

DEPARTAMENT DE CIRURGIA

ESTUDIO DEL EFECTO DE LOS BIFOSFONATOS
(ZOLEDRONATO) SOBRE LA CONSOLIDACIÓN DE LAS
FRACTURAS.

MARTA SALOM TAVERNER

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA
Servei de Publicacions
2012

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a València el dia 17 de novembre de 2011 davant un tribunal format per:

- Dra. Carmen Cardá Batalla
- Dr. Fernando López Prats
- Dr. Antonio Herrera Rodríguez
- Dr. Adolfo Diez Pérez
- Dra. Amparo Ruiz Saurí

Va ser dirigida per:
Dr. Francisco Gomar Sancho
Dr. José Luis Peris Serra

©Copyright: Servei de Publicacions
Marta Salom Taverner

I.S.B.N.: 978-84-370-8846-4

Edita: Universitat de València
Servei de Publicacions
C/ Arts Gràfiques, 13 baix
46010 València
Spain
Telèfon:(0034)963864115

***ESTUDIO DEL EFECTO DE
LOS BIFOSFONATOS
(ZOLEDRONATO) SOBRE
LA CONSOLIDACIÓN DE
LAS FRACTURAS***

Realizada por: Marta Salom Taverner

Director: Prof. Dr. Francisco Gomar Sancho

Director: Dr. José Luis Peris Serra

*A los hombres de mi vida,
mi padre Luis,
mi marido José Enrique y
mis hijos José Enrique y Luis.*

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quisiera agradecer al Dr. Luis Salom Costa, mi padre, que me inculcara, entre otras cosas, el deseo de realizar mi Tesis Doctoral como parte de mi formación. Aunque él no pueda estar presente en su lectura, estoy segura de que él sabía que algún día la terminaría.

Al Prof. Dr. Francisco Gomar Sancho por confiar en mí y darme el asesoramiento y los medios necesarios para llevar a cabo esta Tesis Doctoral.

Al Dr. José Luis Peris Serra por ayudarme a realizar la parte biomecánica de esta Tesis y por revisarla concienzudamente.

A los jefes que he tenido durante el tiempo que he realizado mi Tesis Doctoral: Dr. Carlos Pérez Lahuerta, Dr. Ismael Escribá Roca, Dr. Alfredo Juan Llabrés y Dr. Luis Miranda Casas.

Muy especialmente a Chimo y Amor del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina por toda su ayuda y enseñanza en la parte experimental del trabajo.

A los trabajadores de la granja experimental de la Facultad de Agrónomos de la Universidad Politécnica de Valencia por la ayuda en el cuidado y manejo de los animales.

A la Industria Novartis por habernos proporcionado el zoledronato utilizado en este trabajo.

A los miembros y amigos del Grupo de Estudio e Investigación de la Osteoporosis (GEIOS) de la SECOT que tanto me han animado para que terminara el estudio.

A todos, los que de una forma u otra, me han ayudado a realizar mi Tesis Doctoral.

ÍNDICEpg 7

RESUMENpg 11

INTRODUCCIÓNpg 23

1. - Osteoporosis.....pg 23

1.1.- Definición.....pg 23

1.2.- Fracturas osteoporóticas.....pg 24

1.3.- Incidencia de las fracturas osteoporóticas.....pg 25

1.4.- Tratamiento de la osteoporosis.....pg 30

2.- Bifosfonatos.....pg 37

2.1.- Mecanismo de acción.....pg 37

2.2.- Indicaciones.....pg 40

2.3.- Efectos secundarios.....pg 46

2.4.- Zoledronato.....pg 55

3.- Consolidación de las fracturas.....pg 59

3.1.- Fisiología de la consolidación de las fracturas.....	pg 59
3.2.- Efecto de la osteoporosis en la consolidación de las fracturas.....	pg 62
<u>4.- Efecto de los bifosfonatos en la consolidación de las fracturas.....</u>	pg 67
4.1.- Estudios clínicos.....	pg 67
4.2.- Estudios experimentales.....	pg 68
Estudios experimentales con zoledronato.....	pg 85
<i>HIPÓTESIS DE TRABAJO.....</i>	pg 93
<i>OBJETIVOS.....</i>	pg 97
<i>MATERIAL Y MÉTODOS.....</i>	pg 99
<u>1.- Animal de experimentación.....</u>	pg 99
<u>2.- Técnica quirúrgica.....</u>	pg 101
<u>3.- Características del fijador externo.....</u>	pg 107
<u>4.- Métodos de medición.....</u>	pg 109

4.1.- Estudios de imagen mediante TAC.....	pg 109
4.2.- Estudios biomecánicos.....	pg 109
4.3.- Estudios densitométricos.....	pg 126
4.4.- Tratamiento estadístico.....	pg 132
RESULTADOS.....	pg 135
1.- <u>Muestras</u>.....	pg 135
2.- <u>Resultados del estudio por TAC</u>.....	pg 139
3.- <u>Resultados de los ensayos mecánicos</u>.....	pg 151
3.1.- Ensayos de flexión a 4 puntos.....	pg 151
3.2.- Ensayos de torsión.....	pg 157
4.- <u>Resultados de los ensayos densitométricos</u>.....	pg 165
4.1.- Estudio densitométrico del callo completo.....	pg 165
4.2.- Estudio densitométrico de la zona de fractura.....	pg 173
5.- <u>Estudios de correlación</u>.....	pg 187

DISCUSIÓN.....pg 189

CONCLUSIONES.....pg 219

ESTUDIOS FUTUROS.....pg 221

BIBLIOGRAFÍA.....pg 223

ANEXOS.....pg 255

1.- Índice de Tablas.....pg 255

2.- Índice de Figuras.....pg 260

3.- Índice de Ecuaciones.....pg 264

4.- Informe de la Comisión de Ética e Investigación...pg 265

**5.- Informe de la Consellería de Agricultura, Pesca y
Alimentación de la Generalitat Valenciana.....pg 266**

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

La osteoporosis es una enfermedad sistémica crónica y progresiva que se caracteriza por una densidad ósea baja y un deterioro de la microarquitectura del tejido óseo, que reduce la resistencia a las fuerzas de carga, con un incremento de la fragilidad ósea y de la susceptibilidad de experimentar una fractura ante mínimos traumatismos¹⁷¹. Por lo tanto las fracturas son la consecuencia clínica de la osteoporosis.

La incidencia de este tipo de fracturas es muy alta y además está en aumento¹⁵¹. Las fracturas de cadera son las más importantes por sus consecuencias en cuanto a mortalidad (20-30% en el primer año)⁹⁹ y morbilidad (sólo el 50% recuperan su estatus previo)²⁰². Las fracturas vertebrales son las más numerosas aunque a veces su diagnóstico clínico es difícil⁹⁹. Estas fracturas suponen un importante factor de riesgo para la aparición de nuevas fracturas osteoporóticas¹¹⁷. Las fracturas distales de radio, aunque no siempre se asocian a osteoporosis, sí que son las que primero se producen y pueden servirnos de alerta para estudiar y prevenir nuevas fracturas osteoporóticas⁶⁵.

Actualmente existen dos grandes grupos de fármacos que se están utilizando para el tratamiento de la osteoporosis y para la prevención de fracturas osteoporóticas. El primero de ellos lo forman los fármacos antireabsortivos o anticatabólicos cuyo principal mecanismo de acción es la disminución del recambio óseo consiguiendo así aumentar la DMO¹³⁷. Dentro de este grupo tenemos la calcitonina, la terapia hormonal sustitutiva, el raloxifeno

y los bifosfonatos. El otro grupo de fármacos corresponde a los anabólicos o formadores de hueso que actúan sobre los osteoblastos y corresponden a los análogos de la parathormona¹³⁷.

Todos ellos han demostrado, en mayor o menor medida, ser efectivos a la hora de prevenir la aparición de fracturas osteoporóticas. Los más utilizados son los bifosfonatos al ser los que han demostrado mayor efectividad en la prevención de fracturas vertebrales, de cadera y periféricas^{19,87}.

Los bifosfonatos son compuestos químicos cuyo principal efecto es la inhibición de la reabsorción ósea¹⁷⁹. Existen distintos bifosfonatos según variaciones en su fórmula química lo que les confiere distintas características. Actualmente, en la clínica se utilizan los aminobifosfonatos con gran capacidad para inhibir la acción de los osteoclastos al interferir en la vía del mevalonato. También se piensa que actúan sobre los osteoblastos y osteocitos⁵⁹.

Las indicaciones de los bifosfonatos son en aquellas patologías que cursan con un aumento de la reabsorción ósea mediada por osteoclastos. La enfermedad de Paget fue la primera indicación de estos fármacos, aunque hoy en día, la principal indicación es la osteoporosis postmenopáusica donde se ha demostrado su eficacia para la prevención de fracturas osteoporóticas vertebrales, de cadera y periféricas¹⁹⁸. Además también se ha aprobado su indicación para el tratamiento de la osteoporosis en hombres, secundaria al tratamiento con corticoides y al trasplante de órganos. En las guías de tratamiento que existen para la osteoporosis, tanto nacionales como internacionales, los bifosfonatos son los fármacos de elección^{82,163}.

También se utilizan en otras patologías como en las metástasis óseas⁸¹, patologías pediátricas como la osteogénesis imperfecta y displasia fibrosa¹⁶⁰ y se están estudiando en otras como en las necrosis avasculares de cabeza femoral¹¹⁵, prevención del aflojamiento aséptico en la prótesis de cadera y rodilla^{201,204} o tumores de células gigantes²¹⁷.

Se han descrito como efectos secundarios de los bifosfonatos orales afectaciones del sistema gastrointestinal superior¹⁵, reacción de fase aguda¹⁷⁶, hipocalcemia e hiperparatiroidismo secundario¹⁷⁸, dolor musculoesquelético¹⁷⁸, osteonecrosis de mandíbula¹⁹⁷ y patologías oculares⁶⁴. En los bifosfonatos intravenosos pueden producirse todos estos efectos adversos excepto los que afectan al sistema gastrointestinal superior. Además el pamidronato y el zoledronato se han asociado a toxicidad renal³². Se han descrito algunos casos de reacciones cutáneas, ulceraciones orales, hepatitis y cáncer de esófago¹⁷⁸. En líneas generales los bifosfonatos intravenosos son más potentes que los orales y la frecuencia y gravedad de los efectos adversos dependen de la dosis y potencia del fármaco.

Recientemente se están publicando la aparición de fracturas por fragilidad, con patrones atípicos, en pacientes sometidos a tratamientos prolongados con bifosfonatos²³¹. Aunque la etiología de estas fracturas no está clara, se recomienda reevaluar la necesidad de continuar el tratamiento con bifosfonatos en pacientes tratados más de 5 años³⁸.

El zoledronato es el bifosfonato comercializado más potente clínicamente y con la relación terapéutica mayor entre la inhibición de la reabsorción ósea buscada y la inhibición de la mineralización ósea no

deseada²³. Actualmente está indicado en el tratamiento y prevención de la osteoporosis postmenopáusica, en la secundaria a corticoides y en la prevención de fracturas tras una fractura osteoporótica de cadera reciente. Su administración es intravenosa de forma anual, lo que le confiere su principal ventaja respecto al resto de bifosfonatos, ya que un importante factor que afecta negativamente a la eficacia del tratamiento con los bifosfonatos es el abandono del mismo por falta de cumplimentación por el paciente ¹²². El zoledronato a dosis de 5 mg en dosis anual durante 3 años ha demostrado una reducción del 70% en la aparición de fracturas vertebrales, de un 41% en las de cadera y de un 25% en el resto²¹.

La mayoría de las fracturas consolidan mediante el llamado proceso de consolidación secundaria que está formado por 5 fases. La primera es el impacto y formación del hematoma y es la fase en que se produce la fractura y se liberan gran cantidad de factores que favorecen la consolidación. En la segunda fase de inflamación el hueso se necrosa y aparecen las células inflamatorias. En la tercera fase se forma el callo blando o inmaduro. En la cuarta fase el callo se osifica y en la última fase o de remodelación, el callo duro se remodela convirtiéndose en un callo maduro. Además el proceso de consolidación varía según la zona del callo.

Experimentalmente se ha observado que las fracturas osteoporóticas tienen una capacidad de consolidación disminuida por retraso en la formación del callo y menor formación de hueso maduro disminuyendo las propiedades mecánicas del callo de fractura^{50,110}. En pacientes ancianos las fracturas consolidan con mayor dificultad y esto está causado por varios factores como la

dificultad de conseguir una estabilidad inicial de las fracturas por la pobre calidad del hueso, la alteración del angiogénesis de estos pacientes que afecta a las fases iniciales de la consolidación y la disminución de los factores de crecimiento, actividad de los osteoblastos y células madres mesenquimales debido a la edad^{72,170}.

En cuanto al efecto de los bifosfonatos en la consolidación de las fracturas, los trabajos publicados sobre el efecto de estos fármacos en la consolidación ósea de fracturas en pacientes tratados con este fármaco nos aportan pocos datos. Se han publicado estudios en pacientes pediátricos afectados de osteogénesis imperfecta en tratamiento con bifosfonatos intravenosos, en los que parece que éstos no influyen en la consolidación ósea¹⁶¹. En otros trabajos donde se estudia el efecto de los bifosfonatos sobre la pérdida ósea tras la inmovilización para el tratamiento de determinadas fracturas, los bifosfonatos se administran inmediatamente producida la fractura y no se observa un aumento de retrasos de la consolidación ósea³.

Se han realizado diversos estudios experimentales en animales para observar la influencia de los bifosfonatos en el callo de fractura⁶⁹. La mayoría de los estudios se han realizados en ratas estudiando el comportamiento de distintos bifosfonatos, principalmente aquellos utilizados en la enfermedad de Paget y en la hipercalcemia maligna. Se han publicado varios trabajos sobre el efecto del icandronato^{123-125,158} y del clodronato^{94,109,135,172,173,213} en la consolidación de las fracturas en ratas. Otros autores comparan el efecto del Raloxifeno, Estrógenos y Alendronato en la consolidación ósea en ratas ovariectomizadas³⁰. También se han utilizado perros para estudiar el efecto del

tiludronato y etidronato^{33,61,120}, del ibandronato¹⁶ y del alendronato¹⁸² en la consolidación ósea. Por último también se ha estudiado el efecto del Pamidronato en ovejas⁷⁸.

Los resultados de estos trabajos son heterogéneos, lo que es normal teniendo en cuenta los diferentes modelos animales, tipos de bifosfonatos, dosis y modelos de fractura usados. La mayoría de estos trabajos observan que se producen callos más grandes por retraso en la remodelación del callo de fractura, pero es más difícil interpretar los resultados biomecánicos ya que las pruebas de medición son muy distintas y mientras algunos autores encuentran una disminución de las propiedades biomecánicas del callo, otros no encuentran diferencias e incluso algunos encuentran un aumento de las mismas.

Algunos autores también han estudiado el efecto del zoledronato en el proceso de consolidación de las fracturas. Se ha hecho un estudio histológico del efecto del zoledronato en osteotomías de la diáfisis del peroné en conejos y se ha observado un aumento del volumen del tejido en los animales tratados, un aumento del volumen del hueso trabecular y una disminución del volumen de fibrosis y se ha interpretado el efecto del zoledronato como un efecto anabolizante, no porque se forme más hueso nuevo sino porque éste permanece más tiempo al estar disminuida la reabsorción del mismo^{5,141}. También se ha estudiado el efecto del zoledronato en un modelo de distracción osteogénesis en conejos y se ha podido observar un efecto beneficioso en la capacidad de resistir la carga del hueso regenerado sin aumentar la fragilidad del hueso formado. En pacientes jóvenes se ha observado que tras administrar

una dosis de 4mg de zoledronato tras una osteotomía de tibia proximal para el tratamiento de una gonartrosis, aumenta la resistencia del callo óseo formado y por lo tanto permite acortar el tiempo de fijación externa²¹².

Otro grupo de autores han estudiado el efecto del zoledronato administrado en una sola dosis o semanalmente en un modelo de fractura en ratas observando un aumento del volumen y resistencia del callo a las 6 semanas de la fractura cuando se administraba en una sola dosis^{6,148}. Los resultados son mejores cuando el zoledronato se administra a las 2 semanas de la fractura^{7,8}.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

La incidencia de fracturas osteoporóticas es cada vez mayor y también es cada vez mayor el número de pacientes osteoporóticos con tratamiento con bifosfonatos, por lo que es probable que nos encontremos con pacientes que a pesar del tratamiento con bifosfonatos puedan sufrir una fractura osteoporótica.

Por lo tanto, nuestra hipótesis de trabajo es que sí los bifosfonatos actúan disminuyendo la reabsorción ósea, al ser éste un proceso imprescindible en las fases de remodelación de la consolidación ósea, la utilización de este bifosfonato durante la reparación de una fractura ósea afectará a la resistencia mecánica del callo.

OBJETIVOS

Los objetivos de nuestro trabajo son reproducir un modelo experimental de fractura en tibias de ovejas osteoporóticas, estudiar el proceso de consolidación ósea en este modelo mediante estudios de densitometría y biomecánicos y valorar el efecto del zoledronato en la consolidación de estas fracturas comparándolo con un grupo control.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se ha realizado en 13 ovejas maduras ovariectomizadas y alimentadas con una dieta pobre en calcio y vitamina D durante 6 meses.

Los animales se han distribuido en 2 grupos, el grupo ZOL en el que se ha incluido a las ovejas a las que se les ha administrado una única dosis de 0.1 mg/kg de zoledronato vía subcutánea, dos semanas después de la intervención quirúrgica y el grupo control que no ha recibido medicación.

El modelo de fractura se ha conseguido realizando una osteotomía en la tibia de la pata posterior izquierda y la hemos estabilizado mediante un fijador externo unilateral con 4 tornillos de 6 mm de diámetro.

Las ovejas se han sacrificado a las 8 semanas de la osteotomía y se han tomado imágenes mediante TAC para realizar un estudio morfológico y densitométrico del callo.

Los estudios biomecánicos han consistido en ensayos no destructivos de flexión a cuatro puntos, de los que se obtienen las gráficas de perfil polar de

rigidez a partir de las cuales se determina el índice de rigidez, el índice de áreas y el índice de planitud, y ensayos destructivos de torsión con los que se calcula la rigidez torsional, el par torsor máximo y la tenacidad.

Los estudios densitométricos, realizados a partir de las imágenes de TAC, han consistido en estudios de la totalidad del callo calculando el volumen total y su densidad y en análisis de la zona de fractura dividiendo el rango total de densidades óseas en 4: isodensidad 1 de 226 a 876 HU, isodensidad 2 de 877 a 1527 HU, isodensidad 3 de 1528 a 2178 HU e isodensidad 4 de 2179 HU hasta la densidad máxima de la muestra. En cada isodensidad se ha calculado el volumen y la densidad media.

Se ha realizado un estudio estadístico de los resultados con el objetivo de encontrar diferencias estadísticamente significativas debidas al tratamiento para los parámetros utilizados en el presente estudio respecto al grupo control.

RESULTADOS

Al preparar las muestras para los estudios biomecánicos se comprobó que algunas muestras no se podían utilizar por lo que finalmente se pudo analizar 6 ovejas en el grupo control y 5 en el grupo ZOL para los estudios densitométricos y 4 ovejas en el grupo control y 3 en el grupo ZOL para los estudios mecánicos.

Al hacer el estudio morfológico de los cortes de TAC se ha observado que las tibias del grupo ZOL han formado callos más grandes, de forma estadísticamente significativa, incluso cuando analizamos la relación con las

tibias no operadas. Además el zoledronato también influyó en los huesos no operados, aumentando su área.

En los ensayos mecánicos de flexión a cuatro puntos se han obtenido las gráficas de perfil polar de rigidez de los huesos osteotomizados encontrándose rigideces menores en los huesos del grupo ZOL y además con un cambio en el patrón de distribución de los valores de rigidez en los diferentes planos. Al analizar las gráficas de los huesos no operados se han encontrado valores de rigidez mayores que en los huesos no operados para los 2 grupos. Al analizar sólo los huesos no operados se han obtenido valores mayores en el grupo ZOL respecto al control sin cambios en la distribución de los valores de rigidez.

En los parámetros mecánicos de flexión no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos. Este hecho indica que el comportamiento a flexión de los callos de fractura no difiere significativamente entre los dos grupos.

En los parámetros mecánicos de torsión estudiados en los huesos osteotomizados no se han encontrado diferencias significativas en ninguna de las tres variables estudiadas, tenacidad, rigidez torsional y par torsor. En los huesos no operados tampoco encontramos diferencias significativas en ninguna de las variables estudiadas.

En los ensayos densitométricos del callo completo se confirmó que los huesos tratados con zoledronato fueron de mayor volumen que los del grupo control, mientras que la densidad mineral ósea de los callos del grupo ZOL fue menor que los del grupo CON. En los huesos no operados no se encontraron

diferencias en cuanto al volumen o densidad mineral ósea como era de esperar.

Al estudiar la distribución de las distintas densidades dentro del callo de fractura, hemos visto que la isodensidad 2, correspondiente a densidades medio-bajas, es la más abundante sin que existan diferencias significativas entre los porcentajes de volúmenes generados con cada uno de los grupos y en las isodensidades consideradas. Al estudiar las densidades medias de cada isodensidad, hemos visto que el grupo ZOL da lugar a una densidad ósea significativamente mayor que en el caso del grupo control únicamente para la zona de isodensidad más elevada.

INTRODUCCIÓN

1.- OSTEOPOROSIS

1.1.- Definición

La definición de osteoporosis internacionalmente aceptada es la de una enfermedad sistémica crónica y progresiva caracterizada por una densidad ósea baja, que disminuye la dureza de los huesos, y un deterioro de la microarquitectura del tejido óseo, que reduce la resistencia a las fuerzas de carga, con un incremento consiguiente de la fragilidad ósea y de la susceptibilidad de experimentar una fractura ante mínimos traumatismos¹⁷¹.

Anteriormente a esta definición, la osteoporosis se diagnosticaba exclusivamente basándose en valores de densidad mineral ósea. Así la OMS estableció en 1994 las siguientes definiciones²³⁵:

1.- Los valores normales de la densidad mineral ósea (DMO) es ≤ 1 desviación estándar (DE) por debajo del valor medio de un adulto joven.

2.- Osteopenia o masa ósea baja: un valor de la DMO entre 1 y 2,5 DE por debajo de la media de un adulto joven.

3.- Osteoporosis: un valor de la DMO $>2,5$ DE por debajo del valor medio de un adulto joven.

4.- Osteoporosis severa: un valor de DMO $>2,5$ DE por debajo de la media de un adulto joven junto a la presencia de una o más fracturas osteoporóticas.

Pero hoy en día sabemos que la densidad mineral ósea no es el único factor determinante de la resistencia ósea, si no que existen otros parámetros que determinan la micro-arquitectura ósea y que también colaboran en la resistencia del hueso⁸⁸.

El problema radica en que si bien la densidad mineral ósea se puede medir mediante las densitometrías, la arquitectura ósea es muy difícil de cuantificar. Existen métodos de medición de la micro-arquitectura ósea mediante técnicas histomorfométricas en biopsias óseas o estudios mediante microTC, pero actualmente estos métodos sólo son utilizados a nivel experimental⁷⁰. Por tanto la única técnica de medición aplicable en la clínica sigue siendo la densitometría ósea.

1.2.- Fracturas osteoporóticas

Las fracturas son la consecuencia clínica de la osteoporosis. Las fracturas osteoporóticas clásicas son las de cadera, las vertebrales y las de muñeca^{99,129}. Sin embargo la osteoporosis es una enfermedad sistémica del esqueleto y las fracturas también pueden producirse en otras localizaciones como el húmero proximal, las costillas, la tibia, la pelvis, la rodilla y el tobillo^{37,129}. En estas últimas localizaciones puede resultar difícil definir si una fractura es osteoporótica o no. Aunque hay muchas definiciones de una fractura osteoporótica, la más aceptada es la producida por una caída desde el mismo nivel⁹⁹.

Las fracturas osteoporóticas se producen por la disminución de la resistencia del hueso, pero también por la propensión a las caídas, la incapacidad de corregir un desequilibrio postural, la orientación de la caída, las características de los amortiguadores tisulares locales y las características de la superficie de impacto¹⁹².

Además es una enfermedad que no produce sintomatología hasta que se produce una fractura, por lo que se le ha denominado la epidemia silenciosa. Por ello es importante identificar las fracturas osteoporóticas, calificarlas como tales e incrementar el número de pacientes que reciben un tratamiento médico apropiado para la osteoporosis después de sufrir una fractura.

Numerosos estudios demuestran que la presencia de una fractura osteoporótica es un factor de riesgo para que se produzca una nueva fractura osteoporótica en otra localización^{89,108}.

1.3. – Incidencia de las fracturas osteoporóticas

El riesgo de sufrir una fractura osteoporótica de cadera, vertebral o de muñeca durante la vida, en los Estados Unidos es del 40% en mujeres y del 13% en hombres¹⁵¹. En Suiza las cifras se estiman en el 46% para las mujeres y en el 22% para los hombres¹⁰¹. En el Reino Unido las cifras son del 53,2% para las mujeres y del 20,7% para los hombres²³².

- **Fracturas de cadera**

Las fracturas de cadera son las fracturas osteoporóticas más importantes. La mayor parte requieren hospitalización y su tratamiento suele ser quirúrgico. Hay 2 tipos principales de fracturas de cadera: las subcapitales (fracturas intracapsulares) y las pertrocanteréas (fracturas extracapsulares). Parece que las pertrocanteréas se asocian en mayor medida a la osteoporosis⁹⁹.

Los pacientes con una fractura de cadera tienen una gran morbilidad y pierden gran calidad de vida a consecuencia de su fractura. Sólo el 50% de los pacientes recuperan su estatus previo al evaluar su capacidad de deambulación y la necesidad de ayuda en su domicilio²⁰².

Además estas fracturas también tienen una gran mortalidad, así del 20 al 30% de los pacientes con una fractura de cadera fallecen durante el primer año tras la fractura⁹⁹. Parte de esta mortalidad es debida a la co-morbilidad de estos pacientes, ya que tienen más enfermedades en comparación con la población general. Se estima que probablemente sólo el 25% de los fallecimientos tras una fractura de cadera son debidos a la propia fractura¹⁰².

El número de fracturas que se producen anualmente en el mundo ha sido estimado en una cifra de 1,66 millones en 1990 y predicen que aumente hasta 6,26 millones para el año 2050^{39,152}. Actualmente la mitad de las fracturas de cadera se producen en Europa y Norte América⁹⁹.

- **Fracturas vertebrales**

Las fracturas vertebrales osteoporóticas se pueden definir radiológica o clínicamente. Radiológicamente, del 18 al 26% de las mujeres caucásicas postmenopáusicas tienen una fractura vertebral definida como una deformidad en la altura de la vértebra⁹⁹. Según el estudio EVOS⁵⁷ el 1% de las mujeres de 65 años y el 2,9% de las mujeres entre 75 y 79 años tienen una nueva fractura vertebral cada año. Por lo tanto la incidencia de nuevas fracturas vertebrales es muy alta.

El diagnóstico clínico de las fracturas vertebrales es más difícil, debido, probablemente, a que las mujeres con dolor de espalda no acuden a su médico porque piensan que no tiene tratamiento, además no todas las fracturas vertebrales radiológicas dan sintomatología⁹⁹. Sin embargo hay estudios que demuestran que este tipo de fracturas sí producen dolor y disminución de la calidad de vida^{167,205}. Además las fracturas vertebrales no sólo son importantes por su morbilidad si no porque suponen un importante factor de riesgo de nuevas fracturas^{99,117,164}.

El estudio EVOS (European Vertebral Osteoporosis Study)^{96,164} y también el estudio FIT (Fracture Intervention Trial)⁵⁵ demuestran un aumento de la mortalidad tras una deformidad vertebral y ésta aumenta en las fracturas vertebrales con clínica y cuando requieren hospitalización. Lau¹¹⁷ realiza una revisión de pacientes norteamericanos con el diagnóstico de fractura vertebral osteoporótica y encuentran que en durante un periodo de 7 años, un paciente anciano con una fractura vertebral osteoporótica tiene por lo menos el doble de riesgo de muerte que un paciente de la misma edad sin fractura y ajustando la

comorbilidad. Este riesgo de mortalidad añadido aumenta cuando la fractura se produce en pacientes de menor edad. Además esta mortalidad es mayor en los 6 primeros meses tras la fractura.

Lippuner realiza un estudio de la epidemiología y de los costes médicos directos de las fracturas osteoporóticas en hombres y mujeres en Suiza y observan que las fracturas osteoporóticas lideran los costes médicos directos relacionados con la hospitalización en las mujeres en el año 2000 y en hombres los costes son comparables a los del infarto de miocardio¹²⁹.

Los datos sobre la incidencia de fracturas osteoporóticas en España proceden del estudio AFOE (Acta de Fracturas Osteoporóticas en España) realizado por el GEIOS (Grupo de Estudio e Investigación de la Osteoporosis) de la SECOT (Sociedad Española de Ortopedia y Traumatología) donde se recogía una incidencia mensual de 0,6 fracturas proximales de fémur por cada 1.000 habitantes de más de 60 años, 0,36 para las fracturas proximales de húmero y 0,55 para las fracturas distales de radio. Esto supone unas cifras de 154.700 fracturas osteoporóticas no vertebrales en España para el año 2003⁸⁹.

En un estudio realizado sobre las fracturas vertebrales osteoporóticas en España a partir del registro de hospitalización nacional²⁵ se observa que estas fracturas son más frecuentes en mujeres con una relación 1,5:1 con respecto a los hombres, y que su frecuencia aumenta en relación con la edad de forma que su presencia aumenta exponencialmente desde la sexta década en adelante. De estas fracturas sólo una pequeña parte reciben tratamiento quirúrgico. También se encontró que la presencia de una fractura vertebral

osteoporótica implica un aumento de la mortalidad y que ésta es mayor en hombres.

- **Fracturas distales de radio**

La incidencia en Europa de las fracturas osteoporóticas de la extremidad distal de radio es de 1,7 por cada 1000 varones por año y de 7,3 por cada 1000 mujeres por año⁶⁵. En España, el estudio AFOE, detectó 661 fracturas por cada 100.000 habitantes por año. Estas fracturas son las más frecuentes en mujeres mayores de 45 años. Una mujer a partir de los 50 años tiene, durante sus años de vida restantes, un 16% de riesgo de presentar una fractura de extremidad distal de radio¹⁰⁶. El 20% de las mujeres mayores de 70 años habrá padecido al menos una fractura de este tipo.

La mayoría de las fracturas distales de radio en mujeres postmenopáusicas son osteoporóticas pero no siempre se reconocen como tal^{65,194}. Earnshaw en un estudio de 106 mujeres postmenopáusicas que sufrieron una fractura distal de radio demuestra una OP u osteopenia medida por DMO en el 91%⁴⁴. Freedman estudia 1162 mujeres tratadas por una fractura de extremidad distal de radio y encuentra que sólo se le realiza una DMO a 33 de ellas (2,8%) y sólo son tratadas para la prevención de nuevas fracturas osteoporóticas 266 (22,9%)⁶⁵. Khan también realiza un estudio en mujeres tratadas por una fractura de extremidad distal de radio y encuentra que sólo un 21% son estudiadas para descartar una osteoporosis y que sólo el 38% son tratadas con tratamientos para prevenir nuevas fracturas¹⁰⁶. En España Morote también realiza un estudio y encuentra que sólo el 3,8% de las pacientes eran estudiadas de osteoporosis tras este tipo de fracturas y si bien

el 26,3% eran tratadas con fármacos para la OP la mayor parte de los caso se trataban con calcitonina y calcio para prevenir una DSR (distrofia simpático refleja) como complicación de la fractura¹⁵⁹.

Además los pacientes que sufren una fractura osteoporótica de la extremidad distal de radio tienen un riesgo de 2 a 4 veces mayor de sufrir una segunda fractura osteoporótica en otra localización que una persona que no haya sufrido una fractura previa^{65,194}.

Como los pacientes que sufren una fractura osteoporótica de extremidad distal de radio son, como media, más jóvenes que los que padecen una fractura vertebral o de cadera, ofrecen a los traumatólogos una oportunidad única para iniciar medidas preventivas de nuevas fracturas por fragilidad^{65,106,194}.

1.4.- Tratamiento de la osteoporosis

Las recomendaciones del tratamiento farmacológico de la osteoporosis se recogen en una serie de guías nacionales e internacionales que aconsejan el fármaco más adecuado. Las guías más utilizadas son las de la Fundación Americana para la Osteoporosis¹⁶³, la de la Academia Americana de Cirujanos Ortopédicos (AAOS)¹¹⁶, la de la Sociedad Española de Investigaciones Óseas y Metabolismo Mineral (SEIOMM)⁸³ y la del GEIOS de la SECOT por la cual nos guiamos los traumatólogos⁸².

Hoy en día disponemos de dos grandes grupos de fármacos contra la osteoporosis: los fármacos anticatabólicos o antireabsortivos y los anabólicos o formadores de hueso.

El hueso es un tejido vivo: la remodelación ósea implica una renovación continua del hueso, mediante un proceso coordinado de reabsorción y formación ósea. Tras la menopausia y con la edad, se produce un desbalance y se reabsorbe más hueso del que se forma, produciéndose una pérdida ósea.

Los fármacos anticatabólicos o antirresortivos actúan sobre los osteoclastos disminuyendo el recambio óseo, reducen las perforaciones trabeculares y aumenta la mineralización ósea, produciendo mínimos efectos sobre el volumen óseo. El aumento que consiguen de la DMO está relacionado con el aumento de la mineralización. Todo ello conduce a reducir el riesgo de fracturas¹³⁷.

Los fármacos osteoformadores, por el contrario, actúan sobre los osteoblastos aumentando la formación de hueso, aumentan el volumen óseo, restablecen la micro-arquitectura esponjosa, aumentan el espesor cortical y mejoran la geometría del hueso cortical. Con todo ello también consiguen reducir el riesgo de fracturas¹³⁷.

Dentro de los fármacos antireabsortivos tenemos la calcitonina, la terapia hormonal sustitutiva (TSH), el raloxifeno y los bifosfonatos. Como fármacos anabólicos disponemos de los análogos de la parathormona. Y por último existe otro fármaco, el ranelato de estroncio, que tiene un modo de acción doble, ya que aumenta la formación y disminuye la reabsorción ósea simultáneamente²⁹.

• **Calcio y Vitamina D**

La ingesta de calcio y vitamina D modula el aumento de los niveles de hormona paratiroidea y la reabsorción ósea relacionados con la edad. Es aceptado que para conseguir una masa ósea adecuada es necesaria una ingesta adecuada de calcio y vitamina D.

Además, distintos estudios han demostrado que en la población mayor los niveles de 25-hidroxivitamina D suelen estar disminuidos. La dosis adecuada de vitamina D es incierta, pero se recomienda que sea de entre 400 y 1000 UI/día.

La mayoría de los estudios clínicos sobre la efectividad de diversos tratamientos para la osteoporosis se realizan asociando siempre calcio y vitamina D por lo que se recomienda su asociación a cualquiera de los fármacos actualmente disponibles para el tratamiento de la osteoporosis¹⁷¹.

• **Calcitonina**

La Calcitonina fue el primer fármaco utilizado en el tratamiento de la osteoporosis. Su efecto antireabsortivo actualmente, ha sido, ampliamente superado por otros fármacos, por lo que su utilización ha disminuido drásticamente.

Se le ha atribuido un efecto analgésico que no ha sido demostrado y que más bien se debe a la mejora en la calidad ósea y no en el fármaco en sí.

Actualmente se utiliza en la algodistrofia, aunque también en esta indicación ha sido superada por otros fármacos antireabsortivos como los bifosfonatos.

- **Terapia hormonal sustitutiva**

Actualmente no está indicada como tratamiento de la osteoporosis por aumentar el riesgo cardiovascular y del cáncer de mama.

- **Raloxifeno**

El raloxifeno es un fármaco que actúa a nivel de los receptores de los estrógenos (SERMs), produciendo por lo tanto un efecto equivalente a la THS a nivel del hueso, pero con menor riesgo cardiovascular y de cáncer de mama. Se recomienda su uso en mujeres alrededor de la menopausia. La posología es de 1 comprimido diario de 60 miligramos vía oral. Está contraindicado en mujeres con antecedentes de trombosis o clínica de sofocos.

- **Ranelato de Estroncio**

Su mecanismo de acción es dual, antireabsortivo y formador de hueso. El mecanismo molecular de su efecto en el hueso aún está en estudio y no está clarificado en su totalidad^{29,138}. Aunque su poder para reducir el riesgo de fracturas es menor que el de los bifosfonatos, éste ha sido demostrado en estudios a doble ciego con control de placebo demostrando una capacidad de disminuir el riesgo de fractura vertebral del 38% durante 3 años y del 52% durante el primer año de tratamiento, de disminuir el riesgo de fractura no vertebral en un 16% y en pacientes con riesgo alto de fractura de cadera lo disminuye en un 36% durante 3 años^{186,195}.

Cómo efectos secundarios puede aumentar el peristaltismo y producir diarreas, por lo que se aconseja su administración en el momento de ir a

dormir, alejado de la cena. La posología es de 1 sobre diario de 2 gramos de ranelato de estroncio.

• **Bifosfonatos**

Los bifosfonatos (BF) son compuestos químicos que contienen un grupo P-C-P esencial para su actividad biológica y 2 cadenas laterales que permiten realizar múltiples combinaciones dando lugar a los distintos BF.

Sus efectos *in vivo* son la inhibición de la mineralización y de la reabsorción ósea. Si bien, los primeros BF sintetizados tenían están dos actividades por igual, hoy en día se utilizan los aminobifosfonatos que tienen una actividad antireabsortiva hasta 1000 veces más potente pero sin gran inhibición de la mineralización. Más adelante comentaremos con detalle el mecanismo de acción y las indicaciones de estos fármacos.

Existen ensayos clínicos que demuestran que estos fármacos aumentan la DMO vertebral y de cadera y que reducen el riesgo de fractura vertebral en un 30-50%^{19,87}. También se ha demostrado su eficacia para disminuir el riesgo de fractura no vertebral en mujeres postmenopáusicas y en pacientes con osteoporosis inducida por corticoides^{41,171}.

• **Análogos de la parathormona (PTH)**

Este grupo de fármacos es el único que tiene un mecanismo de acción anabólico y dentro de él tenemos 2 preparados, la teriparatida y la parathormona según se utilice parte o la molécula entera, respectivamente.

Sabemos que la acción de la PTH es el mantenimiento de los niveles séricos de calcio, de forma que cuando éstos descienden la PTH favorece la

reabsorción de calcio por los riñones, estimula la absorción de calcio y fósforo por el intestino delgado y aumenta la liberación de calcio de los huesos. Por lo tanto la PTH a altas dosis aumenta la reabsorción ósea. Sin embargo se comprobó que a bajas dosis y de forma intermitente la PTH produce un aumento de la formación ósea. A este efecto se le ha llamado “efecto paradójico de la PTH”.

Los análogos de la PTH producen un aumento del número de osteoblastos, de la vida media de los mismos y de la síntesis de proteínas por parte del osteoblasto. Se ha demostrado que aumentan la DMO vertebral y de cadera y que disminuyen el riesgo de nuevas fracturas vertebrales y no vertebrales en más del 50%¹⁶⁵.

Sus indicaciones son pacientes con osteoporosis grave con riesgo alto de fracturas, pacientes con osteoporosis establecida y múltiples fracturas y pacientes con osteoporosis que no responden al tratamiento con antireabsortivos o con contraindicaciones para los mismos.

Para iniciar el tratamiento con estos fármacos, es necesario solicitar una analítica con calcio y fosfatasas alcalinas para descartar una hipercalcemia pre-existente, una enfermedad metabólica ósea como un hiperparatiroidismo o una enfermedad de Paget y elevaciones inexplicables de las fosfatasas alcalinas, ya que estas situaciones son contraindicaciones para el tratamiento. También son contraindicaciones pacientes que hayan recibido radioterapia o tengan algún antecedente de tumor óseo.

La posología es de 1 inyección subcutánea diaria durante un máximo de 18-24 meses.

Dentro de este arsenal terapéutico los fármacos que más frecuentemente recomiendan las guías clínicas son los antireabsortivos, es decir, aquellos que frenan la reabsorción ósea. Dentro de ellos los más utilizados son los bifosfonatos. Su eficacia está probada en la reducción tanto de las fracturas vertebrales como no vertebrales, así como en el aumento de la densidad ósea y son los únicos fármacos que han demostrado la reducción en el riesgo de la fractura de cadera en largas series randomizadas⁴⁰.

Existen estudios de análisis coste-efectividad que demuestran que es costo-efectivo tratar a los pacientes de alto riesgo de fractura con medicaciones antireabsortivas, preferentemente con bifosfonatos^{99,216}. Ström realiza un análisis de coste-efectividad del tratamiento con alendronato en mujeres postmenopáusicas en 9 países europeos, incluyendo España, y demuestra que este tratamiento es costo-efectivo en mujeres con una DMO baja y con una fractura vertebral previa. En la mayoría de los países estudiados, aunque no en todos, el tratamiento también es costo-efectivo aunque no haya ningún antecedente de fractura vertebral previa²¹⁰. Kanis también realiza un análisis de coste-efectividad del tratamiento con alendronato y demuestra que éste es costo-efectivo en mujeres con antecedentes de fractura por fragilidad, independientemente de la DMO¹⁰³.

Además existe evidencia de que las nuevas fracturas se producen muy pronto tras la primera fractura, generalmente en el primer año tras ella, por tanto el tratamiento se debe instaurar lo más pronto posible tras la primera fractura para que sea más costo-efectivo^{98,108}.

