

Biomecánica, 14 (2), 2006, pp. 72-80

Efecto de la congelación en rodillas animales: Estudio biomecánico experimental

T. SERRA PORTA¹, F. ROURE², A. NAVARRO QUILIS¹

¹Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología. Hospital Vall d'Hebrón. Barcelona.

²Escola Tècnica Superior d'Enginyers Industrials de Barcelona.
Universitat Politècnica de Catalunya.

Resumen

Se estudia el comportamiento mecánico de rodillas animales que han sido congeladas en 1 o varias ocasiones mediante la aplicación de cargas axiales hasta la fractura o test destructivos. Se analizan el tipo y localización de fracturas aparecidas mediante un estudio radiográfico.

Palabras clave: rodilla, experimental, congelación, fractura, biomecánica.

Abstract

We study the mechanical behavior in animal knees who are fresh frozen in one or various times. Axial loading are applied until the final fracture (destructive test). Also it evaluates the type and localization of the fractures with radiological study.

Key words: Knee, experimental, fresh frozen, fracture, biomechanical.

Introducción

La experimentación biomecánica sobre hueso biológico debe hacer especial hincapié en el sistema de conservación utilizado. Existen numerosos estudios que demuestran la idoneidad de la congelación [1,2,3,4] respecto a otros métodos de conservación que alteran la estructura y resistencia del hueso [5,6,7,8,9,10].

En unidades ósteo-articulares, el comportamiento mecánico es debido a la conjunción de hueso, estructuras ligamentosas y capsulares y

cartílago articular, cada uno de ellos con módulos de resistencia y elasticidad distintos. No hay referencias en la bibliografía de los cambios de resistencia mecánica secundarios a varios procesos de congelación en este tipo de muestras (unidades ósteo-articulares).

Se ha diseñado un estudio mecánico y radiológico in vitro en rodillas de animales para analizar los cambios de resistencia mecánica a la compresión axial hasta la fractura ósea cuando han sido sometidas a uno, tres o cinco ciclos de congelación y descongelación.

Material y métodos

Modelos animales

Para estudio empleamos 9 unidades ósteo-tendinosas de rodilla de cerdo híbrido de Duroc-Piatren de edad media 6 meses y peso medio 120KG. La preparación de las muestras consiste en la desperiostización y exéresis de restos

Correspondencia:

Dra. T. Serra Porta
Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología,
Hospital Vall d'Hebrón.
Pas. Vall d'Hebron, 119-129.
08035, Barcelona
e-mail: ez.reg@terra.es
Fax: 93 741 47 06

musculares diafisarios con conservación de la articulación de la rodilla a excepción del aparato extensor (tendón rotuliano y rótula). Se practican osteotomías diafisarias femoral y tibial consiguiendo muestras uniformes de 31 cm de longitud y osteotomía del cuello del peroné (Figura 1). Todas las muestras se someten a congelación de -20°C en extensión.

Mediciones radiológicas

Se obtienen proyecciones póstero-anteriores (PA) antes y después del test mecánico. En ambos casos se efectúa un estudio angular y después del test de compresión se evalúan las fracturas aparecidas.

Se efectúan 3 mediciones angulares: ángulo femoral distal, ángulo tibial proximal y ángulo fémoro-tibial. El ángulo femoral distal (aFD), se traza entre el eje transversal articular distal del fémur y el eje diafisario femoral, el ángulo tibial proximal (aTP) se obtiene por la intersección del eje transversal articular de la tibia y el eje tibial y el ángulo fémoro-tibial (aFT) usa el eje de femoral y tibial de las muestras. Todos ellos se miden en la vertiente externa (Figura 2).

El registro de las fracturas contempla: el hueso afectado (tibia y/o fémur), su localización (fisis, metafisis y/o diáfisis) y el momento de aparición de las mismas.



Figura 1. Muestras animales. Pieza íntegra y después de las secciones metafisarias

Test Mecánico

El estudio mecánico consiste en la aplicación de una carga axial progresiva en el eje longitudinal de la muestra hasta producir fractura ósea (test destructivo) audible y visible y registrar un descenso de las lecturas de fuerza(Figura 3).

Para el estudio mecánico usamos una máquina de ensayos universal (ETSIEB) especialmente adaptada para el montaje de las rodillas mediante soportes metálicos diafisarios endomedulares y extramedulares (corona de tornillos) (Figura 4).

