

# Reparación de las fracturas de huesos largos en traumatismos craneoencefálicos. Estudio experimental en la rata

R. BALLESTEROS MASSO\*, J. BOYA VEGLE\*\*, L. MLNUERA MARTÍNEZ\*\*\*, E. GÓMEZ BARRENA\*\*\*\*,  
A. D. DELGADO-MARTÍNEZ\*\*\*\*, M. CHACÓN CASTILLO\*\*\*\*\* y M. GONZÁLEZ PÉREZ\*\*\*\*\*

\*Servicio de Traumatología. Hospital FREMAP-Vigo. Figo (Pontevedra). \*\*Catedrático de Histología. Facultad de Medicina. Universidad Complutense. Madrid. \*\*\*Catedrático de Traumatología y Cirugía Ortopédica. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma. Madrid. \*\*\*\*Departamento de Traumatología. Hospital La Paz. Madrid. \*\*\*\*\*Licenciado en Medicina y Cirugía. Universidad Complutense. Madrid.

**Resumen.**—Los pacientes con traumatismo craneoencefálico presentan una respuesta osteogénica alterada. Para estudiar si existe o no un callo de fractura más voluminoso o más prematuro en las fracturas de hueso largo se ha buscado un modelo experimental en rata Wistar con y sin lesión encefálica. El estudio no demuestra diferencias significativas. Se discute la importancia de factores terapéuticos más que el hecho del traumatismo craneoencefálico.

## FRACTURE CALLUS IN LONG BONES AFTER HEAD INJURY. AN EXPERIMENTAL STUDY IN RATS

**Summary.**—Osteogenic response deviates significantly in patients with traumatic brain injury. In this study, we analyze if there is an increased volume or earlier callus formation in long bones fractures in Wistar rats with and without brain injury. The results show no significant difference. The importance of some therapeutical aspects other than head injury are discussed.

## INTRODUCCIÓN

Una de las observaciones clínicas, que de forma empírica viene siendo realizada por muchos especialistas, es que los traumatismos craneoencefálicos (TCE) se asocian a una disminución del tiempo de consolidación de las fracturas y a un aumento del volumen del callo. Sin embargo, no existe una demostración científica clara al respecto. Las series publicadas (1-7) agrupan a pacientes tratados de diferentes formas y sin grupos de control adecuados. Además de una reparación abundante y acelerada, se ha comunicado la existencia de fenómenos de osificación heterotópica periarticulares (7). En este sentido, sería muy útil disponer de un modelo experimental para el estudio de este fenómeno.

El objetivo del presente proyecto es comprobar si

las fracturas de los huesos largos asociadas a TCE presentan osificaciones heterotópicas, menor tiempo de consolidación y/o callo de fractura de mayor volumen, conforme a la impresión clínica. Para ello hemos diseñado un estudio experimental, utilizando como animal de experimentación la rata de raza Wistar.