2.- BIFOSFONATOS

2.1.- Mecanismo de acción

Los bifosfonatos son compuestos químicos, análogos de los pirofosfatos, que han sido utilizados con diversos fines en la industria. El primer bifosfonato utilizado en humanos fue el etidronato, el cual fue sintetizado hace más de 100 años⁵⁹.

Químicamente son compuestos caracterizados por dos cadenas calcio-fosfato (P-C-P) localizadas en el mismo átomo de carbono. Además los bifosfonatos tienen dos grupos radicales en sus moléculas que se denominan R1 y R2 y que están unidas al átomo de carbono (figura 1).

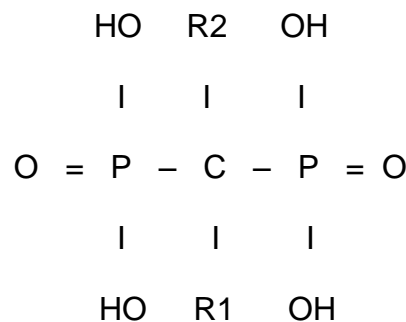


Figura 1: Estructura química de los bifosfonatos.

La fracción P-C-P es estructuralmente cercana a la de los pirofosfatos (P-O-P) y es la responsable de la alta afinidad de los bifosfonatos a los cristales de hidroxiapatita. La presencia de estos grupos R permiten la introducción de numerosas sustituciones que conducen a la síntesis de un gran número de compuestos con diferentes propiedades lo que hace que cada bifosfonato

tenga sus propias características químicas, fisicoquímicas y biológicas^{17,56,142,160,179}.

Los bifosfonatos utilizados clínicamente comparten las siguientes propiedades farmacológicas: son incorporados principalmente por el esqueleto, se unen fuertemente a los cristales de hidroxapatita, suprimen la reabsorción ósea mediada por los osteoclastos, son retenidos durante mucho tiempo en el esqueleto y son eliminados por la orina sin metabolizar^{59,179}.

Sus efectos in vivo son la inhibición de la mineralización y la inhibición de la reabsorción ósea. Si bien los primeros bifosfonatos tenían la misma capacidad para estos dos efectos, se han ido sintetizando compuestos, modificando la composición de la cadena R2 para que incluya un grupo amino, lo que les confiere una mayor actividad antireabsortiva pero sin gran inhibición de la mineralización ósea, lo cual ha permitido su uso en patologías con aumento de la reabsorción ósea. A este grupo se les denomina aminobifosfonatos y dentro de ellos tenemos el pamidronato, el alendronato, el risedronato, el neridronato, el ibandronato y el zoledronato^{26,59,160}.

En la siguiente tabla (tabla 1) se representa la distinta potencia de inhibición de la reabsorción ósea en ratas de los bifosfonatos más utilizados en la clínica:

~1x	~10x	~100x	>100-<1000x	>1000-<10,000x	>10,000x
Etidronato	Clodronato Tiludronato	Pamidronato Neridronato	Alendronato EB-1053 Incadronato Olpadronato	Ibandronato Risedronato	Zoledronato

Tabla 1: Representación de la potencia de inhibición de la reabsorción de los bifosfonatos más utilizados en la clínica.

Los aminobifosfonatos inhiben la reabsorción ósea mediante distintos mecanismos: tienen un efecto directo sobre los osteoclastos al interferir en sus vías metabólicas intracelulares, inducen la apoptosis de los osteoclastos y también tienen efecto sobre otras células óseas, ya que pueden impedir la formación de osteoclastos al afectar a sus precursores y también inhiben la reabsorción ósea vía osteoblastos al estimularlos para que produzcan un factor inhibidor de los osteoclastos^{179,198}.

A nivel molecular, los bifosfonatos que no contienen un grupo nitrógeno en su estructura actúan formando análogos tóxicos del ATP, mientras que los aminobifosfonatos inhiben componentes de la vía intracelular del mevalonato¹⁷⁹. La vía del mevalonato es la responsable de la producción de colesterol. Los aminobifosfonatos inhiben enzimas de esta vía inhibiendo la prenilación proteica, lo que produce una pérdida de la regulación de los osteoclastos, incluyendo el control de la morfología celular, la interrupción de la señal de la integrina, la alteración de las proteínas de membrana, interrupción del citoesqueleto e inducción de apoptosis^{17,58,160,198}.

Sin embargo, la eficacia de los bifosfonatos para prevenir fracturas osteoporóticas es desproporcionada respecto a su efecto en la masa ósea, lo

que sugiere un efecto adicional en la resistencia ósea no relacionado con sus efectos sobre la reabsorción ósea. Además, tratamientos prolongados con bifosfonatos en humanos y primates han demostrado un aumento del grosor de la cortical, un aumento del número de osteoblastos y de su actividad, dando lugar a la posibilidad de que estos agentes puedan no solo inhibir la reabsorción ósea, sino que también puedan tener un efecto positivo en la formación ósea. Hay estudios in Vitro que demuestran que los aminobifosfonatos tienen efectos en la inhibición de la apoptosis de osteoblastos y osteocitos^{73,95,137,185,227}.

2.2.- Indicaciones

Con los conocimientos actuales sobre el mecanismo de acción de los bifosfonatos los podemos utilizar en cualquier patología ósea donde los osteoclastos tengan un papel predominante.

• ***Enfermedades metabólicas óseas***

La enfermedad de Paget fue una de las primeras indicaciones de los bifosfonatos. Esta enfermedad se asocia con áreas óseas donde está aumentado el metabolismo óseo y la administración de bifosfonatos produce una reducción de la reabsorción ósea seguida de un aumento de la formación ósea, de forma que el metabolismo óseo se aproxima más a la normalidad¹⁴².

Aunque en un principio se utilizaron en la enfermedad de Paget, posteriormente se amplió su indicación para la osteoporosis postmenopáusica, siendo ésta ahora la principal patología donde se utilizan este tipo de fármacos

debido a la gran prevalencia de la misma¹⁹⁸. Debido a los buenos resultados de éstos fármacos en la prevención de fracturas en mujeres osteoporóticas postmenopáusicas, las indicaciones se han ampliado para el tratamiento de la osteoporosis secundaria a corticoides y al trasplante de órganos y también son los fármacos de elección en el tratamiento de la osteoporosis en hombres, tal y como se recogen en las principales guías de tratamiento para la osteoporosis^{82,83,116,163}.

Los bifosfonatos han demostrado su eficacia a la hora de prevenir las fracturas de cadera en ensayos bien definidos para evaluar la reducción de fracturas consiguiendo una reducción significativa del riesgo de fractura de hasta un 50% tras 36 meses de tratamiento^{19,20,41,143}.

• ***Enfermedades metastáticas***

Las metástasis óseas son probablemente las metástasis con mayor clínica y producen una gran disminución de la calidad de vida, disminuyendo la movilidad y la independencia del paciente. Las complicaciones de las metástasis óseas incluyen la hipercalcemia maligna, el dolor óseo, las fracturas patológicas y la compresión medular.

Los bifosfonatos se utilizan en la mayoría de los procesos tumorales malignos con metástasis óseas. Su efecto no es sólo la inhibición de la función osteoclástica, sino que también reducen la aparición local de factores que estimulan el crecimiento del tumor y por tanto pueden potencialmente aumentar la supervivencia⁸¹.

• **Patologías pediátricas**

Quizás la indicación de los bifosfonatos en los niños es la más controvertida por los posibles efectos secundarios que pueden tener en el esqueleto inmaduro. Se utilizan principalmente en el tratamiento de la osteogénesis imperfecta, pero también en casos de displasia fibrosa, osteoporosis secundarias a parálisis infantil grave, osteoporosis secundarias a tratamientos prolongados con corticoides y de forma más anecdótica en casos de enfermedad de Perthes y en retardos de consolidación de alargamientos por distracción de huesos largos. Los resultados del efecto de los bifosfonatos en estas patologías son preliminares y aun no está claro el régimen terapéutico ni los posibles efectos secundarios¹⁶⁰.

La Osteogénesis Imperfecta es un desorden genético producido por una mutación en uno de los genes del colágeno del tejido óseo produciéndose un desarrollo óseo inadecuado con un aumento de la fragilidad ósea y una masa ósea baja. Los objetivos del tratamiento son conseguir la mayor movilidad y capacidad funcional posible y evitar las fracturas y deformidades.

Las armas terapéuticas de las que disponemos son la fisioterapia, para prevenir contracturas y pérdida masa ósea, la cirugía para corregir y prevenir deformidades y el tratamiento médico: para aumentar la cantidad y la calidad ósea.

El tratamiento médico con bifosfonatos en niños con osteogénesis imperfecta produce una disminución rápida e importante de dolor de espalda crónico, un aumento rápido de la DMO lumbar, la recuperación de la morfología

y del tamaño normal de los cuerpos vertebrales colapsados y un aumento de la movilidad en más del 50% de los pacientes tratados.

• **Otras indicaciones**

- Necrosis avascular de la cabeza femoral

La necrosis avascular (NAV) de la cabeza femoral es la indicación más frecuente de PTC en adultos jóvenes. Se han publicado algunos trabajos que demuestran la utilidad de los bifosfonatos para retrasar el curso de la destrucción de la cabeza femoral^{4,11,115}.

Lai realiza un estudio clínico randomizado donde demuestra que el alendronato a dosis de 70 mg semanales en pacientes afectados de NAV grados II o III de Steinberg y con un área de necrosis > del 30% de la cabeza femoral, durante 25 semanas, previene, de forma significativa, la aparición del colapso de la cabeza femoral en comparación con el grupo control¹¹⁵.

- Fijación prótesis

Las prótesis totales (PT) tanto de cadera como de rodilla son el tratamiento de elección para la artrosis avanzada de estas articulaciones proporcionando un gran alivio del dolor y una recuperación de la movilidad. Pero estas prótesis no son indefinidas y en un porcentaje considerable, a lo largo del tiempo, requieren un recambio. La principal causa de fracaso de una PT es el aflojamiento aséptico por pérdida ósea periprotésica u osteolisis y parece que esta se produce por una respuesta inflamatoria a las partículas de desgaste del polietileno acetabular^{201,204}.

Se sigue investigando para encontrar materiales más resistentes al desgaste y para entender mejor el mecanismo biológico de la pérdida ósea para aumentar la duración de las PT. En este intento de aumentar la fijación de la prótesis se ha estudiado el papel de los bifosfonatos al ser éstos eficaces para inhibir la reabsorción ósea.

Se han realizado distintos estudios experimentales sobre el efecto de los bifosfonatos sobre la pérdida ósea periprotésica. Así Shanbhag administra alendronato, a dosis equivalentes a las utilizadas para el tratamiento de la OP, a perros a los que se les había implantado componentes de una aleación de titanio con un polietileno de ultra alto peso molecular. El alendronato oral protegió a los perros de la pérdida ósea mediada por osteoclastos²⁰³.

Millet utiliza un modelo de osteolisis en ratas y demuestran que la infusión de alendronato alrededor de implantes de polietileno evita la pérdida ósea periprotésica observada en animales control e incluso es capaz de revertirla¹⁵⁶.

Von Knoch utiliza un modelo murino para demostrar que una sola dosis de zoledronato protege de la pérdida ósea periprotésica que produce la reacción inflamatoria inducida por partículas durante 14 días²²⁷.

Otros autores obtienen resultados similares utilizando distintos bifosfonatos en varios modelos animales^{0,111-113,117}.

Sin embargo los resultados de estos estudios experimentales no han sido traducidos a la clínica y hay pocos trabajos sobre el tema. Friedl realiza un estudio controlado, randomizado y a doble ciego, sobre el efecto de una dosis

de zoledronato en pacientes intervenidos de prótesis total de cadera por necrosis avascular, en la migración inicial de los componentes protésicos. El tratamiento con zoledronato disminuyó de forma significativa la migración del componente acetabular pero no influyó en el femoral⁶⁶. Wilkinson realiza otro estudio, también randomizado a doble ciego, en pacientes con coxartrosis tratados con prótesis total de cadera, a los que se les administra una dosis de Pamidronato y encuentran que se produce una disminución significativa de la pérdida ósea femoral pero no de la zona acetabular e incluso aumenta la migración del componente acetabular²³³.

También se ha estudiado el posible efecto beneficioso de los bifosfonatos para prevenir el efecto del “stress-shielding” o pérdida ósea difusa alrededor del implante protésico debida a la protección frente a tensiones mecánicas. Este fenómeno se produce como consecuencia de la alteración de los patrones de carga que se producen al implantar un componente metálico rígido, sobre todo en las PT de cadera. El peso corporal se transmite a lo largo del implante y por lo tanto en el hueso circundante se produce una osteoporosis por desuso. Esta pérdida ósea es mayor en los primeros 3 meses y se estabiliza alrededor del año e incluso se produce una ligera recuperación²²⁴. Distintos trabajos han demostrado que los bifosfonatos son capaces de evitar esta pérdida ósea^{79,208,225,230,233}.

Pero además cuando implantamos una PT, principalmente no cementada, sabemos que los componentes se estabilizan en los primeros 6-12 meses, produciéndose durante este periodo pequeños desplazamientos hasta conseguirse la estabilización definitiva²⁰⁴. Hay estudios experimentales que

demuestran que los bifosfonatos no alteran el proceso de aposición ósea precoz que facilita la estabilización inicial de las prótesis en animales¹⁵⁷. Mientras que otros demuestran que bifosfonatos, como el ibandronato, aceleran la osteointegración de los implantes no cementados recubiertos de hidroxiapatita en modelos animales⁴⁵⁻⁴⁹.

- Tumor de células gigantes

El tumor de células gigantes (TCG) es un tumor benigno pero localmente agresivo que se caracteriza por la presencia de células mononucleares estromales y células gigantes multinucleadas. Debido al alto porcentaje de recidiva local tras el tratamiento quirúrgico de este tipo de tumores, distintos tratamientos adyuvantes se han utilizado. Los bifosfonatos han demostrado ser útiles para disminuir el porcentaje de recidivas locales de este tipo de tumores después del tratamiento quirúrgico²¹⁷.

2.3.- Efectos secundarios

Se han descrito como efectos secundarios de los bifosfonatos orales afectaciones del sistema gastrointestinal superior¹⁵, reacción de fase aguda^{1,176,178}, hipocalcemia e hiperparatiroidismo secundario^{35,178}, dolor musculoesquelético¹⁷⁸, osteonecrosis de mandíbula^{178,197,234} y patologías oculares⁶⁴. En los bifosfonatos intravenosos pueden producirse todos estos efectos adversos excepto los que afectan al sistema gastrointestinal superior. Además el pamidronato y el zoledronato se han asociado a toxicidad renal^{32,191}. Se han descrito algunos casos de reacciones cutáneas, ulceraciones orales,

hepatitis y cáncer de esófago. En líneas generales los bifosfonatos intravenosos son más potentes que los orales y la frecuencia y gravedad de los efectos adversos dependen de la dosis y potencia del fármaco.

Recientemente se están publicando la aparición de fracturas por fragilidad, con patrones atípicos, en pacientes sometidos a tratamientos prolongados con bifosfonatos^{38,74,114,119,166,174,178,226,231}.

• ***Afectaciones del sistema gastrointestinal superior***

Se han descrito náuseas, vómitos, dolor epigástrico y dispepsia producido por la irritación de la mucosa. También se han descrito casos de esofagitis con erosiones y úlceras esofágicas. Estas complicaciones se evitan siguiendo las recomendaciones que acompañan al producto y que consisten en ingerir el fármaco con un vaso grande (180-240 ml) de agua en ayunas, permaneciendo en posición erecta y sin ingerir ningún alimento durante 30 minutos.

Esta medicación no debe administrarse en caso de sangrado esofágico en los últimos 5 años que hayan requerido ingreso hospitalario o transfusión sanguínea, enfermedad ulcerosa reciente o recidivante (dos episodios en los 5 años anteriores o uno en los 12 meses previos), varices esofágicas o gástricas o la utilización de medicación diaria para la dispepsia.

Bauer investiga la aparición de efectos adversos en el sistema gastrointestinal superior en el estudio FIT (Fracture Intervention Trial). Se trata de un estudio randomizado, a doble ciego, placebo-grupo control formado por más de 6.000 mujeres en tratamiento con alendronato a dosis de 5 ó 10 mg/día

con un seguimiento de 3,8 años. La incidencia total de alteraciones gastrointestinales fue similar en el grupo de alendronato y el de placebo (47,5% respecto al 46,2%). La incidencia de patologías graves (perforaciones, úlceras, sangrado) fue del 1,6% en el grupo de alendronato y de 1,9% en el placebo¹⁵.

• **Toxicidad renal**

No se conoce el mecanismo exacto por el que los bifosfonatos pueden producir toxicidad renal. Se han descrito bastantes casos de toxicidad renal con bifosfonatos intravenosos como el pamidronato y el zoledronato cuando se administran en pacientes con enfermedades malignas^{32,191}. En estos pacientes pueden producir necrosis tubular aguda y glomeruloesclerosis focal segmentaria. En estos pacientes la toxicidad renal de los bifosfonatos puede verse favorecida por patología renal que suelen presentar este tipo de pacientes como insuficiencia renal crónica, mieloma múltiple, hipercalcemia, hipertensión, diabetes mellitus, edad avanzada y quimioterapia.

Sin embargo no se han descrito casos de toxicidad renal cuando se han utilizado los bifosfonatos para el tratamiento de la osteoporosis. Aún así se recomienda no utilizar estos fármacos cuando existe una insuficiencia renal crónica importante (valores de aclaramiento de creatinina menores de 30 ml/min).

• **Efectos adversos oculares**

El efecto secundario ocular de los bifosfonatos más frecuente es una conjuntivitis no específica⁶⁴, que generalmente se resuelve con tratamiento no específico y sin necesidad de interrumpir la terapia con bifosfonatos.

Se han descrito, también, de forma más infrecuente algún caso de edema palpebral, neuritis óptica o retrobulbar, edema periorbital y ptosis.

Los efectos adversos más graves que pueden aparecer son la uveítis y la escleritis, en estos casos debe interrumpirse el tratamiento con bifosfonatos. Estas complicaciones oculares inflamatorias se han descrito en el contexto de una reacción de fase aguda que se ha descrito con el uso de bifosfonatos intravenosos, principalmente con el pamidronato⁶⁴, por lo que pueden representar una manifestación localizada de una reacción adversa sistémica del fármaco.

• ***Reacción de fase aguda***

Los amino-bifosfonatos pueden producir una reacción de fase aguda que clínicamente se manifiesta como una reacción sistémica con fiebre, escalofríos y síntomas parecidos a una gripe como fatiga, mialgia, malestar, artralgia y dolores óseos^{1,176}.

Esta reacción es dosis dependiente, aparece generalmente tras la primera dosis en pacientes que nunca habían recibido este tipo de fármacos y no suele volver a aparecer con las siguientes dosis. Su expresión máxima suele producirse a las 28-36 horas de la administración intravenosa de un aminobifosfonato y puede durar 2-3 días. Se ha descrito hasta en un 30-35% de pacientes que reciben una dosis de un aminobifosfonato por primera vez¹⁷⁶.

Aunque esta reacción se ha descrito más frecuentemente con aminobifosfonatos intravenosos también puede aparecer en la primera exposición a un bifosfonato oral de administración semanal o mensual¹⁷⁸.

Esta reacción de fase aguda producida por los bifosfonatos está mediada por la interleuquina-6, factor de necrosis tumoral α y otras citoquinas inflamatorias liberadas por células T y macrófagos¹⁷⁶.

Este cuadro suele ser benigno y autolimitado y puede ser tratado con antipiréticos.

• **Hipocalcemia e hiperparatiroidismo secundario**

Los aminobifosfonatos son unos potentes inhibidores de la reabsorción ósea mediada por osteoclastos por ello tras unas semanas del tratamiento el calcio y el fósforo sérico disminuye y la parathormona (PTH) aumenta de una forma dosis dependiente. El calcio y el fósforo en orina también disminuyen. El aumento de la PTH antagoniza el efecto de los bifosfonatos en el hueso y conserva los niveles de calcio al aumentar la reabsorción tubular en los riñones y estimulando a los riñones para producir 1,25-dihidroxitamina D. Por lo tanto en condiciones normales, la hipocalcemia inducida por los bifosfonatos no llega a dar clínica a pesar de continuar la terapia con bifosfonatos¹⁷⁸.

Cuando se utilizan bifosfonatos vía oral para el tratamiento de la osteoporosis es infrecuente que esta hipocalcemia sea sintomática. Los bifosfonatos intravenosos más potentes pueden producir hipocalcemias sintomática con mayor frecuencia, generalmente a los pocos días tras su administración. Se ha descrito en un 8% de pacientes con procesos malignos

tratados con zoledronato a pesar de la administración profiláctica de suplementos de calcio y vitamina D³⁵.

La hipocalcemia y el hiperparatiroidismo secundario se pueden prevenir o por lo menos atenuar administrando suplementos de calcio y vitamina D, comenzando 2 semanas antes de la administración de bifosfonato³⁵.

- ***Dolor musculoesquelético***

Existe la posibilidad de que aparezca dolor muscular severo e incluso incapacitante en algunos pacientes en tratamiento con bifosfonatos. Este dolor puede aparecer a los días, meses o años tras comenzar el tratamiento. Algunos pacientes han referido que el dolor ha cesado al interrumpir el tratamiento, mientras que otros refieren una desaparición lenta del mismo¹⁷⁸.

No se sabe con certeza el mecanismo patológico de esta complicación pero se postula como posible causa el déficit de vitamina D muy frecuente en este tipo de pacientes que podría producir un hiperparatiroidismo y una osteomalacia causante del dolor óseo¹⁷⁸.

- ***Osteonecrosis mandibular***

Se define la osteonecrosis mandibular como la presencia de hueso expuesto en la región maxilofacial que no cura durante las 8 semanas tras el diagnóstico. El riesgo de osteonecrosis mandibular en pacientes en tratamiento con bifosfonatos orales es de entre 1/10.000 y 1/1000.000 pacientes tratados por año, mientras que en pacientes en tratamiento con bifosfonatos intravenosos por procesos malignos la probabilidad aumenta a entre 1 y 10%, según la duración del tratamiento¹⁷⁸. Aunque el riesgo de desarrollar una

osteonecrosis mandibular es pequeño con los bifosfonatos orales, aumenta cuando la duración del tratamiento es mayor de 3 años y si el paciente presenta comorbilidades como el uso crónico de corticoides¹⁹⁷.

Son factores de riesgo para la aparición de una osteonecrosis mandibular la radioterapia de cabeza y cuello, enfermedad periodontal, procedimientos dentales que impliquen cirugía sobre el hueso y traumatismos dentales^{197,234}.

Existen una serie de medidas profilácticas como el examen dental rutinario antes de iniciar un tratamiento con bifosfonatos, principalmente, intravenosos y si es posible posponer el tratamiento si hay que realizar algún procedimiento dental; interrumpir el tratamiento, si es posible, durante un periodo de 3 meses antes y después de cualquier cirugía dental invasiva y tratamiento específico para los pacientes con diagnóstico de osteonecrosis mandibular¹⁹⁷.

• ***Fracturas atípicas de la diáfisis femoral***

En 2005, Odvina describe 9 pacientes en tratamiento a largo plazo (3 a 8 años) con alendronato que sufrieron una fractura de pelvis, fémur o sacro por un mecanismo de baja energía con un patrón inusual¹⁷⁴. Cinco de estos pacientes presentaron una fractura de la diáfisis femoral (dos de ellos bilateral). Las biopsias óseas de estos pacientes demostraron una supresión excesiva del recambio óseo, lo que produjo un hueso seguramente más frágil dando lugar a un patrón atípico de fractura de baja energía.

Posteriormente han ido apareciendo más publicaciones describiendo nuevos casos de fracturas femoral atípicas como el de Visekruna, que describe 3 pacientes en tratamiento a largo plazo con alendronato que sufrieron una fractura metafisaria femoral de estrés. Estos autores postulan una susceptibilidad genética para la excesiva inhibición de los osteoclastos por los bifosfonatos²²⁶.

Goh et al identifican en un estudio retrospectivo de casos control, 13 mujeres con fracturas de baja-energía subtrocantéricas, de las que 9 estaban en tratamiento con alendronato durante un largo periodo (2,5 a 5 años). Cinco de las 13 mujeres referían dolor en el muslo derecho de varios meses antes de producirse la fractura. En seis pacientes se identificó una hipertrofia de la cortical en la región de la fractura⁷⁴. En otro estudio retrospectivo de casos control se estudiaron 70 pacientes de edad avanzada con fracturas subtrocantéricas y de la diáfisis femoral y se vio que el 36% habían sido tratadas con alendronato durante un largo periodo de tiempo¹⁶⁶. De ellas el 76% presentaban una fractura transversa con una muesca en la zona de la cortical hipertrofiada. Este hallazgo radiográfico no se encontró más que en una paciente que no estaba en tratamiento con alendronato. Basados en este hallazgo radiográfico y en el dato clínico del dolor previo a la fractura, estos autores piensan que la fractura completa de la diáfisis femoral se produce por la propagación de una fractura de estrés incapaz de curarse por la excesiva supresión del metabolismo óseo causada por los bifosfonatos^{74,166}.

Kwek et al también describen, en su artículo, un patrón similar de fractura en 17 pacientes en tratamiento con alendronato¹¹⁴. Más de la mitad

presentaban hallazgos de fracturas de estrés bilaterales y el 76% presentaban dolor en el muslo antes de la fractura.

Lenart, en un estudio de casos control busca la asociación del tratamiento a largo plazo con BF con las fracturas femorales por insuficiencia en mujeres postmenopáusicas. Observa que 41 casos de fracturas subtrocantéreas o diafisarias, 15 estaban en tratamiento con BF, en comparación con 9 de 82 fracturas pertocantéreas o cervicales del grupo control. La muesca femoral se observó radiográficamente en 10 de las 15 fracturas subtrocantéreas que estaban en tratamiento con BF¹¹⁹.

A pesar de lo publicado en la literatura no podemos afirmar que las fracturas por baja energía subtrocantéricas o de la diáfisis femoral sean más frecuentes en los pacientes tratados con bifosfonatos en comparación con los no tratados, aunque este patrón de fractura no sea frecuente encontrarlo en pacientes osteoporóticos no tratados. Se necesitarían estudios con un gran número de pacientes para poder demostrarlo^{178,231}.

La FDA (Food and Drug Administration) americana ha recomendado que esta posible complicación venga reflejada en las advertencias del producto y debido a que parece que sobre todo afecta a pacientes que han estado en tratamiento más de 5 años, que estos pacientes sean reevaluados para comprobar la necesidad de continuar con el tratamiento³⁸.

2.4.- Zoledronato

El Zoledronato es el bifosfonato de nueva generación más potente que puede administrarse en humanos. En ensayos *in vitro* de reabsorción ósea en ratas se ha visto que el zoledronato es por lo menos 100 veces más activo que el pamidronato y en estudios de animales *in vivo*, también con ratas, se observó que el zoledronato era 850 veces más activo que el pamidronato²³. De todos los bifosfonatos evaluados clínicamente, el zoledronato es el que tiene una relación terapéutica mayor entre la inhibición de la reabsorción ósea buscada y la inhibición de la mineralización ósea no deseada²³.

La eficacia del zoledronato para el tratamiento de la hipercalcemia maligna y de la enfermedad de Paget¹⁸⁸ ha sido demostrada. También se ha demostrado útil en la disminución de las complicaciones óseas del cáncer de mama y del mieloma múltiple.

En el tratamiento de la osteoporosis, su indicación está aprobada para la prevención y tratamiento de la osteoporosis postmenopáusica en mujeres. La forma de administración es de 5 mg en infusión intravenosa de al menos 15 minutos, en una dosis anual para tratamiento y una dosis cada 2 años para prevención. También está aprobado para la prevención y tratamiento de la osteoporosis en mujeres y hombres en tratamiento con corticoides de al menos 12 meses de duración y en la prevención de nuevas fracturas clínicas en pacientes con fractura de cadera de baja energía reciente.

Una de las limitaciones del tratamiento con bifosfonatos orales es la poca cumplimentación del tratamiento por abandono del mismo, produciendo

una disminución en la eficacia del tratamiento^{93,187}. La mitad de los pacientes a los que se les prescribe un tratamiento con bifosfonatos orales han abandonado el tratamiento al año²¹. La administración intravenosa de bifosfonatos podría ser una solución a este problema¹²². McClung estudia el cambio del tratamiento de alendronato a zoledronato en mujeres postmenopáusicas con una densidad mineral baja demostrando que no hay cambios en cuanto a la eficacia del tratamiento a los 12 meses y la mayoría de las pacientes preferían la administración intravenosa anual¹⁴⁴.

Varios trabajos demuestran la eficacia del zoledronato en el tratamiento de la osteoporosis. Reid estudia el efecto de 5 regímenes de tratamiento con zoledronato en 351 mujeres posmenopáusicas con densidad mineral baja y concluyen que la administración intravenosa de zoledronato en intervalos de 1 año produce efectos equivalentes en el recambio óseo y en la densidad mineral ósea a los obtenidos con los bifosfonatos orales con eficacia demostrada para la prevención de fracturas¹⁸⁷.

Black²¹ estudia el efecto de la administración anual de una dosis intravenosa de zoledronato sobre el riesgo de fractura en un periodo de 3 años en un grupo de 3.889 mujeres. Demostraron una reducción de las fracturas vertebrales de un 70% en 3 años, de la fractura de cadera en un 41% y del resto de fracturas no vertebrales ni de cadera en un 25%. Además observaron un aumento significativo de la densidad mineral ósea y de los marcadores de metabolismo óseo.

Lyles realiza un estudio sobre la incidencia de fracturas de cadera y su mortalidad en 1.065 pacientes que sufren su primera fractura de cadera,

comparando el tratamiento con zoledronato 5 mg en una sola dosis anual a los 90 días tras el tratamiento quirúrgico de la fractura y un grupo control. Estos autores demuestran un 35% de disminución de riesgo de aparición de otra fractura osteoporótica y una disminución del 28% de mortalidad por cualquier causa. Los efectos secundarios más frecuentes fue la reacción de fase aguda y el dolor óseo. No se descubrió ningún caso de osteonecrosis mandibular ni afectación de la consolidación ósea¹³⁴.

3.- CONSOLIDACIÓN DE LAS FRACTURAS

3.1.- Fisiología de la reparación de las fracturas

Clásicamente se habla de dos tipos de consolidación de las fracturas:

- Consolidación primaria, que ocurre cuando se produce una consolidación “osteonal”, es decir, los osteoclastos crean túneles a través del hueso necrosado en los bordes de la fractura y también atraviesan el foco de fractura. Los osteoblastos recubren los nuevos túneles y depositan nuevas láminas alrededor de ellos para formar nuevas osteonas, restaurando la continuidad del hueso. Esta consolidación primaria de la cortical no es una verdadera regeneración ósea sino una forma de unir los extremos óseos a través de los procesos de remodelación.

Este tipo de consolidación requiere una gran estabilidad mediante fijación interna e inmovilización rígida y en la práctica es el tipo más poco frecuente.

- Consolidación secundaria, es la que se produce con mayor frecuencia y da lugar al callo de fractura. Este tipo de consolidación se ve favorecido por los micromovimientos. Como este tipo de consolidación es el más frecuente, es el que vamos a utilizar en nuestro modelo experimental.

Fases de la consolidación:

1.- Impacto y formación del hematoma

En el momento del traumatismo el hueso absorbe energía y se rompe. La fractura produce la rotura de los vasos sanguíneos perióísticos y medulares, formándose un hematoma y se liberan factores que promueven la consolidación: factores quimiotácticos, mitogénicos e inductores de la diferenciación celular a tejido óseo^{52,183}.

2.- Inflamación

Esta fase se inicia en el momento de la fractura con la aparición del hematoma y persiste hasta que comienza la formación de un callo de tejido blando. El hueso se necrosa en los bordes de la fractura y aparecen leucocitos polimorfonucleares, macrófagos y linfocitos, los cuales segregan citoquinas e infiltran el coágulo y elimina el hueso necrótico.

3.- Formación del callo blando

El desarrollo del callo blando implica la formación precoz de un callo externo que recubre la fractura y la formación más tarde de un callo medular. Este callo blando es el soporte mecánico para la formación del callo óseo duro.

El coágulo se organiza con fibras de colágeno y elementos vasculares. Proliferan células precursoras óseas, osteoblastos y condroblastos. El callo blando está compuesto por osteoide, cartílago y colágeno.

4.- Formación del callo duro

En esta fase el cartílago se calcifica y proporciona la base para los osteoblastos y el posterior depósito y mineralización de la matriz ósea. El osteoide y el cartílago del callo blando externo, perióstico y medular se mineralizan, a medida que se transforman en hueso fibroso. Para preparar la calcificación de la matriz, los condrocitos segregan dos tipos de enzimas las fosfatasas y las proteasas.

5.- Remodelación

Es la fase final y durante ella el abundante callo duro se remodela lentamente desde hueso fibroso inmaduro hasta hueso laminar maduro. La actividad osteoclástica y osteoblástica transforman el hueso fibroso en hueso laminar.

Hay que tener en cuenta, también, que el proceso de consolidación no es homogéneo a lo largo de todo el callo. Hay 4 grandes zonas: el canal medular, el área entre las corticales, la capa subperióstica y los tejidos blandos adyacentes. El canal medular y el área entre corticales crean “callo blando” y crean hueso mediante osificación endocondral, mientras que el área subperióstica y los tejidos blandos que rodean a la fractura forman “callo duro” y crean hueso mediante osificación intramembranosa^{52,54,185}.

3.2.- Efecto de la OP en la consolidación de las fracturas

Varios estudios experimentales en animales indican que en la osteoporosis parece haber una disminución de la capacidad de consolidación de las fracturas óseas^{50,100,110}.

Los trabajos experimentales muestran un 40% de reducción en el área del callo de fractura y un 23% de reducción de la densidad mineral ósea en la consolidación de fracturas en fémures de ratas ovariectomizadas. Los análisis histomorfológicos revelaron un retraso en la formación del callo y desarrollo pobre de hueso maduro. Además también se realizaron pruebas mecánicas que demostraron la menor resistencia del callo óseo¹⁶². Otro estudio demuestra que la osteoporosis en ratones inducida mediante ovariectomía también afecta a las propiedades mecánicas del callo de fractura, conduciendo a una disminución de la consolidación ósea²²⁹.

El retraso en la consolidación ósea también se ha estudiado en el modelo de ovejas ovariectomizadas¹²⁷. En este estudio se encontraron diferencias significativas entre los animales osteoporóticos y los normales, en cuanto al área del callo, pero no en la densidad del mismo en las primeras etapas de la consolidación ósea en osteotomías del tercio medio de diáfisis tibiales. Al final del estudio se encontró lo opuesto, las diferencias en la densidad del callo fueron significativas, pero no el área, indicando que la osteoporosis afecta a la formación del callo en las primeras etapas de la consolidación ósea, y a la mineralización del callo en las últimas etapas de la consolidación. También se encontró una diferencia significativa (33%) entre la tibia osteotomizada y la contralateral intacta en los animales osteoporóticos,

pero no se hallaron diferencias en las ovejas normales. Por lo tanto este estudio demuestra un retraso de la consolidación ósea en las tibias de las ovejas osteoporóticas con respecto a la formación del callo, mineralización y propiedades mecánicas.

Aunque estos estudios han demostrado una consolidación ósea alterada en animales osteoporóticos, esto es más difícil de demostrar en pacientes ancianos. Es un hecho que las fracturas consolidan con mayor dificultad conforme aumenta la edad del paciente. Varios estudios han demostrado que las fracturas distales de radio tratadas mediante reducción cerrada e inmovilización con yeso sufren un porcentaje mayor de desplazamiento secundario proporcional a la edad del paciente¹³⁶. Otros autores estudian el efecto de la osteoporosis en el tiempo de consolidación de fracturas de diáfisis femoral tratadas mediante un clavo intramedular y observan que las fracturas tardan más en consolidar en los pacientes mayores osteoporóticos¹⁷⁰. Además también se produce un aumento de fallos en la fijación de implantes en el hueso osteoporótico⁷². Esto se ha atribuido a la selección del implante no adecuada, al aumento de comorbilidades en estos pacientes y a que la capacidad de regeneración tisular está alterada en este grupo de edad avanzada^{72,211}.

Existen varios factores que influyen en la dificultad de consolidación de las fracturas en pacientes osteoporóticos de edad avanzada:

- 1.- La disminución de la resistencia mecánica del hueso osteoporótico reduce la estabilidad inicial de la fractura dando lugar a mayores complicaciones incluyendo una consolidación de las fracturas más lenta¹⁴.

2.- Sabemos que para la consolidación de una fractura es necesario un adecuado flujo sanguíneo que transporta factores angiogénicos. Se ha podido observar que en la gente mayor la angiogénesis está alterada por los cambios en la cascada hemostática relacionados con la edad, por la disminución de la expresión de los factores de crecimiento y las alteraciones de las células endoteliales¹⁷⁰. Además otros factores como la arterioesclerosis pueden comprometer la vascularización en el lugar de la fractura.

3.- También conocemos que hay factores en los niños que aumentan la consolidación de las fracturas como un periostio biológicamente más activo, la abundancia de células madres mesenquimales y la mayor aportación de factores de crecimiento¹³. Estos factores están claramente disminuidos en pacientes de edad avanzada¹⁷⁰.

4.- Se ha observado tanto en estudios experimentales como clínicos que en el hueso osteoporótico hay una respuesta disminuida en la actividad osteoblástica mediada por distintos factores de crecimiento y de diferenciación y otros factores sistémicos como citokinas y hormonas¹⁷⁰.

5.- Recientes estudios han descrito diferencias cuantitativas y cualitativas de las células madres mesenquimales en los pacientes ancianos. Las células madres mesenquimales de mujeres postmenopáusicas osteoporóticas tienen un porcentaje menor de crecimiento y muestran una menor habilidad para diferenciarse en la línea celular osteogénica que las de las mujeres premenopáusicas¹⁹⁰. Además se sabe que con la edad el número de células madre mesenquimales con potencial osteogénico disminuye y puede

ser la causa de la reducción del número de osteoblastos en este tipo de pacientes.

4.-EFECTO DE LOS BIFOSFONATOS EN LA CONSOLIDACIÓN DE LAS FRACTURAS

4.1.- Estudios clínicos

Los pocos trabajos publicados sobre el efecto de éstos fármacos en la consolidación ósea de fracturas en pacientes tratados con bifosfonatos nos aportan escasos datos. Se han publicado estudios en pacientes pediátricos afectados de osteogénesis imperfecta en tratamiento con bifosfonatos intravenosos, en los que parece que éstos no influyen en la consolidación ósea^{161,184}.

Adolphson estudia el efecto del clodronato sobre el callo de fractura en mujeres que sufrieron una fractura de Colles y fueron tratadas de forma ortopédica con reducción bajo anestesia local e inmovilización con férula antebraquial. Para ello miden la densidad mineral ósea del callo, observando un aumento de la mineralización del callo en el grupo tratado con clodronato. No observaron ningún caso de pseudoartrosis³.

En otros trabajos donde se estudia el efecto de los bifosfonatos sobre la pérdida ósea tras la inmovilización para el tratamiento de determinadas fracturas, los bifosfonatos se administran inmediatamente producida la fractura y no se observa un aumento de retrasos de la consolidación ósea^{221,222}.

Recientemente Rozental ha publicado un estudio donde compara la consolidación ósea radiográfica en pacientes con fractura distal de radio que

estaban en tratamiento con bifosfonatos con un grupo control que no recibía este tipo de tratamiento. Observa que el hecho de estar en tratamiento con bifosfonatos conlleva un aumento del tiempo necesario para conseguirse la consolidación de la fractura pero esta diferencia es menor de una semana y por lo tanto no es clínicamente relevante¹⁹⁴.

También se ha estudiado el efecto del zoledronato en la consolidación de osteotomías de tibia proximal para gonartrosis en pacientes jóvenes observando que tras administrar una dosis de 4 mg de zoledronato en 12 pacientes, aumentaba la resistencia del callo óseo formado y por lo tanto permitía acortar el tiempo de fijación externa en comparación con otros 12 pacientes que no recibieron el bifosfonato²¹².

4.2.- Estudios experimentales

Se han realizado diversos estudios experimentales en animales para observar la influencia de los bifosfonatos en el callo de fractura⁶⁰. La mayoría de los estudios se han realizados en ratas analizando el comportamiento de distintos bifosfonatos, principalmente aquellos utilizados en la enfermedad de Paget y en la hipercalcemia maligna. En la tabla 2 se recogen los principales datos de los estudios experimentales publicados especificando el bifosfonato utilizado, la dosis, forma y frecuencia de administración, el animal utilizado, el modelo de fractura, tiempo en el que se sacrificaron los animales y las pruebas utilizadas como medición de resultados.

