]: <http://cencomed.sld.cu/socbio2007/trabajos/pdf/t029.pdf>.

ROJAS, S. DOMÍNGUEZ, VM. Procedimientos, técnicas y comunicaciones en injertos óseos, investigación e información en ortopedia. Acta Ortopédica Mexicana 2002; (16): 225-230.

ROY, VT. "lactic acid". Comprehensive biotechnology. 3, 1985. P 761 – 789.

RÖNTGEN V, BLAKYTNY R, MATTHYS R, LANDAUER M, WEHNER T, GÖCKELMANN M, et al. Fracture healing in mice under controlled rigid and flexible conditions using an adjustable external fixator. J Orthop Res 010;28:1456–62.

SALVADO, M. RODRIGUEZ, M. FERNANDEZ, C. DOMINGUIZ, J. MUÑOZ, C. BLANCO, J. study of bone regeneration by endomedullary implant of biomaterials. *Patología del Aparato Locomotor*, 2005; 3 (1): 24-30

SERNA, L. RODRIGUEZ, A. ALBAN, F. Ácido poliláctico (PLA): aplicaciones y propiedades. vol 5 - No 1. 2013

SCHMITZ, J. HOLLINGER, J. The critical size defect as an experimental model for craniomandibular non junction. *Clin Orthop Rel Res* 1986;205:299-304.

SCHOEN M, ROTTER R, SCHATNER S, MITTLMEIER T, CLAES L, VOLLMAR B, et al. Introduction of a new interlocked intramedullary nailing device for stabilization of critically sized femoral defects in the rat: a combined

SHARIR, A. BARAK, MM- SHAHAR, R. Whole bone mechanics and mechanical testing. *The Veterinary Journal* 2008; (177): 8-17.

SPENLEHAUER, G. microspheres a base de cisplatine et de polymeres bioresorbables du type poly-alpha-hydroxy-acides pour chimio-embolisation. Sciences pharmaceutiques. Université paris sud. 1987.

SURIDERP, C. Ullman's encyclopedia of industrial chemistry: ácido láctico. 5 edition. De barabra elvers, 1995. P97 – 104

TAKENAGA, M. YAMAGUCHI, Y. KITAGAWA, A. OGAWA, Y. MIZSSHIMA, IGARASHI, R. a novel sustained release formulation of insulin with dramatic reduction in initial rapid release. Journal of controlled release. 2002. 79: 1-3. P 81-91.

THOMPSON Z, MICLAU T, HU D, HELMS JA. A model for intramembranous ossification during fracture healing. J Orthop Res 2002;20:1091–8.

URIST, MR. MCLEAN, FC. Bone repairs in rats with multiple fractures. Am J Surg 1950;80:685–95.

VELÁZQUEZ CAYÓN R, MACIÁN A, PÉREZ DORAO B, TORRES D, GUTIÉRREZ J. Cicatriz fibrosa postquistecomía: importancia de la regeneración ósea guiada. Máster de Cirugía Bucal de la Universidad de Sevilla.