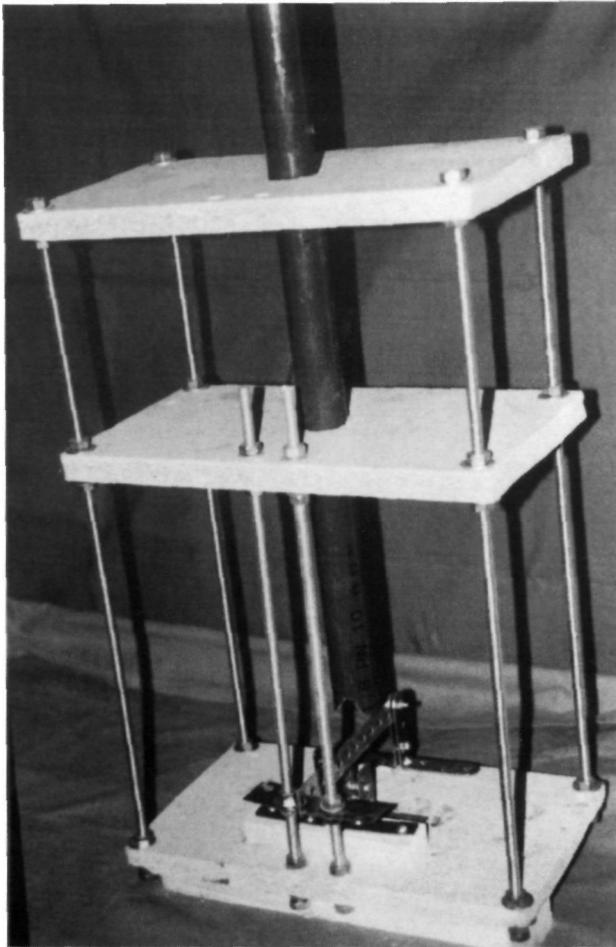
## MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado 78 ratas macho adultas de la especie Wistar, con un peso comprendido entre los 300 y los 550 g. Los animales se han anestesiado mediante una inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico (60 mg/kg. de peso). La fractura de hueso largo se ha estandarizado mediante un dispositivo diseñado a tal efecto, construido basándonos en el diseño de Bonnarens y Einhorn (8).

Para obtener la fractura se ha utilizado una técnica de preenclavado. Con el animal anestesiado, y previo rasurado y pincelado con povidona yodada (betadine) de la extremidad inferior, se realiza una incisión media sobre la rodilla derecha. Se incide la cápsula medial y se luxa lateralmente la rótula. Con una fresa industrial se realiza una perforación de 0,1 mm. en la zona intercondílea y se profundiza en dirección distal-proximal hasta comunicar

### Correspondencia:

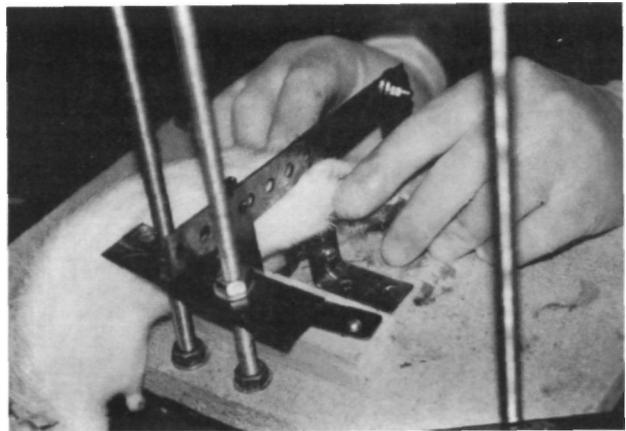
Dr. R. BALLESTEROS MASSO  
Poeta Feliciano Rolan, 5  
Hospital FREMAP  
36203 Vigo (Pontevedra)



**Figura 1.** Aparato para la producción de fractura de fémur en la rata.

con la cavidad medular. Se realiza un enclavado centro-medular retrógrado con una aguja de Kirschner de 1 mm. de diámetro, que se deja impactada en la región trocántera. La aguja se corta a nivel de la articulación y se cierra el abordaje quirúrgico por planos. Se coloca al animal sobre el dispositivo de fractura. Se centra el muslo sobre el sistema de guillotina y se bloquea el fémur con los índices de ambas manos sobre la región trocántera y la región condílea. La fractura se produce al golpear el émbolo de la guillotina (de 390 g. de peso desde una altura de 75 cm.) la zona central. Los 2 puntos extremos, separados a una distancia fija, actúan como soporte en un sistema de 3 puntos de apoyo. La distancia de penetración del émbolo permanece constante. Se transmite al muslo del animal una energía de 2,86 julios (calculada a partir del peso del émbolo y la altura de caída). La fractura se comprueba mediante un aparato de radioscopia convencional (General Electric-Estenoscop: 2 seg., 49 kV, 0,7 mA). De esta forma se obtiene una fractura transversa, mínimamente desplazada de tercio medio de fémur (Figs. 1 y 2).