INTRODUCCIÓN

AUTOR	BF	DOSIS Y VIA	ANIMAL	Fx y OS	TIEMPO	MEDICIÓN
Nyman ¹⁷²	Clodronato	50 s.c. mg/kg/sem	ratas	Tibias Aguja IM	1, 2, 3, 4, 5, y 8 sem	Rx, histología y test mecánicos.
Nyman ¹⁷³	Clodronato	10 s.c. mg/kg/día	ratas	Tibia Aguja IM	6 sem	Rx e histología.
Hyvönen ⁹⁴	Clodronato	3, 10, 30 s.c. mg/kg/día	ratas	Fémur Fx cerrada	1, 2, 3, 4 ,8, 12 y 22 sem	Macroscopía, histología, determinaciones contenido mineral óseo y en sangre.
Madsen ¹³⁵	Clodronato	10 s.c. mg/kg/día 4 sem antes	ratas	Tibia Aguja IM	4 sem	Densitometría y estudios biomecánicos.
Koivukangas ¹⁰⁹	Clodronato	2, 10 mg/kg s.c. 2 v/sem 24 sem fx	ratas	Tibia Aguja IM	4, 8 sem	Rx, histología, densitometría y estudios biomecánicos.
Tarvainen ²¹³	Clodronato	10 s.c. mg/kg/día	ratas OP	Fémur Aguja IM	2, 4, 8 y 12 sem	Rx y estudios biomecánicos.
Li ¹²³	Icandronato	10, 100 s.c. µg/kg/ 3v/sem	ratas	Fémur Aguja IM	6, 16 sem	Rx, histomorfometría y estudios biomecánicos.
Li ¹²⁴	Icandronato	10, 100 s.c. µg/kg/ 3v/sem	ratas	Fémur Aguja IM	2, 4 sem	Rx e histomorfometría.
Li ¹²⁵	Icandronato	10, 100 s.c. µg/kg/ 3v/sem	ratas	Fémur Aguja IM	25, 49 sem	Rx, histomorfometría y estudios biomecánicos.
Cao ³⁰	Alendronato	0,01 mg/kg/día	ratas ovariecto mizadas	Fémur Aguja IM	6 y 16 sem	Niveles de osteocalcina, Rx, QCT y test biomecánicos.
Saito ¹⁹⁹	Alendronato	10 s.c. µg/kg/día	ratas ovariecto mizadas	Fémur Aguja IM	12 sem	Rx, pQCT, micro-CT, test biomecánicos, enlaces de colágeno e histomorfometría
Habermann ⁸⁴⁻⁸⁵	Ibandronato	1, 125 s.c. µg/kg/día	ratas osteopén icas	Fémur Aguja IM	4 sem	Estudios del callo mediante micro-TC y test biomecánicos.
Flora ⁶¹	Etidronato	0.1, 0.5, 2, 5, 10 s.c. mg/kg/día	perros	Fx espon- táneas	12, 15 y 24 meses	Rx, densidad ósea e histología.
Lenehan ¹²⁰	Etidronato	0.1, 0.5 y 5 mg/kg/día s.c. 8 sem pre-fx	perros	Radio + férula	12 sem	Rx, histología y estudios biomecánicos.

INTRODUCCIÓN

Chastagnier ³³	Tiludronato y Etidronato	5 y 10 v.o. mg/kg/día	perros	Hemiosteotomía	6 sem	Densidad ósea, densitometría e histomorfometría.
Peter ¹⁸²	Alendronato	2 v.o. mg/kg/día 9 sem pre-fx	perros	Radio + férula	16 sem	Rx, histología, histomorfometría y pruebas biomecánicas.
Bauss ¹⁶	Ibandronato		perros	Orificios en tibia		Determinaciones en sangre, DEXA e histomorfometría.
Goodship ⁷⁸	Pamidronato	0,5 iv mg/kg/sem	ovejas	Tibia + FE	12 sem	Rx, densitometría, test biomecánicos e histología.

Tabla 2: Principales trabajos experimentales sobre el efecto de distintos bifosfonatos en la consolidación de las fracturas

Diversos autores nórdicos han publicado trabajos sobre el efecto del clodronato, un bifosfonato utilizado en el tratamiento de la enfermedad de Paget y en la hipercalcemia maligna, en fracturas experimentales en ratas.

Así, Nyman¹⁷² estudia el efecto de este BF (clodronato) en dosis de 50 mg/kg/semana (esta dosis es el doble de la utilizada terapéuticamente en la clínica) subcutánea desde el día de la cirugía, en fracturas de tibia en ratas estabilizadas mediante una aguja intramedular. Analizan los callos de fractura a 1, 2, 3, 4, 5, y 8 semanas tras la cirugía. Realizan radiografías, ensayos biomecánicos y estudios histomorfométricos. A la semana no se detecta callo de fractura externo en ningún grupo. A las 2 semanas no hay diferencias en ningún parámetro estudiado. A las 4 y 8 semanas el hueso del callo se va remodelando en hueso maduro encontrándose grandes áreas de médula ósea hematopoyética dentro del callo de los animales no tratados. En los animales tratados, las trabéculas de hueso nuevo se situaban más cerca entre ellas y las

áreas de médula ósea hematopoyéticas eran mucho menores. A los 2 meses, el callo cartilaginoso había sido reemplazado por hueso maduro, y el volumen del callo había disminuido en los dos grupos.

El tratamiento con clodronato no afectó a la formación cartilaginosa del callo ni a la nueva formación ósea endocondral y membranosa. La restauración de la capacidad de carga no se vio alterada por el BF. Los callos remodelaron a hueso maduro en los dos grupos. Sin embargo, aunque el área total invadida por tejido mineralizado no se afectó, en los animales tratados, las áreas de médula ósea hematopoyética dentro del callo mineralizado eran menores. Los callos del grupo tratado fueron significativamente más pesados y contenían más calcio a los 2 meses de la fractura que los controles. La resistencia mecánica no se afectó cuando se administra el clodronato tras la fractura.

Este autor también mide las concentraciones de calcio en el callo, de forma que durante las primeras semanas no se encontraron diferencias, pero desde la 5ª a la 8ª semana la cantidad de calcio aumento de forma regular en el grupo tratado. La cantidad de calcio total fue significativamente mayor en el callo del grupo tratado a las 5 y a las 8 semanas.

Posteriormente, este mismo autor¹⁷³ hace un trabajo con dosis mayores de clodronato, de 10 mg/kg/día subcutáneo, en ratas con una doble osteotomía abierta. Realiza estudios radiográficos e histológicos a las 6 semanas de la fractura. En el estudio radiográfico se observó nueva formación de hueso en los 2 grupos. En general, los callos del grupo tratado fueron más grandes. En los estudios histológicos en los 2 grupos hubo formación endocondral de nuevo hueso en el callo. En el grupo de clodronato se observó mayor formación de

hueso inmaduro, pero el nuevo hueso formado no estaba espacialmente también organizado como en el grupo control y las cavidades de reabsorción eran menores. Piensan que este efecto es dosis-dependiente ya que en el trabajo anterior¹⁷² a dosis menores la consolidación ósea se logra sin dificultades tal y como revelan los estudios histológicos, mecánicos y el contenido de calcio de los callos de fractura.

Hyvönen⁹⁴ estudia los efectos del Clodronato, en distintas dosis de 0, 3, 10 y 30 mg/kg/día subcutáneo, en el contenido mineral óseo al administrarlo en ratas adultas con una fractura cerrada de fémur. Las ratas se sacrificaron a 1, 2, 3, 4, 8, 12 y 22 semanas tras la fractura. Determinan los cambios en longitud y volumen de los fémures, el contenido mineral y composición del hueso en muestras tomadas de cresta iliaca en el momento del sacrificio, estudios histológicos y determinaciones séricas y plasmáticas. En cuanto a los hallazgos macroscópicos, la longitud, grosor, peso y volumen de los fémures fueron iguales con respecto al no fracturado y sin diferencias significativas entre los distintos grupos. Los estudios histológicos revelaron una consolidación ósea normal sin grandes diferencias entre los distintos grupos. Tampoco se hallaron diferencias significativas en las determinaciones séricas o plasmáticas ni en el contenido mineral óseo. Este autor concluye que aunque el clodronato disminuye la reabsorción ósea y la remodelación, no ha podido demostrar alteraciones en los parámetros estudiados. La composición mineral ósea y los hallazgos histológicos de los animales tratados fueron prácticamente idénticos a los de los animales control. Por lo tanto, concluye que el clodronato es seguro a las dosis utilizadas en este estudio durante la consolidación de una fractura

de huesos largos producida artificialmente, ya que la consolidación no se modificó en este modelo animal.

Madsen¹³⁵ estudia el efecto del clodronato sobre la consolidación fracturas de tibia de ratas estabilizadas con una aguja intramedular. Define cinco grupos, en el primero administra clodronato a dosis de 10 mg/kg/día, que es una dosis superior a la recomendada para el tratamiento de la OP, 28 días (4 semanas) antes de la fractura y 28 días después, en el segundo grupo administra clodronato sólo 28 días antes de la fractura, en el 3 el clodronato sólo se administra los 28 días después de la fractura, el 4 no recibe tratamiento y al 5 no se le realiza la fractura. A los 28 días se sacrifican los animales y se realiza estudios densitométricos y biomecánicos mediante test de flexión a 3 puntos. Como resultados encuentra un contenido y una densidad mineral ósea un 30% mayor en los grupos que fueron tratados con clodronato en comparación con los grupos no tratados. El peso y el área de corte de callo fueron igual en todos los grupos. El hecho de que el clodronato se administrara antes, o después de la fractura o en ambos no afectó a los resultados. El momento último de flexión, la energía de absorción, la rigidez y la desviación no fue significativamente diferente entre los grupos. Este autor piensa que no encuentra cambios en el tamaño y peso del callo ni en las pruebas biomecánicas porque sacrifica a las ratas a las 4 semanas antes que otros autores que si encuentran un aumento del callo^{171,213}.

Koivukangas¹⁰⁹ estudia el efecto del clodronato en fracturas de huesos largos en ratas en un modelo de tratamiento a largo plazo. Utilizan dos dosis de 2 y 10 mg/kg subcutáneo dos veces a la semana, administrado durante 24

semanas previas a la cirugía. La dosis de 2 mg/kg sería la equivalente a la utilizada en humanos a dosis de 1600 mg al día vía oral y la de 10 mg/kg sería 5 veces la dosis considerada segura. Realiza una fractura cerrada manual en la tibia previamente enclavijada con una aguja de acero y sacrifica los animales a las 4 y a las 8 semanas tras la cirugía. Realiza estudios radiográficos, densitométricos mediante TAC, estudios biomecánicos e histomorfométricos. Radiográficamente todas las fracturas consolidaron sin angulaciones. No se detectaron diferencias significativas en la densidad mineral ósea del callo de fractura entre las dos dosis de clodronato utilizadas, aunque el área de sección del callo fue mayor en los animales tratados en comparación con los del grupo control. En cuanto a los ensayos biomecánicos se realizaron pruebas de tracción axial a las 4 semanas y de compresión axial a las 8 semanas sin encontrarse diferencias significativas entre las dos dosis utilizadas. Sí que aumento la resistencia en los animales tratados con dosis bajas con respecto al grupo control. Este autor concluye que los 6 meses de tratamiento con clodronato parece que sólo tiene una pequeña influencia negativa sobre el crecimiento óseo sin inhibir la consolidación de las fracturas.

Tarvainen²¹³ estudia el efecto del clodronato en la consolidación de fracturas en hueso osteopénicos de ratas. La osteopenia la consigue realizando una neurectomía del nervio ciático 4 semanas antes de la fractura. Realiza una fractura en el fémur que había sido previamente enclavijado. Administra el clodronato a dosis de 10 mg/kg/día subcutáneo y sacrifican a los animales a las 2, 4, 8 y 12 semanas y realiza estudios radiográficos y biomecánicos. Radiológicamente todas las fracturas consolidaron con formación de un callo óseo que estaba presente a partir de la 2^o semana en todos los grupos. La

anchura del callo fue mayor en los grupos tratados con clodronato. En las pruebas biomecánicas de flexión a tres puntos, el clodronato no afectaba a la resistencia a la flexión del callo de fractura en las ratas osteopénicas pero disminuye la resistencia del callo en las ratas no osteopénicas en comparación con los grupos no tratados.

Li y Mori han estudiado el efecto del icandronato, un bifosfonato de tercera generación similar al risedronato y alendronato, en la consolidación de las fracturas en ratas^{123-125,158}. Utilizan un modelo de fractura de la diáfisis femoral osteosintetizada con un alambre intramedular de acero, en ratas de 8 semanas de vida. Utilizan dos dosis de icandronato (10 µg/kg y 100 µg/kg) vía subcutánea, 3 veces a la semana durante 2 semanas. La dosis de 100 µg/kg, 3 veces a la semana, equivale a 10 veces la dosis clínica terapéutica. Realizan varios grupos según si interrumpen el tratamiento justo tras la fractura o lo continúan tras ella y según la fecha de sacrificio de las ratas para estudiar el efecto del bifosfonato en un estadio precoz (2 y 4 semanas tras la fractura)¹²⁴, en un estadio medio (6 y 16 semanas)¹²³ y en uno tardío (a las 25 y 29 semanas tras la fractura)¹²⁵. Realizan estudios radiológicos, de histomorfometría y biomecánicos.

Cuando el BF se estudiaba en un estadio precoz (2 y 4 semanas) se produjo un callo más grande sólo a las dosis altas de 100 µg/kg en comparación con el grupo control y sólo a las 4 semanas¹²⁴. En los estudios histomorfométricos se observó una disminución de la remodelación del callo cuando el icandronato se siguió administrando tras la fractura. Esto se reflejó en la disminución de la reabsorción ósea y de la formación de hueso maduro.

En cambio en los grupos en los que se interrumpió el BF tras la fractura, la actividad de remodelación estaba disminuida transitoriamente a las 2 semanas pero se recuperó casi al mismo nivel que en el control a las 4 semanas, sugiriendo que la retirada del icandronato es beneficiosa para recuperar la remodelación en los primeros estadios de la consolidación ósea.

En el estadio medio (6 y 16 semanas)¹²³ todas las fracturas consolidaron con un callo óseo evaluado mediante estudio radiográfico. Estos callos fueron más grandes tanto en los estudios radiográficos como de histomorfometría, especialmente a dosis altas en comparación con el grupo control. Además los estudios histológicos demuestran como progresa el proceso de consolidación tras la mineralización bajo la administración del BF. En el grupo de altas dosis este proceso se desarrolla de forma más lenta como lo demuestra la formación hueso inmaduro a las 6 semanas. Cuando el BF se sigue administrando tras la fractura aparece formación de hueso inmaduro incluso a las 16 semanas, lo que refleja que la remodelación del hueso inmaduro está disminuida en la administración continua de icandronato. En el grupo en el que se interrumpió el tratamiento con icandronato el proceso de consolidación progresó más lentamente a las 6 semanas pero se recuperó a las 16 semanas con respecto al grupo control.

También se realizaron test de flexión para determinar las propiedades mecánicas del callo de fractura. No se encontraron diferencias significativas en la carga de rotura entre los grupos con tratamiento y el control. Esto coincide con otros trabajos que utilizan test de flexión con clodronato²¹³, pamidronato¹²⁰ y alendronato¹⁸².

En el estadio tardío (25 y 29 semanas) la línea de fractura desapareció en todos los grupos, encontrándose los callos más grandes en los grupos de mayor dosis¹²⁵. Los estudios histomorfométricos demostraron la consolidación de las fracturas en todos los grupos, con las 2 dosis utilizadas y tanto si se interrumpía el tratamiento tras la fractura o se continuaba. En los grupos de tratamiento continuo tras la fractura se observa un retraso en la consolidación ósea que se evidencia por la mayor área del callo y por el retraso en la formación de nueva cortical en comparación con el grupo control. Estas observaciones sugieren que la remodelación del callo está disminuida con el icandronato, sobre todo a dosis altas.

Los estudios biomecánicos de flexión demostraron que el grupo de tratamiento continuo a altas dosis tuvo los valores más altos de carga mecánica máxima e índice de rigidez pero la tensión máxima no era distinta a la del grupo control indicando que las propiedades mecánicas a las 25 semanas alcanzaron a las del grupo control. Esto es consiste con la progresión de la consolidación ósea observada en los estudios histomorfométricos en el grupo de icandronato a altas dosis. El aumento en los valores de resistencia en el hueso fracturado de forma geométrica puede explicarse por la mayor área de corte del callo en este grupo.

Cao estudia el efecto de los estrógenos, raloxifeno y alendronato en ratas de 3 meses ovariectomizadas³⁰. La dosis de alendronato fue de 0,01 mg/kg y utilizan como modelo experimental una fractura de la diáfisis femoral osteosintetizada con un alambre intramedular de acero utilizada también por

Li¹²³⁻¹²⁵. Hacen 5 grupos: control, ratas ovariectomizadas, tratamiento con Estrógenos, Raloxifeno y Alendronato (0,01 mg/kg).

A las 6 semanas encontraron callos más grandes en el grupo tratado con Alendronato y en las ratas ovariectomizadas con respecto a todos los grupos. La carga de rotura fue mayor en el grupo control y en el de las ratas ovariectomizadas que en el grupo tratado con estrógenos y en el tratado con raloxifeno, en el grupo tratado con Alendronato no fue distinta al control. Los callos tratados con Alendronato además también tenían mayor contenido mineral que los otros grupos.

A las 16 semanas, los callos de las ratas ovariectomizadas eran menores que los de las 6 semanas, mientras que los del grupo con alendronato eran iguales. El grupo de Alendronato tenía mayor contenido mineral y mayor carga de rotura que los grupos de ratas ovariectomizadas, tratadas con estrógenos y con raloxifeno. En el grupo tratado con alendronato la remodelación del callo se suprimió de forma importante, produciendo un callo con mayor contenido de hueso inmaduro, persistencia de la línea de fractura y menor contenido de hueso cortical en comparación con los otros grupos.

Saito también estudia el efecto del alendronato en un modelo experimental de fractura de fémur, estabilizada con una aguja intramedular, en ratas osteoporóticas. Compara el efecto del ALN con el del alfacalcidol, un derivado de la vitamina D, y además de los parámetros radiológicos, densitométricos y biomecánicos analiza el número de enlaces de colágenos como medidor de la calidad del hueso formado tras la fractura. Este autor concluye que el tratamiento con ALN y alfacalcidol aumenta la resistencia ósea del callo gracias

al efecto en la masa y en la calidad ósea. El ALN forma callos más grandes y un aumento de los enlaces enzimáticos de colágeno pero hay un retraso en la remodelación del callo, cosa que no ocurre con el alfacalcidol¹⁹⁹.

Recientemente Habermann^{84,85} publica unos trabajos sobre el efecto del ibandronato en la consolidación de fracturas de la diáfisis femoral en ratas osteopénicas. Antes de realizar la fractura de forma cerrada realiza un enclavijado del canal femoral con una aguja de Kirschner. Al grupo de tratamiento le administra 1,125 µg/kg/ día de ibandronato vía subcutánea. A las ratas se les daba una dieta baja en calcio y se sacrificaban a los 28 días. Se realizaban estudios con micro-TC para evaluar el contorno externo del callo, la porción cortical y esponjosa así como el grosor y el momento polar de inercia. También se realizan ensayos de torsión. Se obtienen un aumento del volumen de callo con un aumento de densidad del nuevo callo formado y un aumento del momento polar de inercia. Las pruebas biomecánicas demuestran un aumento de la resistencia contra las fuerzas de torsión a 5 y 10° de rotación y en el punto de fallo. Este autor concluye que el ibandronato aumenta el volumen de hueso inmaduro produciendo una mayor estabilidad biomecánica del callo tras 4 semanas de tratamiento. No está claro si este aumento de la resistencia a las fuerzas de torsión es por el mayor volumen o por una mejor calidad del hueso formado. Puede ser que el aumento de la densidad mineral dentro del callo formado sea un marcador de mayor calidad. Lo que está claro es que el ibandronato no tiene un efecto negativo en la consolidación de las fracturas en este modelo experimental.

También se han realizado estudios utilizando el perro como animal de experimentación. Flora utiliza perros adultos para estudiar el efecto del etidronato, un bifosfonato de 1ª generación⁶¹. Administra distintas dosis de este fármaco de forma subcutánea y hace estudios densitométricos, radiográficos e histomorfométricos en biopsias de costillas. Aunque el objetivo del estudio es observar los efectos que se producen en el hueso a distintas dosis también observa que a dosis altas (diez y veinte veces la utilizada para el tratamiento de la enfermedad de Paget en humanos) se producen fracturas espontáneas a partir de los 12 meses de tratamiento. Cuando estas fracturas se producen a dosis medias consolidan normalmente, pero a dosis altas mientras los animales están en tratamiento no se produce la mineralización del callo de fractura. Sin embargo cuando se interrumpe el tratamiento a los 2 meses los callos se mineralizan, por lo que los autores concluyen que las dosis altas de etidronato no producen cambios permanentes en el esqueleto que puedan interferir con la consolidación de las fracturas.

Lenehan¹²⁰ también estudia, como Flora, el etidronato en perros a dosis de 0.1, 0.5 y 5.0 mg/kg/día sc durante 20 semanas para determinar los efectos de este BF en la consolidación de las fracturas. Administra el BF 8 semanas antes de la cirugía y realiza una fractura transversa en la diáfisis del radio y la estabilizan con una férula. A las 12 semanas sacrifica los animales y realiza mediciones radiográficas, histológicas, histomorfométricas y biomecánicas con test de flexión a 4 puntos.

Como resultados encuentra que a dosis de 0,1 mg/kg la fractura consolida normalmente con una carga de rotura y una rigidez a la flexión igual o mayor

que en los animales control. A dosis de 0,5 mg/kg se produce un claro retraso de la unión radiológica del hueso fracturado y las pruebas biomecánicas demuestran valores inferiores a los del grupo control. Por último a dosis de 5mg/Kg se produce una disrupción total de la actividad mineralizante del callo, sin evidencia de consolidación radiográfica y con una resistencia y rigidez mínimas. Además en el grupo al que se le administró la dosis alta, los efectos producidos por el etidronato fueron reversibles con mineralización evidente del callo a las 3 semanas de interrumpir el tratamiento y con una consolidación completa a las 12 semanas.

Por lo tanto este estudio demuestra que el etidronato en la consolidación de las fracturas produce efectos dosis dependientes y reversibles en el modelo de fractura utilizado en perros. Aunque puede que el efecto del BF no sea igual en el hueso normal, en el osteoporótico y en el callo de fractura, como ocurre en el hueso de Paget tratado con etidronato¹²⁰.

Chastagnier³³ también utiliza perros para estudiar el efecto del tiludronato y etidronato en la consolidación de fracturas. Realiza un modelo de hemiosteotomía (resección parcial de la diáfisis de un hueso largo) y les administra 5 mg/kg de tiludronato y 10 mg/kg de etidronato vía oral durante 6 semanas. Sólo encuentra un aumento del volumen y grosor del tejido osteoide formado en el callo tras la administración de etidronato. No encuentra cambios en la densidad ósea ni en las pruebas biomecánicas. Tampoco observa cambios con la administración de tiludronato³³.

Peter¹⁸² examina el efecto del ALN en la consolidación de las fracturas en perros a dosis de 2 mg/kg/día vía oral (dosis 10 veces mayor que la utilizada

clínicamente) durante 9 semanas previas a la fractura, durante 16 semanas después de la fractura o durante los 2 periodos (25 semanas). Realiza una fractura transversa en la diáfisis de radio derecho de los perros y la estabiliza con una férula. Realiza estudios radiográficos, histológicos, histomorfométricos y biomecánicos mediante un test de flexión de 4 puntos.

En el estudio radiográfico e histológico se demostró una consolidación ósea normal en todos los perros. En los perros que recibieron ALN durante las 16 semanas tras la fractura se obtuvieron callos 2-3 veces más grandes que en los perros no tratados durante ese periodo. Esto es debido al retraso en la remodelación del callo. No se produjeron alteraciones del tamaño del callo en los perros en los que sólo se administró el ALN antes de la fractura. En la histología no se encontró o se encontró muy poco hueso inmaduro en el callo de los perros del grupo control mientras que se encontraron áreas cartilaginosas en los callos de los perros tratados. Sí que aparecían áreas de reabsorción ósea y superficies de formación ósea. En todos los callos la mineralización del mismo era normal. Los estudios histomorfométricos demostraron que el tratamiento con ALN no inhibe la formación ósea ni la mineralización. Los test biomecánicos no se vieron afectados por el ALN. Por lo tanto este autor demuestra que la administración crónica de ALN no tiene efectos adversos en la unión ósea, resistencia o mineralización de una fractura provocada en el radio de un perro. Aunque los perros que recibieron ALN produjeron callos más grandes y no habían remodelado completamente en el momento del estudio el tamaño del callo fue disminuyendo durante el periodo de estudio aunque de forma más lenta. Por lo que los autores concluyen que la formación del callo no se afecta por el ALN aunque la fase de remodelación

está enlentecida pero no detenida. Las pruebas biomecánicas no se vieron alteradas. Otros autores encontraron que con el etidronato las pruebas biomecánicas si estaban alteradas⁶¹ y esto se puede explicar porque el etidronato interrumpe el proceso de mineralización mientras que el ALN no tiene este efecto.

El único trabajo que hemos encontrado en ovejas es el que realiza Goodship⁷⁸ con pamidronato a dosis de 0,5 mg/kg vía intravenosa de forma semanal durante 4 semanas antes de la fractura y 12 semanas después, en un modelo de osteotomía de la diáfisis de tibia estabilizada con un fijador externo monolateral similar al nuestro, en ovejas esqueléticamente maduras (peso de 60-70 kg) pero no osteoporóticas. Durante las 12 semanas tras la fractura realizan, de forma semanal, una radiografía simple, una densitometría en el punto medio del gap y medidas de un índice de la rigidez de la fractura al deambular basándose en la medición simultánea de la deformidad de la barra del fijador y la fuerza de reacción vertical de la superficie de apoyo. A las 12 semanas sacrifican los animales y determinan la rigidez a la torsión y la resistencia a la torsión máxima. Tras las pruebas biomecánicas también realizan estudios histológicos. En el estudio radiográfico se encontraron callos más grandes en todas las tibias de los animales tratados. En los dos grupos hubo un aumento del contenido mineral con el tiempo. La tasa de incremento fue un 76% mayor en el grupo de animales tratados en comparación con el control. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a la rigidez de la fractura *in vivo*, rigidez de la fractura postmortem. La resistencia a la torsión máxima postmortem fue significativamente mayor en las osteotomías del grupo tratado.

El examen histológico reveló una buena consolidación en todos los callos, con depósito de hueso inmaduro y maduro y pocas áreas cartilaginosas. Los animales del grupo control demostraron una extensa remodelación del callo y de los extremos corticales de la fractura, demostrado por el hecho de que era difícil identificar la unión entre la diáfisis y el puente interno y externo del callo. Además los extremos fragmentarios adyacentes a la osteotomía demostraban una considerable remodelación primaria. En el grupo tratado con el BF, el callo de fractura era más voluminoso y persistía en mayor medida el callo primario con hueso inmaduro y cartílago. La línea de la osteotomía transversa aún se podía distinguir y aún no estaba integrada en el callo. Sin embargo, aunque la actividad de remodelación estaba disminuida por el pamidronato, ésta no estaba totalmente interrumpida cosa que se evidenciaba por la presencia de áreas de remodelación dentro del callo, entre el callo y la diáfisis y en la cortical.

Aunque los resultados de estos trabajos son heterogéneos, lo que es normal teniendo en cuenta los diferentes modelos animales, bifosfonatos, dosis y modelos de fractura usados, podemos decir como resumen que los BF afectan a la consolidación de las fracturas, produciendo callos más grandes al retrasar el proceso de remodelación del mismo pero sin impedir la consolidación de la fractura. Además parece que este efecto es dosis-dependiente y reversible como luego comentaremos en la discusión. En cuanto a los resultados de las pruebas biomecánicas éstos son más variables y más difíciles de interpretar.

Estudios experimentales con zoledronato

Si nos centramos ahora en lo publicado sobre el efecto del zoledronato en la consolidación de las fracturas, sólo hemos encontrado trabajos que utilizan la rata y el conejo como animal de experimentación.

El grupo de Little, McDonald y Amanat realizan un estudio de un defecto crítico en el fémur de ratas y manipulan la consolidación ósea utilizando proteína osteogénica 1 para modificar la respuesta anabólica y zoledronato para la catabólica y obtienen como resultado que el zoledronato por sí sólo no aumenta la respuesta ósea pero en combinación con la OP-1, el zoledronato sí que produce un aumento del volumen, densidad y resistencia del callo de fractura¹³¹.

En otro estudio publicado en 2006 utilizan un modelo de fractura de fémur en rata con una dosis de zoledronato de 0,1 mg/kg a la semana de la cirugía y estudian el callo óseo a las 2, 4 y 6 semanas tras la fractura. Observaron que la consolidación ósea se conseguía a las 6 semanas tanto en el grupo de tratamiento como en el control. Además no encontraron diferencias en el porcentaje de hueso inmaduro. El tamaño, densidad mineral y resistencia del callo fue significativamente mayor en el grupo tratado con zoledronato. Por lo que estos autores concluyen que el zoledronato no retrasa la osificación endocondral durante la consolidación de fracturas y por lo tanto es un tratamiento seguro durante la consolidación ósea¹⁴⁵.

Estos autores también estudian, en el mismo modelo de fractura de fémur en ratas, dos regímenes de dosificación distintos^{146,148}. En un grupo

administran, comenzando a la semana tras la fractura, 0,1 mg/Kg en una sola dosis y en otro grupo 5 dosis semanales de 0,02 mg/Kg. Los animales se sacrificaron a las 4, 6 y 12 semanas tras la fractura. Observaron que la densidad mineral y el volumen del callo eran mayores en los dos grupos de tratamiento con respecto al grupo control en todos los periodos estudiados y la resistencia del callo fue mayor a las 6 semanas tras la fractura. Entre las 4 y las 6 semanas el volumen del callo disminuyó un 8% en el grupo de la dosis única de zoledronato pero aumentó un 24% en el grupo de la dosis semanal. Estos autores lo interpretan como que en el grupo de dosis única sí que se produce remodelación del callo, mientras que ésta es enlentecida en el grupo de la dosis semanal. Sin embargo, a las 12 semanas el volumen del callo había disminuido en los 2 grupos sugiriendo que la remodelación del callo continúa. Sin embargo, en el grupo de dosis semanal el volumen del callo siguió siendo mayor que el control, (un 67% mayor a las 12 semanas y un 88% a las 26 semanas) y en el grupo de dosis única (30% a las 12 semanas y un 47% a las 26 semanas). Por lo tanto, la dosis semanal tiene una influencia negativa mayor sobre el callo que la dosis única.

En el estudio histológico se observó una retención significativa de hueso primario trabecular en los dos grupos de tratamiento en comparación con el control a las 6, 12 y 26 semanas. Esta retención del callo primario fue más evidente en el grupo de dosis semanal que en el de dosis única.

Por lo tanto los autores concluyen que el tratamiento con una dosis única de zoledronato fue superior que la dosis semanal. Una vez empezada la remodelación del callo, el volumen del mismo va disminuyendo mientras que

aumenta la resistencia. Esto refleja la seguridad del tratamiento con zoledronato en una única dosis durante la consolidación de las fracturas, dando lugar a un callo mayor y más resistente con una inhibición menor de la remodelación del callo de fractura^{146,148}.

Este grupo de investigación también ha estudiado el efecto de una dosis única de zoledronato en la consolidación de las fracturas administrada en distintos periodos tras la fractura, en el mismo modelo de fractura de fémur en ratas, estabilizada con agujas intramedulares^{7,8}. La dosis utilizada fue la de 0,1 mg/kg vía intravenosa en una sola dosis administrada en el momento de la fractura, a la semana y a las 2 semanas tras la fractura. Los animales se sacrificaron a las 6 semanas, tras la cirugía. Radiográficamente comprobaron la consolidación de la fractura en todos los grupos a las 6 semanas. Mediante estudios con qCT pudieron observar que, independientemente del tiempo en que se administró, la dosis única intravenosa de zoledronato aumentó significativamente el volumen, la densidad mineral y la resistencia del callo de fractura. La densidad mineral ósea del callo aumentó un 49% cuando el zoledronato se administraba en el momento de la fractura, un 83% a la semana y un 93% a las 2 semanas. El volumen del callo aumentó un 51% cuando el zoledronato se administraba en el momento de la fractura, un 78% a la semana y un 93% a las dos semanas.

En los estudios biomecánicos mediante pruebas de torsión se comprobó que cuando el zoledronato se administraba en el momento de la fractura la resistencia del callo aumentó un 30% con respecto al grupo control. En comparación, cuando el éste se administró a 1 o 2 semanas tras la fractura, la

resistencia mecánica aumento un 44% y un 50% respectivamente en comparación con el grupo control. Análisis con autoradiografías indicaron que el zoledronato se une al hueso presente en el momento de la administración, y que el hueso formado tras la administración de zoledronato contiene poca concentración del mismo. La cuantificación de zoledronato en la diáfisis femoral fracturada y no fracturada indicó que su administración tras la fractura aumentó significativamente la captación por parte del callo.

Estos estudios sugieren que el periodo óptimo para la administración de una única dosis de zoledronato tras una fractura cerrada es 1 ó 2 semanas después de la misma, en este modelo de fractura en ratas. El retraso en la administración parece aumentar la resistencia mecánica además de reducir la exposición sistémica debido a la mayor captación de zoledronato por parte del callo de fractura^{7,8}.

Estos autores también han realizado un estudio con ratas osteoporóticas, mediante ovariectomía, en fracturas de tibia cerradas¹⁴⁷. Realizan un grupo con ratas no ovariectomizadas y otro con ratas ovariectomizadas sin zoledronato, con zoledronato a dosis de 0,1 mg/kg subcutáneo 2 semanas antes y 2 semanas después de la fractura y otro con la misma dosis sólo 2 semanas después de la fractura. Los animales se sacrificaron a las 3 y a las 6 semanas. La consolidación ósea a las 6 semanas en las ratas ovariectomizadas sin tratamiento con zoledronato fue del 63%. Con el zoledronato antes y después de la fractura fue sólo del 44%, mientras que en el grupo de zoledronato sólo tras la fractura fue del 89%. El índice de consolidación ósea en el grupo de las ratas no ovariectomizadas fue del 90-100%. En las ratas ovariectomizadas

tratadas con zoledronato antes y/o después de la fractura se produjo un aumento del 12% en la DMO y del 16% del volumen del callo en comparación con las ratas sin tratamiento a las 3 semanas. Sin embargo a las 6 semanas estos cambios habían desaparecido.

Este estudio demuestra que la consolidación de las fracturas puede estar retardada en las ratas ovariectomizadas en comparación con las no ovariectomizadas. El tratamiento con zoledronato antes y después de la fractura se asocia a un retraso en la consolidación de la misma en comparación con cuando el bifosfonato se administra sólo tras la fractura¹⁴⁷.

Otro trabajo de este grupo estudia cómo afecta el zoledronato a las propiedades intrínsecas del callo de fractura en el modelo de fractura de fémur en ratas antes utilizado por ellos⁹. Para ello utilizan un estudio de indentación y administran una sola dosis intravenosa de zoledronato a dosis de 0,1 mg/kg en el momento de la fractura, a la semana y a las 2 semanas. Todas las fracturas consolidaron radiográficamente a las 6 semanas. Hubo una disminución del 2% en el módulo de Young en el grupo en el que el zoledronato se administró en el momento de la fractura y un aumento del 4% y 7% en los grupos en los que se administró a 1 y 2 semanas después respectivamente en comparación con el grupo control. La dureza del hueso disminuyó en un 8% en el grupo de zoledronato en el momento de la fractura mientras que en el grupo de 1 y 2 semanas aumentó en un 2% en comparación con el grupo control. Estos resultados no fueron estadísticamente significativos.

Con este estudio, los autores, sugieren que en este modelo animal la dosis única de zoledronato no afecta de forma adversa a las propiedades intrínsecas del tejido óseo nuevo formado dentro del callo de fractura⁹.

El otro grupo de investigación que ha publicado trabajos sobre el efecto del zoledronato en la remodelación ósea durante la consolidación de una fractura es el de Almeida-Matos^{5,141}. Este grupo utiliza como modelo experimental la metáfisis proximal del peroné en conejos, utilizando una sola dosis de 0,04 mg/Kg vía intraperitoneal y sacrifican los animales a una, 2 y 4 semanas tras la fractura y realizan un estudio histológico analizando el volumen tisular, el volumen de hueso trabecular y el volumen de fibrosis medular. El volumen tisular aumentó en el grupo con tratamiento en comparación con el control. El volumen de hueso trabecular fue significativamente mayor en el grupo con tratamiento que en el grupo control. La cantidad de volumen de fibrosis disminuyó en el grupo con zoledronato en comparación con el control. Es decir, que el efecto del zoledronato se caracteriza por un estímulo acentuado de la formación ósea en el área metafisaria, dando lugar a una mayor cantidad de volumen óseo trabecular y menor volumen de fibrosis⁵.

Estos mismos autores, y con el mismo modelo experimental, estudian el callo de fractura en distintos periodos y ven su evolución en un grupo tratado con zoledronato y otro control y encuentran que, a la semana tras la fractura, el área del callo es grande (significativamente menor en el grupo control), hay mucha fibrosis perióstica (significativamente menor en el grupo con zoledronato), poca fibrosis medular y poco hueso trabecular¹⁴¹. A las 2 semanas hay gran cantidad de hueso inmaduro y una importante disminución

de la fibrosis perióstica en los 2 grupos. En el grupo control además hay un aumento significativo del hueso trabecular. A las 4 semanas, el área del callo disminuye en los dos grupos y disminuye la cantidad de hueso inmaduro en el grupo control. La cantidad de tejido trabecular aumenta de forma significativa en el grupo ZOL. Hay un aumento de la fibrosis medular en los dos grupos, mientras que continúa habiendo menor fibrosis perióstica de forma significativa en el grupo ZOL.

Por lo tanto estos autores encuentran que los callos de fractura bajo el tratamiento con zoledronato tienen un área mayor con un contenido significativamente mayor de hueso inmaduro y trabecular. Por lo tanto el zoledronato produce una estimulación de la producción ósea primaria y un enlentecimiento de la remodelación, produciendo una retención de hueso trabecular. Aunque esto se puede interpretar como que el zoledronato tiene cierto efecto anabólico también puede ser que simplemente al disminuir la reabsorción, el hueso formado permanece durante más tiempo en el callo de fractura¹⁴¹.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

La incidencia de fracturas osteoporóticas en España es elevada y es de prever que seguirá aumentando gracias al incremento de la esperanza de vida en la población española⁸⁹. Estos pacientes reciben cada vez una mayor cantidad de medicación en el tratamiento de su osteoporosis, por lo que en la clínica nos encontramos con pacientes osteoporóticos tratados con fármacos antireabsortivos como los bifosfonatos con una gran probabilidad de sufrir fracturas. Por lo tanto, una de las preguntas que nos formulamos es si los pacientes que han sufrido una fractura reciente pueden continuar con el tratamiento, o bien, si no reciben tratamiento para la prevención de nuevas fracturas, si podemos iniciar el tratamiento con bifosfonatos inmediatamente tras la fractura o es mejor esperar a que ésta consolide. Puesto que estos fármacos son inhibidores de la reabsorción ósea es lógico pensar que afectarán al proceso de consolidación de las fracturas, principalmente en la fase de remodelación del callo óseo^{59,60,141}.

Esta preocupación sobre si los bifosfonatos alteran la consolidación ósea es compartida por los traumatólogos que tratamos pacientes osteoporóticos que han sufrido fracturas. Así en artículos publicados sobre la función del traumatólogo en el tratamiento médico de este tipo de pacientes, este tema siempre es considerado y las respuestas son inciertas por los resultados contradictorios sobre el efecto del retraso en la maduración del callo²⁰⁶.

Parece demostrado por los trabajos experimentales realizados en modelos animales que, histológicamente, el callo se ve afectado siendo éste de

mayor volumen debido al retardo de la remodelación del mismo ^{16,30,33,61,94,72,78,84,85,109,120,123-125,135,173,182,213}. Pero la mayoría de estos estudios están realizados en ratas, las cuales poseen un proceso de consolidación ósea bastante distinto al humano ^{12,31,51,175,199} o en animales no osteoporóticos.

Nosotros hemos elegido la oveja como animal de experimentación, por su proceso de consolidación ósea mucho más cercano al humano ^{214,220} y además en ovejas osteoporóticas para acercar aún más las condiciones en las que se producen estas fracturas.

Nosotros nos planteamos estudiar el comportamiento del bifosfonato más potente utilizado actualmente en el tratamiento de la osteoporosis, el Zoledronato, ya que así podremos concluir con mayor precisión los efectos de este grupo de fármacos.

El efecto de los bifosfonatos en la consolidación de las fractura ha sido determinado sobre todo por estudios histológicos. Pero en la práctica clínica lo que nos interesa conocer es la rigidez del callo para saber cuándo podemos considerar una fractura biomecánicamente consolidada. Por ello, hemos realizado ensayos mecánicos de flexión a 4 puntos y de torsión que son las que más información nos proporcionarán sobre el comportamiento mecánico del callo de fractura. Así mismo, se ha realizado un análisis densitométrico de los callos de fractura a partir de imágenes digitales de TAC.

Por lo tanto, nuestra hipótesis de trabajo es que sí el zoledronato actúa disminuyendo la reabsorción ósea, al ser éste un proceso imprescindible en las fases de remodelación de la consolidación ósea, la utilización de este bifosfonato durante la reparación de una fractura ósea afectará a la resistencia

mecanica del callo. Para ello utilizaremos un modelo de fractura en tibia de oveja osteoporótica estabilizada mediante un fijador externo. Este modelo de fractura experimental reproduce de forma bastante fideligna las condiciones del proceso de consolidación ósea que se produce en las fracturas en humanos. Otros autores han utilizado este modelo para distintos estudios de la conslidación de fracturas^{34,76-78,80,86,105,118,201,228} pero ninguno de ellos en ovejas osteoporóticas.

OBJETIVOS

- Reproducir un modelo experimental en animales grandes para estudiar la consolidación de una fractura osteoporótica en la tibia de ovejas ovariectomizadas y alimentadas con dieta pobre en calcio y vitamina D.
- Estudiar el proceso de consolidación ósea en este modelo de experimentación en ovejas osteoporóticas, mediante estudios de densitometría y ensayos biomecánicos del callo de fractura.
- Estudiar el efecto del zoledronato en la fase de remodelación ósea del proceso de consolidación de las fracturas comparándolo con un grupo control.

MATERIAL Y MÉTODOS

1.- ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

MANIPULACIÓN ANIMAL

La manipulación y la experimentación animal de este proyecto se ha adecuado a la norma del 21 de octubre del 2005, Real Decreto 1201/2005.