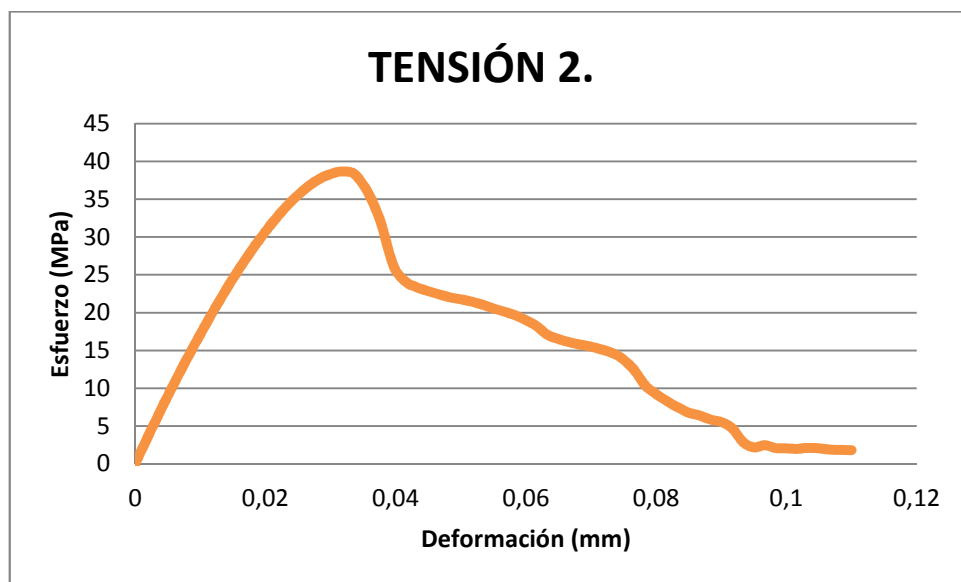
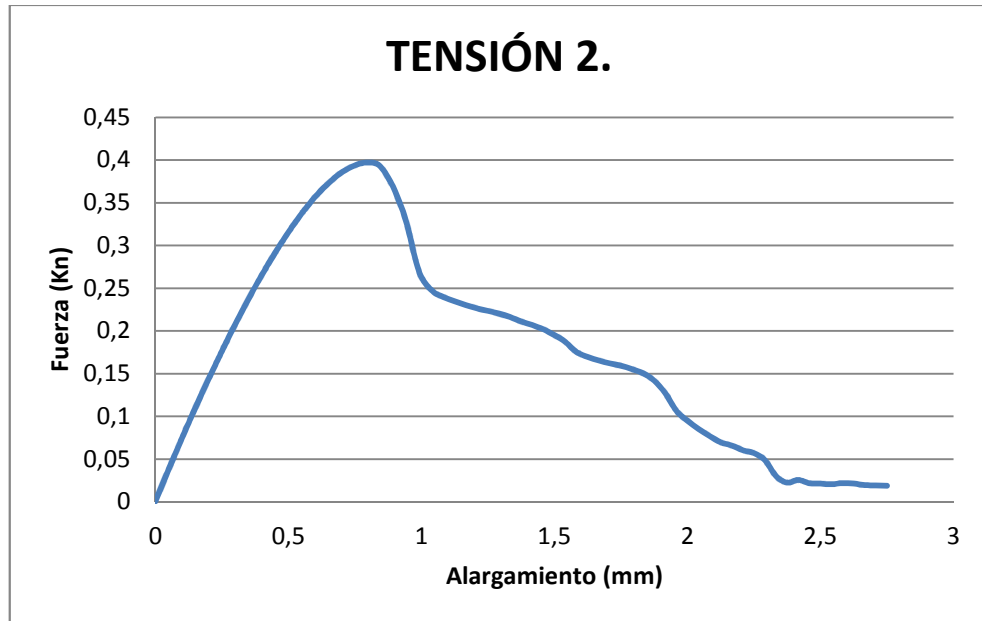
WILDEMANN, B. BAMDAD, P. HOLMERCH, HAAS, NP. RASCHKE, M. SCHMIDMAIER, G. Local delivery of growth factors from coated titanium plates increases osteotomy healing in rats. Bone 2004;34:862–8.

WILLIE B, ADKINS K, ZHENG X, SIMON U, CLAES L. Mechanical characterization of external fixator stiffness for a rat femoral fracture model. J Orthop Res 2009;27:687–93.