Entre los distintos modelos experimentales de TCE (9-12) se ha seguido el desarrollado por Hekmatpanah y Cameron (13) por su simplicidad y reproductibilidad.

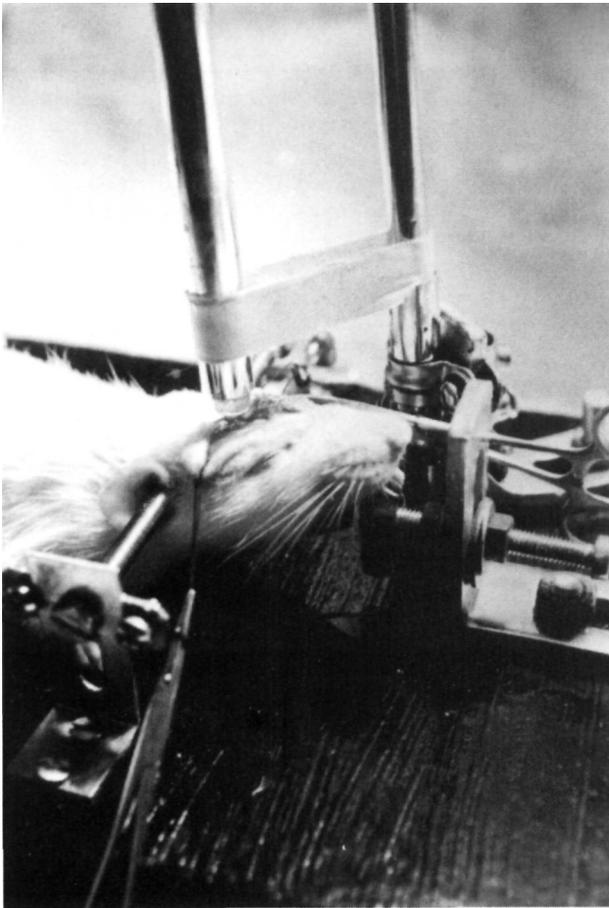


**Figura 2.** Colocación del animal de experimentación en el aparato de fractura. Se trata de un mecanismo de guillotina sobre el que se deja caer un peso.

Para ello se ha construido una trama estereotáxica, que permite localizar el TCE siempre sobre la región parietal izquierda. Tras al rasurado y pincelado del cráneo del animal, se realiza una incisión anteroposterior de unos 3 cm., hasta llegar a la tabla externa. Utilizando un motor industrial de alta velocidad y una fresa industrial de 1 mm. se realizan perforaciones en el parietal izquierdo, de tal forma que nos van a permitir levantar un fragmento óseo de 1 cm. de diámetro. Obtenemos así una craneotomía con una ventana que deja expuesta la duramadre. Se coloca un dispositivo de percusión tubular sobre la ventana (separado de ella 1 mm.) y se deja caer una barra de vidrio de 5 g. desde una altura de 1 m. sobre el encéfalo. Se permite así la salida libre de la columna de aire y se produce, de esta forma, un TCE estándar. La energía transmitida al encéfalo del animal es de 0,05 julios (Fig. 3). Se cierra la herida quirúrgica sin la tapa ósea de la ventana para permitir cierta expansión del encéfalo tras el TCE. El animal pasa a una jaula con otros 4 animales sobre los que se ha realizado el experimento en la misma sesión quirúrgica. Los animales permanecen en las condiciones estándar del animalario del Servicio de Cirugía Experimental de nuestro hospital.