Este proyecto de investigación ha sido aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia (Anexo 4) así como por el Servicio de Innovación y Tecnología Ganadera de la Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación de la Generalitat Valenciana (Anexo 5).

ANIMAL DE EXPERIMENTACIÓN

Para nuestro estudio hemos a utilizado 13 ovejas esqueléticamente maduras de la raza Guirra, sometidas a ovariectomía y dieta pobre en calcio y vitamina D, durante 6 meses, para conseguir un modelo comparable a la osteoporosis humana con respecto a los cambios en la densitometría, estructura ósea y fuerza^{126,219}.

La ovariectomía bilateral se ha realizado bajo anestesia general, mediante una laparotomía media, localización de los ovarios, ligadura de la arteria ovárica y de la trompa y extracción de los 2 ovarios.

Durante 6 meses, las ovejas fueron sometidas a una dieta restringida que ha consistido en pienso con 1,5 gramos de calcio y 100 unidades internacionales de vitamina D diarias (las dosis normales son 5 gramos de calcio y 1000 unidades de vitamina D).

Se ha trabajado con dos 2 grupos:

- Grupo 1: Seis ovejas a las que se les ha administrado zoledronato vía subcutánea en dosis de 0,1 mg/kg dos semanas después de la intervención quirúrgica para realizar la osteotomía (dosis equivalente a la utilizada en la clínica) (ZOL).
- Grupo 2: Siete ovejas en el grupo control, que no han recibido medicación (CON).

Para estudiar la consolidación ósea, hemos utilizado un modelo de fractura ya bien establecido que consiste en la osteotomía transversa de tibia estabilizada mediante un fijador externo y dejando un gap entre los fragmentos de 3mm^{12,24}.

Este modelo ha sido utilizado en ovejas por otros autores para realizar distintos estudios sobre la consolidación ósea^{12,34,76-78,80,86,105,118,201,228}, pero no hemos encontrado ningún trabajo que haya utilizado ovejas osteoporóticas.

La técnica se describe en el siguiente epígrafe.

2.-TÉCNICA QUIRÚRGICA

PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO

Las ovejas se dejan en ayunas de agua y pienso durante 24 horas antes de la intervención quirúrgica. Hay que tener en cuenta que estos animales son ruminantes y por tanto no son suficientes periodos menores de ayuno, ya que retienen el alimento en el rumen.

La relajación del animal se ha conseguido mediante la inyección intramuscular de 3-4 mL de clorhidrato de Xilazina (Rompun®, Bayer) con una posología de 0.01 mg/kg. La anestesia se realiza mediante Propofol (Diprivan, Astrazeneca) al 1% con dosis de 4.5 mg/kg, inyección subcutánea de 1 ampolla de atropina (Atropina Braun, B. Braun Medical SA) y 1 ampolla subcutánea de Hidrocloruro de Mepivacaína (Mepivacaína Braun 1%, Braun Medical SA).

En la mesa de quirófano se colocan en decúbito lateral con la pata trasera derecha (a operar) sobre la mesa. Se atan las patas delanteras y la trasera y se coloca un soporte para la cabeza.

La pata se afeita y se lava con cepillo con solución yodada, se seca y se pinta de forma estéril con solución yodada. Se aísla la pata con paños estériles.

Bajo condiciones asépticas se monta un fijador externo unilateral monotubo (Sistema DynaFix, Biomet) en la cara anterolateral de la tibia izquierda mediante una técnica de 4 tornillos de 6 mm de diámetro y 90 mm de longitud, de forma que la distancia entre los 2 tornillos centrales sea de 6 cm

para que la osteotomía se realice justo en el centro a 3 cm de cada tornillo central (figura 2).

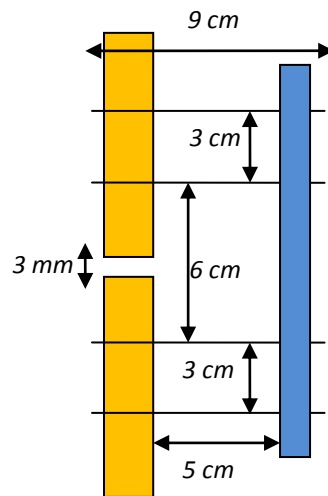


Figura 2. Esquema de la tibia de la oveja (naranja) y la colocación del fijador externo (azul) con las referencias utilizadas.

Se marca la piel con las guías de broca colocadas sobre el fijador y se comienza por el tornillo más proximal. El fijador se colocará de tal forma que los pernos que sujetan las fichas queden posteriores y los que solidarizan los patinetes al cuerpo queden anteriores. Hay que recordar que la orientación del tornillo es anterointerno y que el tornillo más distal debe estar separado del tobillo aproximadamente 2-3 cm según el tamaño de la pata.

Se abre la piel y el tejido celular subcutáneo hasta llegar al periostio y se identifican los límites de la tibia para colocar la broca justo en el centro de la diáfisis. Se marca con el punzón a través de la guía corta y posteriormente se perfora con broca de 3,2 mm de diámetro hasta atravesar las 2 corticales. Se retira la broca y su guía y se coloca el tornillo de 6 mm de diámetro con el berbiquí manual. Una vez colocado el primer tornillo se repite el proceso con el más distal, asegurándose de que se coloca en el centro del hueso. Cuando

están colocados los tornillos más proximal y más distal, se intercambian las guías cortas por las largas, colocando las primeras para los tornillos intermedios. Se incide en la piel de forma menos extensa, se marcan con el punzón, se taladran y se colocan los tornillos intermedios. Se palpan por la cara posterior las cabezas de los tornillos para comprobar que han atravesado las 2 corticales.

Se retira el fijador y se cosen las incisiones con Vicril rapide de 3/0. Se incide la piel algo más posterior entre los 2 tornillos centrales. Se disecan los planos hasta llegar al periostio. Se desperiostiza la tibia y se colocan 2 separadores tipo Hoffman para protección de las partes blandas y se realiza la osteotomía con sierra oscilante. Se comprueba que la osteotomía es completa y se monta el cuerpo del fijador externo sobre las fichas. Se colocan los tubos de plástico para que los patines hagan mejor presa sobre las fichas. Se coloca un espaciador sobre la osteotomía para mantener un gap de 3 mm y se aprietan todos los pernos del fijador con una llave dinamométrica regulada a 5 Nw/m. Se cierra la herida por planos, prestando atención al cierre del periostio y de las partes blandas, con Vicril 3/0 y Vicril rapide 3/0 para la piel.

Tras cerrar la piel se vendan las heridas y los tornillos con gasas estériles y se repasan los pernos con la llave dinamométrica y posteriormente se coloca una férula metálica de protección, que se mantendrá durante 4 semanas.

En el postoperatorio se administra una inyección intramuscular de 1 g de Amoxicilina (Amoxicilina + Acido Clavulánico Cinfa EFG, Cinfa) como profilaxis

antibiótica y una inyección intramuscular de 2 g de Metamizol (Nolotil, Boehringer Ingelheim).

A las ovejas se les permite andar sin restricción en sus jaulas después de recuperarse de la anestesia, y se vigilan diariamente la actividad, la herida quirúrgica y si se desarrollan una infección del trayecto de los tornillos. La profilaxis antibiótica con 1 g de Amoxicilina (Amoxicilina + Acido Clavulánico Cinfa EFG, Cinfa) se repite al 2º y 3º día post-cirugía. Las heridas son revisadas y el vendaje se cambia en condiciones asépticas de forma semanal, comprobando con la llave dinamométrica cada uno de los pernos del fijador externo. La férula de aluminio se retira a las 4 semanas.

A las 8 semanas tras la intervención quirúrgica se sacrifican los animales tras la inducción de anestesia general con pentobarbital sódico a dosis de 30 mg/kg (Penta-Hypnol®, Agrovvet Market SA), mediante la administración intravenosa de 1 ampolla de cloruro potásico (Cloruro Potásico Braun sol. 14,9%, Braun Medical SA).

Tanto la pata izquierda intervenida como la derecha, no intervenida, se recogen, se limpian de las partes blandas y se congelan a -70º.

Posteriormente se descongelan, a temperatura ambiente y una vez descongelados se envuelven en gases humedecidas con suero salino fisiológico para evitar al máximo la modificación de las propiedades mecánicas de los tejidos por evaporación de agua y desecación, ya que se ha observado que la desecación influye en el comportamiento mecánico ^{42,128}. Y siempre se realiza en las mismas condiciones para todas las muestras. Una vez descongeladas las muestras se realizan los estudios mediante TAC y las

pruebas biomecánicas no destructivas de flexión en 4 puntos y por último las destructivas de torsión.

Las intervenciones quirúrgicas se han realizado en el quirófano de la Unidad Central de Investigación, Facultad de Medicina y Odontología de Valencia, donde se ha desarrollado también el postoperatorio, y luego los animales han sido estabulados en las condiciones que marca la ley en las instalaciones de estabulación animal de la Escuela de Ingenieros Agrónomos en la Universidad Politécnica de Valencia (Número de licencia 250V091).

3.- CARACTERÍSTICAS DEL FIJADOR EXTERNO

El sistema de fijación externa está compuesto por 4 tornillos tronco-cónicos y autoterrajantes de 6 mm de diámetro y 90 mm de longitud, éstos se colocan a 30 mm por encima y por debajo de la osteotomía. La distancia de la piel a la barra del fijador es de 30 mm. La barra se sujeta a los tornillos mediante 2 rótulas que se ajustan a la barra mediante 2 tuercas que se ajustan con una llave dinamométrica (figura 3). El espacio interfragmentario es de 3 mm.

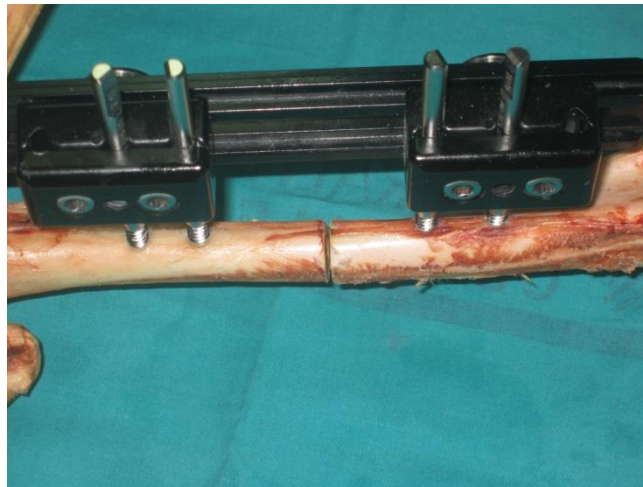


Figura 3. Fotografía del sistema de fijación externa utilizado para la estabilización de la osteotomía en la tibia de la pata de la oveja.

Este sistema ha sido el mismo en todas las ovejas intervenidas.

4.- MÉTODOS DE MEDICIÓN

4.1.- Estudios de imagen mediante TAC

Se han tomado imágenes de TAC de todas las muestras, tanto de las tibias intervenidas como de su control contralateral del grupo control (CON) y del grupo estudio tratadas con zoledronato (ZOL).

Se ha realizado un estudio morfológico, comprobando la consolidación de la fractura y evaluando el callo y su superficie en los cortes axiales, así como el estudio densitométrico del callo, descrito más adelante.

El estudio se ha realizado en el centro ERESA Campanar de Valencia, con TAC multidetector de 16 canales (GEH, CT Light Speed 16 plus, Wakesha, WI, USA) practicando adquisición helicoidal (kW 120, MA 440, FOV 33 cm, matriz 512 x 512, grosor de corte 1,2 mm con secuencia completa y algoritmo de reconstrucción bone plus).

4.2.- Estudios biomecánicos

Los estudios biomecánicos y densitométricos se han realizado en el Instituto de Biomecánica de Valencia (IBV).

Para evaluar mecánicamente el hueso reparado, este ha sido sometido a dos tipos de ensayos *in vitro*:

- Ensayos no destructivos de flexión a cuatro puntos; ensayos sensibles a la asimetría ósea que se produce durante el proceso de reparación

y, por tanto, a la orientación del espécimen durante la realización de los mismos^{2,22,43,97,155}. De estos ensayos se obtienen las gráficas del perfil polar de rigidez, a partir de estas se obtienen tres parámetros importantes: índice de rigidez, índice de áreas y el índice de planitud.

El ensayo de flexión se ha utilizado comúnmente en multitud de experiencias para evaluar las características mecánicas de huesos largos^{2,22,43,97,155}. Los ensayos de flexión, atendiendo al modo de aplicación de la carga, se dividen en dos tipos: de flexión en 3 puntos y de flexión en 4 puntos (figura 4):

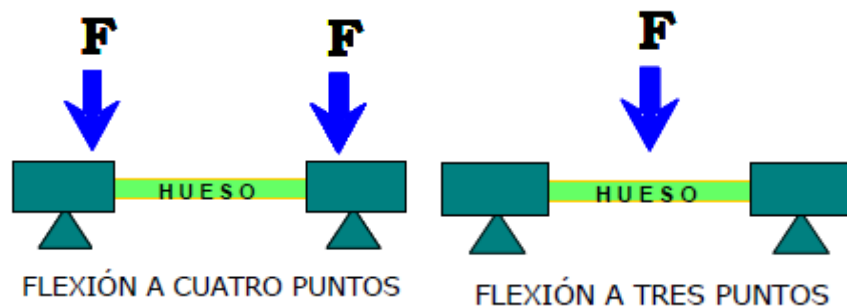


Figura 4. Esquemas de los ensayos de flexión, a cuatro y tres puntos.

El ensayo de flexión a cuatro puntos muestra claras ventajas frente al de tres puntos:

- En el ensayo de tres puntos se aplica la carga directamente sobre el hueso, el cual sufrirá una deformación local en ese punto, subestimándose, de este modo, el módulo de Young^{104,218}.

- En el ensayo a tres puntos, el momento de flexión no es uniforme a lo largo de la muestra, siendo máximo en el lugar donde se aplica la carga. En el de cuatro puntos, sin embargo se logra un momento uniforme a lo largo del hueso entre las dos fuerzas aplicadas²¹⁵ (figura 5).

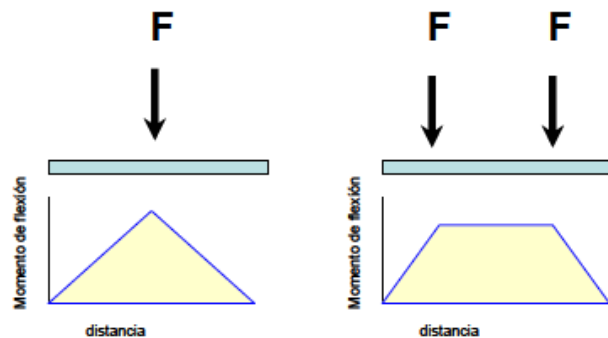


Figura 5. Representación de los momentos flectores en los ensayos de flexión a tres y cuatro puntos.

El ensayo a flexión a 4 puntos que hemos realizado se lleva a cabo en 12 planos diferentes a lo largo del eje longitudinal del hueso siguiendo una modificación del procedimiento propuesto por Foux⁶². Para ello se va rotando el hueso a intervalos de 15° en la máquina de ensayos. El hecho de evaluar la rigidez en diferentes planos se justifica porque hay evidencias de que los huesos largos muestran diferencias en su rigidez dependiendo del plano dónde se realiza el ensayo de flexión^{132,196}. Además, estas diferencias son todavía más pronunciadas después de la fijación de una fractura⁶³. Es importante tener estos aspectos en cuenta al evaluar la rigidez del hueso ya que si elegimos aleatoriamente un solo plano del hueso, podríamos estar sobreestimando o subestimando los valores de rigidez registrados.

Por esta razón se elige este método que supone una ligera modificación del que fue desarrollado por Foux⁶². En su caso se empleó un ensayo no destructivo a flexión de tres puntos en 24 planos diferentes. En nuestro caso el ensayo es de flexión a cuatro puntos, pero en 12 planos. De esta manera no obtenemos un único valor de rigidez para cada hueso si no que se registran 12 valores de rigidez para cada hueso, correspondientes a los 12 planos ensayados. Estos valores se representan gráficamente dando lugar a una elipse, o perfil polar de rigidez que refleja los valores de rigidez de los 12 planos ensayados.

- Ensayos destructivos de torsión; no son sensibles a la asimetría del hueso y del callo, y por tanto, a su orientación relativa al realizar el ensayo, obteniéndose los parámetros de rigidez torsional, par tursor máximo y tenacidad^{36,53,68,76,92,107,133,139,180,181,232}.

El objetivo de esta prueba es la obtención de información relacionada con las características resistivas del hueso en consolidación, ya que la fuerza aplicada alcanza el punto de rotura del hueso. Este ensayo de torsión destructivo es un método estandarizado y ha sido empleado por numerosos autores^{36,53,68,76,92,107,133,139,180,181,232}.

El ensayo destructivo a torsión permite conocer diversas características mecánicas tanto de la tibia osteotomizada como de la contralateral sana. Este tipo de ensayo no es sensible a la asimetría del hueso y del callo y, por tanto a la orientación de los especímenes durante la realización del mismo^{68,76,180,232}.

• **Preparación de las muestras y procedimiento del ensayo**

Como en todo ensayo científico, es importante que todas las muestras sean sometidas al mismo proceso de conservación y manipulación. Como ya se ha descrito antes la descongelación se realiza a temperatura ambiente y una vez descongelados se envuelven en gasas humedecidas con suero salino fisiológico para evitar al máximo la modificación de las propiedades mecánicas de los tejidos por evaporación de agua y desecación, ya que se ha observado que la desecación influye en el comportamiento mecánico^{42,128}.

La inclusión de las tibias en mordazas se realiza siguiendo un procedimiento riguroso con el fin de conseguir una unión sólida y una buena alineación de los fragmentos óseos. Las mordazas están constituidas por unas cazoletas mecanizadas en aleación de aluminio, diseñadas para un montaje sencillo en una máquina de ensayos. La cazoleta de la parte proximal, lleva en su extremo 12 caras planas que permiten su orientación en intervalos de 30° para el ensayo de flexión. La cazoleta de la parte distal es totalmente lisa.

Las tibias, una vez descongeladas se preparan para su introducción en las cazoletas:

1. Se recortan las zonas epifisarias con una sierra oscilante.
2. Con el taladro se realizan dos nuevas perforaciones perpendiculares a las ya existentes para el paso de las agujas del fijador externo.

3. Se vuelven a introducir las agujas de Kirschner recortándolas a una longitud aproximada de 25 mm con el fin de impedir la torsión de las piezas óseas en el interior de las mordazas.
4. En el caso de la tibia control, se procede a realizar todas las perforaciones con el taladro a la misma distancia que en el caso de la tibia osteotomizada.
5. A continuación se introduce en la mordaza achaflanada la parte distal de la tibia; se centra, empleando para ello cuatro tornillos colocados en la parte superior de la mordaza. Se marca con un rotulador permanente de la cara achaflanada la zona que corresponde con la cresta tibial, esto es fundamental a la hora de la realización de los ensayos, porque marcará el plano 0 de inicio de los ensayos. Con la tibia centrada totalmente y fija se vierte sobre la cazoleta metal de Wood (aleación de estaño y bismuto que presenta un punto de fusión de 47°C)¹⁴⁹. Se espera el tiempo necesario hasta que ésta se enfríe. Se gira el montaje 180° y se repite la operación dejando un espacio libre entre cazoletas de 40 mm. Para conseguir una buena alineación durante la preparación del espécimen, las mordazas se sujetan a un dispositivo de accionamiento manual que permite acercarlas y alejarlas manteniendo dicha alineación.
6. Cuando se ha enfriado el metal de Wood se liberan las cazoletas del dispositivo de alineación. El espécimen óseo es envuelto en una gasa que permanecerá húmeda durante todo el ensayo.

• Ensayo de flexión a 4 puntos

Este ensayo a flexión se lleva a cabo en 12 planos diferentes a lo largo del eje longitudinal del hueso siguiendo una modificación del procedimiento propuesto por Foux⁶². Para ello se va rotando el hueso a intervalos de 15° en la máquina de ensayos.

El esquema de la configuración del ensayo de flexión a cuatro puntos se muestra en la Figura 6.

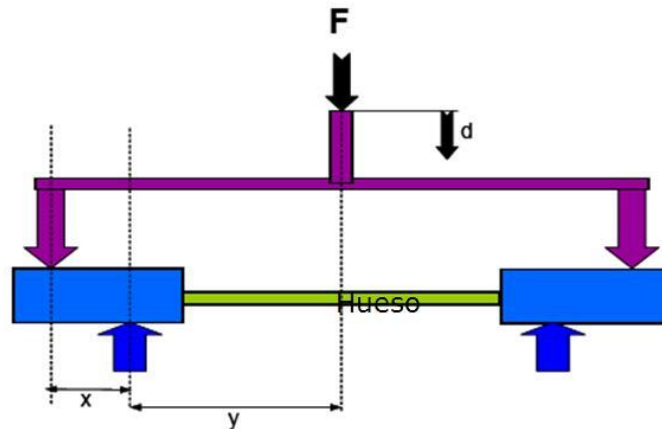


Figura 6. Esquema de la configuración del ensayo de flexión a cuatro puntos.

Para el cálculo de la rigidez a flexión $(EI)_{\text{hueso}}$ se aplica la Ecuación 1 donde, x e y corresponden a las distancias entre los puntos representados en el esquema de la Figura 3, d es el desplazamiento que sufre la muestra tras la aplicación de la fuerza. F es la fuerza aplicada. $(EI)_c$ se corresponde con la rigidez del material de las cazoletas.

$$(EI)_{hueso} = \frac{\frac{1}{2} \left[\frac{F}{d} \right] x^2 y}{1 - \left[\frac{F}{d} \right] \frac{x^3}{6(EI)c}}$$

Ecuación 1. Rigidez a flexión.

Para la definición del protocolo de realización de los ensayos se ha tomado como modelo las experiencias de Foux y colaboradores^{27,62,63,121} en las que se repiten los ensayos girando las mordazas hasta completar el giro, obteniendo la distribución de rigideces en función del plano de ensayo. Esta descripción de la rigidez da lugar a lo que se conoce como perfil polar de rigidez a flexión (PPRF).

Teóricamente, considerando que la rigidez es simétrica en cada plano (la misma para una orientación de 0° y 180°), asumiendo que los tejidos presentan las mismas rigideces a compresión que a tracción⁶² la distribución polar de la rigidez a flexión adquiere la forma de una elipse centrada en el origen y, por tanto, se define por tres parámetros (semieje mayor a, semieje menor b y ángulo de inclinación α (Figura 7). La relación existente entre estos tres parámetros del PPRF del hueso osteotomizado y los de su contralateral intacto que se utiliza como control, sirven para definir parámetros de eficiencia (índice de rigidez, relación de áreas e índice de planitud), que caracterizan las propiedades mecánicas del hueso reparado.

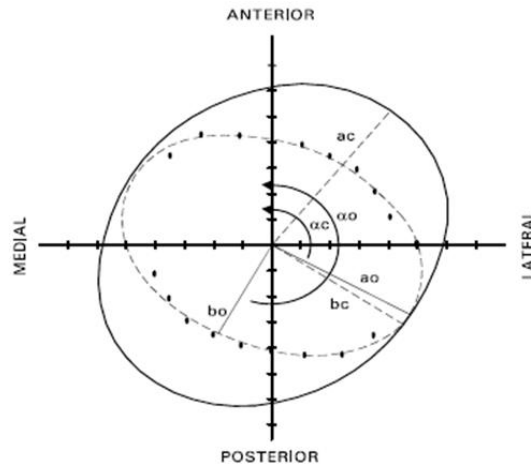


Figura 7. Perfil polar de rigidez de un hueso osteotomizado y su contralateral sano.

Las condiciones de ensayo realizadas en este trabajo han sido adaptadas a las características específicas del animal de experimentación empleado y a la máquina de ensayos utilizada. El hueso se posiciona en la máquina universal de ensayos (Modelo INSTRON 8874/511/147) con una carga máxima de 15 kg y se procede a la realización del ensayo en el primer plano; obteniéndose gráficas similares a la observada en la figura 9.

Las condiciones son las siguientes:

1. Control por desplazamiento.
2. Velocidad de desplazamiento del actuador: 0.008 mm/min.
3. Carga fin de ensayo: 15 N.
4. Distancia entre apoyos (figura 8):
 - A. 140 mm
 - B. 64 mm

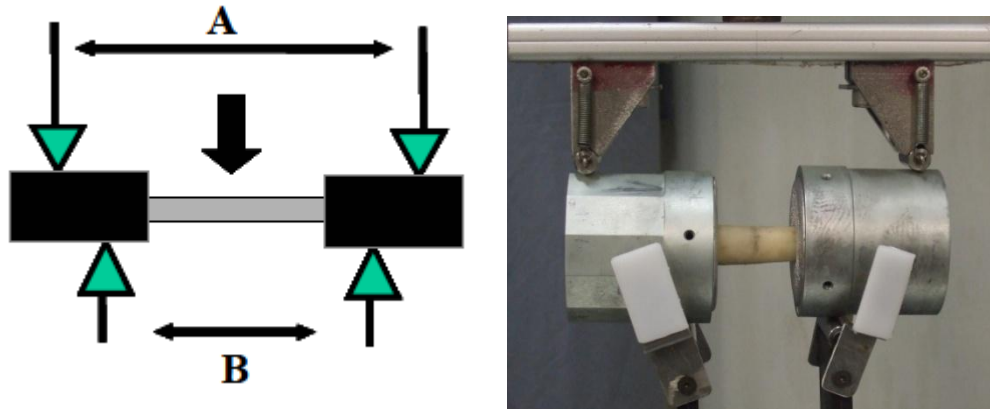


Figura 8. Figura esquemática de los puntos de apoyo en el ensayo de flexión a cuatro puntos y fotografía del ensayo.

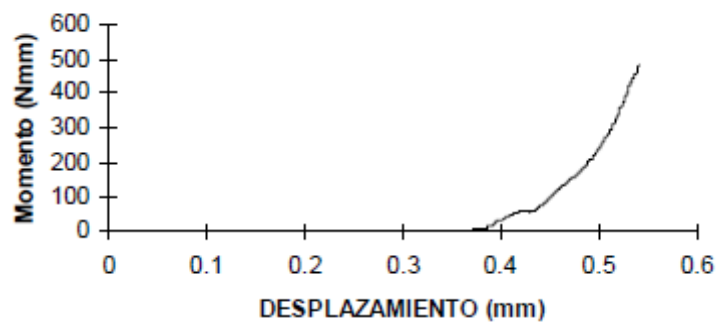


Figura 9. Gráfica típica de un ensayo de flexión en uno de los planos.

Los ensayos comienzan aplicando en el plano AP marcado como un 0 (zona de la cresta tibial). Una vez alcanzada la condición de fin de ensayo, se descarga y se gira la muestra 30° , así sucesivamente hasta alcanzar los 360° que correspondería con los 12 planos. Para cada uno de estos planos ensayados se calcula la rigidez como la pendiente de la curva carga-desplazamiento. Los ensayos se realizan tanto en la tibia osteotomizada como en la contralateral sana. La ecuación de la elipse que se obtiene del PPRF es la siguiente (ecuación 2):

$$R^2 = \frac{A}{B + \cos 2(\theta - \alpha)}$$

Ecuación 2: Ecuación de la elipse obtenida del PPRF.

Donde **R** es el vector del radio en el punto donde la dirección de la elipse coincide con la del ángulo de orientación de la placa (**θ**); **α** es el ángulo de inclinación de la elipse, medido desde la dirección y al eje menor, y **A** y **B** son función de los semiejes **a** y **b** de la elipse y están definidos por las ecuaciones siguientes (ecuación 3):

$$A = \frac{2a^2b^2}{a^2 - b^2}$$

$$B = \frac{a^2 + b^2}{a^2 - b^2}$$

Ecuación 3. Parámetros que definen la ecuación de la elipse.

Para determinar la elipse que mejor se ajusta al perfil polar de rigidez a flexión, se asigna a la variable **r** los valores de rigidez a flexión obtenidos experimentalmente para cada ángulo **θ** y se realiza una regresión no lineal mediante el método de Levenberg-Marquardt, incluyendo como variable dependiente la **r**², como variable independiente el ángulo **θ** y como parámetros a determinar **A**, **B** y **α**.

La verdadera importancia del cálculo de estas elipses radica en la obtención a partir de ellas de tres parámetros que aportan una importante información respecto a la eficiencia de la reparación del hueso. Estos parámetros están estandarizados permitiendo conocer la relación entre el hueso osteotomizado y contralateral sano, por lo tanto los valores obtenidos son adimensionales referidos al hueso intacto contralateral.

Para cuantificar las diferencias entre las elipses del hueso reparado y el contralateral sano se definen los siguientes parámetros de eficiencia de la reparación ⁶²:

- **Índice de rigidez** (Stiffness-Index, **SI**) (ecuación 4), que es el más importante, el cual se obtiene dividiendo la rigidez en los doce planos del hueso osteotomizado (EI_{os}) por la rigidez en los mismos planos de su contralateral sano (EI_c) para obtener resultados estandarizados, y de este cociente se elige el valor mínimo. Representa el mayor salto de rigidez del sistema, es decir, la dirección del plano de carga donde se da una mayor diferencia entre la rigidez del hueso sano y el osteotomizado. Este índice nos indica el plano donde el valor de rigidez es menor.

$$SI = [(EI)_{os}/(EI)_c]_{min}$$

Ecuación 4. Ecuación que define el índice de rigidez.

- Otro parámetro es el **índice de área** (Area-Ratio, **AR**) (ecuación 5), que nos permite evaluar la rigidez del hueso de una forma global respecto a la de su contralateral sano, partiendo de los valores del semieje mayor

(a) y semieje menor (b) que definen la elipse. Es una forma de analizar la relación que existe entre las superficies de ambas elipses, representándose con ella la relación entre la rigidez total en cada uno de los casos. El valor de esta relación varía entre 0 y 1; cuánto más se aproxime a la unidad será indicativo de que la rigidez de la tibia osteotomizada es más similar a la de la tibia intacta.

$$AR = (ab)_{os} / (ab)_c$$

Ecuación 5: Ecuación que define la relación de áreas.

- El tercer parámetro es el **índice de planitud** (Flatness-Ratio, FR) (ecuación 6), que se define como la relación entre las planitudes de ambas elipses, de forma que los valores inferiores a 1 indican que la planitud de la rigidez del callo es inferior a la del hueso, es decir que el callo presenta una rigidez menos simétrica y más orientada que el hueso sano. A medida que el callo vaya reparando y remodelándose, la elipse deberá ir orientándose y acercando su excentricidad a la del hueso sano. Cuando se alcanza el valor de 1, indicaría que no existen diferencias entre el hueso control y el osteotomizado.

$$FR = (b/a)_{os} / (b/a)_c$$

Ecuación 6: Ecuación que define el índice de planitud.

Una vez completados los ensayos de flexión, los huesos son ensayados de nuevo para caracterizar su comportamiento a torsión mediante ensayo destructivo.

• ***Ensayo de torsión destructivo***

Para la realización del ensayo a torsión se fija el espécimen a una máquina universal de ensayos (Modelo INSTRON 8874/511/147) con una carga máxima de 15 kg. Quedando una longitud libre del espécimen de 40 mm.

Las condiciones de ensayo son:

- Control por desplazamiento angular.
- Velocidad del desplazamiento de actuador de 0.25°/min.
- Fin de ensayo: rotura de la tibia.

El ensayo destructivo a torsión permite conocer diversas características mecánicas tanto de la tibia osteotomizada como de la contralateral sana. Este tipo de ensayo no es sensible a la asimetría del hueso y del callo y, por tanto a la orientación de los especímenes durante la realización del mismo ^{68,76,180,232} (figura 10).

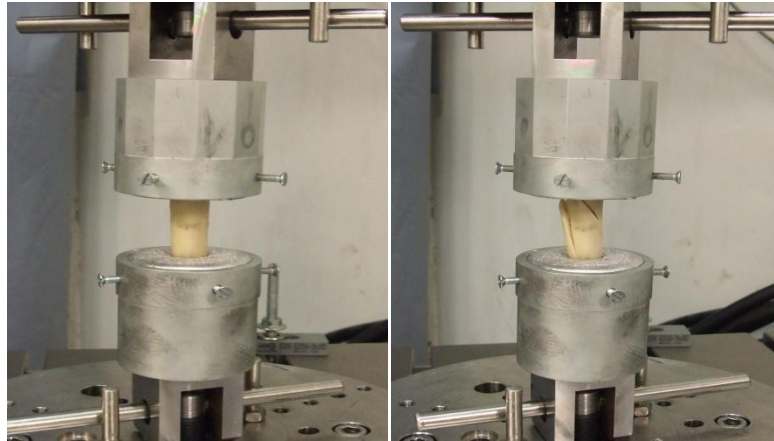


Figura 10. Ensayo de torsión y fin del ensayo con rotura tibial.

El ensayo se realiza en control por desplazamiento, con una velocidad de $0.25^\circ/\text{min}$ ^{28,36,140} registrando simultáneamente el momento torsor aplicado y el giro relativo entre los extremos de la muestra. Se utiliza esta baja velocidad debido al comportamiento viscoelástico del tejido óseo que es capaz de absorber una mayor cantidad de energía a velocidades elevadas, por lo que, pequeñas variaciones en la velocidad de aplicación podrían provocar grandes diferencias en la absorción de energía²³². Una baja velocidad minimiza estos efectos inerciales.

Puesto que los callos incipientes presentan un comportamiento plástico y es difícil llevarlos a rotura, la condición de fin de ensayo es la rotura del hueso reparado (en los que esta se alcanza) o un giro relativo máximo entre mordazas de 90° .

Mediante este ensayo obtenemos un tipo de gráfica similar a la que se muestra en la Figura 11.

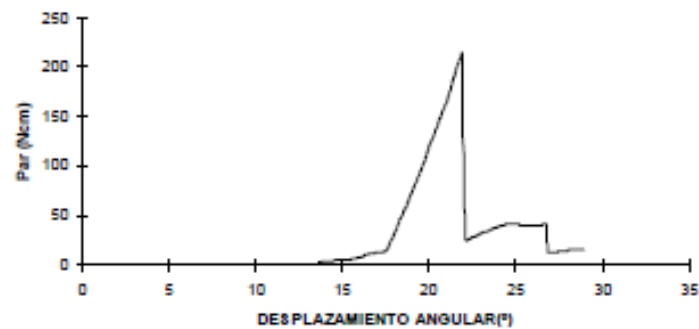


Figura 11. Grafica obtenida del ensayo a torsión.

Los parámetros obtenidos del ensayo de torsión son de especial interés desde el punto de vista de la resolución de una fractura; más concretamente el **par torsor máximo**, que es aquel punto en el que el hueso llega al punto de rotura, obteniéndose por tanto información sobre las características resistivas del hueso en la fase en que se encuentra, bajo este modo de carga.

Los parámetros obtenidos a partir de esta gráfica son (figura 11):

1. **Par torsor máximo (Ncm):** es el valor del par torsor en el que el hueso rompe. Se obtiene directamente a partir de la curva par torsor-desplazamiento angular, siendo el par torsor máximo o resistencia a torsión el valor máximo que alcanza la curva.
2. **Ángulo de torsión o deformación angular máxima (°):** es aquel desplazamiento que sufre el hueso hasta que rompe.
3. **Energía absorbida o tenacidad (Ncm°):** energía que absorbe el hueso hasta su rotura. Corresponde al área de la gráfica a partir de que el

hueso empieza a deformarse hasta su punto de rotura (Área sombreada de la figura 12).

4. **Rigidez torsional (Ncm/°):** relación que existe entre la carga aplicada y el desplazamiento observado. Corresponde a la pendiente de la curva en su zona lineal²³².

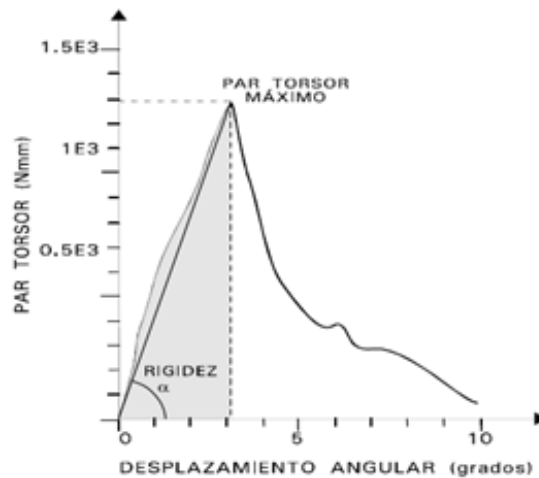


Figura 12. Gráfica de la curva par torsor-desplazamiento angular ²³².

Al igual que los valores de los parámetros de flexión, estos también se muestran adimensionales referidos al hueso contralateral sano, de tal manera que se adquiere el valor de 1 cuando el parámetro analizado coincide con el valor del contralateral intacto.

4.3.- Estudios densitométricos

El estudio densitométrico ha sido realizado a partir de las imágenes de TAC suministradas por FIHCUV, mediante el uso del software de análisis de imagen clínica MIMICS v8.11 (Materialise).

Dado el tamaño y características del callo que presentaban las muestras, se decidió realizar dos tipos de estudios, un estudio que consideraba la totalidad del callo de fractura que se había generado en el proceso de reparación y otro estudio que consideraba exclusivamente el tejido comprendido entre los dos extremos de hueso sano.

• ***Estudio densitométrico de la totalidad del callo***

En este estudio se considera la totalidad del callo de fractura. Las variables con las que se trabajó en este caso fueron dos, el volumen total del callo y la densidad media del mismo.

Con el objetivo de poder comparar todos los callos entre sí de forma sencilla, se consideró un tamaño de imagen que garantizara que en todos los casos se contaba con la totalidad del callo. Tras revisar la totalidad de muestras se determinó que el tamaño más adecuado correspondía al resultante de tomar 15 imágenes en sentido proximal desde la zona de fractura y otras 15 en sentido distal. Para ello se localizaba la imagen correspondiente a la zona de fractura y se seleccionaban las imágenes desde este punto de partida. Por tanto el tamaño total de la zona de interés corresponde a 31 cortes (38,75 mm) en la dirección del eje axial de las imágenes (figura 13).

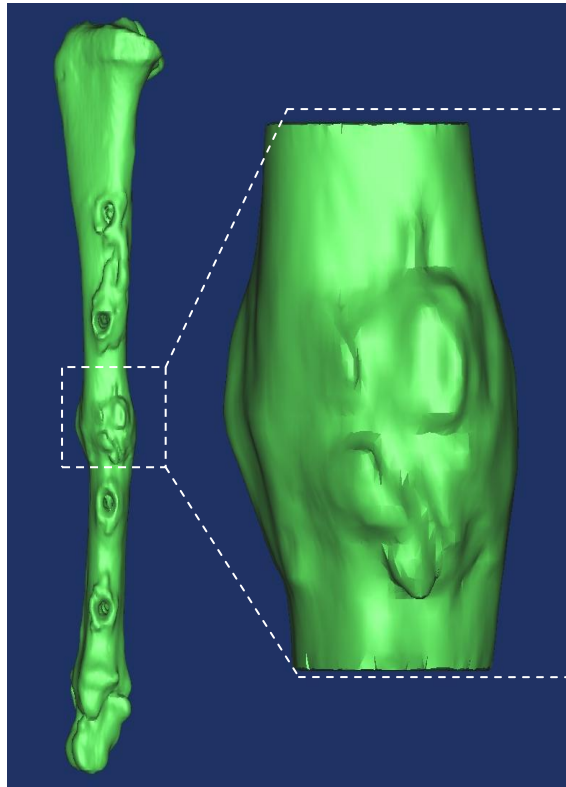


Figura 13. Selección de la región de interés para la el estudio densitométrico de la totalidad del callo.

Las variables de estudio consideradas son:

- **Volumen total del tejido óseo** en la zona de estudio (V_{tot31}). Este se obtiene mediante la generación de una “máscara” o isodensidad en la cual se selecciona todo el tejido que posee una densidad mayor a 226 unidades de Hounsfield (HU), cifra a partir de la cual se considera que el tejido seleccionado es tejido óseo mineralizado.
- **Densidad media del tejido** en la zona de estudio (D_{tot31}). Este valor corresponde a la densidad media del total del volumen seleccionado en la isodensidad anterior.

• **Estudio densitométrico de la zona de fractura**

En este estudio sólo se considera el tejido óseo mineralizado que se encuentra en la zona de fractura. Este espacio de fractura varía entre muestras, por lo que la selección de esta región de interés se realiza de forma manual para cada una de las muestras de callo (tabla 3).

Control 1 (1 Corte)	ZOL. 1 (2 Cortes)
Control 2 (1 Corte)	ZOL. 2 (2 Cortes)
Control 3 (3 Cortes)	ZOL. 3 (2 Cortes)
Control 4 (3 Cortes)	ZOL. 4 (1 Corte)
Control 5 (2 Cortes)	ZOL. 5 (2 Cortes)
Control 6 (1 Corte)	ZOL. 6 (2 Cortes)
Control 7 (1 Corte)	

Tabla 3. Número de cortes considerados para cada una de las muestras del estudio.

El objetivo de este estudio es estudiar la distribución de densidades y volúmenes en el tejido presente en la zona de fractura, con el objetivo de encontrar diferencias entre la estructura de los callos generados en cada uno de los grupos del estudio. Para ello el rango total de densidades óseas se dividen en 4 de modo que se generan las 4 isodensidades o máscaras en las cuales se basará el estudio (figura 14).