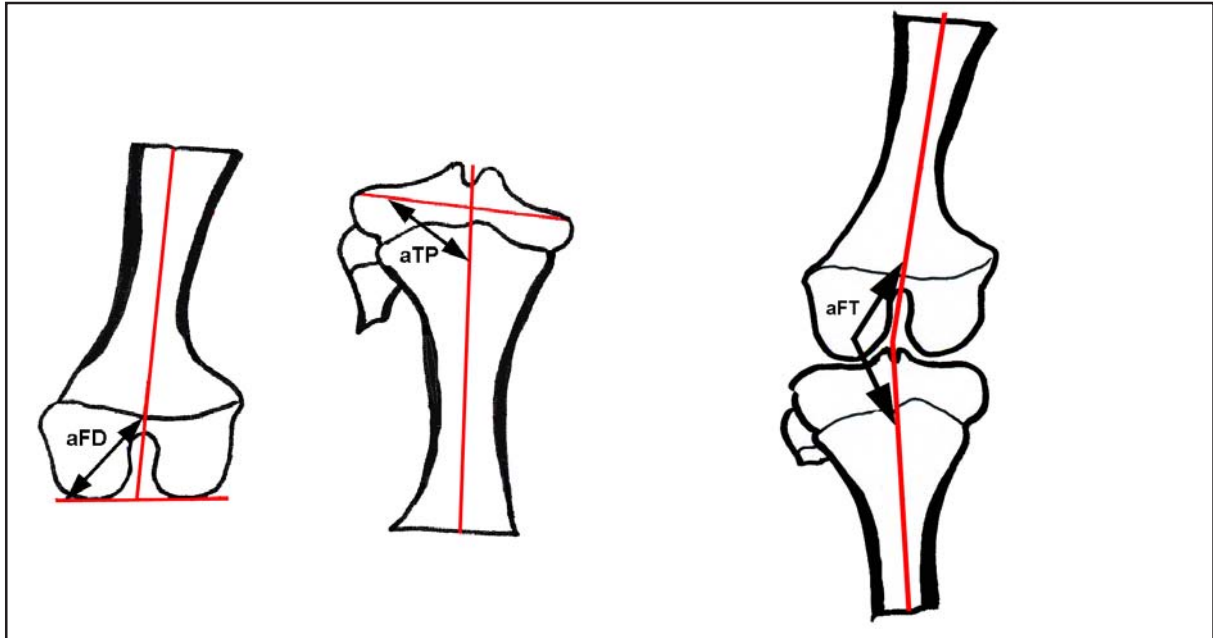


Figura 2. Mediciones angulares: aFD: ángulo femoral distal; aTP: ángulo tibial proximal ; aFT: ángulo fémoro-tibial