Los 78 animales se han distribuido en grupos. Los primeros 30 se destinaron al ajuste del modelo experimental (tipo de fractura e intensidad del TCE) y no se contemplan en la valoración de los resultados. Sobre los 48 animales restantes se realizó la fractura femoral. De forma aleatoria se separaron 18 animales como grupo control (fractura sin TCE). Por problemas anestésicos no sobrevivieron 2 animales (11,2%), quedando el grupo control constituido por un total de 16 ratas. A los 30 animales restantes se les produjo el TCE. De ellos no sobrevivieron 12 (40%), pasando a formar el grupo estudio (fractura y TCE) 18 animales (60%). Los animales se sacrificaron en la primera, segunda, cuarta y sexta semanas tras la cirugía, según se expone en la Tabla I.

La valoración de resultados se ha realizado mediante radiología del animal tras el sacrificio. El equipo de radiografía utilizado fue un Hewlett Packard Cabinet, X-Ray System-Faxitrom, series Model 43855A (Oregón, Estados



**Figura 3.** Aparato para la producción de un TCE. Previa ventana en el parietal, se descarga una barra de vidrio de 5 g. sobre la duramadre. El animal está posicionado sobre una trama de estereotaxia.

Unidos), y se utilizaron las mismas variables en cada radiografía (placa Agfa Mamoray RP3 18x24, 35 kV y 15 seg.).

Para medir el callo de fractura se han utilizado 2 métodos:

1. Las placas radiográficas se han valorado de forma ciega por 5 especialistas en traumatología y ortopedia. En animales con el mismo tiempo de evolución se comparaban 3 variables: aparición de osificaciones heterotópicas, tamaño del callo de fractura y volumen del mismo (Figs. 4 y 5).

2. Se cuantificó el callo de fractura según una modificación del método de Spencer et al. (14), que emplea la siguiente aproximación matemática:

$$V = A/B$$

siendo V la respuesta reparadora, A el diámetro mayor de la estructura tubular y B el diámetro del hueso en el foco de fractura.

Los 2 métodos son aproximados y subjetivos. Con el método de Spencer et al. (14) se asume que el diámetro mayor de una estructura tubular (aunque sea de forma irregular) es el principal determinante del volumen de la

**Tabla 1:** Mediciones de la «respuesta reparadora» según la fórmula aproximativa de Spencer et al. (22)

V = Respuesta reparadora	Grupo estudio. Fractura y TCE	Grupo control. Fractura sin TCE
Primera semana	1,04	1,23
	1,13	1,50
	1,00	1,08
	1,10	—
Segunda semana	1,36	1,15
	1,63	1,66
	1,50	1,23
	1,50	1,50
	1,75	—
Cuarta semana	1,60	1,54
	1,63	1,68
	1,59	1,83
	1,60	1,45
Sexta semana	1,38	1,50
	1,36	1,35
	1,52	1,36
	1,00	1,50
	1,30	1,50

estructura y, por tanto, nos da una idea del volumen del callo de fractura. Para aumentar la sensibilidad de las



**Figura 4.** Radiografía del callo de fractura. Fémur de rata Wistar con preenclavado retrógrado (aguja de Kirschner de 1,0 mm.) y TCE. Dos semanas de evolución.



**Figura 5.** Radiografía del callo de fractura. Fémur de rata Wistar con preenclavado retrógrado (aguja de Kirschner de 1,0 mm.) y TCE. Seis semanas de evolución.

mediciones se utilizó un retroproyector de transparencias, que nos permitió una ampliación de las radiografías de un 600%, realizándose dicha medición de forma ciega. Para el proceso estadístico de los datos se ha utilizado el paquete informático Epi-info versión 5.00 (Centers for disease control. Epidemiology Program Office. Atlanta, Georgia, Estados Unidos).

## RESULTADOS

En el estudio ciego (en el que se valoraba la aparición de osificaciones heterotópicas, tamaño del callo de fractura y volumen del mismo) realizada por 5 especialistas en traumatología y ortopedia, no se ha encontrado un menor tiempo de consolidación en las fracturas de huesos largos del animal de experimentación (rata Wistar) con TCE. La apariencia radiológica del callo de fractura es similar en el grupo estudio y en el grupo control en las mismas etapas de evolución. Tampoco se ha encontrado un callo de mayor volumen en las fracturas de huesos largos del animal de experimentación con TCE. Asimismo no se detectan osificaciones heterotópicas en ninguno de los grupos.