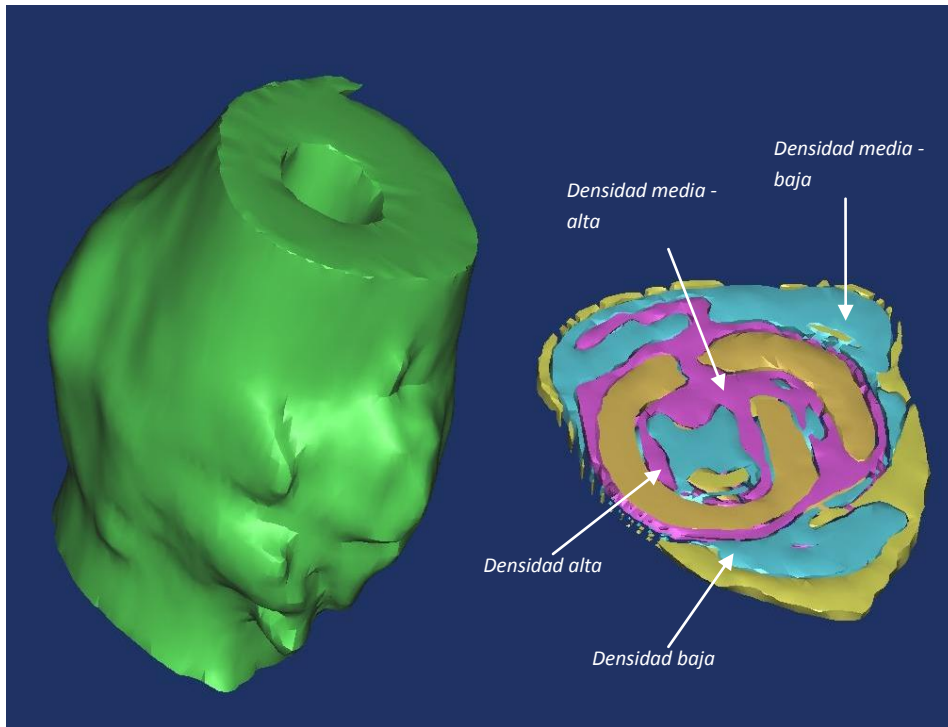


Figura 14. Representación 3D de las isodensidades generadas para el estudio del callo en la zona de fractura.

En la tabla 4 encontramos los rangos de densidad comprendidos en cada una de las isodensidades consideradas en el estudio.

	<i>DENSIDAD EN HU</i>	<i>DENSIDAD EN g/mm³</i>
<i>Isodensidad total</i>	226 - la densidad máxima de la muestra	0,163 - la densidad máxima de la muestra
<i>Isodensidad 1</i>	226 - 876	0,163 – 0,657
<i>Isodensidad 2</i>	877 - 1527	0,658 – 1,152
<i>Isodensidad 3</i>	1528 - 2178	1,153 – 1,648
<i>Isodensidad 4</i>	2179 - la densidad máxima de la muestra	1,649 - la densidad máxima de la muestra

Tabla 4. Rangos de densidades consideradas en cada una de las isodensidades o “máscaras” utilizadas para el estudio densitométrico.

El rango inferior de densidad en número de Hounsfield viene determinado por el programa preestablecido en el software de análisis de imagen médica, en el cual se considera este valor como mínimo en el caso de análisis de hueso cortical.

Para la conversión de las unidades de número de Hounsfield en densidades minerales se utiliza un patrón interno realizado por el IBV en estudios densitométricos previos. Se utiliza este patrón por dos razones:

- La no utilización de patrones internos en los análisis de TAC, sin los cuales no puede hacerse la conversión correspondiente a las unidades de densidad ósea mineral.
- El patrón utilizado ha sido realizado en las mismas instalaciones y con el mismo equipo de TAC que el análisis realizado para las muestras del presente estudio.

En la ecuación 7 se expresa la ecuación de la recta que permite la conversión de la HU a unidades de densidad, g/mm^3 .

$$\rho = 0,000761 \cdot HU - 0,0094866$$

Ecuación 7: Recta de calibrado para el cálculo de densidades óseas a partir del número de Hounsfield obtenido por TAC.

Las variables obtenidas que se han tenido en cuenta son las siguientes:

- Volumen de hueso total en la zona del espacio de fractura (Vhuesot).
- Volumen de hueso correspondiente a la Isodensidad 1 en la zona del espacio de fractura (Vhueso1).
- Volumen de hueso correspondiente a la Isodensidad 2 en la zona del espacio de fractura (Vhueso2).
- Volumen de hueso correspondiente a la Isodensidad 3 en la zona del espacio de fractura (Vhueso3).
- Volumen de hueso correspondiente a la Isodensidad 4 en la zona del espacio de fractura (Vhueso4).
- Densidad media total del hueso en el espacio de fractura (dmt).
- Densidad media correspondiente a la Isodensidad 1 en el espacio de fractura (dm1).
- Densidad media correspondiente a la Isodensidad 2 en el espacio de fractura (dm2).
- Densidad media correspondiente a la Isodensidad 3 en el espacio de fractura (dm3).
- Densidad media correspondiente a la Isodensidad 4 en el espacio de fractura (dm4).

4.4.- Tratamiento estadístico

Todas las herramientas estadísticas empleadas en el análisis de resultados del presente trabajo se encuentran implementadas en el programa SPSS para Windows (v. 16.0).

El análisis de los resultados se ha basado en la realización de una comparación entre las medias de las variables de interés, con el objetivo de encontrar diferencias estadísticamente significativas debida al tratamiento para los parámetros utilizados en el presente estudio respecto al grupo control. El método más adecuado para realizar esta comparación es el test de ANOVA o de análisis de varianzas. Para garantizar una correcta aplicación del mismo deben de cumplirse tres premisas:

1. Independencia: cada serie de datos debe ser independiente de las demás, esto es, los datos de una serie no deben estar correlacionados con los de otra.
2. Normalidad: la distribución interna de cada serie debe ser normal.
3. Homogeneidad: las varianzas de las series deben ser iguales.

Dado el tipo de estudio y las variables de interés consideradas, las dos primeras condiciones para la aplicación del test de análisis de varianza ANOVA se cumplen, por lo que solo habrá que comprobar la homogeneidad de varianzas de las variables a comparar, para lo cual se ha realizado el test de Levene.

Adicionalmente al test de ANOVA se ha realizado un test de contraste de comparación múltiple DMS, el cual permite realizar comparaciones entre medias por parejas de variables.

Tras el análisis de las variables densitométricas y mecánicas, se ha procedido a realizar un análisis estadístico de correlación de Pearson de dichas variables, con el objetivo de encontrar relaciones entre ellas que puedan ayudar a explicar los resultados obtenidos.

RESULTADOS

1.- MUESTRAS

Una vez obtenidas todas las muestras se tomaron las imágenes de TAC y se prepararon las muestras para la realización de los ensayos mecánicos.

Al descongelar las muestras comprobamos que algunas muestras no podían utilizarse. Concretamente en el grupo control la muestra 4 presentaba un callo muy grande. Esta pata pertenecía a una oveja que durante el postoperatorio había sufrido una infección superficial que se resolvió con curas y tratamiento antibiótico pero que produjo alteraciones en la consolidación ósea, por lo que consideramos no incluirla ni en el estudio densitométrico ni en el biomecánico. La muestra 5 del grupo ZOL también se excluyó del estudio densitométrico y biomecánico al presentar una fractura espiroidea en el extremo proximal.

Al preparar las muestras para el estudio biomecánico se produjo la rotura del callo en 4 muestras más, la muestra 3 y 6 del grupo control y las muestras 4 y 6 del grupo ZOL. En la tabla 5 se recogen las observaciones e incidencias para cada una de las muestras, con el objetivo de excluir aquellas que presentaron un comportamiento anómalo que pudiera interferir en el posterior tratamiento e interpretación de los resultados.

RESULTADOS

	Observaciones densitometría	Validez densitometría	Observaciones mecánicos	Validez mecánicos
CON 1 (89)	-	Válido	-	Válido
CON 2 (29)	-	Válido	-	Válido
CON 3 (54)	-	Válido	El callo rompe en la preparación de los ensayos mecánicos	No válido
CON 4 (10)	Callo muy grande, posiblemente por mala colocación del fijador	No válido	-	No válido
CON 5 (17)		Válido	-	Válido
CON 6 (87)		Válido	Se realiza el ensayo de F4P, pero el callo rompe en el de torsión	No válido
CON 7 (70)		Válido	-	Válido
ZOL 1 (91)	-	Válido	-	Válido
ZOL 2 (51)		Válido	-	Válido
ZOL 3 (33)	-	Válido	-	Válido
ZOL 4 (83)	-	Válido	El callo rompe en la preparación de los ensayos mecánicos	No válido
ZOL 5 (24)	Fractura espiroidea en el extremo proximal	No válido	El hueso es ensayado, pero se considera no válido	No válido
ZOL 6 (98)		Válido	El callo rompe tras ensayar 3 planos de los 12 del ensayo de F4P.	No válido

Tabla 5. Recopilación de observaciones para cada una de las muestras tras la preparación y realización de los ensayos mecánicos y estudios densitométricos.

Por lo tanto al final de la parte experimental hemos conseguido analizar 6 ovejas en el grupo control y 5 en el grupo ZOL para los estudios densitométricos y 4 ovejas en el grupo control y 3 en el grupo ZOL para los estudios mecánicos. Estas incidencias han disminuido de forma importante el número de muestras pero han sido suficientes, desde el punto de vista estadístico para obtener los resultados debido a su distribución normalizada dentro del estudio.

2.- RESULTADOS DEL ESTUDIO POR TAC

En la figura 15 podemos observar las imágenes de los cortes coronales de las parejas de tibias de los animales del grupo control. En cada imagen vemos la tibia sana y la contralateral observando el trayecto de los tornillos del fijador y la zona de la osteotomía que está señalizada con una línea que ha servido de referencia para el número del corte a partir del cual se han reconstruido los cortes axiales.



RESULTADOS

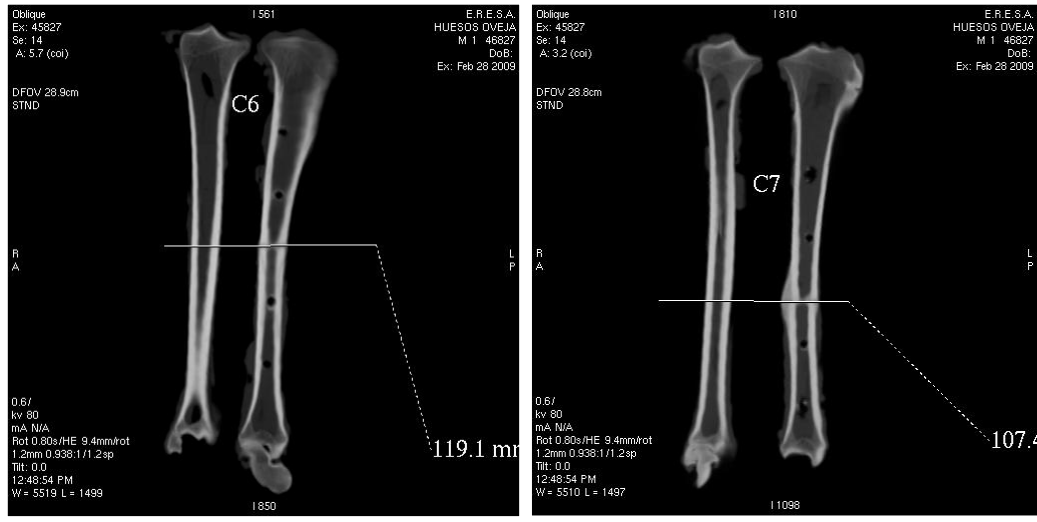
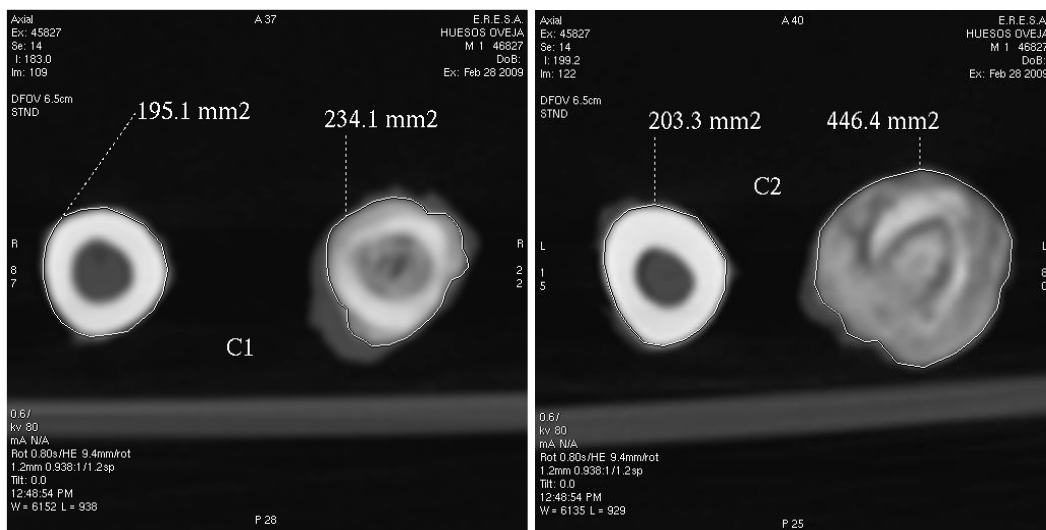


Figura 15: Imágenes de las tibias del grupo control en cortes coronales. La línea horizontal corresponde al corte a partir del cual se ha reconstruido la proyección axial.

En la figura 16 podemos observar los cortes axiales de las tibias operadas y no operadas de cada oveja del grupo control. La imagen se ha reconstruido a partir del corte del punto medio de la tibia, en el lugar de la osteotomía de la tibia intervenida. Se ha medido la superficie del callo en cada corte.



RESULTADOS

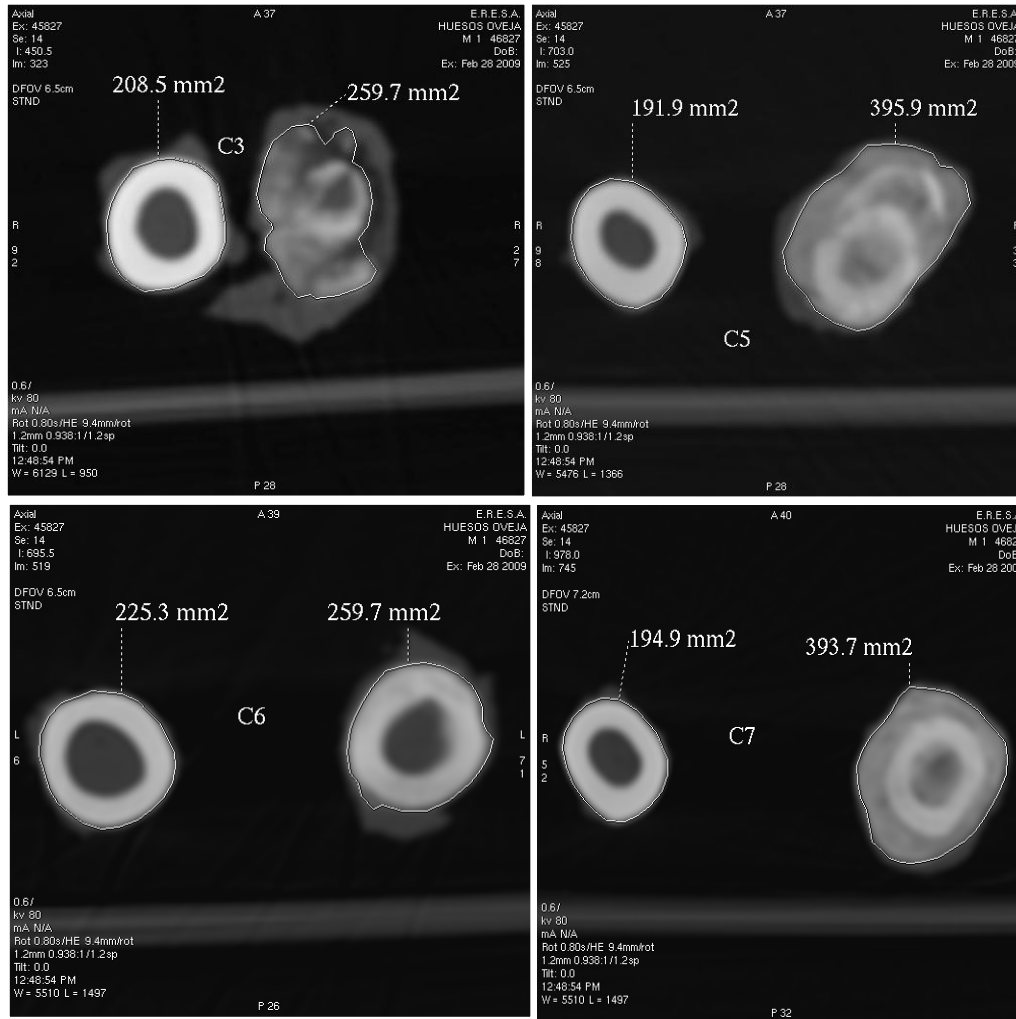


Figura 16. Cortes axiales a nivel de la osteotomía de las tibias intervenidas y al mismo nivel en las tibias contralaterales del grupo control. Se ha medido la superficie de cada corte.

De la misma forma se ha procedido en la toma de imágenes para las tibias que forman el grupo de ovejas tratadas con zoledronato. En la figura 17 podemos observar las imágenes de los cortes coronales de las parejas de tibias de los animales del grupo ZOL. En cada imagen vemos la tibia sana y la contralateral observando el trayecto de los tornillos del fijador y la zona de la osteotomía que está señalizada con una línea que ha servido de referencia para el número del corte a partir del cual se han reconstruido los cortes axiales.

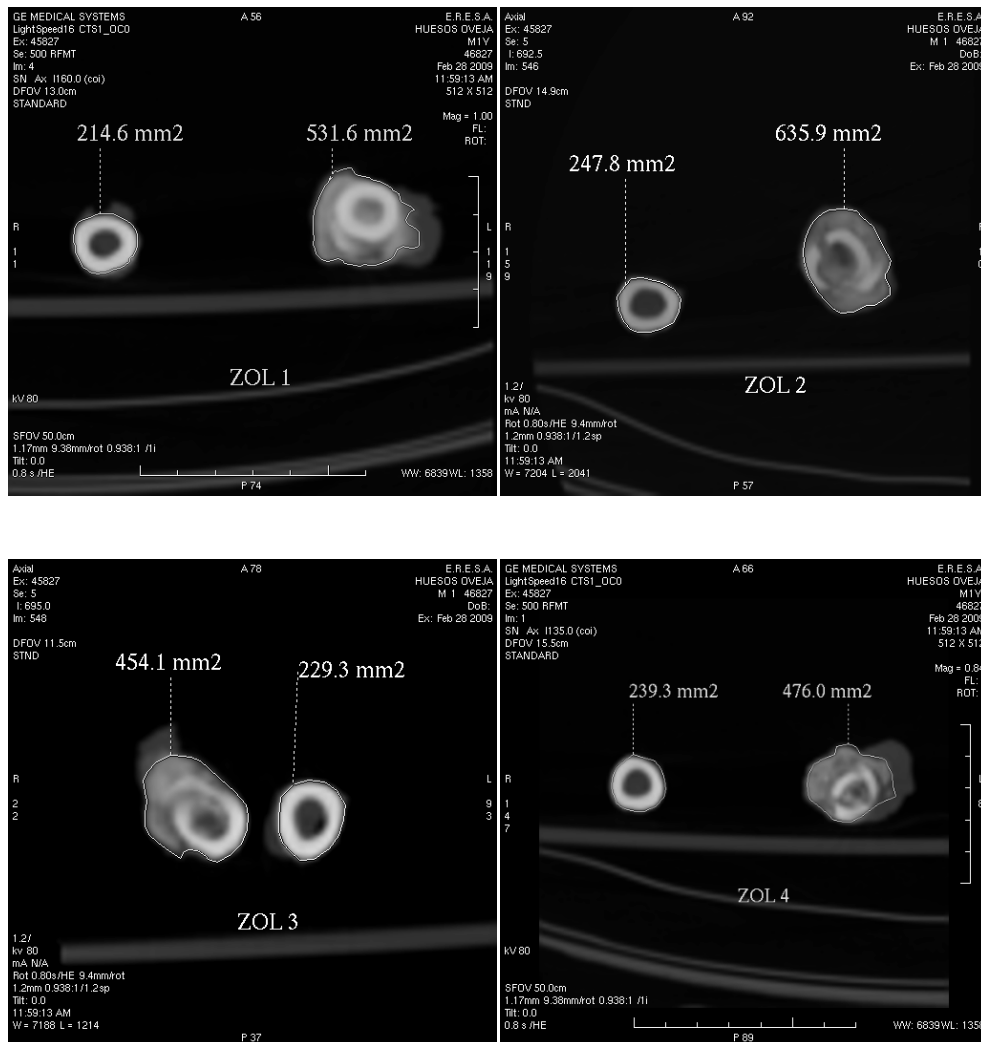
RESULTADOS



RESULTADOS

Figura 17: Imágenes de las tibias del grupo tratado con zoledronato (ZOL) en cortes coronales. La línea horizontal corresponde al corte a partir del cual se ha reconstruido la proyección axial.

En la figura 18 podemos observar los cortes axiales de las tibias operadas y no operadas de cada oveja del grupo ZOL. La imagen se ha reconstruido a partir del corte del punto medio de la tibia, en el lugar de la osteotomía de la tibia intervenida. Se ha medido la superficie del corte en mm².



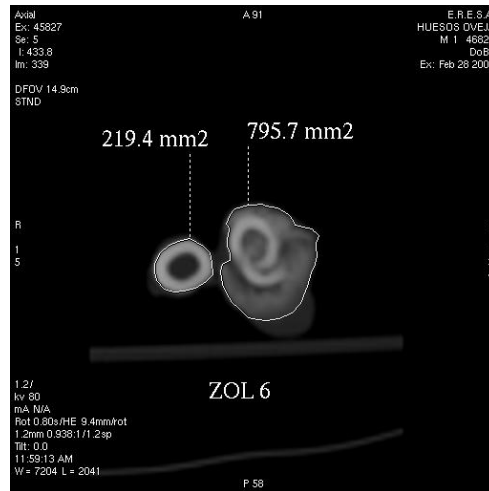


Figura 18. Cortes axiales a nivel de la osteotomía de las tibias intervenidas y al mismo nivel en las tibias contralaterales del grupo tratado con zoledronato (ZOL). Se ha medido la superficie de cada corte.

Si comparamos las imágenes de TAC de ambos grupos ya se observa a simple vista en los cortes coronales que las tibias del grupo ZOL han formado callos más grandes. Observación que es más evidente aún en los cortes axiales.

En los cortes axiales hemos medido el área del callo en el corte medio de la osteotomía y el área de la diáfisis tibial en el corte equivalente de la tibia sana y hemos calculado el aumento de la misma en la zona del callo con respecto a la diáfisis normal de la tibia no operada. En la tabla 6 se recogen estos datos para los 2 grupos.

GRUPO CON	SUPERFICIE TIBIA (mm ²)	SUPERFICIE CALLO (mm ²)	REL .	GRUPO ZOL	SUPERFICIE TIBIA (mm ²)	SUPERFICIE CALLO (mm ²)	REL .
C1	195,1	234,1	1,2	Z1	214,6	531,6	2,5
C2	203,3	446,4	2,2	Z2	247,8	635,9	2,6
C3	208,5	259,7	1,2	Z3	229,3	454,1	2,0
C5	191,9	395,9	2,1	Z4	239,3	476	2,0
C6	225,3	259,7	1,1	Z6	219,1	795,7	3,6
C7	194,9	393,7	2,0				

Tabla 6. Valores de las superficies de corte de la tibia no operadas y del callo de fractura de las operadas tanto del grupo control como del grupo ZOL expresado en mm² y medidos en los cortes axiales de TAC. También se expresa el aumento proporcional de la superficie del callo respecto a la de la tibia.

En la figura 19 se representa el diagrama de cajas para la variable área del callo de los grupos control y ZOL y en ella podemos observar que los callos de los huesos que habían sido tratados con zoledronato tuvieron un área mayor. En la tabla 7 se presenta la tabla de resumen de los descriptivos correspondientes a esta variable.

RESULTADOS

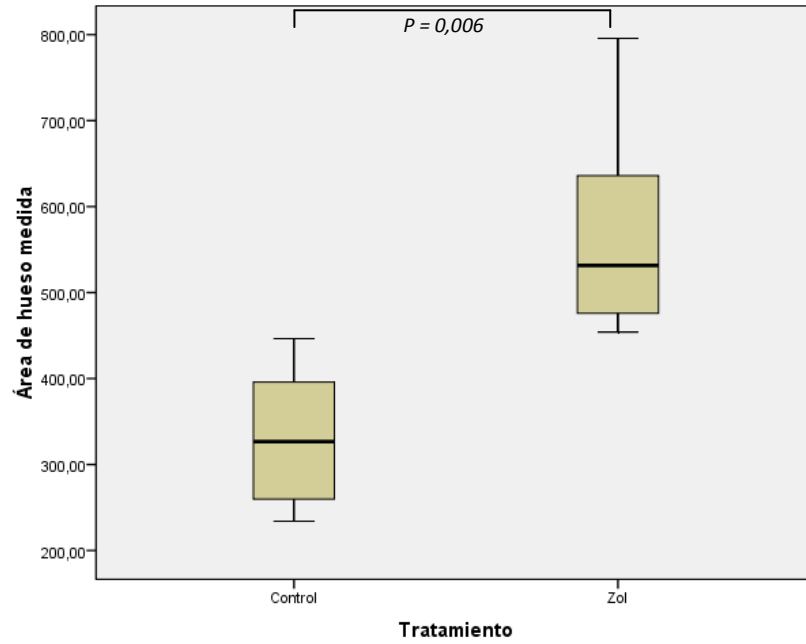


Figura 19. Diagrama de cajas para la variable área de hueso obtenida a partir de imágenes de TAC para los callos de los grupos control y zoledronato.

Descriptivos

Área de hueso medida

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
					Control	6		
Zol	5	578,6600	140,22454	62,71032	404,5482	752,7718	454,10	795,70
Total	11	443,8909	169,16223	51,00433	330,2462	557,5356	234,10	795,70

Tabla 7. Descriptivos correspondientes a la variable área de hueso obtenida a partir de imágenes de TAC para los callos de los grupos control y zoledronato.

Al realizar el Anova de los datos de la variable área del callo entre el grupo control y ZOL comprobamos que las diferencias son estadísticamente significativas (tabla 8).

RESULTADOS

ANOVA

Área de hueso medida

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	166491,489	1	166491,489	12,522	,006
Intra-grupos	119667,100	9	13296,344		
Total	286158,589	10			

Tabla 8. Test de ANOVA para la variable área de hueso obtenida a partir de imágenes de TAC para los callos de los grupos control y zoledronato.

Además también hemos analizado la variable relación de áreas, es decir, la relación del área del callo con respecto al área del mismo corte en la diáfisis de la tibia contralateral no intervenida, para asegurarnos que el tamaño de la oveja no distorsiona los resultados encontrados. En la figura 20 se representa el diagrama de cajas para esta variable y en la tabla 9 se presenta la tabla resumen de los descriptivos correspondientes.

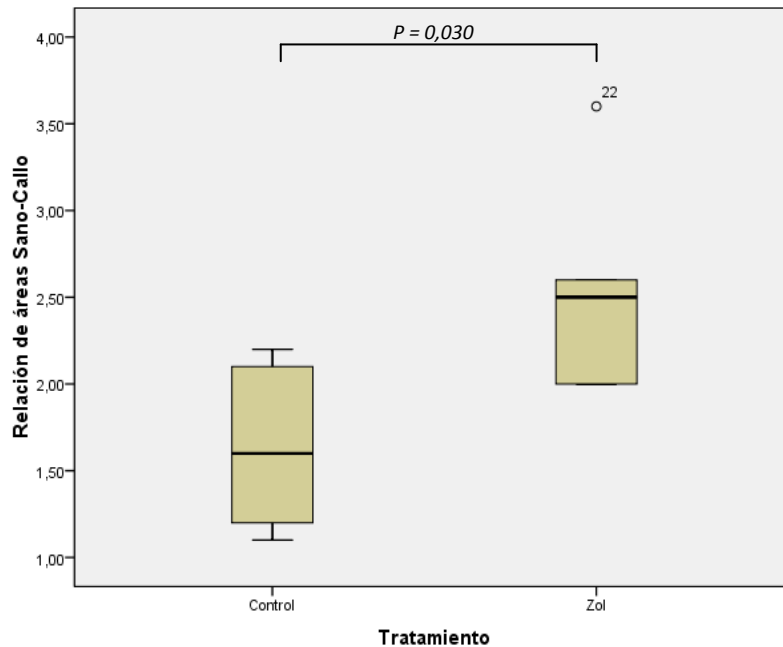


Figura 20. Diagrama de cajas correspondiente a la variable relación de áreas para los callos de los grupos control y zoledronato.

RESULTADOS

Descriptivos

Relación de áreas Sano-Callo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	6	1,6333	,51640	,21082	1,0914	2,1753	1,10	2,20
Zol	5	2,5400	,65422	,29257	1,7277	3,3523	2,00	3,60
Total	11	2,0455	,72714	,21924	1,5570	2,5340	1,10	3,60

Tabla 9. Descriptivos correspondientes a la variable relación de áreas para los callos de los grupos control y zoledronato.

Al realizar el test de Anova comprobamos que las diferencias siguen siendo estadísticamente significativas cuando comparamos los valores obtenidos para la variable relación de áreas de los grupos control y ZOL (tabla 10).

ANOVA

Relación de áreas Sano-Callo

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2,242	1	2,242	6,626	,030
Intra-grupos	3,045	9	,338		
Total	5,287	10			

Tabla 10. Test de ANOVA para la variable relación de áreas para los callos de los grupos control y zoledronato.

También hemos comparado el área de la diáfisis de las tibias no operadas de los dos grupos para ver si el tratamiento con zoledronato afecta a los huesos osteoporóticos no operados y hemos comprobado que este bifosfonato produce un aumento del área de la diáfisis de las tibias analizadas. En la figura 21 se representa el diagrama de cajas para la variable de hueso no

RESULTADOS

operado de los dos grupos, en la tabla 11 se presenta la tabla resumen de los descriptivos correspondientes y en la tabla 12 el análisis de Anova realizado que demuestra que este aumento es estadísticamente significativo.

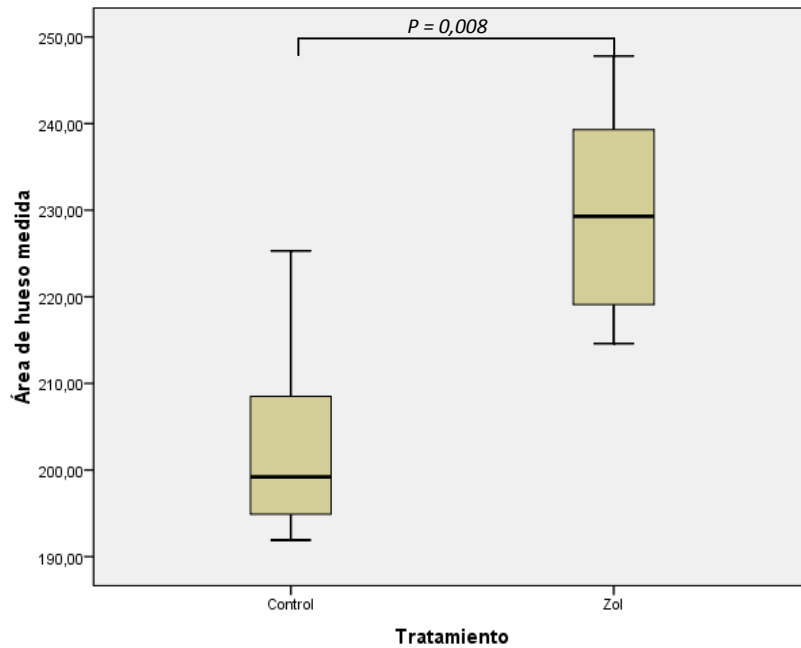


Figura 21. Diagrama de cajas para la variable área de hueso obtenida a partir de imágenes de TAC para los huesos no operados de los grupos control y zoledronato.

Descriptivos

Área de hueso medida

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	6	203,1667	12,47953	5,09475	190,0702	216,2631	191,90	225,30
Zol	5	230,0200	13,78213	6,16355	212,9072	247,1328	214,60	247,80
Total	11	215,3727	18,72197	5,64489	202,7951	227,9503	191,90	247,80

Tabla 11. Descriptivos correspondientes a la variable área de hueso obtenida a partir de imágenes de TAC para los huesos no operados de los grupos control y zoledronato.

RESULTADOS

ANOVA

Área de hueso medida

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1966,640	1	1966,640	11,505	,008
Intra-grupos	1538,481	9	170,942		
Total	3505,122	10			

Tabla 12. Test de ANOVA para la variable área de hueso obtenida a partir de imágenes de TAC para los huesos no operados de los grupos control y zoledronato.

3.- RESULTADOS DE LOS ENSAYOS MECÁNICOS

Se presentan de forma descriptiva los resultados de los ensayos biomecánicos de flexión a cuatro puntos y los de torsión.

Para describir los resultados se han utilizado dos tipos de gráficas:

- Elipses del perfil polar de rigidez a flexión (PPRF), para el ensayo de flexión a cuatro puntos.
- Gráficas de cajas y arbotantes, para ambos tipos de ensayo.

3.1.- Ensayos de flexión a 4 puntos (F4P)

El objetivo del ensayo de flexión a cuatro puntos es la determinación de la rigidez del callo de fractura, frente a los distintos tratamientos, en la fase de reparación en el que se encuentra la fractura en el momento de sacrificio del animal.

En la tabla 13 se muestran los valores de parámetros a flexión: índice de área (AR), índice de rigidez (SI) e índice de planitud (FR). Los descriptivos correspondientes se muestran en la tabla 14.

RESULTADOS

	Índice de área (AR)	Índice de planitud (FR)	Índice rigidez (SI)
CON 1 (89)	0,593	0,909	0,625
CON 2 (29)	0,109	0,962	0,247
CON 5 (17)	0,974	0,416	0,642
CON (70)	0,540	0,763	0,589
ZOL 1 (91)	0,826	0,920	0,814
ZOL 2 (51)	0,514	0,485	0,524
ZOL 3 (33)	0,386	0,714	0,473

Tabla 13. Tabla de valores del ensayo de flexión a cuatro puntos.

Descriptivos

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo	
					Límite inferior	Límite superior			
Índice de rigidez	Control	4	,5256254	,18699217	,09349608	,2280791	,8231717	,24706	,64168
	Zol	3	,6036357	,18406361	,10626918	,1463963	1,0608750	,47259	,81407
	Total	7	,5590584	,17468519	,06602480	,3975015	,7206152	,24706	,81407
Índice de área	Control	4	,5540602	,35400792	,17700396	-,0092454	1,1173658	,10928	,97406
	Zol	3	,5749215	,22628439	,13064536	,0127999	1,1370431	,38553	,82551
	Total	7	,5630007	,28258336	,10680647	,3016547	,8243468	,10928	,97406
Índice de planitud	Control	4	,7625377	,24561902	,12280951	,3717030	1,1533724	,41633	,96201
	Zol	3	,7065051	,21766198	,12566720	,1658028	1,2472074	,48531	,92045
	Total	7	,7385237	,21645702	,08181306	,5383344	,9387131	,41633	,96201

Tabla 14. Tabla de descriptivos para las variables obtenidas mediante el ensayo de flexión a cuatro puntos.

- **Perfil polar de rigidez (PPRF)**

Como se ha descrito anteriormente en el apartado de materiales y métodos, a partir de los valores de rigidez en los distintos planos se generan las gráficas del perfil polar de rigidez que a continuación se muestran en las figuras 22 y 23. Este tipo de gráficos nos muestra de una manera cualitativa las diferencias que existen entre los dos grupos. Los resultados se detallan por un lado, en el análisis de los huesos osteotomizados (figura 22) y por otro, en el análisis de los huesos contralaterales no operados (figura 23).

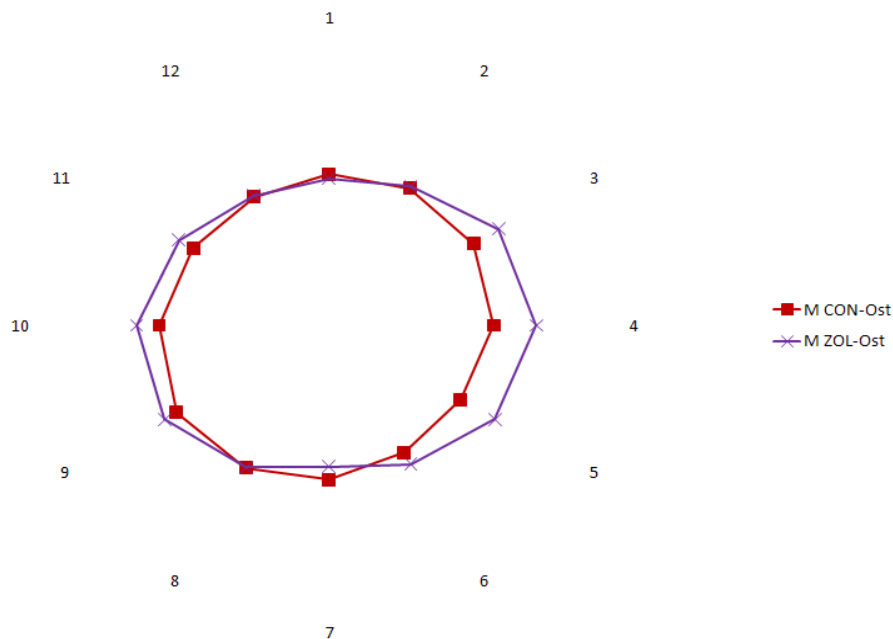


Figura 22. Elipses de perfil polar de rigidez de los huesos osteotomizados.

En el análisis de los datos del perfil polar de rigidez en los huesos osteotomizados observamos que el grupo Control, que no ha estado sometido a tratamiento, muestra rigideces ligeramente menores a las de los huesos

tratados con zoledronato, pero lo más significativo es el cambio en el patrón de distribución de los valores de rigidez en los diferentes planos. Mientras que el grupo Control tiene una distribución prácticamente circular, el grupo ZOL nos da una elipse aplanada en el eje transversal de modo que los máximos valores los encontramos en los planos 4 y 10.

Como era esperable, el análisis de los datos de perfil polar de rigidez de los huesos contralaterales no operados, proporciona valores de rigidez mayores que para los huesos osteotomizados para los dos grupos.

Al comparar sólo los huesos no operados vemos que el grupo ZOL obtiene mayores valores que el grupo control (Figura 23). En este caso no se observan diferencias de orientación de los planos de rigidez en ambos grupos, siendo estas circulares.

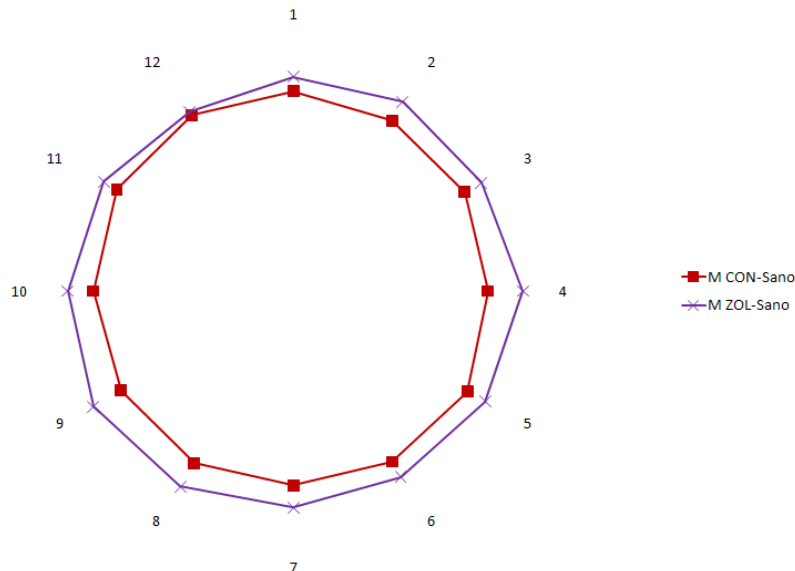


Figura 23. Elipses de perfil polar de rigidez para los huesos contralaterales no operados.

- **Gráficas de cajas y arbotantes**

En las figuras 24, 25 y 26 se presentan los diagramas de cajas y arbotantes correspondientes a los valores de los índices de flexión.

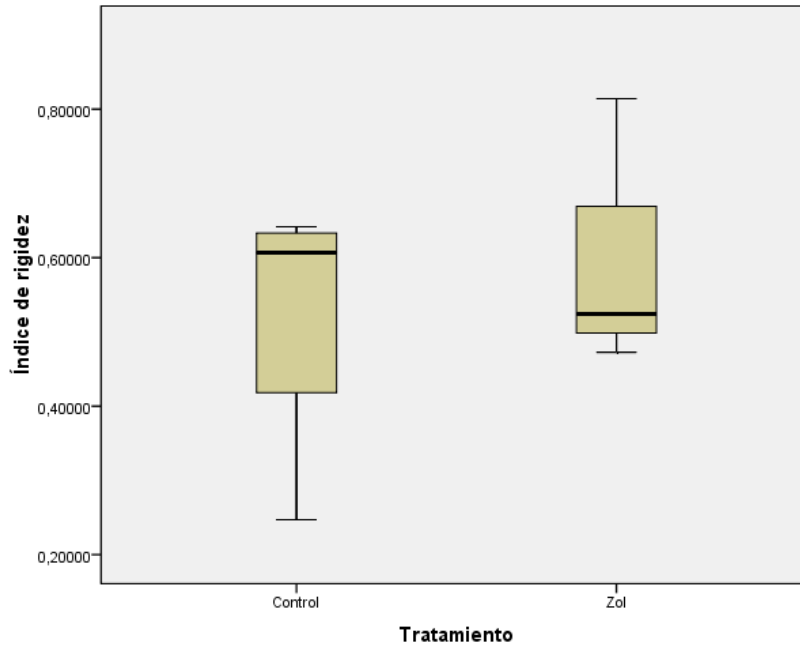


Figura 24. Gráfica de cajas y arbotantes de la variable índice de rigidez.