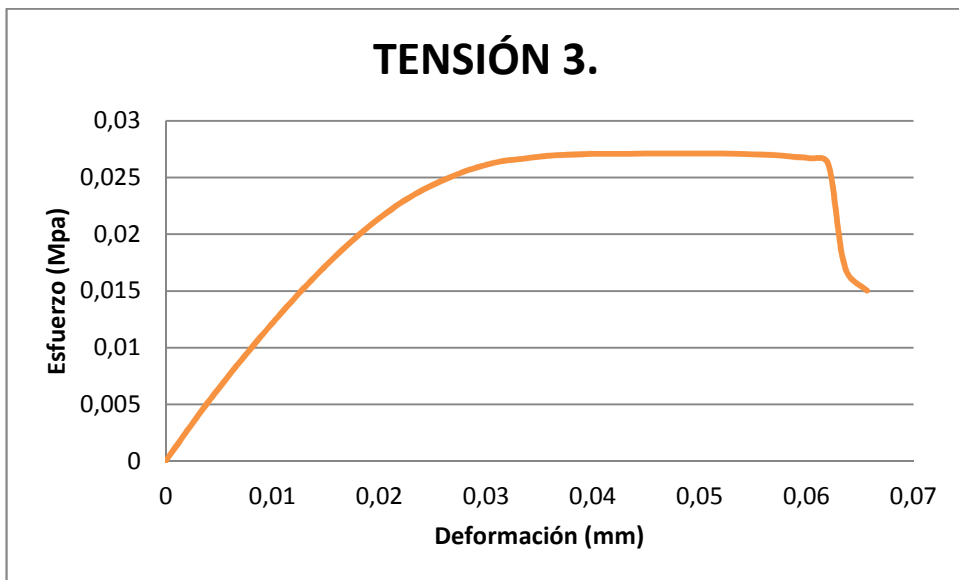
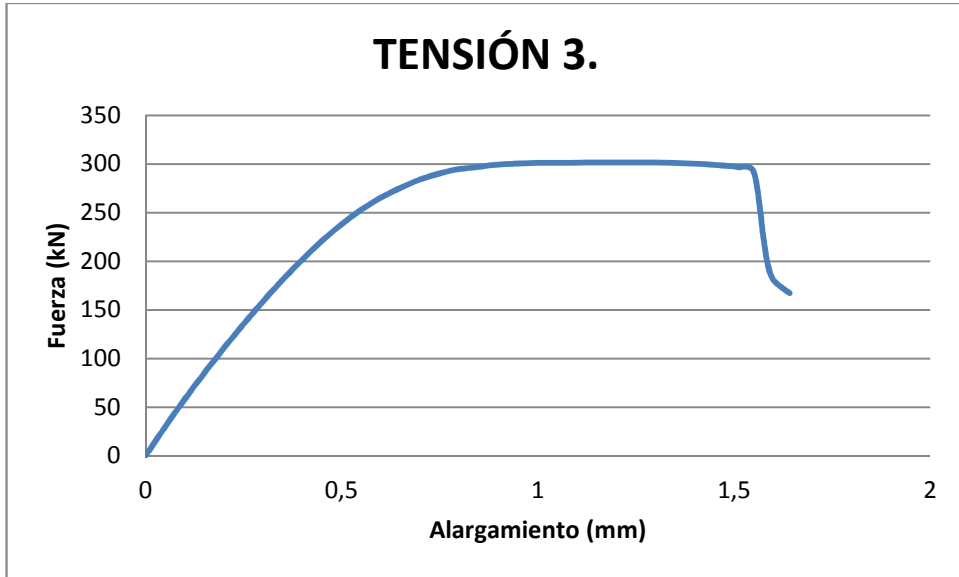
ANEXOS