**Tabla II:** Análisis estadístico de los resultados expuestos en la Tabla I

*Primera semana:* Respuesta reparadora menor en el grupo estudio (TCE) que en el grupo control. Diferencia no significativa («t» de Student).

*Segunda semana:* Respuesta reparadora mayor en el grupo estudio que en el grupo control. Diferencia no significativa («t» de Student).

*Cuarta semana:* Respuesta reparadora menor en el grupo estudio que en el grupo control. Diferencia no significativa (test Kruskal-Wallis).

*Sexta semana:* Respuesta reparadora menor en el grupo estudio que en el grupo control. Diferencia no significativa («t» de Student).

Tras la aplicación de la fórmula de Spencer et al. (14) se confirman los resultados obtenidos en la valoración radiológica anterior. Los resultados se detallan en las Tablas I y II. Al comparar los resultados del grupo control y del grupo estudio (TCE) no se observan diferencias estadísticamente significativas mediante la «t» de Student y el test de Kruskal-Wallis para una significación menor del 0,01. Se concluye que, en el grupo de estudio (TCE), el callo fracturario no tiene un volumen mayor que en el grupo control.

## DISCUSIÓN

Si en la actualidad parece demostrado que la reparación de las fracturas se realiza de una forma más rápida y abundante en pacientes con TCE [Perkins y Skirving (15), Spender (14), García Lázaro (16)], el mecanismo y las condiciones en que se produce esta osteogénesis acelerada son desconocidos. Se han planteado distintas teorías etiológicas:

— La osificación heterotópica traumática podría ser el resultado de contusiones y desgarros musculares producidas en el paciente politraumatizado con TCE, tratándose simplemente de una asociación.

— Los pacientes con TCE pueden desarrollar alteraciones endocrinas (17). García Lázaro (16) demuestran alteraciones en la concentración sérica de somatomedina C.

— En los pacientes con TCE en los que se emplea un tratamiento conservador, la excesiva movilidad del foco de fractura, debido a los cuidados posturales, así como a la falta de control del miembro por parte de un paciente no colaborador, podrían estar implicados en la formación de un callo excesivo. En contra de esta teoría están los estudios

de Perkins y Skirving (15), realizados en pacientes en los que se había practicado un enclavado centromedular de la fractura.

— Stone et al. (18) consideran que diversos agentes terapéuticos, utilizados durante el tratamiento de los pacientes con TCE, serían los responsables del comportamiento anómalo del proceso de reparación fracturaria. Según estos autores, la hiperventilación a la que se somete a muchos de estos pacientes produciría una alcalosis respiratoria que facilitaría el depósito de sales cálcicas a nivel del foco de fractura.

— Podría existir un control central de los mecanismos de reparación de las fracturas, que en los pacientes con TCE se ve alterado. Este control central se apoya por el hallazgo de la formación de hueso heterotópico en otros procesos patológicos del SNC: lesión medular, anoxia aguda, enfermedades neoplásicas del SNC, encefalomyelitis, polio-mielitis, esclerosis múltiple y tétanos. El control por parte del SNC se podría ejercer a través de mediadores neurales o humorales. Los estudios de Bidner et al. (17) y de García Lázaro (16) demuestran la existencia de un factor de crecimiento circulante (o la disminución de un factor inhibidor) en el suero de pacientes con TCE. Se trataría, por tanto, de un mecanismo humoral, aunque no se descartan otro tipo de influencias.