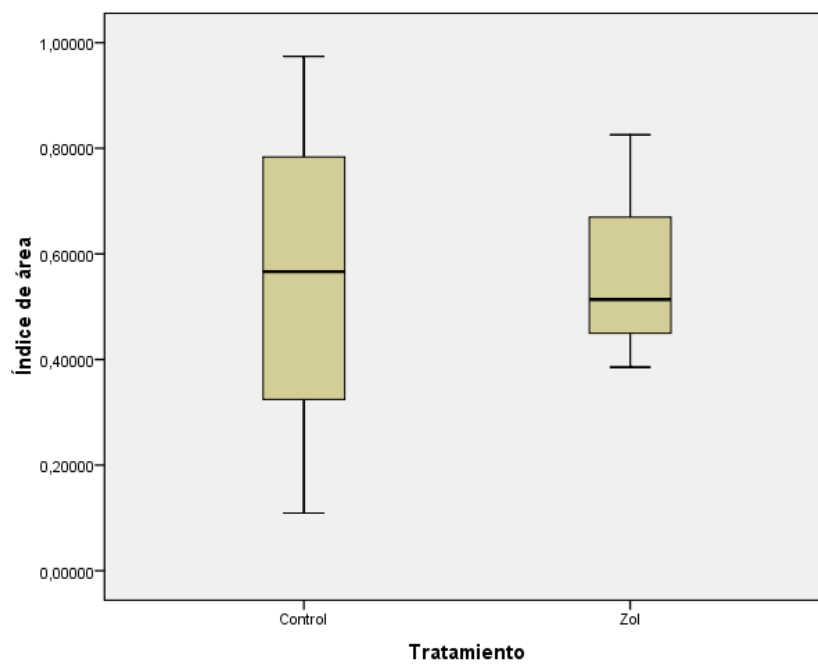


Figura 25. Gráfica de cajas y arbotantes de la variable índice de áreas.

RESULTADOS

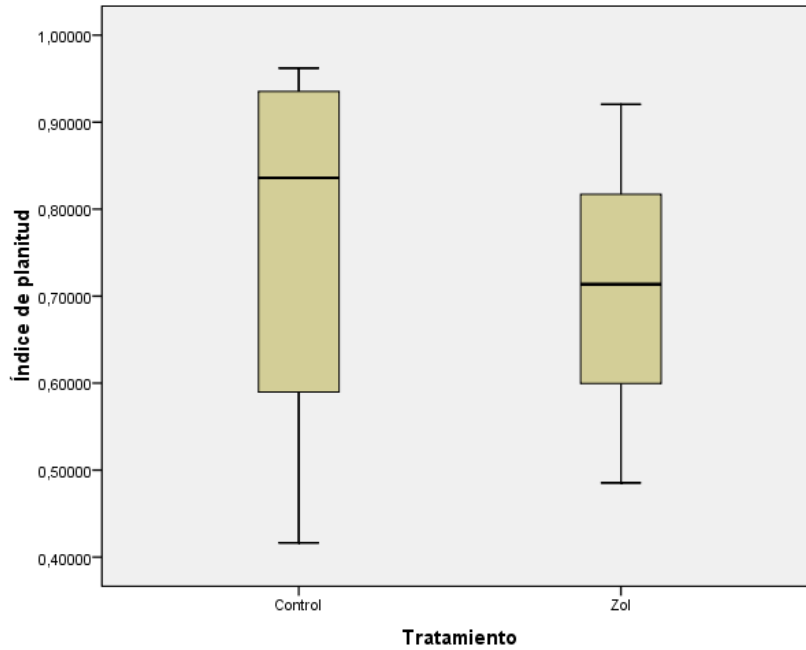


Figura 26. Gráfica de cajas y arbotantes de la variable índice de planitud.

Tras realizar un análisis de la varianza (ANOVA) de un factor (Tabla 15), tomando como variables dependientes los parámetros biomecánicos a flexión, índice de área, índice de rigidez e índice de planitud, y como variable independiente el factor tratamiento, no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los 2 grupos para los parámetros biomecánicos obtenidos de los ensayos de flexión realizados. Este hecho indica que el comportamiento a flexión de los callos de fractura del grupo tratado con zoledronato no difiere significativamente del grupo control.

		ANOVA				
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Índice de rigidez	Inter-grupos	,010	1	,010	,302	,606
	Intra-grupos	,173	5	,035		
	Total	,183	6			
Índice de área	Inter-grupos	,001	1	,001	,008	,933
	Intra-grupos	,478	5	,096		
	Total	,479	6			
Índice de planitud	Inter-grupos	,005	1	,005	,098	,767
	Intra-grupos	,276	5	,055		
	Total	,281	6			

Tabla 15. ANOVA de un factor de los parámetros de flexión para la comparación entre los grupos control y zoledronato.

3.2.- Ensayos de torsión

El objetivo del ensayo de torsión es la obtención de información relacionada con las características resistivas del hueso en reparación bajo distintos tratamientos, ya que la fuerza aplicada alcanza el punto de rotura del hueso.

En la tabla 16 se muestran los valores obtenidos para los % de los parámetros de ensayos a torsión (tenacidad, rigidez torsional, par torsor), y en la tabla 17 el resumen de los descriptivos correspondientes a estos datos. Estos datos se expresan en % con respecto al valor del hueso contralateral sano del mismo animal.

RESULTADOS

	Par torsor(%)	Tenacidad (%)	Rigidez torsional (%)
Control 1 (89)	37,87	7,12	117,53
Control 2 (29)	33,73	19,86	70,7
Control 5 (17)	54,19	27,79	121,31
Control (70)	57,97	34,78	88,94
Zol. 1 (91)	35,4	4,88	288,48
Zol. 2 (51)	32,72	13,35	75,45
Zol. 3 (33)	17,66	4,99	66,57

Tabla 16. Valores de los parámetros del ensayo a torsión.

Descriptivos									
		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
% Par torsor	Control	4	45,94000	11,930247	5,965124	26,95631	64,92369	33,730	57,970
	Zol	3	28,59333	9,562894	5,521139	4,83779	52,34888	17,660	35,400
	Total	7	38,50571	13,697509	5,177172	25,83763	51,17380	17,660	57,970
% Tenacidad	Control	4	22,38750	11,863753	5,931876	3,50962	41,26538	7,120	34,780
	Zol	3	7,74000	4,858714	2,805180	-4,32971	19,80971	4,880	13,350
	Total	7	16,11000	11,812838	4,464833	5,18495	27,03505	4,880	34,780
% Rigidez torsional	Control	4	99,62000	24,094626	12,047313	61,28007	137,95993	70,700	121,310
	Zol	3	143,50000	125,634843	72,535311	-168,59425	455,59425	66,570	288,480
	Total	7	118,42571	78,113870	29,524268	46,18243	190,66899	66,570	288,480

Tabla 17. Tabla de descriptivos para las variables obtenidas mediante el ensayo de torsión para los huesos osteotomizados.

A continuación mostramos los diagramas de cajas para las variables de % del par torsor (figura 27), % de la tenacidad (figura 28) y % de la rigidez torsional (figura 29).

RESULTADOS

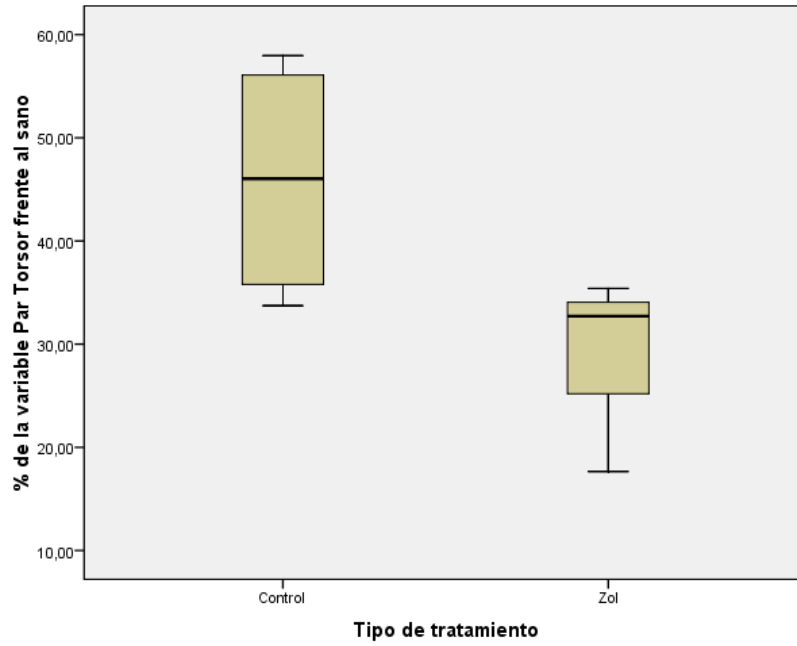


Figura 27. Diagrama de cajas de la variable % par torsor para los huesos osteotomizados.

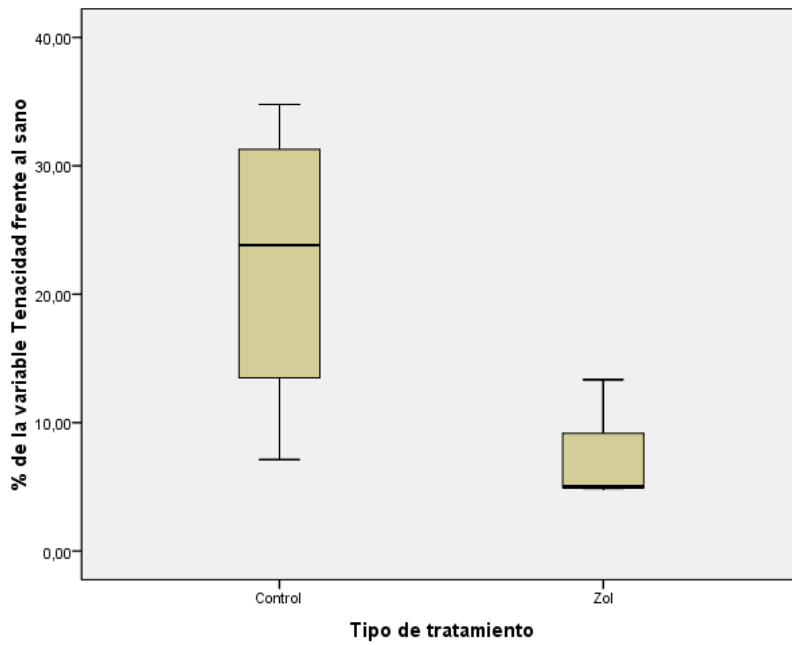


Figura 28. Diagrama de cajas de la variable % de tenacidad para los huesos osteotomizados.

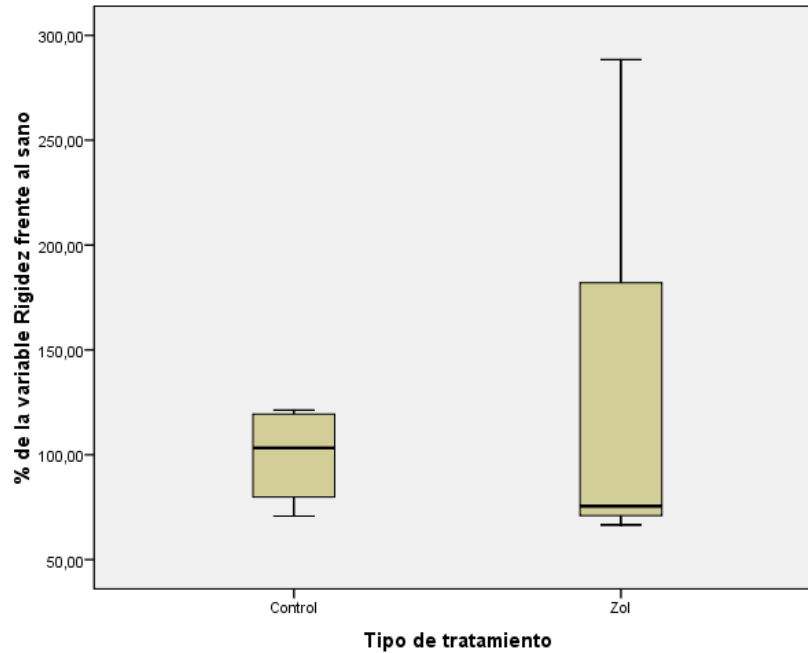


Figura 29. Diagrama de cajas de la variable % rigidez torsional para los huesos osteotomizados.

Para la variable de par torsor las diferencias entre el grupo control y el grupo zoledronato que parecen apreciarse no son estadísticamente significativas (figura 27). Para la variable de tenacidad, no hemos podido encontrar diferencias entre el control y el tratamiento con zoledronato (figura 28). En el análisis del diagrama de cajas para la rigidez torsional no observamos diferencias cualitativas, posiblemente debido a que los valores del grupo de zoledronato muestran gran dispersión (figura 29).

Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de un factor tomando como variables dependientes los % de los parámetros biomecánicos a torsión de tenacidad, par torsor y rigidez, y como variable independiente el factor tratamiento (tabla 18) y comprobamos que no había diferencias estadísticamente significativas.

RESULTADOS

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
% Par torsor	Inter-grupos	515,840	1	515,840	4,229	,095
	Intra-grupos	609,890	5	121,978		
	Total	1125,731	6			
% Tenacidad	Inter-grupos	367,799	1	367,799	3,917	,105
	Intra-grupos	469,460	5	93,892		
	Total	837,259	6			
% Rigidez torsional	Inter-grupos	3300,779	1	3300,779	,495	,513
	Intra-grupos	33309,881	5	6661,976		
	Total	36610,660	6			

Tabla 18. ANOVA de un factor de las variables de % de par torsor, tenacidad y rigidez para los huesos osteotomizados.

Hemos analizado también los resultados de los ensayos de torsión en las tibias contralaterales no operadas. En la tabla 19 se recogen los descriptivos para las variables obtenidas mediante el ensayo de torsión y en las figuras 30, 31 y 32 mostramos los diagramas de cajas para las variables de % del par torsor, % de la tenacidad y % de la rigidez torsional.

Descriptivos

		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
Par torsor	Sin tratamiento	4	40,75287	8,603660	4,301830	27,06252	54,44321	28,899	48,334
	Tratamiento ZOL	3	52,57772	8,944851	5,164312	30,35748	74,79796	43,604	61,493
	Total	7	45,82066	10,179990	3,847674	36,40574	55,23558	28,899	61,493
Tenacidad	Sin tratamiento	4	498,67345	182,479228	91,239614	208,30828	789,03862	255,304	683,963
	Tratamiento ZOL	3	474,86767	142,313432	82,164698	121,34150	828,39383	361,818	634,678
	Total	7	488,47097	153,500132	58,017597	346,50703	630,43492	255,304	683,963
Rigidez torsional	Sin tratamiento	4	2,30075	,714506	,357253	1,16381	3,43769	1,788	3,344
	Tratamiento ZOL	3	3,81935	2,129441	1,229433	-1,47047	9,10917	1,554	5,779
	Total	7	2,95158	1,557454	,588662	1,51117	4,39198	1,554	5,779

Tabla 19. Tabla de descriptivos para las variables obtenidas mediante el ensayo de torsión para los huesos no operados.

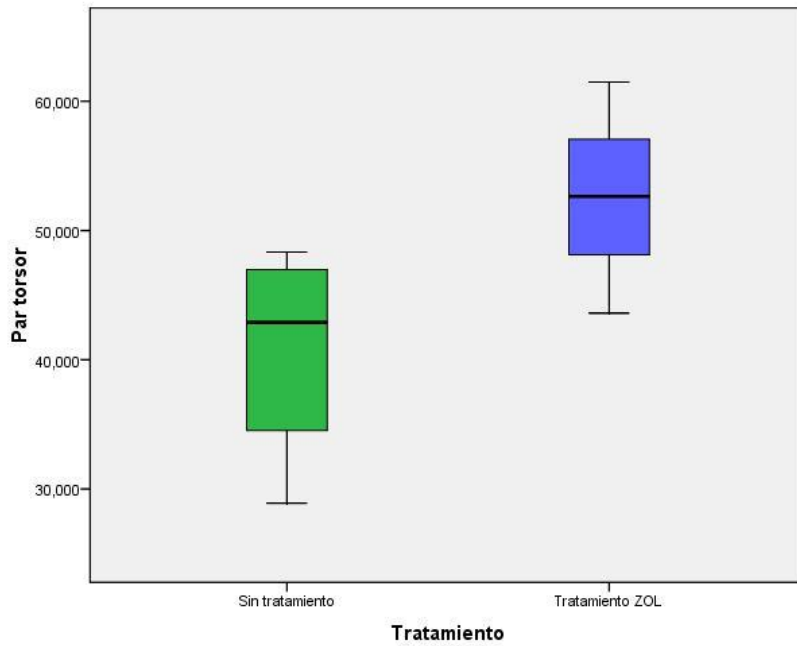


Figura 30. Diagrama de cajas de la variable % par torsor para los huesos no operados.

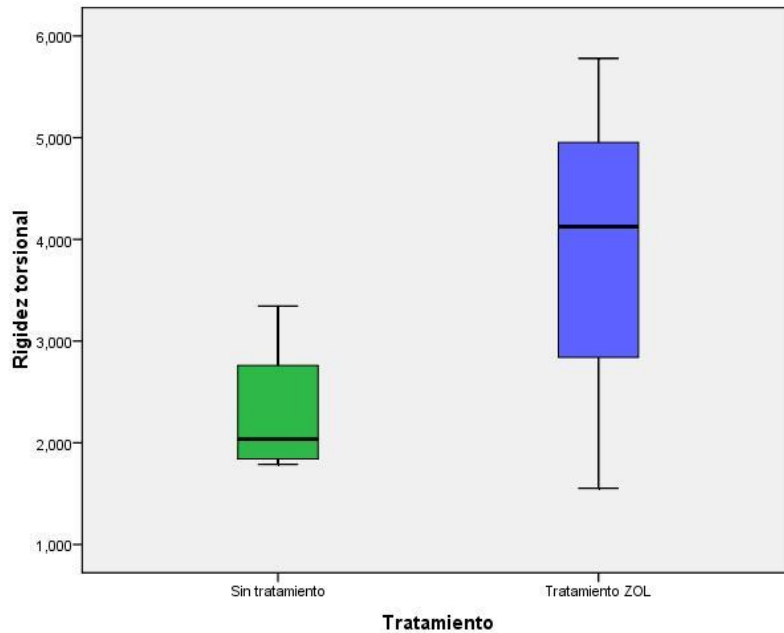


Figura 31. Diagrama de cajas de la variable % de tenacidad para los huesos no operados.

RESULTADOS

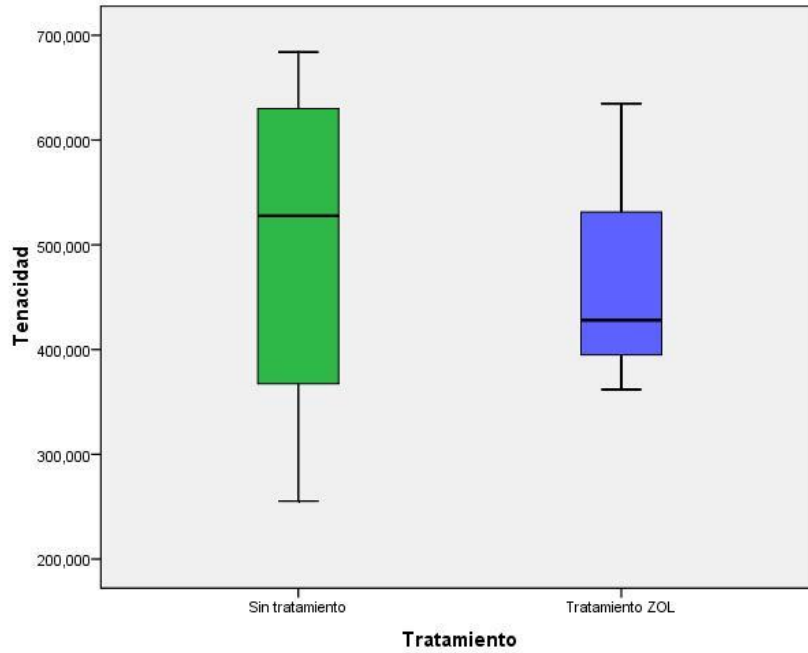


Figura 32. Diagrama de cajas de la variable % rigidez torsional para los huesos no operados.

En el análisis del diagrama de cajas podemos observar que no hay diferencias, estadísticamente significativas, entre el grupo control y el grupo ZOL para la variable de tenacidad (figura 31), rigidez torsional (figura 32) ni par torsor (figura 30).

Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de un factor tomando como variables dependientes los % de los parámetros biomecánicos a torsión de tenacidad, par torsor y rigidez, y como variable independiente el factor tratamiento (tabla 20) que confirmó los hallazgos descritos.

RESULTADOS

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Par torsor	Inter-grupos	239,704	1	239,704	3,137	,137
	Intra-grupos	382,090	5	76,418		
	Total	621,793	6			
Tenacidad	Inter-grupos	971,512	1	971,512	,035	,860
	Intra-grupos	140402,232	5	28080,446		
	Total	141373,744	6			
Rigidez torsional	Inter-grupos	3,953	1	3,953	1,865	,230
	Intra-grupos	10,601	5	2,120		
	Total	14,554	6			

Tabla 20. ANOVA de un factor de las variables de % de par torsor, tenacidad y rigidez torsional para los huesos no operados.

4.- RESULTADOS DE LOS ENSAYOS DENSITOMÉTRICOS

A continuación vamos a detallar los resultados obtenidos tras el análisis estadístico de los datos obtenidos para cada uno de los dos estudios densitométricos que se han realizado, el estudio para el callo completo y el estudio para la zona de fractura.

4.1.- Estudio densitométrico del callo completo

El objetivo del estudio ha sido analizar las variables volumen total del callo y densidad media del callo, entre los grupos control y ZOL, para de este modo evaluar el efecto global que posee el tratamiento con zoledronato para la osteoporosis en la reparación del callo de fracturas.

En la tabla 21 se presentan los resultados obtenidos para cada una de las variables consideradas. Hay que destacar que estas variables sólo han sido calculadas para los huesos con callo, no para los huesos contralaterales no operados. En la tabla 22 se presenta el cuadro resumen de los parámetros estadísticos descriptivos correspondientes a las variables densitométricas del callo completo.

RESULTADOS

	Volumen total del callo (Vtot31) en mm ³	Densidad media del callo (Dtot31) en HU	Densidad media del callo (Dtot31) en g/mm ³
CON 1 (89)	7154,537	1793,035	1,353
CON 2 (29)	11891,119	1595,139	1,203
CON 3 (54)	10195,311	1609,609	1,214
CON 5 (17)	10878,238	1716,493	1,295
CON 6 (87)	8269,303	1631,205	1,230
CON 7 (70)	11434,129	1788,743	1,350
ZOL 1 (91)	14745,175	1604,987	1,210
ZOL 2 (51)	16673,315	1526,551	1,151
ZOL 3 (33)	12693,410	1540,319	1,161
ZOL 4 (83)	13063,861	1613,259	1,217
ZOL 6 (98)	20464,371	1329,417	1,001

Tabla 21. Resultados obtenidos para las variables Volumen total del callo (Vtot31) y densidad media del callo (Dtot31).

Descriptivos

Volumen total del callo (31 Cortes)

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	6	9970,4396	1872,39087	764,40037	8005,4859	11935,3933	7154,54	11891,12
Zol	5	15528,0266	3178,01851	1421,25309	11581,9954	19474,0577	12693,41	20464,37
Total	11	12496,6155	3770,47873	1136,84211	9963,5734	15029,6576	7154,54	20464,37

Tabla 22. Tabla de descriptivos para las variables obtenidas en el estudio densitométrico del callo completo para los hueso osteotomizados.

A continuación, en las figuras 33 y 34, se muestran los diagramas de cajas obtenidos para cada una de las variables y tratamientos. Estas gráficas permiten estimar, de forma inicial, las posibles diferencias existentes entre ovejas sin tratar y ovejas tratadas con zoledronato.

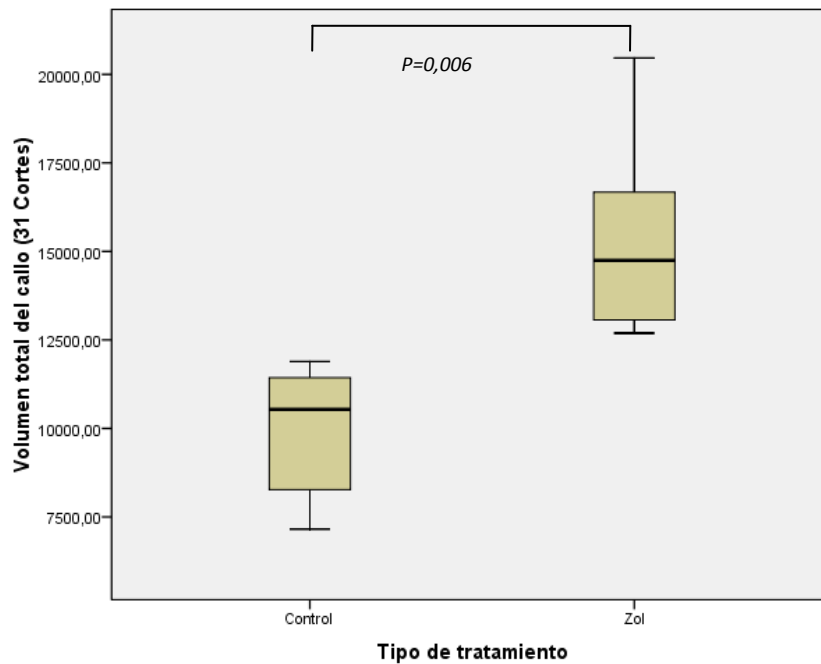


Figura 33. Diagramas de cajas para la variable volumen total del callo entre grupo control y grupo ZOL de los huesos osteotomizados.

De la figura 33, volumen total del callo en función del tratamiento, podemos indicar en una primera aproximación diferencias entre los volúmenes de callo de ovejas no tratadas y ovejas tratadas con zoledronato. Estas observaciones son comprobadas estadísticamente mediante el test de análisis de varianzas (ANOVA). Los resultados del test se resumen en la tabla 23. En ella se presentan los resultados del test ANOVA en el que se comprueba que existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos control y

ZOL ($p=0,006$), siendo los callos tratados con zoledronato de mayor volumen que los callos que no han recibido tratamiento.

ANOVA

Volumen total del callo (31 Cortes)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	8,424E7	1	8,424E7	13,087	,006
Intra-grupos	5,793E7	9	6436493,834		
Total	1,422E8	10			

Tabla 23. Tabla resumen de los test ANOVA para la variable volumen del callo obtenida para los dos grupos de estudio.

En el caso de la densidad media del callo, el diagrama de cajas (figura 34) muestra de nuevo posibles diferencias entre los grupos control y ZOL.

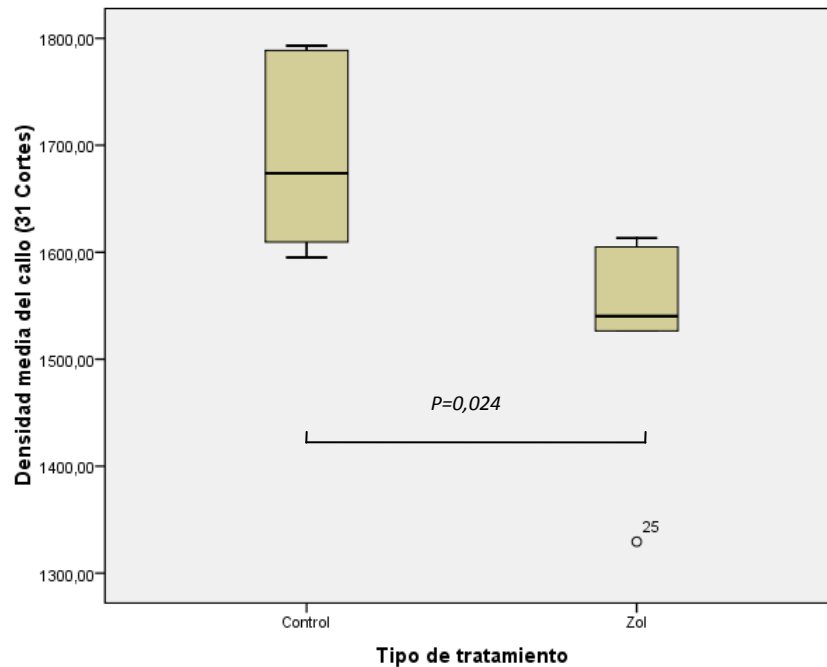


Figura 34. Diagramas de cajas para la variable densidad media del callo entre el grupo control y el grupo ZOL de los huesos osteotomizados.

RESULTADOS

El resultado del test ANOVA (tabla 24) señala diferencias estadísticamente significativas ($p=0,024$) entre los grupos control y ZOL.

ANOVA

Densidad media del callo (31 Cortes)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	75271,126	1	75271,126	7,313	,024
Intra-grupos	92636,358	9	10292,929		
Total	167907,484	10			

Tabla 24. Tabla resumen de los test ANOVA para la variable densidad media del callo obtenida para los dos grupos de estudio.

De estos resultados se deduce que el grupo tratado con zoledronato da lugar a callos de mayor volumen total pero de menor densidad mineral ósea media.

Igual que en el análisis de las pruebas biomecánicas de flexión y torsión, también hemos analizados los datos densitométricos de los huesos no operados del grupo control y del grupo ZOL. En la tabla 25 se presenta el cuadro resumen de los parámetros estadísticos descriptivos correspondientes a la variable volumen total del hueso en la zona de osteotomía y en la figura 35 el diagrama de cajas correspondiente.

RESULTADOS

Descriptivos

Volumen de hueso (mm3)

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	7	476,356086	51,2430595	19,3680560	428,964160	523,748011	412,2289	546,9386
Zol	6	484,344267	22,5047742	9,1875356	460,726955	507,961579	459,1220	514,9660
Total	13	480,042938	39,2572604	10,8880050	456,320013	503,765863	412,2289	546,9386

Tabla 25. Tabla de descriptivos para la variable Volumen de hueso en la zona de osteotomía calculada para dos cortes. Comparación entre los huesos no operados del grupo control y del zoledronato.

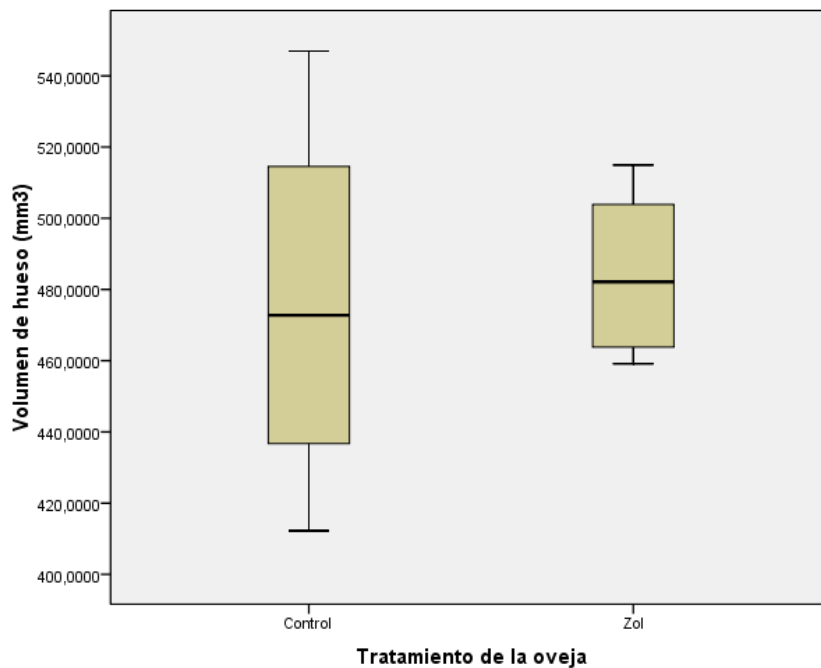


Figura 35. Diagramas de cajas obtenido para la variable volumen total de la zona de osteotomía calculada para dos cortes entre grupo control y grupo ZOL de los huesos no operados.

El resultado del test ANOVA (tabla 26) no señala diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el ZOL para la variable volumen de hueso total.

RESULTADOS

ANOVA

Volumen de hueso (mm3)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	206,159	1	206,159	,124	,731
Intra-grupos	18287,431	11	1662,494		
Total	18493,590	12			

Tabla 26. Test de ANOVA correspondiente a la comparación entre los valores obtenidos para la variable Volumen de hueso calculada para dos cortes de los huesos no operados del grupo control y del grupo zoledronato.

En la tabla 27 se presenta el cuadro resumen de los parámetros estadísticos descriptivos correspondientes a la variable densidad media total del hueso en la zona de osteotomía y en la figura 36 el diagrama de cajas correspondiente.

Descriptivos

Densidad media (HU)

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	7	1926,496471	131,1475186	49,5691027	1805,205246	2047,787696	1703,1106	2099,9441
Zol	6	1934,692717	56,6504346	23,1274431	1875,241732	1994,143702	1856,3180	1999,4160
Total	13	1930,279354	99,7753420	27,6727009	1869,985718	1990,572990	1703,1106	2099,9441

Tabla 27. Tabla de descriptivos para la variable Densidad media del hueso en la zona de osteotomía calculada para dos cortes. Comparación entre los huesos no operados del grupo control y del zoledronato.

RESULTADOS

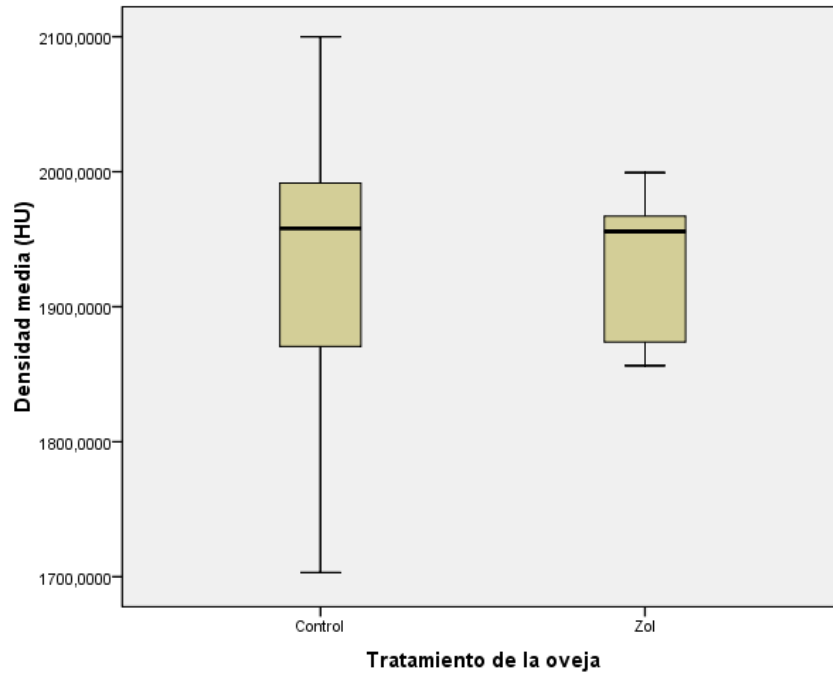


Figura 36. Diagramas de cajas obtenido para la variable densidad media de la zona de osteotomía calculada para dos cortes entre grupo control y grupo ZOL de los huesos no operados.

El resultado del test ANOVA (tabla 28) tampoco señala diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el ZOL para la variable densidad media de hueso total.

ANOVA

Densidad media (HU)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	217,038	1	217,038	,020	,890
Intra-grupos	119244,388	11	10840,399		
Total	119461,426	12			

Tabla 28. Test de ANOVA correspondiente a la comparación entre los valores obtenidos para la variable Volumen de hueso calculada para dos cortes de los huesos sanos del grupo control y del grupo zoledronato.

4.2.- Estudio densitométrico de la zona de fractura

Tal y como se ha comentado en el apartado de Material y Métodos, las variables que se han tenido en cuenta para realizar el estudio densitométrico de la zona de fractura han sido de dos tipos:

- Volumen: corresponden a los volúmenes de tejido óseo total y a los volúmenes para cada una de las isodensidades en la zona de fractura (Vhuesot, Vhueso1, Vhueso2, Vhueso3 y Vhueso4).
- Densidad media total del tejido óseo (Dmt) y las densidades medias para cada una de las isodensidades en la zona de fractura. (Dm1, Dm2, Dm3 y Dm4).

Dado que en cada una de las muestras de callo se ha considerado un número de cortes axiales distinto (entre 1 y 3 cortes axiales), las variables de volumen han tenido que ser transformadas para normalizar todos los volúmenes. A continuación se detallan las variables resultantes de la normalización y la forma de cálculo de las mismas:

- PorVol1 -> % del volumen de la Isodensidad 1 frente al total del hueso en la zona del espacio de fractura. (V_{hueso1}/V_{huesot}).
- PorVol2 -> % del volumen de la Isodensidad 2 frente al total del hueso en la zona del espacio de fractura. (V_{hueso2}/V_{huesot}).
- PorVol3 -> % del volumen de la Isodensidad 3 frente al total del hueso en la zona del espacio de fractura. (V_{hueso3}/V_{huesot}).
- PorVol4 -> % del volumen de la Isodensidad 4 frente al total del hueso en la zona del espacio de fractura. (V_{hueso4}/V_{huesot}).

Estas 4 variables nos permiten realizar un estudio más profundo acerca de la distribución de las densidades en la zona de fractura, es decir conocer cuánto volumen de hueso hay en la zona de fractura para cada una de las isodensidades consideradas en el estudio respecto al volumen total.

En las figuras 37, 38, 39, 40 y 41 se representan los diagramas de cajas para cada una de las isodensidades del estudio.

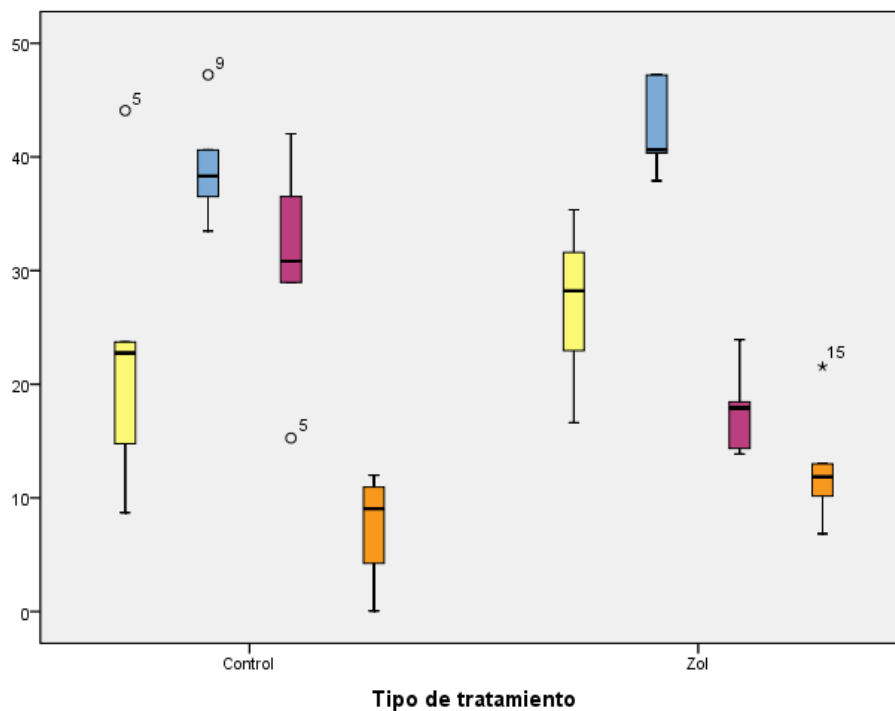


Figura 37. Diagrama de cajas agrupado para la variable % del volumen de la isodensidad frente al total del hueso en la zona del espacio de fractura. En amarillo la isodensidad 1, en azul la isodensidad 2, en morado la isodensidad 3 y en naranja la isodensidad 4.

RESULTADOS

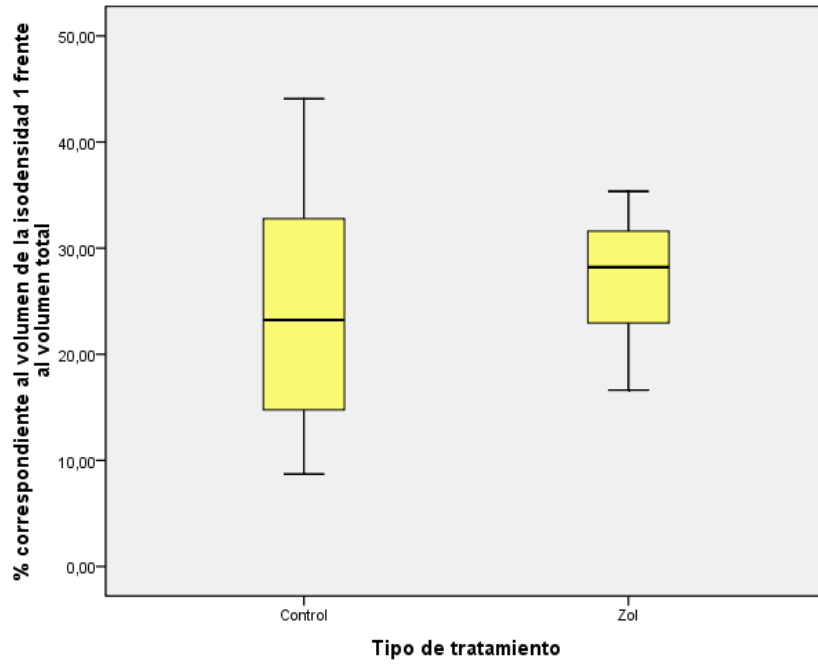


Figura 38. Diagrama de cajas para la variable % del volumen de la Isodensidad 1 frente al total del hueso en la zona del espacio de fractura.