ANEXOS A. PRUEBAS DE TENSIÓN CINCO ENSAYOS

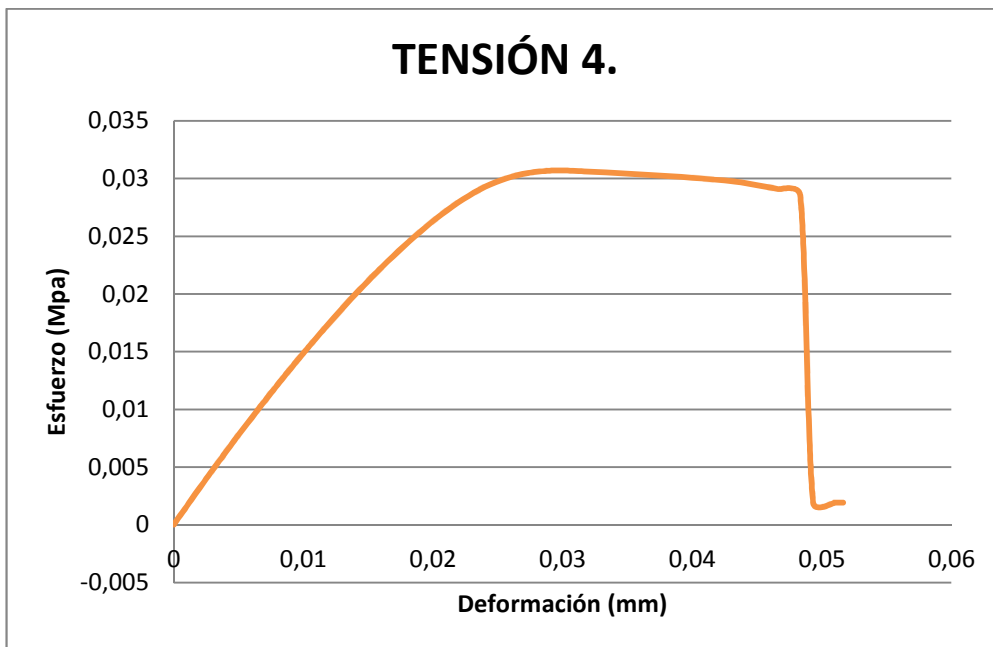
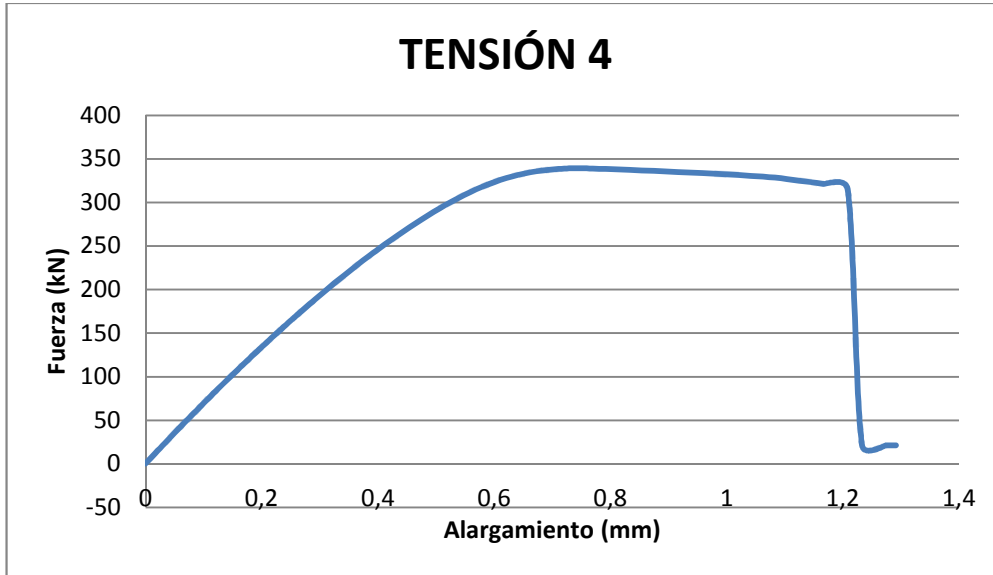
Ensayo de tensión probeta 2.



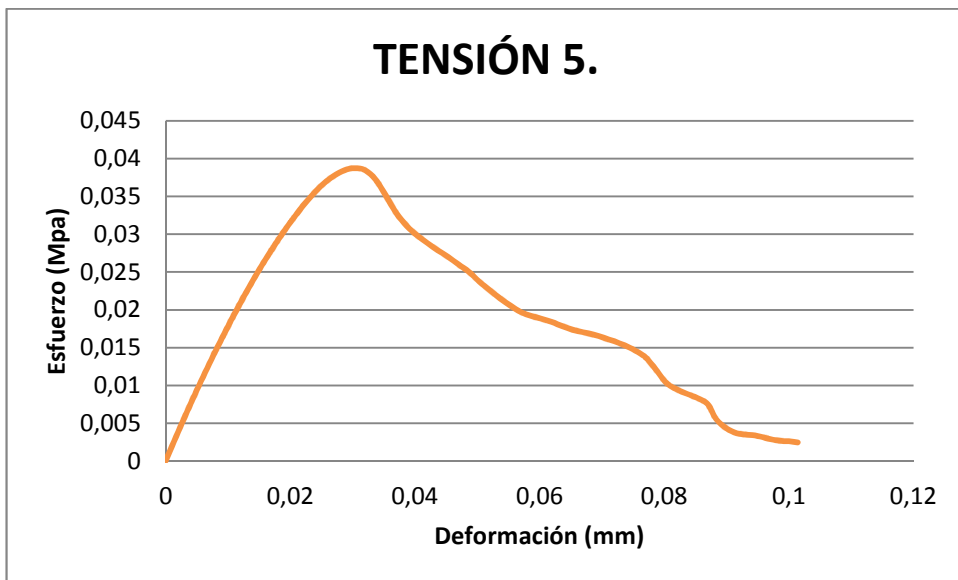
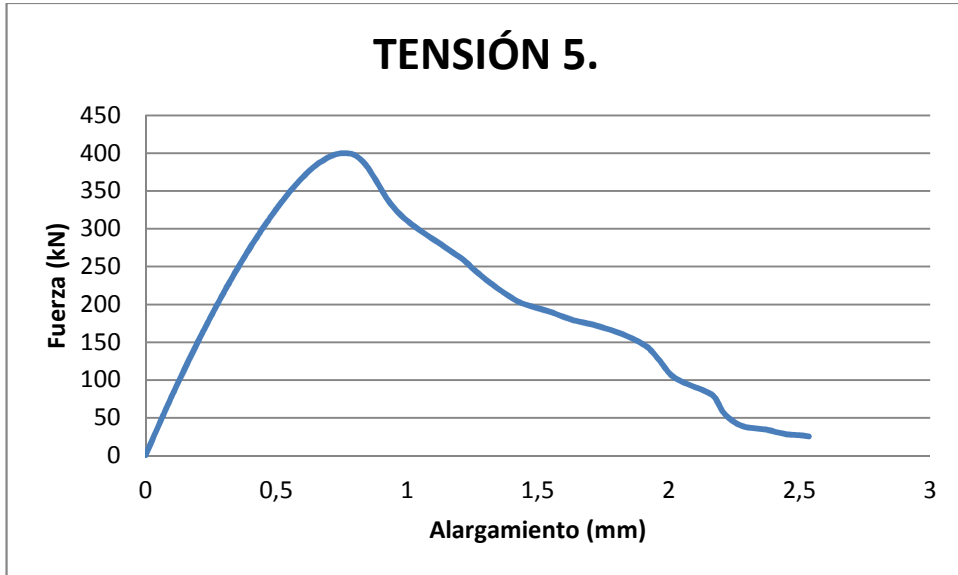
Ensayo de tensión probeta 3.