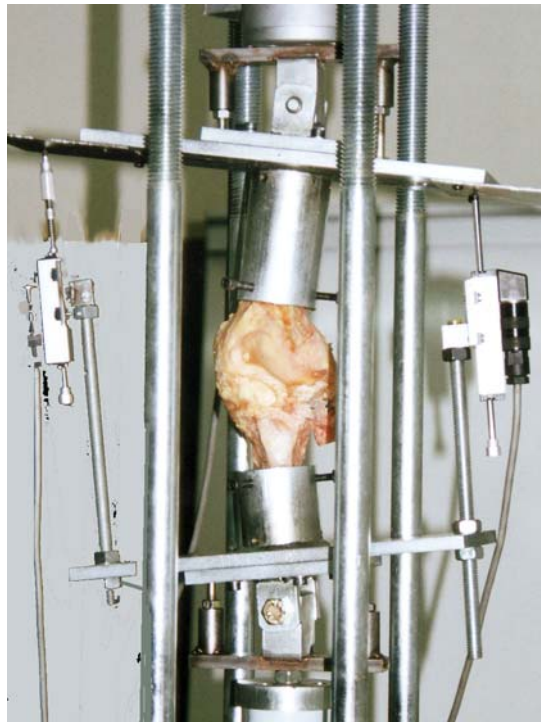


Figura 3. Bastidor Mecánico: Montaje de la muestra

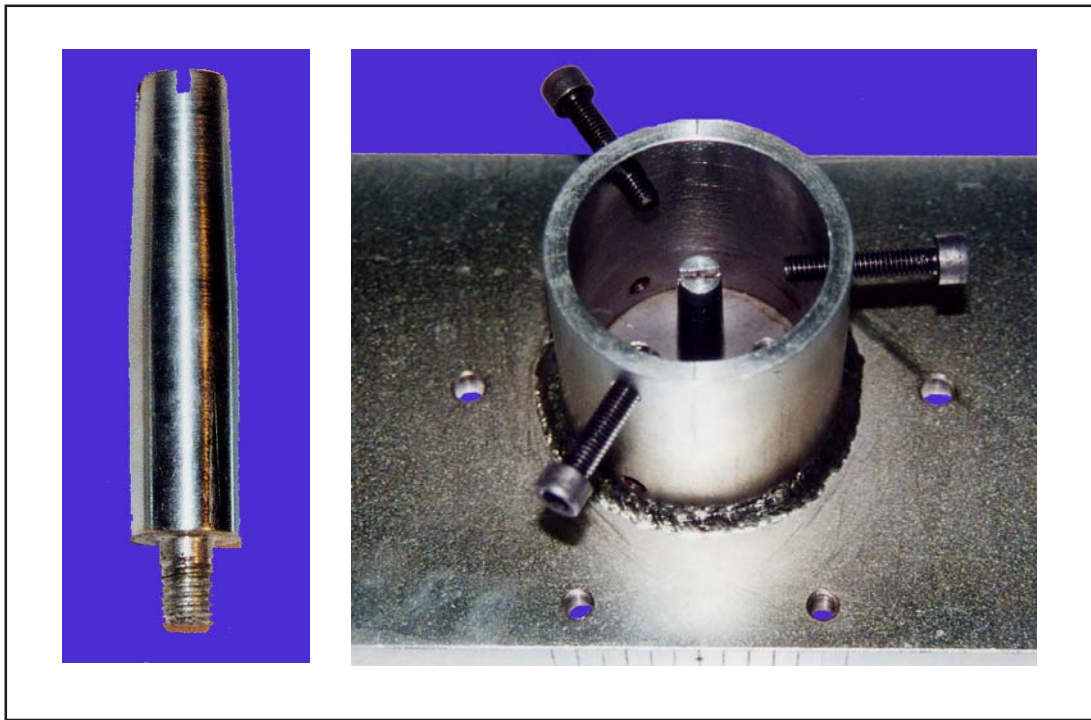


Figura 4. Sistemas de anclaje: 4A.endomedular (centradores) y 4B.extramedular (corona de tornillos)