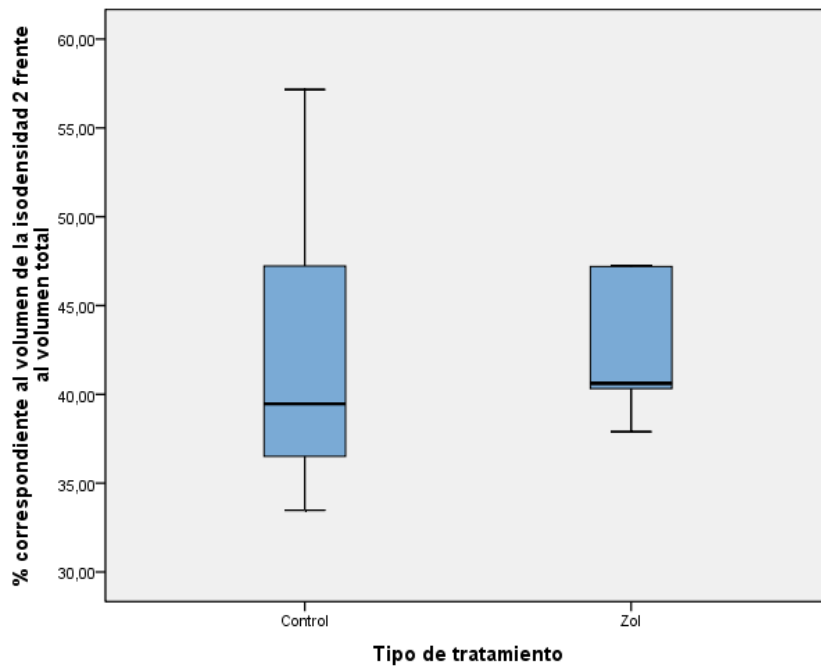


Figura 39. Diagrama de cajas para la variable % del volumen de la Isodensidad 2 frente al total del hueso en la zona del espacio de fractura.

RESULTADOS

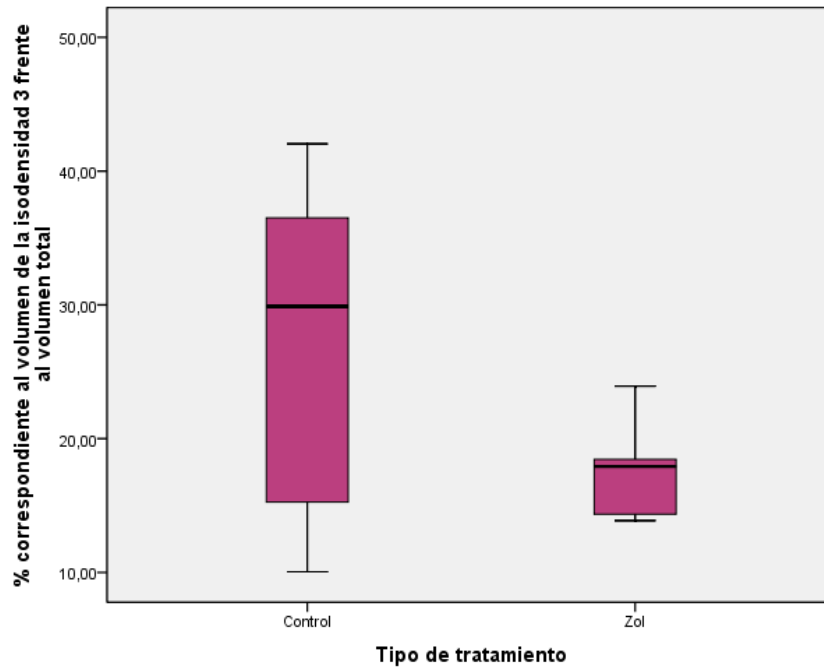


Figura 40. Diagrama de cajas para la variable % del volumen de la Isodensidad 3 frente al total del hueso en la zona del espacio de fractura.

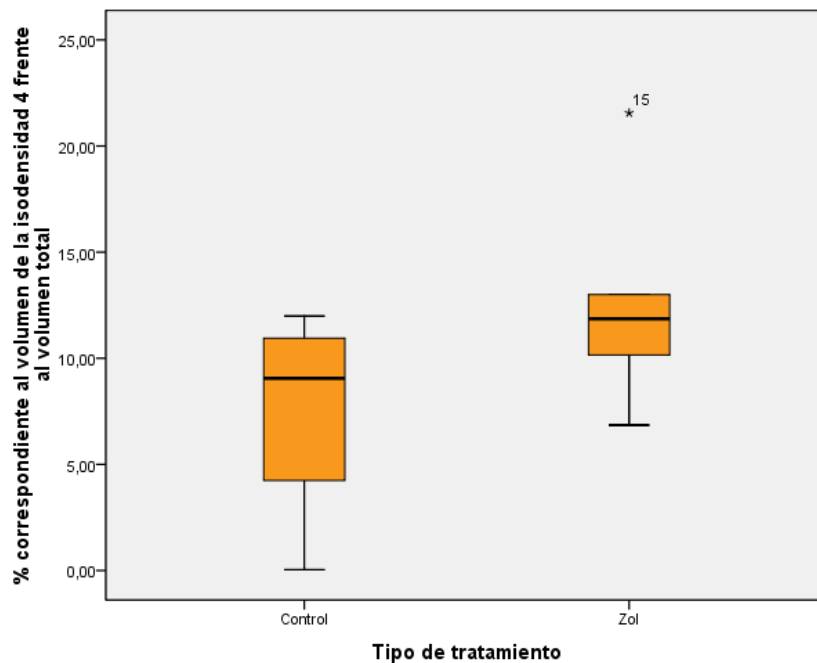


Figura 41. Diagrama de cajas para la variable % del volumen de la Isodensidad 4 frente al total del hueso en la zona del espacio de fractura.

RESULTADOS

En las tablas 29, 30, 31 y 32 se presentan las tablas de resumen de descriptivos correspondientes al % de volumen regenerado en cada una de las isodensidades consideradas en el estudio.

Descriptivos

% correspondiente al volumen de la isodensidad 1 frente al volumen total

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	6	,2447	,12647	,05163	,1119	,3774	,09	,44
Zol	5	,2695	,07354	,03289	,1782	,3608	,17	,35
Total	11	,2559	,10163	,03064	,1877	,3242	,09	,44

Tabla 29. Resumen de descriptivos para la variable % de volumen regenerado de la isodensidad 1 para los dos grupos de estudio.

Descriptivos

% correspondiente al volumen de la isodensidad 2 frente al volumen total

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	6	,4221	,08666	,03538	,3312	,5131	,33	,57
Zol	5	,4266	,04304	,01925	,3732	,4801	,38	,47
Total	11	,4242	,06709	,02023	,3791	,4693	,33	,57

Tabla 30. Resumen de descriptivos para la variable % de volumen regenerado de la isodensidad 2 para los dos grupos de estudio.

Descriptivos

% correspondiente al volumen de la isodensidad 3 frente al volumen total

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	6	,2727	,12324	,05031	,1434	,4021	,10	,42
Zol	5	,1771	,04035	,01805	,1270	,2272	,14	,24
Total	11	,2292	,10364	,03125	,1596	,2989	,10	,42

Tabla 31. Resumen de descriptivos para la variable % de volumen regenerado de la isodensidad 3 para los dos grupos de estudio.

RESULTADOS

Descriptivos

% correspondiente al volumen de la isodensidad 4 frente al volumen total

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	5	,0725	,05010	,02241	,0103	,1348	,00	,12
Zol	5	,1268	,05477	,02450	,0588	,1949	,07	,22
Total	10	,0997	,05717	,01808	,0588	,1406	,00	,22

Tabla 32. Resumen de descriptivos para la variable % de volumen regenerado de la isodensidad 4 para los dos grupos de estudio.

Cabe destacar que, en la zona de fractura, el tejido más abundante (alrededor de un 40% del total de volumen) en todos los casos es el que se corresponde con la isodensidad 2 (azul), la cual comprende un rango de densidades medio-bajas (desde 877 HU hasta 1527 HU). El menor volumen en los dos grupos se observa en el caso de la mayor DMO (isodensidad 4). Estos datos nos indica el grado de maduración del callo en el momento del sacrificio del animal.

Los test estadísticos realizados (tablas 33, 34, 35 y 36) no muestran diferencias estadísticamente significativas entre los porcentajes de volúmenes generados con cada uno de los grupos y en las isodensidades consideradas, por lo que no podemos afirmar que el tratamiento influya de forma considerable en la distribución del volumen por densidades en la zona del callo de fractura.

RESULTADOS

ANOVA

% correspondiente al volumen de la isodensidad 1 frente al volumen total

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,002	1	,002	,149	,709
Intra-grupos	,102	9	,011		
Total	,103	10			

Tabla 33. Test de ANOVA para la variable % de volumen regenerado en la isodensidad 1 obtenido para la comparación de los grupos control y zoledronato.

ANOVA

% correspondiente al volumen de la isodensidad 2 frente al volumen total

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,000	1	,000	,011	,919
Intra-grupos	,045	9	,005		
Total	,045	10			

Tabla 34. Test de ANOVA para la variable % de volumen regenerado en la isodensidad 2 obtenido para la comparación de los grupos control y zoledronato.

ANOVA

% correspondiente al volumen de la isodensidad 3 frente al volumen total

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,025	1	,025	2,725	,133
Intra-grupos	,082	9	,009		
Total	,107	10			

Tabla 35. Test de ANOVA para la variable % de volumen regenerado en la isodensidad 3 obtenido para la comparación de los grupos control y zoledronato.

RESULTADOS

ANOVA

% correspondiente al volumen de la isodensidad 4 frente al volumen total

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,007	1	,007	2,675	,141
Intra-grupos	,022	8	,003		
Total	,029	9			

Tabla 36. Test de ANOVA para la variable % de volumen regenerado en la isodensidad 4 obtenido para la comparación de los grupos control y zoledronato.

En la figura 42 se representa el diagrama de cajas agrupado para la variable densidad media para cada una de las isodensidades consideradas en el estudio y para cada uno de los grupos. En las figuras 43, 44, 45, 46 y 47 se representan los diagramas de cajas para cada una de las isodensidades comparando los dos grupos considerados.

RESULTADOS

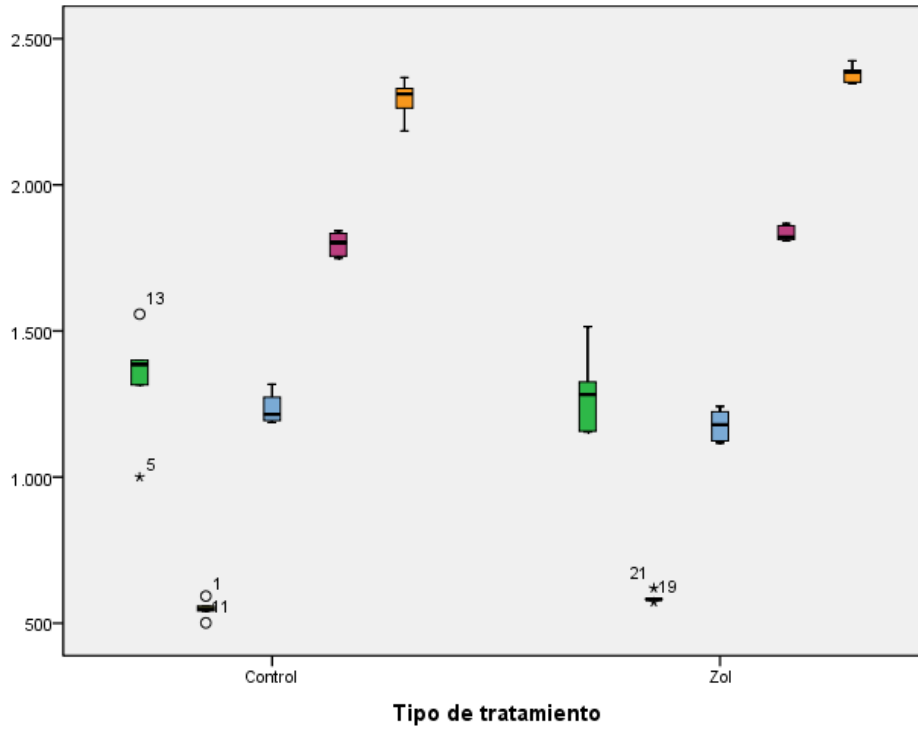


Figura 42. Diagrama de caixas agrupades per la variable densitat mitjana per cada isodensitat. En amarillo la isodensitat 1, en azul la isodensitat 2, en morado la isodensitat 3 y en naranja la isodensitat 4.

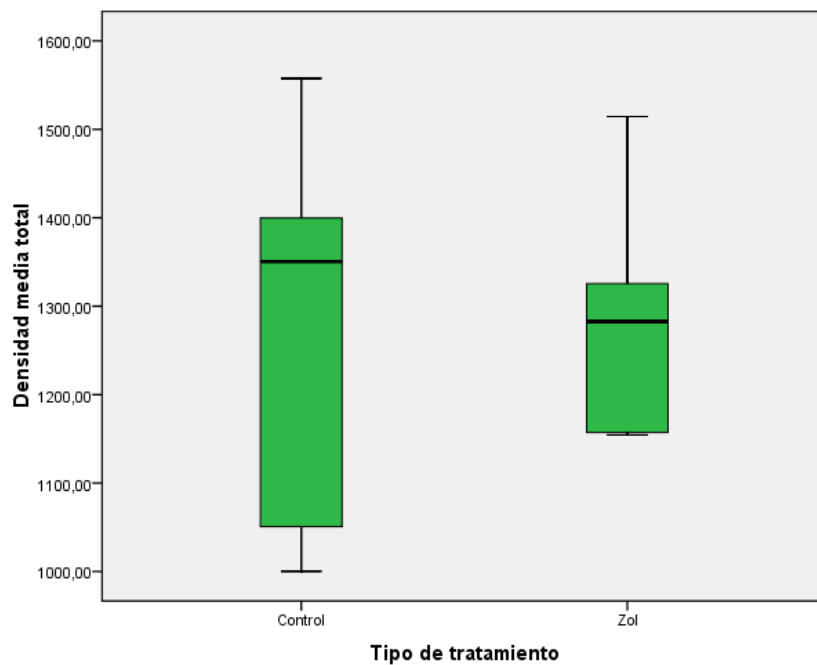


Figura 43. Diagrama de caixes per la variable densitat mitjana en la zona de fractura.

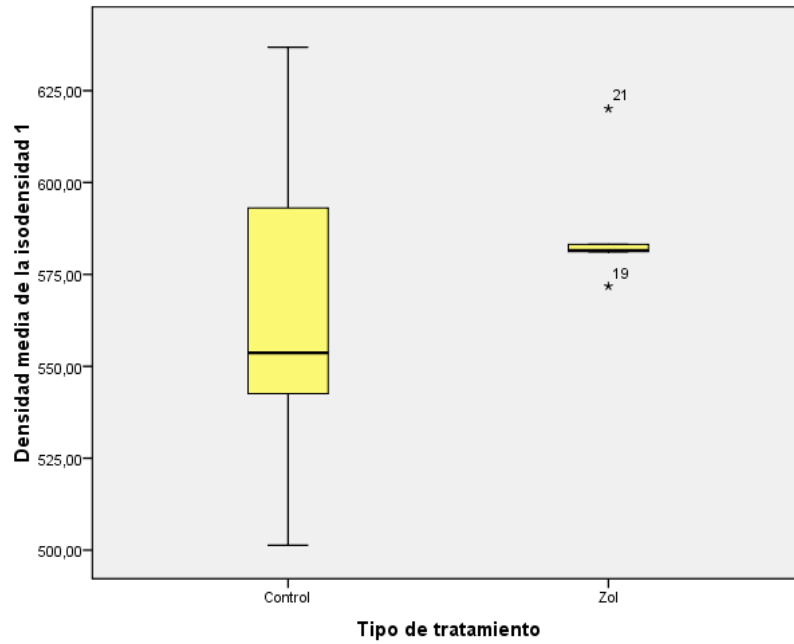


Figura 44. Diagrama de cajas para la variable densidad media correspondiente a la isodensidad 1.

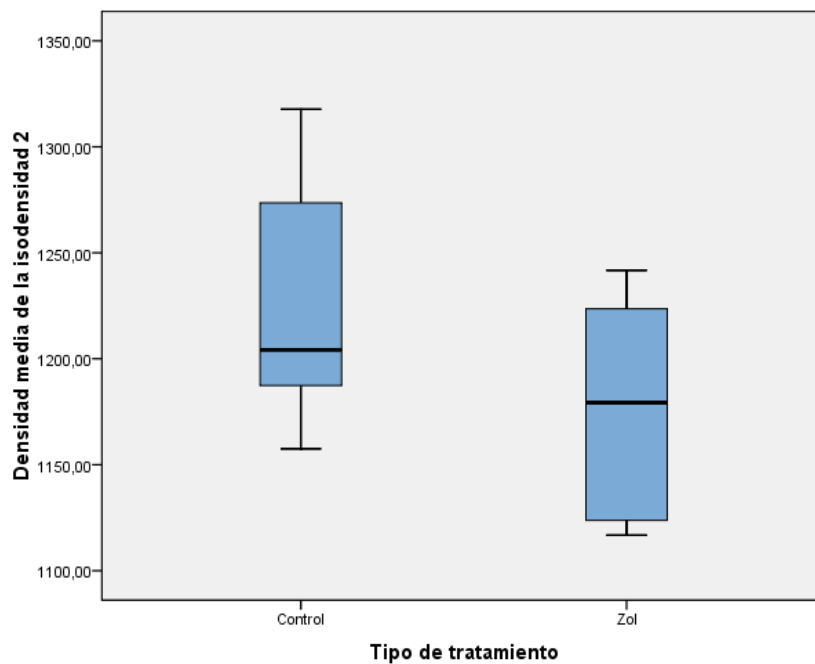


Figura 45. Diagrama de cajas para la variable densidad media correspondiente a la isodensidad 2.

RESULTADOS

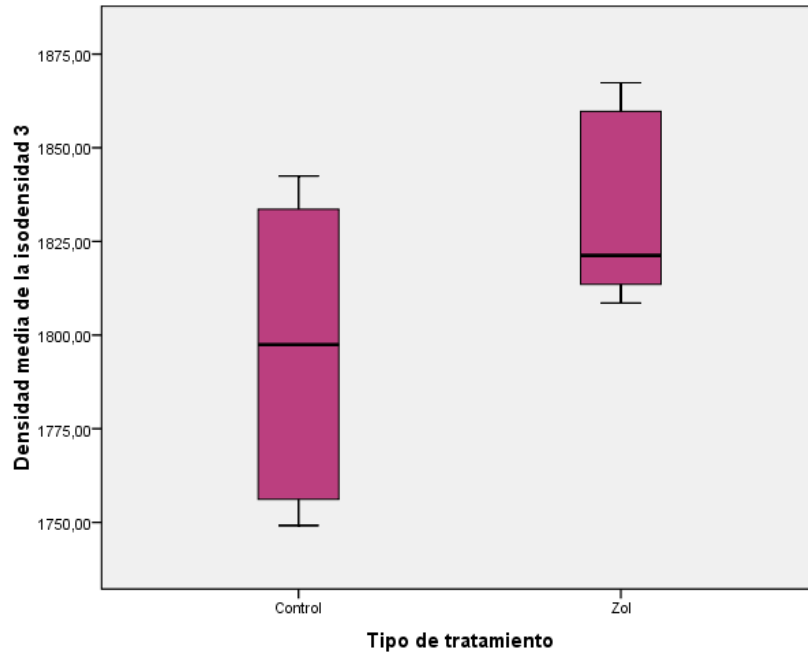


Figura 46. Diagrama de cajas para la variable densidad media correspondiente a la isodensidad 3.

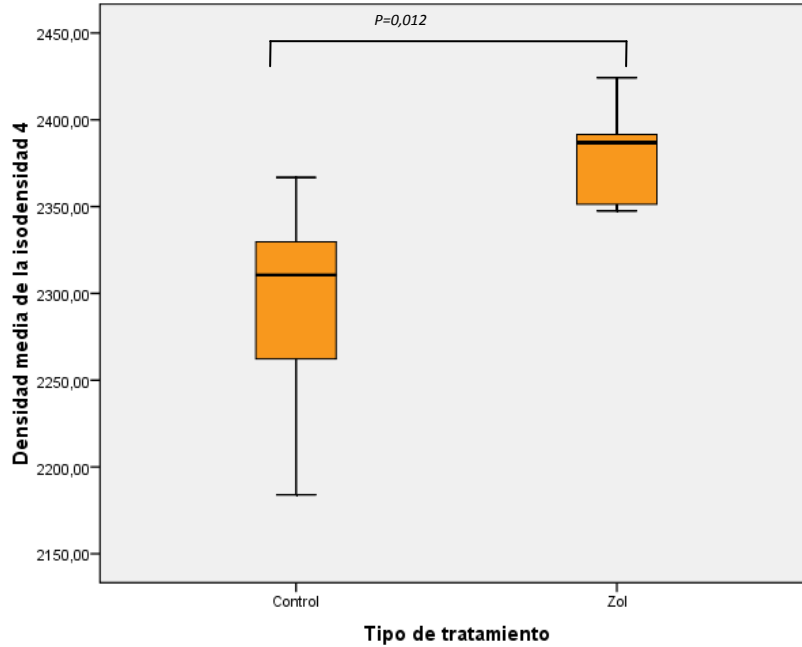


Figura 47. Diagrama de cajas para la variable densidad media correspondiente a la isodensidad 4.

RESULTADOS

En las tablas 37, 38, 39 y 40 se presentan las tablas resumen de los descriptivos.

Descriptivos

Densidad media de la isodensidad 1

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	6	563,5216	46,47607	18,97378	514,7479	612,2952	501,32	636,80
Zol	5	587,5628	18,73241	8,37739	564,3035	610,8222	571,79	620,10
Total	11	574,4494	37,12150	11,19255	549,5109	599,3880	501,32	636,80

Tabla 37. Resumen de descriptivos para la variable densidad media de la isodensidad 1 para los dos grupos de estudio.

Descriptivos

Densidad media de la isodensidad 2

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	6	1224,0791	60,02362	24,50454	1161,0882	1287,0701	1157,50	1317,75
Zol	5	1177,0013	56,62551	25,32370	1106,6915	1247,3112	1116,77	1241,67
Total	11	1202,6801	60,73260	18,31157	1161,8794	1243,4808	1116,77	1317,75

Tabla 38. Resumen de descriptivos para la variable densidad media de la isodensidad 2 para los dos grupos de estudio.

Descriptivos

Densidad media de la isodensidad 3

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	6	1796,0599	38,49413	15,71516	1755,6628	1836,4570	1749,19	1842,46
Zol	5	1834,0820	27,38688	12,24778	1800,0767	1868,0873	1808,58	1867,34
Total	11	1813,3427	37,88393	11,42244	1787,8919	1838,7935	1749,19	1867,34

Tabla 39. Resumen de descriptivos para la variable densidad media de la isodensidad 3 para los dos grupos de estudio.

RESULTADOS

Descriptivos

Densidad media de la isodensidad 4

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	5	2290,6777	70,54857	31,55028	2203,0801	2378,2753	2184,00	2366,83
Zol	5	2380,3271	31,68973	14,17208	2340,9791	2419,6751	2347,56	2424,27
Total	10	2335,5024	69,93480	22,11533	2285,4741	2385,5308	2184,00	2424,27

Tabla 40. Resumen de descriptivos para la variable densidad media de la isodensidad 4 para los dos grupos de estudio.

A simple vista no puede determinarse si existen diferencias entre las densidades medias para cada uno de los tratamientos y para cada una de las isodensidades consideradas. Sin embargo, en los test de ANOVA (tablas 41, 42, 43 y 44), sí que se observan diferencias estadísticamente significativas entre los valores de densidad media en el rango de densidades comprendidas en la isodensidad 4, zona de densidad más elevada.

ANOVA

Densidad media de la isodensidad 1

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1576,317	1	1576,317	1,163	,309
Intra-grupos	12203,738	9	1355,971		
Total	13780,055	10			

Tabla 41. Test de ANOVA para la variable densidad media de la isodensidad 1 obtenido para la comparación de los grupos control y zoledronato.

RESULTADOS

ANOVA

Densidad media de la isodensidad 2

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	6044,510	1	6044,510	1,764	,217
Intra-grupos	30839,971	9	3426,663		
Total	36884,482	10			

Tabla 42. Test de ANOVA para la variable densidad media de la isodensidad 2 obtenido para la comparación de los grupos control y zoledronato.

ANOVA

Densidad media de la isodensidad 3

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3942,768	1	3942,768	3,409	,098
Intra-grupos	10409,156	9	1156,573		
Total	14351,924	10			

Tabla 43. Test de ANOVA para la variable densidad media de la isodensidad 3 obtenido para la comparación de los grupos control y zoledronato.

ANOVA

Densidad media de la isodensidad 4

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	20092,528	1	20092,528	6,718	,032
Intra-grupos	23925,357	8	2990,670		
Total	44017,886	9			

Tabla 44. Test de ANOVA para la variable densidad media de la isodensidad 4 obtenido para la comparación de los grupos control y zoledronato.

5.- ESTUDIOS DE CORRELACIÓN

Se ha intentado realizar el análisis de correlación entre las variables mecánicas y densitométricas mediante el método de Pearson. El objetivo principal era encontrar relaciones entre parejas de variables densitométricas y mecánicas que puedan explicar de forma coherente los resultados obtenidos para cada una de las muestras

Las variables consideradas en el análisis fueron las siguientes:

- Volumen total del tejido óseo en la zona de estudio.
- Densidad media del tejido en la zona de estudio.
- Par torsor máximo.
- Energía absorbida o tenacidad.
- Rigidez torsional.

Debido al bajo número de muestras considerado para el estudio se desestimó la inclusión de los resultados obtenidos puesto que no revelan ninguna información de interés, pudiendo conducir incluso a errores en la interpretación de los datos.

DISCUSIÓN

Durante la consolidación de las fracturas, los osteoclastos juegan un importante papel en la osificación endocondral y en la remodelación de hueso inmaduro a hueso maduro⁵². Los bifosfonatos inhiben la actividad osteoclástica y su uso continuo a largo plazo además inhibe la diferenciación de los osteoclastos. El efecto inhibitorio se produce directamente en los osteoclastos y también mediado por otras células, especialmente osteoblastos⁵⁹. Por lo tanto el proceso de consolidación ósea, sobre todo el proceso de remodelación ósea, puede verse interferido si se está recibiendo un tratamiento con bifosfonatos.

Existe una preocupación entre los profesionales que utilizan estos fármacos sobre su efecto en la consolidación de las fracturas, pues si bien sus efectos en el hueso osteoporótico han sido extensamente estudiados, los trabajos sobre su efecto en la reparación de las fracturas son escasos, con gran variabilidad en cuanto al animal de experimentación utilizado, modelo de fractura, tipo de bifosfonato, dosis, vía de administración y métodos de medición de resultados^{60,75}.

Aunque se ha publicado numerosos estudios en animales demostrando la interacción entre los fármacos utilizados para el tratamiento de la osteoporosis y diferentes aspectos de la consolidación ósea⁵¹, es difícil definir hasta qué punto estos hallazgos pueden ser extrapolados a los humanos debido a las limitaciones que sabemos tienen los modelos animales^{12,75,175}.

En 2001 Fleish⁶⁰ publicó un editorial sobre la seguridad de administrar bifosfonatos tras una fractura osteoporótica y concluye que no se han realizado

estudios específicos en humanos sobre lo que es aconsejable en cuanto a la administración de estos fármacos en pacientes con fracturas recientes. Sin embargo, a pesar del gran número de pacientes que están recibiendo este tratamiento, muchos de ellos con fracturas recientes en estudios aleatorizados o en experiencia postmarketing, no hay datos que sugieran que la administración de bifosfonatos, por lo menos en las dosis utilizadas para el tratamiento de la osteoporosis, pueda interferir clínicamente en la consolidación de las fracturas⁶⁰.

No hay evidencia en estudios preclínicos que demuestren que los fármacos anti-catabólicos perjudiquen la restauración de la integridad mecánica, independientemente de cuándo se administren o de su mecanismo de acción, excepto el hecho de que pueden retrasar la consolidación ósea⁷⁵. Algunos autores recomiendan que el tratamiento para prevenir nuevas fracturas osteoporóticas debe iniciarse antes de finalizar el seguimiento de la primera fractura para asegurar la cumplimentación⁷⁵.

En estudios experimentales se ha demostrado que durante el tiempo que el callo de fractura está produciendo hueso hay un aumento de la captación de zoledronato y pamidronato en el sitio de la fractura⁷. Por ello han surgido dudas respecto al momento idóneo de administración del fármaco tras la fractura por la posible pérdida de eficacia sistémica. Si esto fuera cierto, lo ideal sería administrar la dosis intravenosa nada más producirse la fractura o cuando ya se haya producido la mayor parte de la mineralización del callo óseo. En los bifosfonatos que se administran por vía oral con dosis más frecuente hay

menor probabilidad de que se produzca este fenómeno. Pero no existe evidencia de que esto sea realmente así⁷⁵.

Desde distintos foros como la Sociedad Internacional de la Reparación Ósea (ISFR) se incentiva la investigación en este campo para poder obtener conclusiones más realistas sobre este tema⁷⁵. Si bien parece demostrado por los trabajos experimentales que los callos de fractura en modelos experimentales animales que se producen bajo la administración de BF son más grandes^{5-9,16,30,33,61,78,84,85,94,109,120,123-125,131,135,141,145,147,148,172,173,182,213}, sus consecuencias en la clínica humana son más difíciles de extrapolar.

Nosotros hemos querido investigar en este campo utilizando animales de experimentación con un sistema óseo parecido al humano, en condiciones similares, mediante un modelo osteoporótico con un modelo de fijación de la fractura mediante fijación externa que permite una consolidación secundaria y utilizando ensayos biomecánicos y análisis densitométricos que nos permitirá un mayor acercamiento a la realidad clínica.

• ***Animal de experimentación***

Para la elección de un animal como modelo de experimentación para el estudio de la osteoporosis necesitamos un animal vivo en el que se pueda estudiar la pérdida ósea debida a la deficiencia hormonal ovárica de forma espontánea o adquirida y en el que las características de esta pérdida ósea y sus secuelas sean lo más parecidas posibles a las de la menopausia en las

mujeres¹⁸⁹. Nosotros hemos elegido las ovejas como modelo experimental de la consolidación de fracturas osteoporóticas.

Aunque la mayoría de los trabajos experimentales publicados sobre la influencia de los BF en la consolidación de las fracturas se han realizado en ratas como animal de experimentación hay que tener en cuenta que este modelo de consolidación de fracturas tiene como principal limitación el hecho de que la consolidación que se produce es principalmente membranosa y ésta se correlaciona débilmente con el proceso de consolidación endocondral que se produce en los humanos^{12,30,51,175,209}. A pesar de ello, las ratas proporcionan un modelo de fractura que también permite el estudio mediante biología molecular, además se pueden utilizar gran número de animales y la consolidación es potencialmente más rápida¹⁷⁵.

La oveja como modelo de experimentación en osteoporosis ha sido ampliamente estudiada^{127,169,189,219}. Es un modelo adecuado para estudiar la osteoporosis por varias razones:

- la pérdida ósea producida por la deficiencia de estrógenos está bien documentada⁹⁰,
- los perfiles hormonales de las ovejas son temporal y cuantitativamente parecidos a los de la mujer^{51,168, 219},
- la producción de osteocalcina por los osteoblastos ha sido claramente documentada en el modelo experimental de las ovejas¹⁶⁸,
- el tamaño de las ovejas permite reproducir un modelo de fractura adecuado para estudiar la consolidación ósea^{51,168},

- las ovejas son dóciles y relativamente fáciles de manejar y permiten su estabulación en grupos de 2 ó más animales sin producirles estrés^{214,220}.

La osteoporosis primaria en ovejas es poco frecuente. En edades adultas el factor limitante de la supervivencia es la salud dental. La pérdida dental conduce a la inanición y muerte de estos animales. La osteoporosis se puede conseguir mediante la ovariectomía de estos animales. Se ha demostrado que la pérdida ósea en las ovejas tras ovariectomía, medicación esteroidea y dieta pobre en calcio y vitamina D es comparable a la osteoporosis humana con respecto a los cambios en la densitometría, estructura y fuerza ósea^{126,127}.

Hay estudios que demuestran la disminución de la densidad ósea en la cresta iliaca en ovejas ovariectomizadas^{90,168}. Hornby estudia la densidad mineral ósea (DMO) mediante mediciones con un densitómetro óseo del cuerpo entero en ovejas ovariectomizadas y en ovejas operadas sin ovariectomizar como control. Miden la DMO antes de la intervención quirúrgica y en diferentes semanas hasta 113 después de la intervención quirúrgica. La DMO del cuerpo entero de las ovejas ovariectomizadas se redujo significativamente en comparación con las ovejas ovariectomizadas a partir de la semana 15 tras la cirugía y se mantuvo hasta el final del estudio. Además estos autores demuestran que el tratamiento con estradiol previene la pérdida ósea en las ovejas ovariectomizadas⁹⁰.

Turner demuestra un aumento de las fosfatasas alcalinas específicas del hueso en ovejas a los 6 meses de la ovariectomía, indicando un aumento del

recambio óseo, similar a lo que ocurre en la menopausia humana. También miden la densidad mineral ósea en las vértebras lumbares observando una disminución de la misma en las ovejas ovariectomizadas²¹⁹.

Newton defiende la validez de la oveja como modelo de estudio de la osteoporosis al demostrar mediante biopsias de cresta iliaca la disminución del volumen y del grosor de las trabéculas óseas al año de la ovariectomía. También demuestran el aumento de la osteocalcina como reflejo del aumento de la reabsorción ósea¹⁶⁹.

Jiang analiza mediante densitometría ósea, pruebas biomecánicas y Resonancia Magnética la microestructura del hueso trabecular del cuello femoral en ovejas ovariectomizadas. A los 6 meses de la ovariectomía las ovejas presentaban una disminución de la densidad mineral ósea, una disminución de la resistencia biomecánica y un deterioro de la microestructura del hueso trabecular del cuello femoral con respecto al grupo control. En el grupo de ovejas ovariectomizadas que fueron tratadas con calcitonina no se produjeron estos cambios en el hueso trabecular femoral⁷¹.

Además el tamaño de las ovejas también es importante pues permite reproducir un modelo de experimentación de fractura ósea como es la osteotomía tibial estabilizada mediante un fijador externo^{34,76,86,201,228}.

Los animales grandes, como la oveja, son más adecuados para el estudio de pruebas biomecánicas ya que su tamaño facilita la cirugía y los análisis biomecánicos^{12,51,175}.

Un inconveniente de utilizar las ovejas como animal de experimentación es el coste en comparación con los animales más pequeños lo que obliga a utilizar menos animales y hay que tener en cuenta que son animales rumiantes y por lo tanto no se les puede administrar medicación oral y deben estar en ayunas de al menos 24 horas antes de proceder a cualquier procedimiento quirúrgico¹⁷⁵.

No existe una evidencia clara sobre si las complicaciones que se producen durante la consolidación de una fractura osteoporótica es atribuible a problemas de fijación del material de osteosíntesis en el hueso osteoporótico o si es debido al posible retraso de la consolidación en pacientes ancianos. En modelos de fractura en animales, la consolidación ósea requiere mayor tiempo en los animales de mayor edad^{127,153}. Existen pruebas contradictorias respecto a si la ovariectomía supone un impedimento adicional a la consolidación. Algunos estudios en animales demuestran una consolidación deficiente, sobre todo en las fases iniciales^{154,162} mientras que otros estudios no detectan esta característica¹⁵⁰. Las diferencias en cuanto a la fecha de la ovariectomía, edad de los animales y factores dietéticos hacen las comparaciones y conclusiones difíciles de interpretar⁷⁵.

Sólo hemos encontrado un trabajo en ratas osteopénicas²¹³ que hacen una neurectomía del ciático y en el que se observa que la fractura en estas ratas consigue sólo un 54% de resistencia mecánica en comparación con la contralateral sana las 8 semanas mientras que la fractura en hueso normal alcanza un 91% de la resistencia de la contralateral en el mismo periodo.

Además a las 12 semanas la fractura de la rata osteopénica no está completamente consolidada.

También se ha realizado un estudio con ratas osteoporóticas mediante ovariectomía en fracturas de tibia cerradas¹⁴⁷. Estos autores realizan un grupo con ratas no ovariectomizadas y otro con ratas ovariectomizadas sin zoledronato, con zoledronato a dosis de 0,1 mg/kg subcutáneo 2 semanas antes y 2 semanas después de la fractura u otro con la misma dosis sólo 2 semanas después de la fractura. Los animales se sacrificaron a las 3 y a las 6 semanas. La consolidación ósea a las 6 semanas en las ratas ovariectomizadas sin tratamiento con zoledronato fue del 63%. Con el zoledronato antes y después de la fractura fue sólo del 44%, mientras que en el grupo ZOL sólo tras la fractura fue del 89%. El índice de consolidación ósea en el grupo de las ratas no ovariectomizadas fue del 90-100%. En las ratas ovariectomizadas tratadas con zoledronato antes y/o después de la fractura se produjo un aumento del 12% en la DMO y del 16% del volumen del callo en comparación con las ratas sin tratamiento a las 3 semanas. Sin embargo a las 6 semanas estos cambios habían desaparecido. Este estudio demuestra que la consolidación de las fracturas puede estar retardada en las ratas ovariectomizadas en comparación con las no ovariectomizadas. El tratamiento con zoledronato antes y después de la fractura se asocia a un retraso en la consolidación de la fractura en comparación con cuando el zoledronato se administra sólo tras la fractura¹⁴⁷.

• Modelo experimental de fractura

Para el modelo de fractura hemos elegido un sistema no rígido que dé lugar a una consolidación secundaria ya que la mayoría de los tratamientos actuales de las fracturas en pacientes osteoporóticos buscan la consolidación ósea por segunda intención formando un callo óseo externo⁷⁵.

El modelo que hemos utilizado nosotros de osteotomía tibial estabilizada mediante un fijador externo es el modelo de fractura experimental más establecido para el estudio de la consolidación ósea en animales grandes^{12,24} y ha sido utilizado también por numerosos autores^{24,34,76-78,80,86,105,118,201,228}.

Goodship utilizó este modelo de fractura experimental en la tibia de ovejas en el año 1985 para estudiar la influencia de la carga mecánica sobre la consolidación de las fracturas, para ello en un grupo de ovejas aplicó un fijador externo de elevada rigidez, realizó la osteotomía y dejó un espacio interfragmentario de 3 mm. En el otro grupo de ovejas, el fijador externo era periódicamente desbloqueado y se aplicaba una determinada carga axial a la fractura, demostrando que esto era beneficioso para la consolidación de la fractura⁷⁶. Posteriormente, Goodship *et al.*, han continuado estudiando este tema publicando otros trabajos sobre el efecto del entorno mecánico en la consolidación de fracturas, utilizando este mismo modelo experimental^{77,78,80,105,118}.

Hantes también utiliza este modelo de fractura del tercio medio de la diáfisis de la tibia en ovejas para estudiar el efecto de la aplicación transósea de ultrasonidos de baja intensidad en el sitio de la fractura, mediante un transductor colocado en el extremo de un tornillo colocado 1 cm proximal a la

osteotomía, demostrando que estos aceleran el proceso de consolidación ósea en este modelo experimental de fractura⁸⁶.

Estos autores y otros que han utilizado este modelo de fractura han experimentado en ovejas no osteoporóticas. Nosotros hemos utilizado el modelo en ovejas osteoporóticas, desarrollando por tanto, un nuevo modelo de fractura experimental válido para el estudio de la consolidación ósea de fracturas osteoporóticas. Por el momento no tenemos constancia de que se haya utilizado este mismo modelo en otras publicaciones.

En este modelo experimental de fractura, la distancia entre los extremos de la osteotomía debe ser de 3 mm, porque en ausencia de éste y con un adecuado contacto y aposición de los fragmentos, la fractura puede consolidar demasiado rápido, evitando de esta manera el poder evaluar la influencia de cualquier fármaco^{12,24,76-78,80,105,118,175}.

En humanos se tarda de 1 a 4 años en completar el remplazo del callo de fractura en hueso maduro funcionalmente competente⁶⁷ y 32 semanas para completar la remodelación del callo de fractura en la diáfisis de la tibia de perros¹²⁵. En las ratas la unión radiográfica se consigue a las 4 semanas¹²⁵. En las ovejas el tiempo de consolidación en el modelo de fractura en tibia estabilizada con un fijador externo y con un gap de 3 mm ha sido estudiado por varios autores demostrando que la consolidación biomecánica, radiológica e histológica se consigue a las 9 semanas^{107,200,201}. En la semana 6 el callo adquiere sus dimensiones máximas y desde la semana 6 a la 9 se produce el proceso de remodelación del callo óseo²⁰¹. Estos plazos han sido estudiados en ovejas normales no osteoporóticas.

Nosotros hemos elegido las 8 semanas como tiempo de sacrificio para poder observar si los bifosfonatos producen alteraciones en el proceso de remodelación del callo óseo, teniendo en cuenta que el hecho de que las ovejas sean osteoporóticas puede enlentecer el proceso de consolidación de las fracturas.