Ensayo de tensión probeta 4.

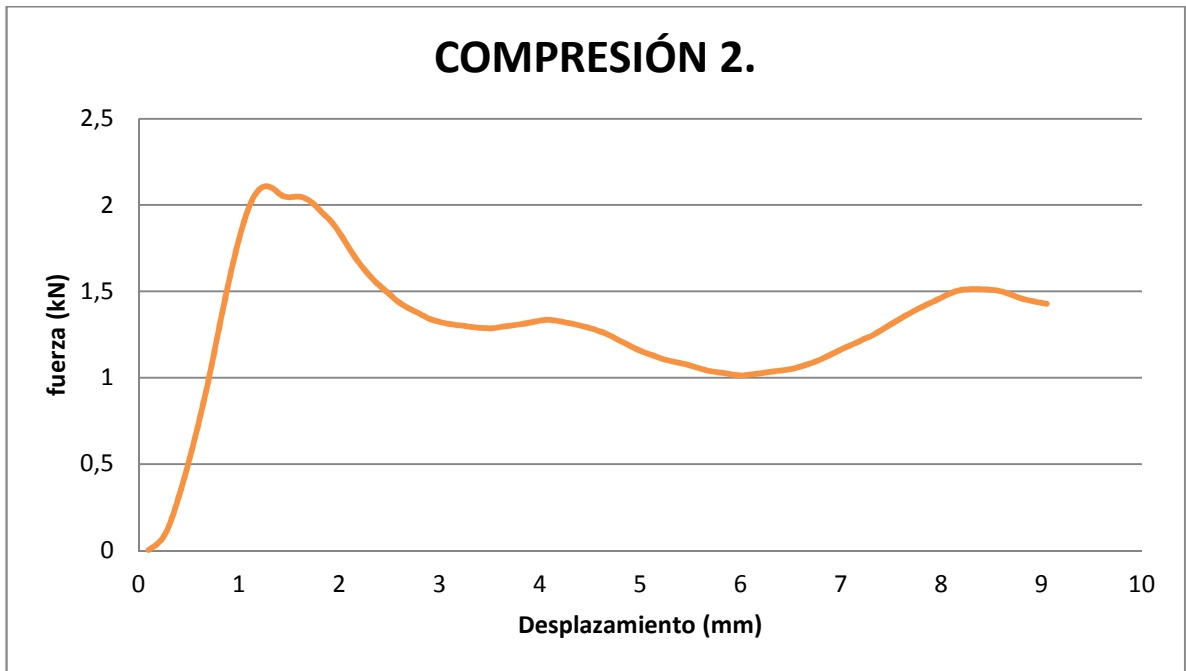


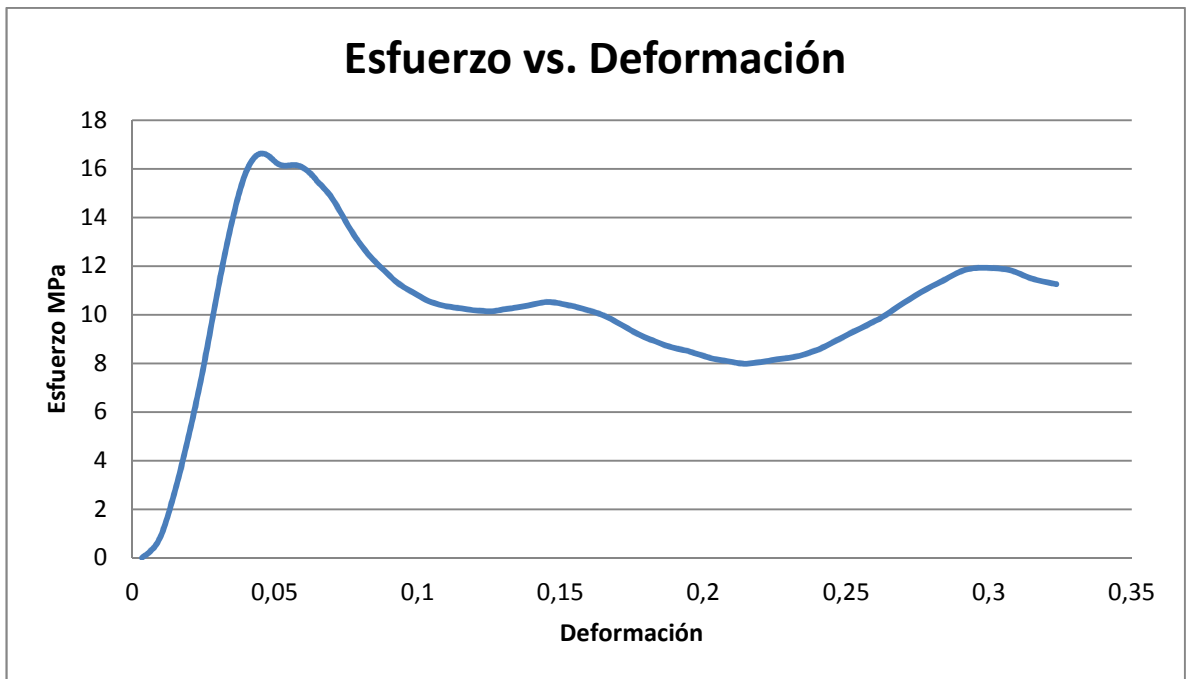