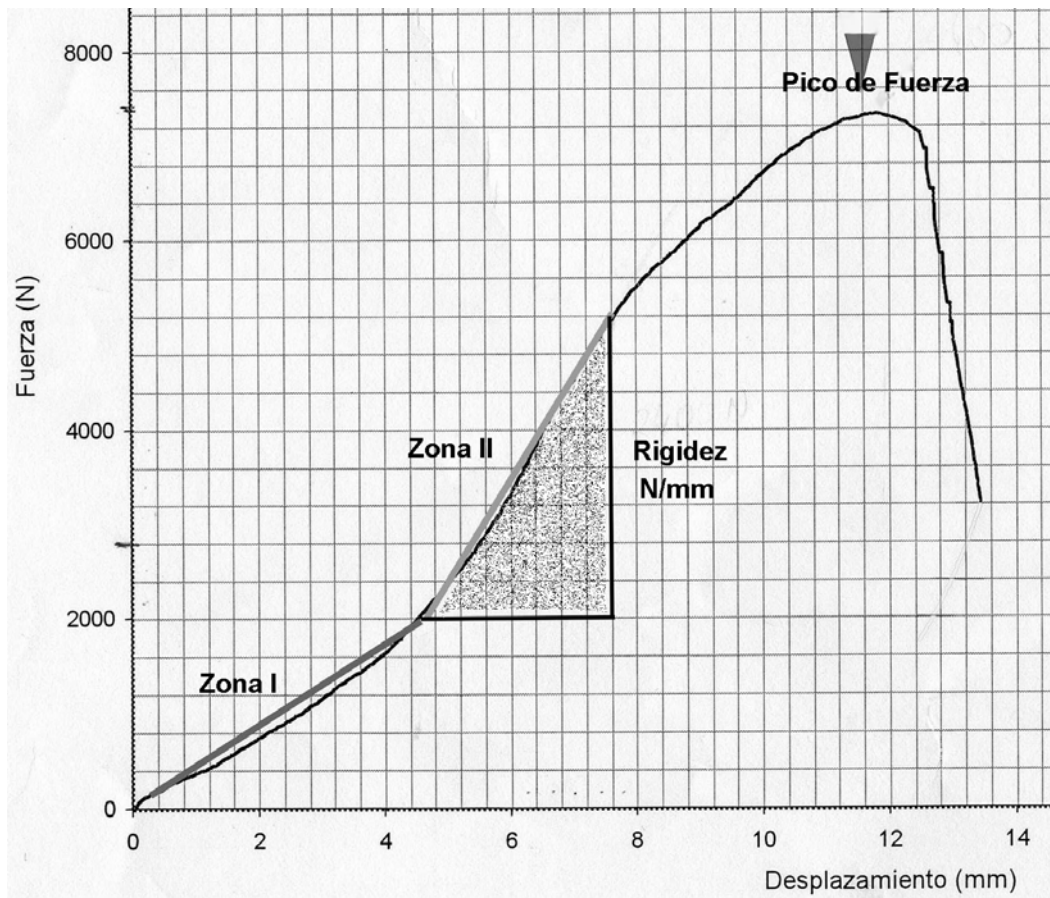


Figura 5. Curva de fuerza-desplazamiento: Zona I , Zona II y Pico de fuerza (señalado con punta de flecha)

Los captadores incorporados permiten la medición en tiempo real de las lecturas de fuerza (Nw) y desplazamiento (mm). El tratamiento informático de los resultados permite la construcción de una curva en una gráfica XY (Fuerza/desplazamiento) y el cálculo de la rigidez de la muestra (F/mm).

En la gráfica de Nw/mm la fractura ósea coincide con el fallo del sistema, definido por la disminución de las lecturas de fuerza durante la aplicación constante de carga axial precedido por un pico máximo de fuerza. El fallo del sistema se refleja en una inflexión de la curva después del pico máximo de fuerza o máxima lectura de fuerza.

Las curvas de fuerza /desplazamiento están caracterizadas por la aparición de una doble pendiente que hemos separado en 2 tramos: la Zona I, correspondiente a la primera fase de aplicación de fuerzas con ascenso poco marcado y Zona II, más verticalizada usada para la evaluación de la rigidez.

Grupos de estudio

Las muestras se dividen en 3 grupos de estudio (3 muestras por grupo) caracterizados por el número de ciclos de congelación/descongelación a que son sometidos antes de la prueba mecánica. Un ciclo de congelación/descongelación se inicia con la congelación de la muestra diseccionada a -20°C durante una semana y posterior descongelación a temperatura ambiente durante 4 horas.

El grupo I (o control) se somete a 1 ciclo de congelación/descongelación antes de la realización del estudio mecánico. En el grupo II se realizan 3 ciclos de congelación/descongelación, a lo largo de 3 semanas. Y finalmente en el grupo III se aplican 5 ciclos de congelación/descongelación antes de la aplicación de cargas destructivas.

Resultados

Resultados mecánicos

Se analizan las mediciones absolutas obtenidas. Los valores máximos de fuerza o pico de fuerza alcanzados en cada muestra y las lecturas de desplazamiento correspondientes a dicho pico corresponden a la aparición de fractura metafisaria a excepción de un caso, donde apareció una fractura longitudinal en la diáfisis tibial provocada por el anclaje óseo (centrador endomedular).

Los valores obtenidos demuestran una gran homogeneidad tanto en los resultados de fuerza (Nw) como en el desplazamiento (mm). En la tabla se pormenorizan los valores absolutos y se exponen los valores medios de grupo (Tabla 1).