Nuestro estudio se diseñó en 2 fases. En la primera se ha conseguido un modelo de fractura con TCE asociado. En la segunda fase se ha valorado el callo de fractura. Existe una ventaja teórica al utilizar la rata como modelo animal en el TCE, ya que se evitan las variaciones individuales al tratarse de una población altamente homogénea. El mayor tamaño muestral permite eliminar algunas de las variaciones que se obtienen cuando se utilizan series más pequeñas (19).

El modelo de fractura usado se ha elegido entre los diversos modelos de fractura de hueso largo encontrados en la literatura (20-24) debido a su sencillez y reproductibilidad.

Los resultados obtenidos indican que en la rata Wistar no se produce un aumento de la calogénesis en las condiciones experimentales descritas de fractura y TCE. La ausencia de osificaciones heterotópicas en nuestro estudio no concuerda con las múltiples observaciones publicadas en humanos (11, 14, 15, 25, 26). Esto se puede explicar desde diversas ópticas:

— El animal de experimentación elegido puede no ser el más adecuado. Es posible que no se produzca un fenómeno de calogénesis aumentada en la rata. Quizá un animal más próximo al hombre en la escala filogenética permita unos resultados más similares. Izumi (27), en un estudio experimental en conejos, tampoco consigue encontrar diferencias significativas en la incidencia de formación de hueso ectópico entre animales con lesión medular y animales no parapléjicos.

— La obtención de los resultados podría no haber sido lo suficientemente sensible. Sin embargo, una infravaloración metodológica de las calcificaciones no impediría reconocer a unos expertos, la presencia de la calogénesis masiva que se reconoce en el paciente con TGE. En cuanto a la fórmula aproximativa empleada, la magnificación en un 600% conseguida mediante el retroproyector, así como la alta definición de la película radiográfica empleada, nos hace pensar que el método empleado tiene la sensibilidad suficiente.

— Puede no existir una relación directa entre TCE y osteogenesis alterada. En la rata hemos producido un TCE grave, con una mortalidad del 40%, pero que permitía la vida libre del animal. Estas condiciones no se producen en el humano. Todos los autores están de acuerdo en que la calogénesis aumentada se produce en TCE severos, que necesitan de medidas extraordinarias en una unidad de cuidados intensivos. Algunos autores (26) llegan a afirmar que el aumento de la calogénesis estaría relacionada con la terapia recibida en estas unidades. Estas condiciones no se incluyen en el estudio experimental que hemos llevado a cabo.

Nuestra opinión es que la discrepancia obtenida entre los resultados de este estudio experimental y la bibliografía consultada se debe a un problema metodológico, posiblemente relacionado con el tipo de TCE producido, con su tratamiento clínico, o con el animal de experimentación empleado. La imposibilidad de reproducir experimentalmente las observaciones clínicas hacen necesarias más investigaciones para aclarar la fisiopatología del fenómeno.

## AGRADECIMIENTOS

A los miembros del Servicio de Cirugía Experimental del Hospital La Paz, doctores Enrique de Miguel e Ignacio Álvarez.