Ensayo de tensión probeta 5.



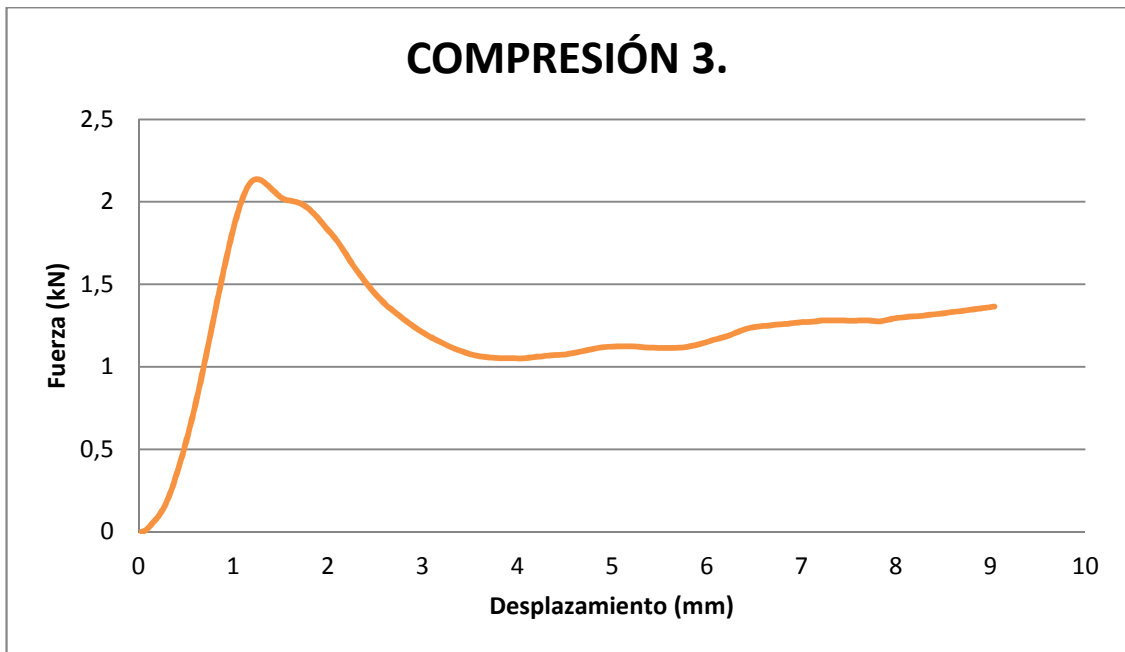
ANEXO B. PRUEBAS DE COMPRESIÓN CINCO ENSAYOS