En la Zona II, la pendiente es superponible en los 8 casos, lo que demuestra un comportamiento mecánico parecido cuando la muestra sufre un aplastamiento en la zona metafisaria (Figura 5). Se calcula la rigidez de las muestras mediante el cociente fuerza/desplazamiento expresado en Newton/milímetros en esta zona de la gráfica,

	muestra	Pico de fuerza (Nw)	Desplazamiento Máx (mm)	Rigidez (Nw/mm)	Valores medios de grupo
GRUPO I	p-9	7600	11	1212	Pico=6966N
	p-15	5900	11	1086	Desplazamiento=11,3mm
	p-16	7400	12	1200	Rigidez=1166N/mm
GRUPO II	p-11	9800	17	750	Pico=9400N
	p-12*	3000	13	400	Desplazamiento=16mm
	p-13	9000	15	1200	Rigidez=975N/mm
GRUPO III	p-10	8400	13	950	Pico=7333N
	p-14	7200	18	1600	Desplazamiento=12,3mm
	p-17	6400	6	1400	Rigidez=1316N/mm

Tabla 1. Resultados mecánicos. (Grupo I o control: 1 proceso de congelación; Grupo II: 3 procesos; y Grupo III: 3 procesos de congelación-descongelación). *fractura longitudinal en diáfisis tibial provocada por un centrador endomedular inadecuado

presentando también pocas diferencias como puede observarse en la Tabla I.

Resultados radiológicos

Las fracturas aparecen básicamente en el hueso esponjoso metafisario por aplastamiento del tejido óseo. La localización en la tibia proximal (Figura 6A) es la más frecuente apareciendo en todos los especímenes del grupo I y de forma variable en los demás grupos. Sólo en 1 caso apareció una fractura a través del tejido fisario (epifisiolisis), asociada a fractura por compresión en la metáfisis femoral (Figura 6C).

También se observan fracturas en la diáfisis producidas por sistema de anclaje. Aparecen antes que las fracturas metafisarias y no provocan el fallo del sistema, son producidas por la corona de tornillos (Figura 6B) que se utiliza como sistema de anclaje extramedular. Sólo en una ocasión apareció un

fractura diafisaria longitudinal tibial en el curso de test de compresión debida a un centrador endomedular.

El ángulo femoral distal (aFD) permite evidenciar los cambios aparecidos por las fracturas metafisarias femorales que siempre producen un grado de varismo en los aplastamientos. El ángulo tibial proximal (aTP) se modifica de forma más aleatoria en las fracturas metafisarias tibiales; la epifisiolisis que aparece en una muestra invalida esta medición.

El ángulo fémoro-tibial (aFT) obtenido después de la compresión presenta un varismo constante en todos los casos. Las rodillas de cerdo se distinguen por un varismo constitucional marcado oscilante entre 0 y 8° ,característicamente el fallo por compresión axial nunca produce un valgismo relevante (Tabla 2).