## Bibliografía

1. **Dejerine (Mme), Cellier A, Dejerine Y.** Para-ostéo-arthropathies des paraplégiques par lésion médullaire: Etude anatomique et histologique. *Rev Neurol* 1919; 26: 399-407.
2. **Garland DE, Blum CE, Waters RL.** Periarticular heterotopic ossification in head-injured adults. Incidence and location. *J Bone Joint Surg* 1980; 62A: 1143-6.
3. **Garland DE, Razza BE, Waters RL.** Forceful joint manipulation in head-injured adults with heterotopic ossification. *Clin Orthop* 1982; 169: 133-8.
4. **Garland DE.** Fractures and dislocations about the hip in head-injured adults. *Clin Orthop* 1984; 186: 154-9.
5. **Garland DE.** Heterotopic ossification and HLA antigens. *Arch Phys Med Rehabil* 1984; 65: 531-8.
6. **Mital MA, Garber JE, Stinson JT.** Ectopic bone formation in children and adolescents with head injuries: Its management. *J Pediatr Orthop* 1987; 7: 83-90.
7. **Roberts PH.** Heterotopic ossification complicating paralysis of intracranial origin. *J Bone Joint Surg* 1968; 50B: 70-7.
8. **Bonnarens F, Einhorn TA.** Production of a standard closed fracture in laboratory animal bone. *J Orthop Res* 1984; 2: 97-101.
9. **Sullivan HG, Martinez J, Becker DP, Miller JP, Griffith R, Wist AO.** Fluid-percussion model of mechanical brain injury in the cat. *J Neurosurg* 1976; 45: 520-34.
10. **Crockard A, Kang J, Ladds G.** A model of focal cortical contusion in gerbils. *J Neurosurg* 1982; 57: 203-9.
11. **López Carbonell A.** Comunicación personal.
12. **Chen MH, Bullock R, Graham DI, Miller JD, McCulloch J.** Ischemic neuronal damage after acute subdural hematoma in the rat: Effects of pretreatment with a glutamate antagonist. *J Neurosurg* 1991; 74: 944-50.
13. **Hekmatpanah J, Hekmatpanah CR.** Microvascular alterations following cerebral contusion in rats. *J Neurosurg* 1985; 62: 888-97.
14. **Spencer RF.** The effect of head injury on fracture healing. A quantitative assessment. *J Bone Joint Surg* 1987; 69B: 524-8.
15. **Perkins R, Skirving S.** Callus formation and the rate of healing of femoral fractures in patients with head injuries. *J Bone Joint Surg* 1987; 69B: 521-4.
16. **García Lázaro FJ.** Consolidación de las fracturas en presencia de traumatismo craneoencefálico. Estudio de factores inductores en la formación del callo. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid, 1992. Tesis doctoral.
17. **Bidner SM, Rubins IM, Desjardins JV, Zukor DJ, Goltzman D.** Evidence for a humoral mechanism for enhanced osteogenesis after head injury. *J Bone Joint Surg* 1990; 72A: 1144-9.
18. **Stone MH.** Accelerated fracture union in association with severe head injury. *J Bone Joint Surg* 1987; 69B: 493-7.
19. **Shapira Y, Shohami E, Sidi A, Soffer D, Freeman S, Cotev S.** Experimental closed head injury in rats: Mechanical, pathophysiologic and neurologic properties. *Crit Care Med* 1988; 16: 258-65.
20. **Udupa KN, Prasad GC.** Chemical and histochemical studies on the organic constituents in fracture repair in rats. *J Bone Joint Surg* 1963; 45B: 770-9.
21. **Lemaire RG.** Calcium metabolism in fracture healing. An experimental kinetic study in rats using  $Ca^{45}$ . *J Bone Joint Surg* 1966; 48A: 1156-62.
22. **Makley JT, Heiple KG, Chase SW, Hendon CH.** The effect of reduced barometric pressure on fracture healing in rats. *J Bone Joint Surg* 1967; 49A: 903-10.
23. **Volping G, Rees JA, Bentley AG.** Distribution of alkaline phosphatase activity in experimentally produced callus in rats. *J Bone Joint Surg* 1986; 68B: 629-34.
24. **Jackson RW, Reed CA, Israel JA, Abou-Keer FK, Garside H.** Production of a standard experimental fracture. *Canad J Surg* 1970; 13: 415-20.
25. **Benassy J.** Ostéomes des paraplégiques. *Rev Rheumat* 1957; 24: 457-61.
26. **Spielman G, Gennarelli TA, Rogers CR.** Disodium etidronate: Its role in preventing heterotopic ossification in severe head injury. *Arch Phys Med Rehabil* 1983; 64: 539-42.
27. **Izumi K.** Study of ectopic bone formation in experimental spinal cord injured rabbits. *Paraplegia* 1983; 21: 351-63.