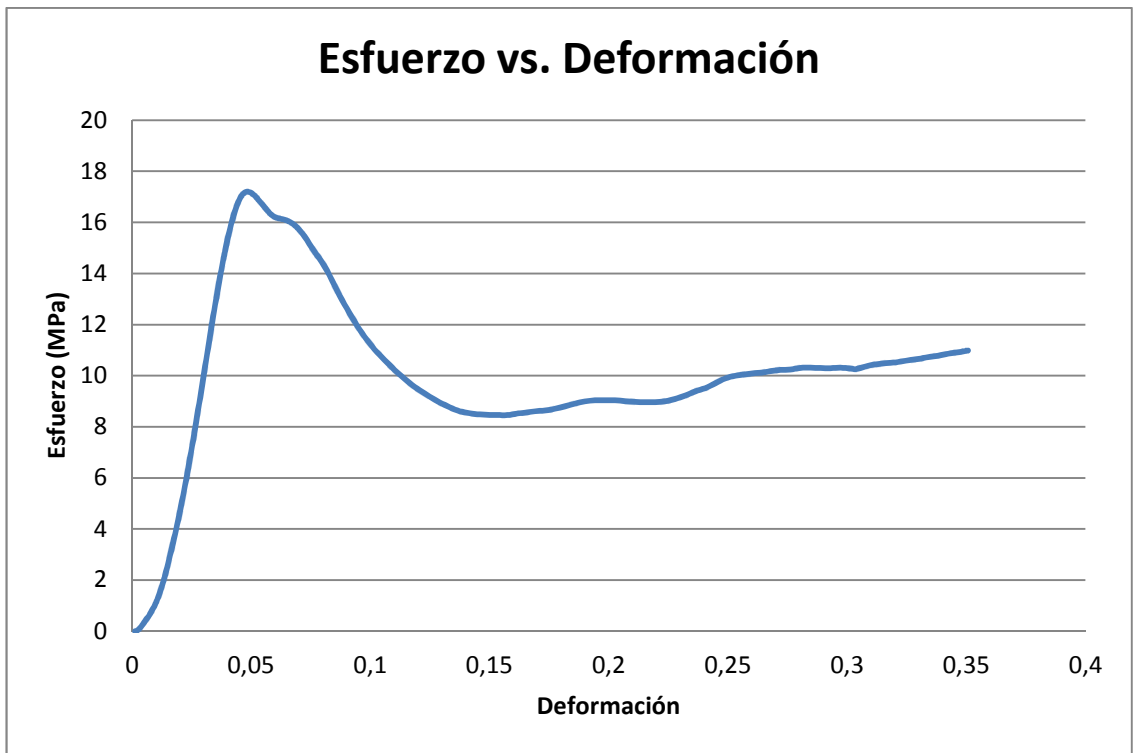
Ensayo de compresión probeta 2.