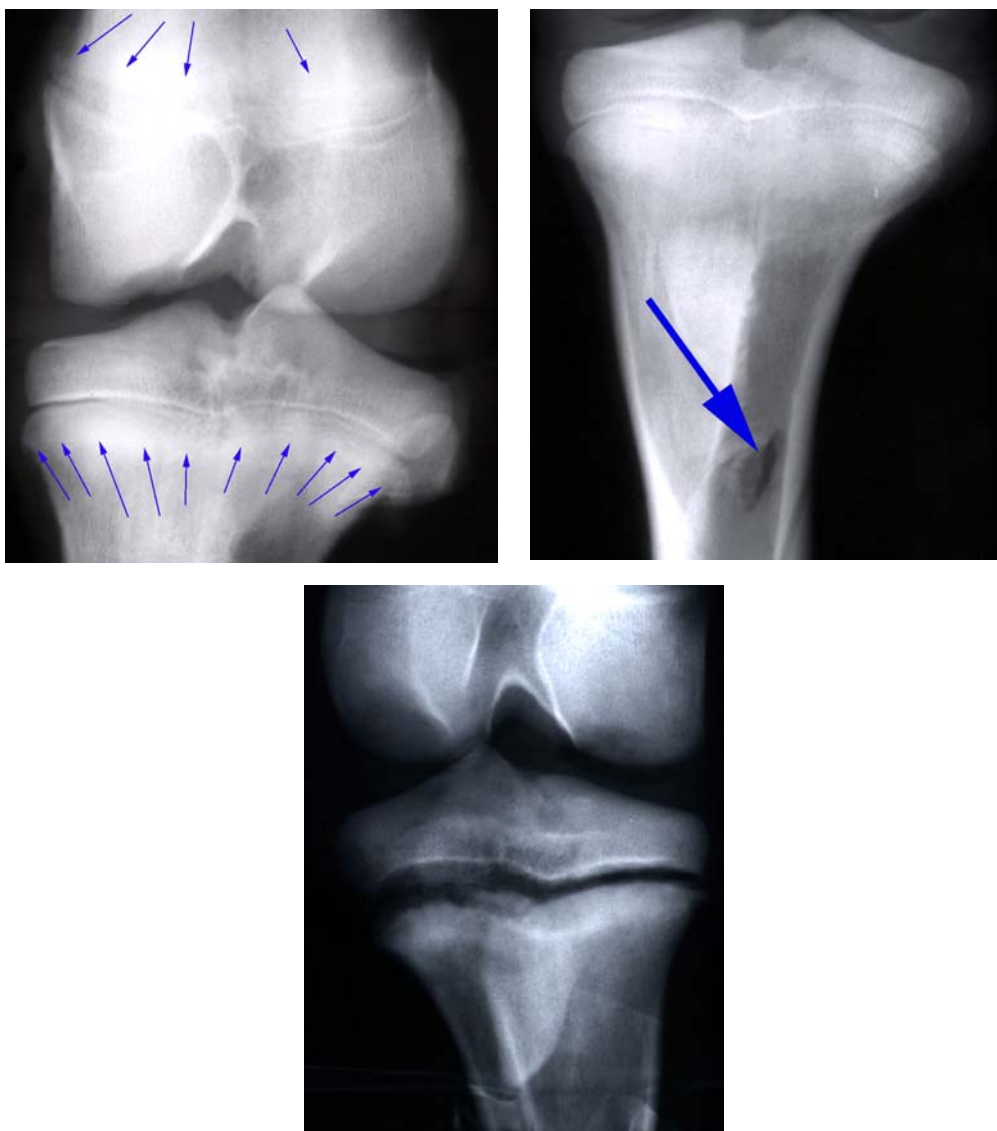


Figura 6. Resultados radiológicos: fracturas aplastamiento metafisarias femoral y tibial (Fig 6A), fractura diafisaria por corona de tornillos del sistema de anclaje (Fig 6B) y epifisiolisis (Fig 6C)

Discusión

El tejido óseo de origen animal presenta las mismas características biomecánicas que el humano y se usa frecuentemente en investigación [11,12,13]. Anatómicamente la estructura humana de extremidades inferiores es común a diferentes modelos animales [14,15,16] aunque las características mecánicas a las que se halla sometida son especialmente similares en el caso del cerdo.

En los estudios experimentales «in vitro» sobre hueso biológico, el sistema de conservación posee una importancia capital ya que puede modificar los resultados mecánicos. Los sistemas químicos producen una alteración de la mineralización ósea y son desaconsejables en estudios mecánicos [6,7,8,9]. Por otra parte, también influyen en la incorporación de injertos óseos en modelos in vivo [17,18]. La conservación por congelación ha sido estudiada en segmentos óseos y unidades osteo-articulares como rodillas o segmentos vertebrales [19,20]. Se ha demostrado la resistencia mecánica a la compresión, torsión y cizallamiento permanece inalterada cuando se realiza un único proceso de congelación [3,4,12].

Sin embargo dependiendo del estudio al que se halle sometido, la cadena de frío puede verse interrumpida una o varias ocasiones. No hemos hallado en la literatura referencias al efecto mecánico secundario a varios ciclos de congelación para ello hemos desarrollado este estudio.

El tejido óseo ha sido repetidamente descrito como material anisótropo con comportamiento

visco-elástico[21,22] sin embargo en unidades osteo-articulares coexiste con otras estructuras con módulos de resistencia y elasticidad distintos. Los test mecánicos destructivos por compresión axial son especialmente adecuados en este tipo de muestras ya que los estudios de bending, cizallamiento o torsión provocan una deformación progresiva de la articulación a expensas de los componentes cápsulo-ligamentosos [23,24]. Por el contrario la fuerza axial pura obtiene parámetros mecánicos absolutos coincidentes con la fractura ósea.

La primera pendiente de la curva de fuerza desplazamiento o Zona I ha sido descrita por otros autores [6,25] y corresponde a la absorción de la compresión por el cartilago articular y partes blandas. La Zona II demuestra la carga del hueso. La pendiente registrada en esta región es la que mide la rigidez del hueso, que se demuestra inmodificada en los tres grupos. El pico de fuerza o medición máxima de fuerza en una muestra indica la inflexión producida por la aparición de la fractura ósea, a partir de este punto la aplicación de cargas axiales progresivas no registra mayores mediciones ya que el sistema de «descarga». Este cambio de comportamiento mecánico expresa el aplastamiento metafisario en casi todas las muestras.

El estudio radiológico nos ayuda a identificar los eventos que se asocian a los resultados mecánicos. El patrón de fractura ósea es predominantemente metafisario y no existen diferencias importantes entre el grupo control (Grupo I) respecto al Grupo II y Grupo III. En el caso de fractura a través de la fisis (epifisiolisis) las lecturas de fuerza/ desplazamiento presentan pocas diferencias.

	MEDICIONES ANGULARES						FRACTURAS				
	aFD		aTP		aFT		Femoral		Tibial		
	Pre	post	Pre	post	Pre	Post	Metáfisis	Diáfisis	Metáfisis	Diáfisis	Fisis
p-9	92	92	90	94	182	190	-	-	Aplastamiento	Corona	-
p-15	94	92	84	90	178	186	-	-	Aplastamiento	Corona	-
p-16	94	90	86	90	180	178	-	Corona	Aplastamiento	-	-
p-11	90	98	88	90	178	186	Aplastamiento	Corona	-	-	-
p-12	92	92	88	88	180	180	-	-	-	Longitudinal (Centrador)	-
p-13	88	92	90	96	176	192	Aplastamiento	-	Aplastamiento	Corona	Si
p-10	90	90	88	90	178	185	-	-	Aplastamiento	-	-
p-14	88	94	94	94	180	188	Aplastamiento	Corona	-	-	-
p-17	92	82	86	84	172	176	Aplastamiento	-	Aplastamiento	Corona	-

Tabla 2. Mediciones angulares y topografía de las fracturas. (aFD: ángulo femoral distal; aTP: ángulo tibial proximal; aFT: ángulo femoro-tibial)

Las fracturas diafisarias provocadas por la corona de tornillos (sistema de anclaje) expresan el aumento de tensión en los extremos de la muestra y son previos al pico máximo de fuerza. El caso, un centrador endomedular tibial excesivamente grande produjo una fractura diafisaria longitudinal y una mediciones absolutamente discordantes siendo etiquetado como fallo técnico.

Las mediciones angulares son poco representativas de los cambios aparecidos en cada grupo. La fractura de la muestra se produce siempre aumento el varismo aunque las mediciones angulares resultan poco modificadas. Aunque el aFT (ángulo fémoro-tibial) y el aFD(ángulo femoral distal) acostumbran a aumentar, el aTP (ángulo tibial proximal) presenta en algunas ocasiones aumento (varismo tibial) y en algunos casos el aplastamiento por compresión es bastante uniforme y prácticamente no modifica la medición angular.

Creemos que la osteotomía del peroné influye en la mayor frecuencia de aparición de fractura a nivel de la tibia proximal ya que debilita el extremo distal de la muestra.

Con este estudio, demostramos que la repetición de congelación / descongelación no altera mecánicamente a las unidades ósteo-articulares. Este punto es importante en investigación, donde podrían requerirse distintos tiempos o descongelaciones en una misma muestra. Por otra parte en clínica, creemos que si se aseguran las condiciones de esterilidad, la rotura de la cadena de frío no constituye una contraindicación absoluta para reutilizar tejido óseo o unidades ósteo-articulares una vez ha sido descongelados.

Conclusiones

Procesos repetidos de congelación / descongelación no modifican las características mecánicas a la compresión axial (pico de fuerza y rigidez) de las unidades ósteo-articulares de rodilla animal.

No se detectan alteraciones significativas en el patrón de fractura en rodillas congeladas en 1,3 o 5 ocasiones.