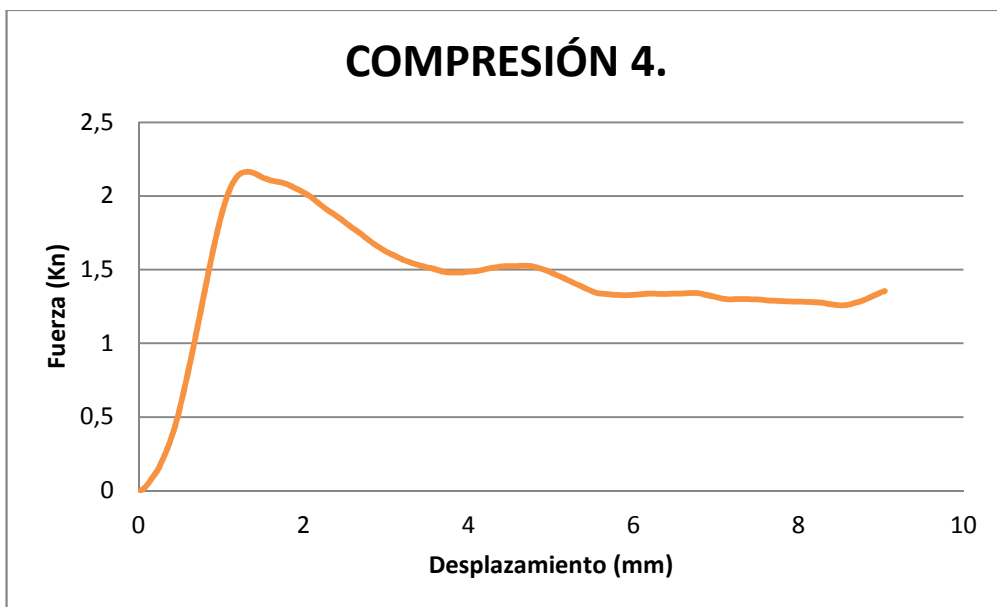


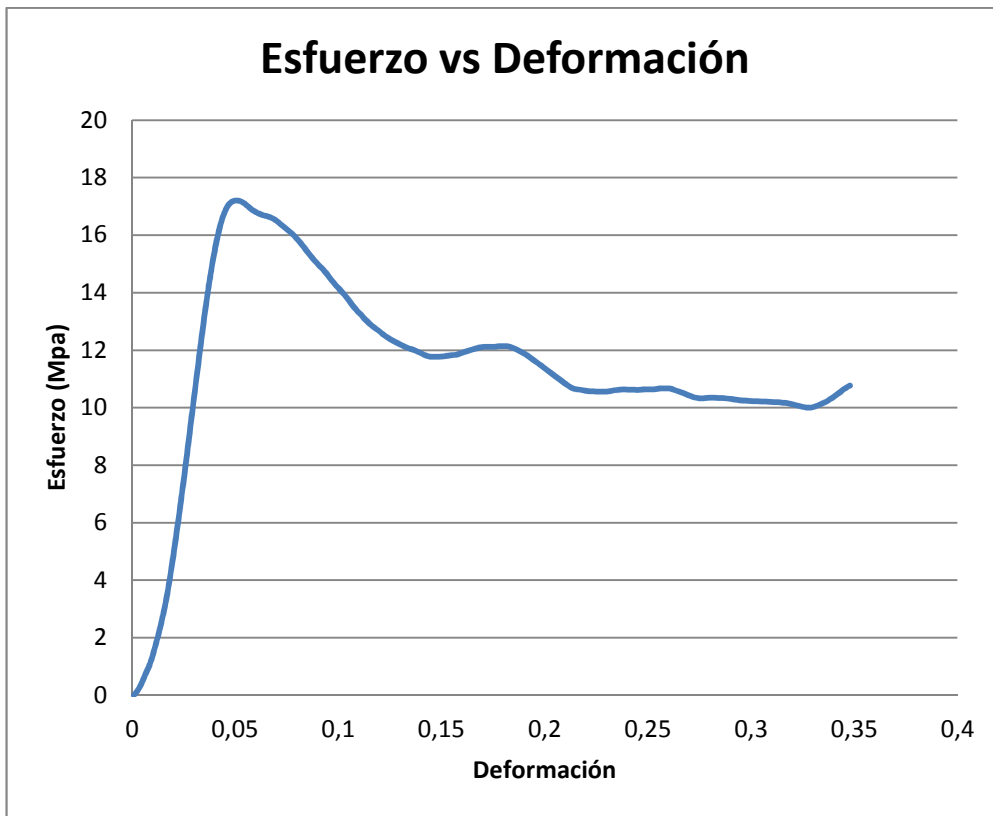
Ensayo de compresión probeta 3.





Prueba de compresión probeta 4.





Ensayo de compresión probeta 5.