Bibliografía

1. **Bonfield W, Li CH:** The temperature dependance of the deformation of bone. *J Biomech* 1968; 1: 323-9.
2. **Bright R, Burstein A:** Material properties of preserved cortical bone. *Trans Orthop Res Soc* 1978; 3: 210.
3. **Frankel V, Burstein A:** *Orthopaedic Biomechanics*. Lea & Febriger. Philadelphia. 1973.
4. **Pelker RR, Friedlaender GE, Markham TC:** Mechanical properties of bone allografts. *Clin Orthop* 1983; 174: 54-7.
5. **Hamer, AJ, Stockley I, Elson RA:** Changes in allograft bone irradiated at different temperatures. *J Bone Joint Surg Br* 1999; 81 (2) : 342-344.
6. **Lewandrowski KU, Bonassar L, Uhtoff HK:** Mechanical properties of osseus allografts drilled and partially decalcified. *Clin Orthop* 1998; 353 : 238-46.
7. **Lindahl O:** Mechanical propierties of dried spongy bone. *Acta Orthop Scand* 1976; 47: 11-19.
8. **Moreno J, Forriol F:** Effects of the preservation on the mechanical strength and chemical composition of cortical bone: an experimental study in sheep femora. *Biomaterials* 2002; 23:2615-2619.
9. **Roe SC, Pijanowski GJ, Johnson AL:** Biomechanical properties of canine cortical bone allografts: effects of preparation and storage. *Am J Vet Res* 1988; 49 (6) : 873-877.
10. **Triantafyllou N, Sotiropoulos E, Triantafyllou J:** The mechanical propierties of the lyophilized and irradiated bone grafts. *Acta Orthop Belg* 1975; 41:35.
11. **Jensen TB, Rahbek, Overgaard, Søballe K:** Platelet rich plasma and fresh frozen bone allograft as enhancement of implant fixation. An experimental study in dogs. *J Orthop Research* 2004;22: 653-658
12. **Sedlin E:** Archeologic model for cortical bone. *Acta Orthop Scand* 1965; 36 (Suppl.) :83.
13. **Taira H; Moreno, Ripalda P, Forriol F:** Radiological and histological analysis of cortical allografts: an experimental study in sheep femora. *Arch Orthop Trauma Surg* 2004;124:320-325.
14. **Barone R:** *Anatomie comparée des mammifères domestiques*. Arthrologie et myologie. Vigot. Lyon. 1978.

15. **Popesco P:** Atlas de anatomía topográfica de los animales domésticos. Salvat Editores. Barcelona. 1987.
16. **Sack WO:** Essentials of pig anatomy. Veterinary textbooks. Ithaca, New York. 1982.
17. **Hofmann A, Hofmann C, Gotzen L:** Effect of various bone disinfection and sterilization methods on osteoblast function. A comparative in vitro study. Unfallchirurg 2000;103 (5):380-388.
18. **Hofmann A, Konrad L, Hessmann MH, Küchle R, Korner J, Rompe JD, Rommens PM:** The influence of bone allograft processing on osteoblast attachment and function. J Orthop Res 2005;23: 846-854
19. **Hoshino A, Wallace WA.** Impact-absorbing properties of the human knee. J Bone Joint Surg Br 1987; 69 : 807-811.
20. **Panjabi MM, Goel VK, Takata K:** Physiologic strains in the lumbar spinal ligaments: An in vitro biomechanical study. Spine 1982; 7: 192-203.
21. **Reilly DT, Burstein AH (1975)** The elastic and ultimate properties of compact bone tissue. J Biomech 8: 393-405.
22. **Turner CH, Rho J, Takano Y, Tsui TY, Pharr GM:** The elastic properties of trabecular and cortical bone tissues are similar: results from two microscopic measurement techniques. J Biomech 1999;32(4):437-441
23. **Flamme CH, Kohn D, Kirsch L, Hurschler C:** Primary stability of different implants used in conjunction with tibial osteotomy. Arch Orthop Trauma Surg 1999; 119: 450-455.
24. **Riegger-Krugh C, Gerhart TN, Powers WR, Hayes WC:** Tibiofemoral contact pressures in degenerative joint disease. Clin Orthop 1998; 348: 233-245.
25. **Hamer, AJ, Strachan JR, Black MM, Ibbotson CJ, Stockley I, Elson RA:** Biomechanical properties of cortical allograft bone using a new method of bone strength measurement. Comparison of fresh, fresh-frozen and irradiated bone. J Bone Joint Surg Br 1996; 78 (3) : 363-368.