Al realizar el estudio densitométrico de la zona de fractura tanto de los huesos del grupo CON como del ZOL (figura 37), observamos que el tejido más abundante era el correspondiente a la isodensidad 2 (azul) que comprende un rango de densidades medio-bajas y el menos abundante era el correspondiente a la isodensidad 4 (naranja) que comprende las densidades más elevadas. Es decir, que en el callo de fractura, en el momento que hemos sacrificado a nuestros animales, está formado por una gran cantidad de tejido poco denso y muy poco tejido de elevada densidad lo que equivale a una fase de consolidación de la fractura en la que predomina el hueso inmaduro y sólo una pequeña parte de él se ha transformado ya en hueso maduro denso. Estos hallazgos confirman que el momento que hemos elegido para estudiar los callos de fractura, al sacrificar a las ovejas a las 8 semanas, es un buen momento para analizar la repercusión del zoledronato en la fase de remodelación del callo.

• ***Elección del bifosfonato***

Los bifosfonatos producen importantes cambios en el hueso gracias a su efecto de inhibición de la reabsorción ósea mediada por osteoclastos y, por ello, se han convertido en el fármaco de elección para el tratamiento de la

osteoporosis y para la prevención de nuevas fracturas osteoporóticas. En los últimos años se están intentando encontrar regímenes terapéuticos para el tratamiento de la osteoporosis que impliquen intervalos mayores entre dosis y dosis para aumentar la cumplimentación del tratamiento. Aunque al principio la dosis de BF era oral y diaria, ésta se ha estandarizado a semanal o incluso mensual, pero aún así el grado de cumplimentación es bajo por lo que se buscan nuevos regímenes terapéuticos como el caso de la administración intravenosa de zoledronato en una única dosis^{8,21,148, 187}.

El zoledronato es el bifosfonato más potente utilizado actualmente en la clínica y sus efectos en la consolidación de fracturas pueden demostrar el papel de este grupo de fármacos durante la reparación de las fracturas mejor que cualquier otro¹⁴¹. Este es el motivo principal por el cual ha sido el fármaco elegido.

Hemos administrado, a nuestro modelos experimental de fractura osteoporótica, una dosis de 0,1 mg/kg en una sola inyección subcutánea. Esta dosis es comparable a la utilizada en los ensayos para el tratamiento de la osteoporosis^{8,187} y es la misma que utilizan otros autores para el estudio del efecto del zoledronato en la consolidación de la fracturas^{7,8,130,148,207}.

Little recomienda la administración del zoledronato a las 2 semanas tras la fractura porque así consigue aumentar el volumen óseo y la resistencia en los modelos experimentales que utiliza en ratas¹³¹. Estos autores lo explican como que es posible que el esperar a que comience la consolidación ósea, la dosis que realmente llega al callo de fractura puede verse aumentada porque aumenta la disponibilidad de las localizaciones donde se une el mineral. Por

otra parte, además, el retraso puede haber permitido que la respuesta anabólica se haya acelerado antes de la administración del zoledronato^{7,8}.

• **Medición de resultados**

En los trabajos experimentales sobre la consolidación ósea se utilizan distintos métodos de valoración como son las mediciones radiográficas, la histomorfometría, la medición de la densidad mineral, la medición de marcadores analíticos, los ensayos mecánicos y recientemente la microtomografía computerizada. De todos estos métodos, las investigaciones mecánicas son probablemente los mejores medios disponibles para valorar el efecto de una droga en el foco de fractura ya que la resistencia mecánica depende de muchos factores como la masa ósea, la arquitectura tridimensional, la calidad ósea, incluyendo la composición química, el tamaño del cristal, forma y cristalinidad, la composición química y estructura de la matriz, especialmente del colágeno, la viabilidad osteocítica y el recambio. Ninguno de los métodos citados anteriormente mide todos estos parámetros. Por ello la medición de la resistencia del callo parece que es la medida más fiable del callo de fractura ya que proporciona un dato sobre el comportamiento global del tejido en ereparación^{8,59-61,120,123,125,182,218}.

El empleo de ensayos mecánicos en el estudio de la evolución del proceso de consolidación de fracturas proporciona un método para la obtención de información objetiva de forma cuantitativa. Tanto en la práctica clínica como a nivel experimental se han empleado ensayos mecánicos *in vivo* para realizar seguimientos de la evolución del callo de fractura, obteniendo valiosa

información no sólo para caracterizar el proceso, sino lo que es más interesante para ayudar en la decisión del momento de retirada del sistema de fijación. Experimentalmente se emplean también ensayos *in vitro* realizados sobre especímenes anatómicos que, aunque no permiten el estudio de la evolución hasta llegar al estadio de reparación en el que se encuentran, proporcionan una información más real eliminando la variabilidad debida a parámetros no controlados en los ensayos *in vivo*, relacionados principalmente con la interposición de las partes blandas y el tono muscular.

Nosotros hemos realizado dos tipos de ensayos mecánicos:

- flexión a 4 puntos (no destructivo)
- torsión (destructivo)

Como ya se ha comentado en el epígrafe de Material y Métodos el ensayo de flexión a cuatro puntos se ha utilizado en muchos estudios para evaluar las características mecánicas de huesos largos^{2,22,43,97,155}. Su principal ventaja respecto al ensayo de flexión a tres puntos es que la carga no se aplica directamente sobre el hueso consiguiéndose un momento de flexión uniforme a lo largo de toda la muestra²¹⁵. Además al realizar las mediciones en 12 planos diferentes podemos evaluar la rigidez en distintos planos ya que al haber fijado la fractura con un sistema de fijación externa pueden aparecer diferencias en los valores de rigidez obtenidos, tal y como se ha confirmado en nuestras observaciones.

Posteriormente sobre las mismas muestras también hemos utilizado un ensayo de torsión destructivo que nos permite obtener información sobre la resistencia del callo de fractura ya que la fuerza aplicada alcanza el punto de

rotura del hueso. Este ensayo de torsión destructivo es un método estandarizado y también ha sido empleado por otros autores^{36,53,68,76,92,107,133,139,180,181,232}. Este tipo de ensayo también permite calcular los parámetros de **rigidez** y **tenacidad**.

A partir de las imágenes de TAC hemos realizado un estudio morfológico del callo en el que ya se observa que los callos del grupo ZOL fueron de mayor tamaño que los del grupo CON. Posteriormente estos hallazgos se han estudiado en profundidad analizando el callo en su totalidad, calculando el volumen y la densidad, y la zona de fractura dividiéndola en 4 zonas de densidad progresiva, midiendo el volumen y densidad media de cada una de ellas. Con ello podemos estudiar la distribución de las distintas densidades y evaluar si la composición del callo de fractura se ve alterada por el efecto del zoledronato.

Los trabajos publicados en la literatura sobre el efecto de los bifosfonatos en la consolidación de las fracturas son muy variables porque utilizan distintos bifosfonatos, a distintas dosis, con distintas formas de administración, en modelos experimentales de fracturas variados y también son distintos los métodos de medición.

Los autores que han estudiado un bifosfonato de primera generación (etidronato, tiludronato) como Flora, Lenehan y Chastagnier, observaron que se producía un retraso e incluso una inhibición de la consolidación de las fracturas producidas en perros, de forma dosis dependiente y de carácter reversible ya que las fracturas consolidaban al interrumpir el tratamiento^{33,61,120}. Esto es explicable por la gran capacidad de inhibición de la mineralización que tenían

estos bifosfonatos de primera generación, similar a la capacidad de inhibición de la reabsorción.

Los estudios posteriores se han realizado con bifosfonatos de segunda generación o aminobifosfonatos, con gran capacidad de inhibición de la reabsorción pero que prácticamente no afectan a la mineralización ósea. El bifosfonato más estudiado ha sido el clodronato, utilizado principalmente en las hipercalcemias malignas, a distintas dosis en modelos de fractura experimental en ratas. La mayoría de autores no han encontrado alteraciones con el grupo control⁹⁴ o bien han encontrado un retraso en el proceso de consolidación con formación de callos más grandes también de forma dosis dependiente^{109,135,172,173,213}. En cuanto a las pruebas biomecánicas, aquellos que las han realizado no han encontrado diferencias significativas en comparación con el grupo control^{109,135,213}.

Otros autores han estudiado otros aminobifosfonatos más recientes como el icandronato¹²³⁻¹²⁵, alendronato^{30,182}, pamidronato⁷⁸ e ibandronato^{84,85}, obteniendo callos más grandes, de forma dosis dependiente por un retraso de la consolidación. Los autores que han realizado pruebas biomecánicas no han encontrado diferencias significativas respecto al grupo control¹⁸² o bien han observado un aumento de la resistencia de los callos de fractura de los animales tratados^{78,84,85}.

Estos estudios experimentales sugieren que los BF difieren mucho en sus efectos en el hueso, mineralización, reparación de las fracturas y resistencia mecánica. Por lo tanto es necesario investigar los efectos de cada BF individualmente en la consolidación de las fracturas¹²⁵.

En los estudios experimentales realizados en ratas sobre el efecto del zoledronato en la consolidación de las fracturas se ha encontrado un aumento significativo del tamaño, densidad mineral y resistencia del callo a las 6 semanas, tras la administración de una dosis única de 0,1 mg/kg a la semana de la cirugía¹⁴⁵.

Esta misma dosis única de 0,1 mg/kg a la semana de la cirugía se ha comparado con una dosis semanal de 0,02 mg/kg durante 5 semanas y se ha observado un mayor volumen, densidad mineral y resistencia del callo en los dos grupos respecto al grupo control a las 6 semanas tras la fractura y a nivel histológico una mayor retención de hueso inmaduro con respecto al grupo control que fue más evidente en el grupo de dosis semanal^{146,148}.

Al estudiar una dosis única de zoledronato de 0,1 mg/kg en distintos periodos tras la fractura se observó que independientemente de cuándo se administrara, a las 6 semanas hubo un aumento significativo del volumen, densidad mineral y resistencia del callo y este aumento fue mayor cuando la dosis se administraba a las 2 semanas tras la fractura^{7,8}.

Cuando estos estudios se realizaron en ratas osteoporóticas se observó que las fracturas tardaban más en consolidar que en las ratas no osteoporóticas y que el zoledronato producía un aumento del volumen y de la densidad mineral del callo a las 3 semanas pero estos cambios desaparecían a las 6 semanas¹⁴⁷.

Por último, los estudios de indentación que se han realizado para estudiar las propiedades intrínsecas del callo de fractura en ratas tratadas con

zoledronato han demostrado que una dosis única de zoledronato no las afecta de forma adversa⁹.

Los estudios realizados en conejos utilizando un modelo de fractura en la metáfisis proximal del peroné y utilizando una sola dosis de 0,04 mg/kg vía intraperitoneal han demostrado un aumento de la cantidad de volumen óseo trabecular y menor volumen de fibrosis en el callo tratado con zoledronato en comparación con el del grupo control, a las 2 y 4 semanas tras la fractura⁵.

Estos autores también estudian, con el mismo modelo experimental, el callo de fractura en distintos periodos y observan que los callos de fractura bajo el tratamiento con zoledronato tienen un área mayor con un contenido significativamente mayor de hueso inmaduro y trabecular, es decir, que se produce una estimulación de la formación ósea primaria y un enlentecimiento de la remodelación, produciendo una retención de hueso trabecular¹⁴¹.

En la tabla 45 se recogen los ensayos biomecánicos utilizados por los distintos autores y comprobamos como la mayoría de los trabajos publicados emplean ensayos en flexión a 3 puntos con las desventajas ya comentadas de subestimar el módulo de Young al aplicar la carga directamente^{104,218} y la falta de uniformidad del momento de flexión²¹⁵.

	ANIMAL	BF	ENSAYOS BIOMECÁNICOS	RESULTADOS
Nyman ¹⁷²	Ratas	Clodronato	No lo describen	No diferencias
Nyman ¹⁷³	Ratas	Clodronato	No	
Hyvönen ⁹⁴	Ratas	Clodronato	No	
Madsen ¹³⁵	Ratas	Clodronato	Flexión a 3 p	No diferencias significativas
Koivukangas ¹⁰⁹	Ratas	Clodronato	Compresión y tensión axial	No diferencias significativas
Tarvainen ²¹³	Ratas	Clodronato	Flexión a 3 p	No diferencias en la resistencia en las fracturas de

				ratas osteoporóticas pero menos en las no osteoporóticas.
Li ¹²³	Rata	incadronato	Flexión a 3 p	No diferencias en la carga mecánica máxima ni en la rigidez
Li ¹²⁴	Rata	Incadronato	No	
Li ¹²⁵	Rata	Incadronato	Flexión a 3 p	No diferencias estadísticas en la carga mecánica máx. ni en la rigidez
Cao ³⁰	Ratas	Alendronato	No	
Saito ¹⁹⁹	Ratas OP	Alendronato	Flexión a 3 p	Aumento de la resistencia y disminución del módulo de Young
Habermann ⁸⁵	Ratas	Ibandronato	Torsión	Aumento de la tenacidad y del par torsor..
Flora ⁶¹	Perros	Etidronato	No	
Lenehan ¹²⁰	Perros	Etidronato	Flexión a 4 p	Según dosis. A bajas dosis no diferencias pero a altas dosis la carga mecánica máxima y la rigidez están disminuidas.
Chastagnier ³³	Perros	Tiludronato Etidronato	Flexión a 4 p	No diferencias en la rigidez o resistencia
Peter ¹⁸²	Perros	Alendronato	Flexión a 4 p	No diferencias en la carga mecánica máxima o rigidez
Goodship ⁷⁸	Ovejas	Pamidronato	Torsión	No diferencias en la rigidez torsional. Par torsor máximo signif. Mayor.
Little ¹³¹	Ratas	zoledronato	Flexión a 3 p	Aumento de la rigidez del callo
McDonald ¹⁴⁵	Ratas	zoledronato	Flexión a 3 p	Aumento de la resistencia del callo
McDonald ¹⁴⁶	Ratas	zoledronato	Torsión	Aumento del par torsor a las 6 sem
Amanat ^{7,8}	Ratas	zoledronato	Torsión	Aumento del par torsor sobre todo cuando se administraba a las 2 sem tras la fractura

Tabla 45. Tabla en la que se recogen los estudios que han utilizado pruebas biomecánicas para la evaluación de resultados, especificando el tipo de ensayo y los resultados.

Lenehan, Peter y Chastagnier utilizan ensayos en flexión a 4 puntos en perros y bien no encuentran diferencias significativas o bien la carga mecánica máxima y la rigidez estaban disminuidas a altas dosis de etidronato que sabemos que es un BF de primera generación y que produce gran inhibición de

la mineralización, por lo cual es difícil establecer comparaciones con el zoledronato, cuya actividad inhibitoria de la mineralización es muy baja en comparación con su actividad inhibidora de la reabsorción ósea^{33,120,182}.

- ***Ensayos de flexión***

Los ensayos de flexión a cuatro puntos realizados en esta Tesis no muestran diferencias significativas en ninguno de los parámetros estudiados de índice de rigidez, índice de área e índice de planitud, entre el grupo control y el tratado con zoledronato tal y como se muestran en las figuras 24, 25 y 26. A raíz de estos datos cabría esperar que los callos tratados con zoledronato tengan un comportamiento mecánico de flexión similar a los del grupo control.

Al realizar el perfil polar de rigidez, en los huesos osteotomizados el grupo tratado con zoledronato muestra una elipse similar al hueso control excepto para los planos 30° y 120° en los que este grupo presenta una mayor rigidez (figura 22). Puede que este hecho esté relacionado con la configuración y zona de implantación del sistema de fijación externa utilizado para la osteosíntesis de la fractura que afecta a los huesos tratados con zoledronato pero no a los del grupo control. No hemos encontrado ningún trabajo sobre el efecto de los bifosfonatos en la consolidación de las fracturas que haya estudiado este parámetro.

En los huesos no operados al realizar el perfil polar de rigidez, hemos encontrado que la rigidez es ligeramente mayor en el grupo ZOL pero con una forma de la elipse similar en los dos grupos (figura 23). Los hallazgos del perfil polar de rigidez en los huesos no operados demuestran que el tratamiento con

zoledronato aumenta la rigidez ósea, demostrando que el zoledronato actúa sobre el hueso osteoporótico mejorando sus propiedades mecánicas de flexión.

Hornby estudia el efecto a largo plazo del zoledronato en fémures de ratas ovariectomizadas y tratadas con distintas dosis durante 52 semanas⁹¹. Tras realizar estudios de flexión a tres puntos observa que los fémures de las ratas tratadas con zoledronato mostraban un aumento de las propiedades mecánicas sin observar un aumento de la densidad mineral ósea. Estos autores resaltan que los cambios en las propiedades mecánicas se producen antes que las densitométricas.

Gasser también estudia el efecto a largo plazo del zoledronato (36 semanas) en fémures de ratas ovariectomizadas, mediante un ensayo mecánico de flexión a tres puntos y encuentra un aumento de al menos un 10% de la fuerza, resistencia y elasticidad con respecto al grupo control⁶⁹. Los autores del estudio atribuyen este aumento de las propiedades mecánicas al cambio del perfil de densidad mineral ósea que produce un aumento secundario de la mineralización como consecuencia de la disminución de la resorción ósea⁶⁹.

Nuestros hallazgos en los huesos sanos son menos evidentes, en cuanto al aumento de la rigidez, que en los dos trabajos citados anteriormente^{69,91} pero hay que tener en cuenta que nosotros sacrificamos a las ovejas a las 8 semanas y en cambio los dos trabajos citados son estudios a largo plazo, 36 y 52 semanas es ratas. Probablemente si sacrificáramos a las ovejas tras un periodo más largo los valores de rigidez aumentarían mucho más.

• Ensayos de torsión

En cuanto a los ensayos a torsión, nosotros no hemos encontrado diferencias significativas en ninguno de los tres parámetros, par torsor, tenacidad y rigidez torsional (figuras 27, 28 y 29).

Algunos autores también han utilizado ensayos a torsión como Haberman que estudia el efecto del ibandronato en la consolidación de fracturas en ratas y encuentra un aumento de la tenacidad y del par torsor en los callos tratados⁸⁵. Este autor no sabe si estos aumentos se corresponden al aumento del volumen o a un aumento de la calidad en la composición del callo.

Goodship también utiliza ensayos a torsión en callos de fractura de ovejas tratadas con pamidronato y no encuentra diferencias significativas en la rigidez torsional, pero el par torsor máximo fue significativamente mayor en las osteotomías del grupo tratado⁷⁸. Estos autores lo atribuyen al mayor volumen del callo más que por diferencias en las propiedades mecánicas.

Estos hallazgos difieren con los encontrados por nosotros, pero hay que tener en cuenta que nosotros sacrificamos a las ovejas a las 8 semanas y los autores anteriormente citados a las 12, con lo que el callo está más remodelado y por tanto esto podría explicar las diferencias encontradas^{78,85}. Además Goodship estudia ovejas no osteoporóticas, es posible, que en nuestras experiencias, la osteoporosis debilite más el callo de fractura de forma que el zoledronato no sea capaz de aumentar los parámetros de torsión⁷⁸.

En los trabajos realizados por el grupo de Little sobre el efecto del zoledronato en la consolidación de fracturas en ratas, se han utilizado ensayos a flexión en 3 puntos y de torsión con distintas dosis, con tiempos de

administración distintos y sacrificio de los animales en distintos periodos, pero en todos ellos han encontrado un aumento de las propiedades mecánicas del callo^{7,8,131,145,146,148}. La resistencia del callo aumentó un 30% con respecto al grupo control cuando el zoledronato se administraba en el momento de la fractura, un 44% cuando se administró una semana tras la fractura y un 50% a las dos semanas en comparación con el grupo control^{7,8}.

Nosotros no hemos podido demostrar estos hallazgos en nuestro trabajo con un animal de experimentación distinto, no hemos encontrado diferencias significativas en ninguno de los parámetros de torsión estudiados (figuras 27, 28 y 29) mostrando, por lo tanto, los callos tratados con zoledronato una resistencia equivalente a la de los del grupo control. También cabe destacar, como en los ensayos de flexión, que los trabajos anteriormente citados se han realizado en ratas no osteoporóticas^{7,8}. Aunque el grupo de Little también estudia el efecto del zoledronato en ratas osteoporóticas en su trabajo no realiza estudios biomecánicos sólo histomorfométricos¹⁴⁷.

Al analizar los efectos del zoledronato en los huesos no operados mediante ensayos de torsión, nosotros no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los parámetros de torsión estudiados (figuras 30, 31 y 32).

En las gráficas de perfil polar de rigidez encontrábamos un aumento de la rigidez (figura 23) y en la medición de áreas en las imágenes de TAC de la zona de osteotomía de las tibias no operadas (figura 21), observábamos un aumento estadísticamente significativo. Este efecto beneficioso del tratamiento con zoledronato en los huesos osteoporóticos no lo hemos podido confirmar con los estudios de torsión (figuras 30, 31 y 32) probablemente por el

corto periodo de actuación del zoledronato en estos huesos osteoporóticos ya que al sacrificar a las ovejas a las 8 semanas y al haber administrado el fármaco a las 2 semanas tras la fractura, el zoledronato sólo ha actuado durante 6 semanas.

• **Análisis densitométricos**

En nuestro trabajo, los resultados de los ensayos densitométricos del callo completo demuestran un mayor volumen de los callos del grupo zoledronato (figura 33) con una densidad media del callo ligeramente menor (figura 34). En los ensayos densitométricos de la zona de fractura no hay diferencias significativas en el volumen medio (figuras 38, 39, 40 y 41) ni en las densidades medias de las distintas isodensidades (figuras 43, 44, 45 y 46) excepto para la densidad media de la isodensidad 4 (figura 47), que es la zona de densidad máxima, siendo mayor en los callos del grupo ZOL.

Si analizamos los trabajos publicados sobre el efecto del zoledronato en la consolidación ósea vemos que el grupo de Almeida y Matos que utilizan el conejo como animal de experimentación no miden la densidad del callo^{5,141}. Respecto a los trabajos realizados en ratas, cuando se estudió el efecto del zoledronato en un defecto crítico del fémur y junto a la proteína osteogénica 1 se observó un aumento de la densidad media ósea del 45% a las 2 semanas y un 52% a las 5 semanas en comparación con el grupo control, pero a las 8 semanas ya no había diferencias. Seguramente este aumento de la densidad se debe al efecto anabolizante de la proteína osteogénica más que al efecto del zoledronato¹³¹.

Amanat no encuentra diferencias significativas en la densidad mineral del callo de las fracturas de fémur en ratas en sus distintos grupos de estudio: control, con zoledronato local en el lugar de la fractura, zoledronato intravenoso en el momento de la fractura, a la semana y a las 2 semanas. Este autor sacrifica a las ratas a las 6 semanas⁸. McDonald en el mismo modelo de fractura cerrada en fémur de rata y administrando una sola dosis intravenosa de zoledronato o dosis semanales, encuentra pequeños aumentos estadísticamente significativos al sacrificar a los animales a las 2 semanas, aumentos más pequeños a las 6 semanas y no encuentra diferencias a las 12 semanas¹⁴⁸. Hay que recordar de nuevo que estos animales no son osteoporóticos por lo que extraer conclusiones en comparación con nuestros resultados es difícil además del distinto periodo en el que se realiza el estudio del callo.

Nuestros análisis densitométricos revelan callos más grandes con una densidad menor en el grupo ZOL. Como en el caso de las distintas isodensidades no hay diferencias en cuanto al volumen o a la densidad media, esto lo podríamos interpretar como que el callo tiene una distribución parecida de tejido con respecto a su densidad, es decir que es más grande y con menor densidad pero con una distribución parecida. Estos hallazgos se confirman con los hallazgos histomorfométricos que describen otros autores, los cuales encuentran un enlentecimiento de la maduración del callo por retraso en la remodelación, con callos más grandes y con menor densidad pero sin interrupción de la consolidación^{30,33,78,109,123-125,158,172,173,182}.

De hecho algunos de estos autores han comprobado cómo tras interrumpir el tratamiento con el bifosfonato estudiado, la concentración del mismo disminuye y la remodelación del callo continúa alcanzando valores normales^{61,120,124,135,182}.

Li mide las concentraciones de icandronato en el callo de fractura y encuentran que éstas se correlacionan con la dosis y forma de administración¹²⁴. Las concentraciones del BF disminuían con el tiempo en los grupos en los que se interrumpía el tratamiento mientras que aumentaban en los grupos en los que se continuaba. Una razón de estos hallazgos puede ser que la liberación de icandronato por el hueso depende de la tasa de recambio óseo y el icandronato, como todos los BF, disminuye el recambio óseo. Esto puede explicar la disminución de la concentración de icandronato tras la interrupción del mismo cuando aumenta el recambio óseo. Por el contrario, la concentración aumentará tras la administración continua cuando el recambio óseo está disminuido. Como es sabido, el recambio óseo es mayor en el callo de fractura que en el hueso normal, lo que explicaría una disminución más rápida de la concentración en el área del callo, como se observa en este estudio. Otra posibilidad sería que el nuevo hueso formado se deposita sobre el hueso impregnado de icandronato y esto puede contribuir a la disminución de la concentración en los grupos en los que se interrumpe el tratamiento. Además, en comparación con el hueso normal, la superficie ósea es mayor en el callo lo que conduce a una mayor acumulación del fármaco lo que podría explicar las mayores concentraciones en el área del callo tras el tratamiento continuo que se observa en este estudio.

La remodelación del callo en ratas tratadas con icandronato antes de la fractura estaba retrasada a las 6 semanas pero se normalizaba a las 16 semanas en comparación con el grupo control¹²³. Cuando se estudió el callo a largo plazo (25 y 49 semanas), los estudios histomorfométricos y de resistencia mecánica del hueso fracturado no demostraron diferencias entre los grupos tratados y el grupo control¹²⁵. Estos hallazgos indican que el pre-tratamiento con icandronato sólo retrasó las primeras fases de la consolidación ósea y no afectó a la resistencia del hueso fracturado.

Peter demuestra que el pre-tratamiento con ALN a dosis de 2 mg/kg por día durante 9 semanas antes de la fractura en perros da lugar a un callo más grande pero no altera la resistencia mecánica del hueso fracturado¹⁸². Es más, Madsen encuentra que el pre-tratamiento con clodronato a dosis de 10mg/kg por día durante 4 semanas antes de la fractura no afecta ni a la remodelación del callo ni a las propiedades mecánicas del hueso fracturado 4 semanas después de la fractura¹³⁵. Estos estudios sugieren que el pre-tratamiento a corto plazo con bifosfonatos no altera de forma importante la consolidación ósea si el tratamiento se interrumpe cuando se produce la fractura.

Flora en su trabajo también observa que las fracturas que se producen de forma espontánea en los perros con dosis medias de etidronato consolidan normalmente, pero a altas dosis (diez y veinte veces la utilizada para el tratamiento de la enfermedad de Paget en humanos) no se produce la mineralización del callo de fractura, mientras los animales están en tratamiento. Sin embargo cuando se interrumpe el tratamiento, a los 2 meses los callos se mineralizan, por lo que los autores concluyen que las dosis altas de etidronato

no producen cambios permanentes en el esqueleto que puedan interferir con la consolidación de las fracturas⁶¹.

Lenehan observa que en el grupo de perros tratados a altas dosis de 5 mg/kg se produce una disrupción total de la actividad mineralizante del callo, sin evidencia de consolidación radiográfica y con una resistencia y rigidez mínimas, pero estos efectos son reversibles produciéndose una mineralización evidente del callo a las 3 semanas de interrumpir el tratamiento y con una consolidación completa a las 12 semanas. Por lo tanto este estudio demuestra que el etidronato en la consolidación de las fracturas produce efectos dosis dependientes y reversibles en el modelo de fractura utilizado en perros¹²⁰.

Si nos fijamos en los hallazgos densitométricos en los huesos sanos observamos que sí bien no hay diferencias significativas en cuanto al volumen total y densidad media de la zona de osteotomía entre el grupo control y ZOL, sí que se produce una menor dispersión de los datos, principalmente en el volumen total pero también en la densidad media del callo debido al efecto del zoledronato en el hueso osteoporótico. Esto junto a los hallazgos de los análisis mecánicos que nos muestran un aumento de los valores de rigidez a flexión en las gráficas de perfil polar de rigidez y el aumento del par torsor nos confirman el efecto beneficioso del zoledronato en los huesos no operados osteoporóticos en nuestro modelo de experimentación.

• **Resumen de la discusión**

Como resumen encontramos que el comportamiento biomecánico de los callos de fractura del grupo control y del tratado con zoledronato es igual en los

ensayos en flexión aunque con ligeras diferencias en el patrón del perfil polar de rigidez que muestra una mayor rigidez en los planos 4 y 10 en los callos tratados con zoledronato. En los ensayos a torsión no hemos podido encontrar diferencias significativas lo que nos indica que la resistencia global del callo tratado con zoledronato no ha mostrado diferencias con respecto a la de los callos del grupo control.

Algunos autores sugieren⁶⁰ que lo importante es la resistencia del callo y que el retraso en la remodelación del callo tiene menos importancia, ya que el organismo compensa cualquier efecto negativo del fármaco en la composición del callo haciéndolo más grande. En nuestro trabajo observamos que si bien el callo de fractura de los animales tratados con zoledronato es más grande, no existen diferencias en el comportamiento biomecánico con respecto a la resistencia.

Desde el punto de vista densitométrico encontramos callos más grandes pero con menor densidad media aunque la distribución de la misma en el callo es similar a la del callo de los huesos no tratados con zoledronato.

CONCLUSIONES

1.- La osteotomía estabilizada mediante un fijador externo en la tibia de ovejas ovariectomizadas es un modelo de fractura osteoporótica reproducible y en el que la consolidación se produce en unas condiciones parecidas a las humanas. Por ello consideramos que es un buen modelo experimental para estudiar el efecto de los bifosfonatos en la consolidación de fracturas osteoporóticas.

2.- El zoledronato actúa de forma beneficiosa en el hueso osteoporótico produciendo un aumento de los valores de rigidez a flexión en las gráficas de perfil polar de rigidez y un aumento estadísticamente significativo en el área de la zona de osteotomía en las mediciones realizadas en las imágenes de TAC, en comparación con los huesos no tratados.

3.- El tratamiento con zoledronato da lugar a callos de fractura más grandes como se ha podido observar en el análisis morfológico de los callos de fractura a partir de las imágenes de TAC y en el estudio del volumen total del callo.

4.- El comportamiento biomecánico de los callos tratados con zoledronato no ha mostrado diferencias significativas en comparación con los del grupo control con respecto a la resistencia y a la rigidez.

5.- Los estudios densitométricos demuestran que los callos del grupo tratado con zoledronato presentan una menor densidad media pero con una distribución dentro del callo similar a la de los callos no tratados.

6.- A la vista de las conclusiones 3, 4 y 5 podemos afirmar que, en nuestro modelo experimental de fractura osteoporótica, el tratamiento con zoledronato, da lugar a callos de fractura más grandes pero con una menor densidad y con un patrón biomecánico que no muestra diferencias significativas respecto al grupo control.

ESTUDIOS FUTUROS

Debido a las limitaciones que hemos encontrado en nuestro trabajo, nos planteamos realizar nuevos estudios con mayor número de muestras para evitar la dispersión encontrada, principalmente en el grupo de las ovejas tratadas con zoledronato.

Tampoco hemos podido realizar análisis histomorfométrico de la zona del callo de fractura, ya que las pruebas mecánicas de torsión son destructivas y las muestras quedaban muy dañadas, siendo imposible utilizar estas técnicas. El realizar una serie para estudiar parámetros histomorfométricos sería un excelente complemento a este trabajo y podrían ayudarnos a interpretar mejor nuestros resultados.

También sería interesante realizar el mismo trabajo pero sacrificando los animales más tarde, para ver si los hallazgos de disminución de la resistencia mecánica y DMO se normalizan, como demuestran otros autores que utilizan las ratas como animales de experimentación. Con ello podríamos demostrar que los hallazgos encontrados se producen por un retraso de consolidación, pero que ésta finalmente se produce, no se interrumpe.

Este mismo modelo experimental se está también utilizando para estudiar el efecto de un fármaco para la osteoporosis con un mecanismo de acción contrario, es decir, anabólico, la parathormona con el fin de compararlo con nuestros resultados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adami S, Bhalla AK, Dorizzi R. The acute-phase response after bisphosphonate administration. *Calcif Tissue Int* 1987; 41: 326-31.
2. Adili A, Bhandari M, Schemitsch EH. The biomechanical effect of high pressure irrigation on diaphyseal fracture healing in vivo. *J Orthop Trauma* 2002; 16(6): 413-7.
3. Adolphson P, Abbaszadegan H, Bodén H, Salemyr M, Henriques T. Clodronate increases mineralization of callus after Colles' fracture. A randomized, double-blind, placebo-controlled, prospective trial in 32 patients. *Acta Orthop Scand* 2000; 71(2); 195-200.
4. Agarwala S, Jain DK, Joshi VR, Sule A. Efficacy of alendronate, a bisphosphonate, in the treatment of AVN of the hip. A prospective open-label study. *Rheumatology* 2005; 44: 352-9.
5. Almeida Matos M, Pereira Araújo F, Brasileiro Paixão F. The effect of zolendronate on bone remodeling during the healing process. *Acta Cirúrgica Brasileira* 2007; 22(2): 115-9.
6. Amanat N, Brown R, Bilston LE, Little DG. A single systemic dose of pamidronate improves bone mineral content and accelerates restoration of strenght in a rat model of fracture repair. *J Orthop Res* 2005; 23: 1029-34.
7. Amanat N, McDonald M, Godfrey C, Bilston L, Little D. Optimal timing of bolus intravenous zolendric acid in a rat fracture model. *Bone* 2006; 38: S43.

8. Amanat N, McDonald M, Godfrey C, Bilston L, Little D. Optimal timing of a single dose of zoledronic acid to increase strength in rat fracture repair. *J Bone Miner Res* 2007; 22(6): 867-76.
9. Amanat N, He LH, Swain VS, Little DG. The effect of zoledronic acid on the intrinsic material properties of healing bone: an indentation study. *Med Eng Phys* 2008; 30: 843-7.
10. Ästrand J, Aspenberg P. Reduction of instability-induced bone resorption using bisphosphonates. High doses are needed in rats. *Acta Orthop Scand* 2002; 73(1): 24-30.
11. Ästrand J, Rydholm U, Tägil M. Systemic and local zoledronate treatment of bilateral necrosis of caput femoris caused by SLE. A case report. *Bone* 2006; 38: S65-87.
12. Auer JA, Goodship A, Arnoczky S, Pearce S, Price J, Claes L, Rechenberg B, Hofmann-Antenbrinck, Schneider E, Müller-Terpitz R, Thiele F, Rippe KP, Grainger DW. Refining animal models in fracture research: seeking consensus in optimising both animal welfare and scientific validity for appropriate biomedical use. *BMC Musculoskelet Disord* 2007; 8: 72-84.
13. Augat P, Simon U, Liedert A, Claes L. Mechanics and mechanobiology of fracture healing in normal and osteoporotic bone. *Osteoporos Int* 2005; 16:S36-43.
14. Barrios C, Brostrom LA, Strak A, Walheim G. Healing complications alter internal fixation of trochanteric hip fractures: the prognostic value of osteoporosis. *J Orthop Trauma* 1993; 7: 438-42.

15. Bauer DC, Black D, Ensrud K, Thompson D, Hochberg M, Nevitt M, Musliner T, Fredholm D. Upper gastrointestinal tract safety profile of alendronate. The fracture intervention trial. *Arch Intern Med* 2000; 160: 517-25.
16. Bauss F, Schenk RK, Hört S, Müller-Beckmann B, Sponer G. New model for simulation of fracture repair in full-grown beagle dogs: model characterization and results from a long-term study with ibandronate. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2004; 50: 25-34.
17. Bianchi M. Decisions about the therapeutic use of biphosphonates. *Bone* 2005; 36(Suppl 1): S7-S8.
18. Black J, Perdigon P, Brown N, Pollack SR. Stiffness and strength of fracture callus. Relative rates of mechanical maturation as evaluated by a uniaxial tensile test. *Clin Orthop* 1984; 182: 278-88.
19. Black DM, Cummings SR, Karpf DB, Cauley JA, Thompson DE, Nevitt MC, Bauer DC, Genant HK, Haskell WL, Marcus R, Ott SM, Torner JC, Quandt SA, Reiss TF, Ensrud HK. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. Fracture Intervention Trial Research Group. *Lancet* 1996; 348: 1535-41.
20. Black DM, Thompson D, Bauer DC, Ensrud K et al. Fracture risk reduction with alendronate in women with osteoporosis: the Fracture Intervention Trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4118-24.
21. Black DM, Delmas PD, Eastell R, Reid IR, Boonen S, Cauley JA, Cosman F, Lakatos P, Leung PC, Man Z, Mautalen C, Mesenbrink P, Hu H, Caminis J, Tong K, Rosario-Jansen T, Krasnow J, Hue TF, Sellmeyer D, Eriksen EF, Cummings SR; HORIZON Pivotal Fracture

- Trial. Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med.* 2007; 356(18):1809-22.
22. Blokhuis TJ, den Boer FC, Bramer JAM, Jenner JMG, Bakker FC, Patka P, Haarman HJ. Biomechanical and histological aspects of fracture healing, stimulated with osteogenic protein-1. *Biomaterials* 2001; 22(7): 725-30.
23. Body JJ, Lortholary A, Romieu G, Vigneron AM, Ford J. A dose-finding of zoledronate in hypercalcemic cancer patients. *J Bone Miner Res* 1999; 14(9): 1557-61.
24. Bottlang M, Lesser M, Koerber J, Doornink J, Rechenberg B, Augat P, Fitzpatrick DC, Madey SM, Marsh JL. Far cortical locking can improve healing of fractures stabilized with locking plates. *J Bone Joint Surg* 2010; 92-A: 1652-60.
25. Bouza C, López T, Palma M, Amate JM. Hospitalised osteoporotic vertebral fractures in Spain: analysis of the national hospital discharge registry. *Osteoporos Int.* 2007; 18(5):649-57.
26. Boyce RW, Paddock CL, Gleason JR, Sletsema WK, Eriksen EF. The effects of risedronate on canine cancellous bone remodelling: Three-dimensional kinetic reconstruction of the remodelling site. *J Bone Miner Res* 1995; 10: 211-5.
27. Bramer J, Barentsen R, Elst M, De Lange E, Patka P, Haarman. Representative assessment of long shaft biomechanical properties: an optimized testing method. *J Biomech* 1998; 31(8): 741-5.
28. Burstein AH, Currey JD, Frankel VH, Reilly DT. The ultimate properties of bone tissue: the effects of yielding. *J Biomech* 1972; 5(1): 35-44.

29. Cannata-Andía JB, Rodríguez-García M, Gómez-Alonso C. Mecanismo de acción del ranelato de estroncio. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2010; 2(Supl 1): S5-S9.
30. Cao Y, Mori S, Mashiba T, Westmore MS, Ma L, Sato M, Akiyama T, Komatsubara S, Miyamoto K, Norimatsu H. Raloxifene, estrogen, and alendronate affect the processes of repair differently in ovariectomized rats. *J Bone Miner Res* 2002; 17(12): 2237-46.
31. Chakkalakal DA, Strates BS, Mashoof AA, Garvin KL, Novak JR, Fritz ED, Mollner TJ, McGuire MH. Repair of segmental bone defects in the rat: an experimental model of human fracture healing. *Bone* 1999; 25(3): 321-32.
32. Chang JT, Green L, Beitz J. Renal failure with the use of zoledronic acid. *N Engl J Med* 2003, 349: 1676-9.
33. Chastagnier D, Barbier A, de Vernejoul MC, Geusens P, Lacheret F. Effect of two bisphosphonates (tiludronate and etidronate) on bone healing. *J Bone Miner Res* 1993; 8: S236.
34. Chehade MJ, Pohl AP, Percy MJ, Nawana N. Clinical implications of stiffness and strength changes in fracture healing. *J Bone joint Surg* 1997; 79-B: 9-12.
35. Chennuru S, Koduri J, Bauman MA. Risk factors for symptomatic hypocalcemia complicating treatment with zoledronic acid. *Intern Med J* 2008; 38: 635-7.
36. Comín M. Caracterización biomecánica del proceso de reparación de fracturas: Desarrollo y validación de un modelo evolutivo del callo de fractura. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia 2000.

37. Consensus development conference: Diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 1993; 94: 646-650.
38. Contin M. The U.S. Food and Drug Administration -FDA- warns of possible femoral fractures with bisphosphonates. (last modified 2010-10-22). Disponible en: http://www.biomedtown.org/biomed_town/vphop/reception/news/FDA.
39. Cooper C, Campion G, Melton LJ III. Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. *Osteoporos Int* 1992; 2: 285-9.
40. Cranney A, Guyatt G, Griffith L, Wells G, Tugwell P, Rosen C. IX: Summary of Meta-Analysis of Therapies for Postmenopausal Osteoporosis. *Endocrine Reviews* 2002; 23(4): 570-8.
41. Cummings SR, Black DM, Thompson DE, Applegate WB, Barrett-Conor E, Musliner TA, Palermo L, Prineas R, Rubin SM, Scott JC, Vogt T, Wallace R, Yates AJ, LaCroix AZ. Effect of alendronate on risk of fracture in women with low bone density but without vertebral fractures. *JAMA* 1998; 280: 2077-82.
42. Currey JD. The effects of drying and re-wetting on some mechanical properties of cortical bone. *J Biomech* 1988; 21(5): 439-41.
43. Den Boer FC, Patka P, Bakker FC, Wippermann BW, Van Lingen A, Vink GQ, Boshuizen K, Haarman HJ. New segmental long bone defect model in sheep: quantitative analysis of healing with dual energy X-ray absorptiometry. *J Orthop Res*; 1999; 17(5): 654-60.
44. Earnshaw SA, Cawte SA, Worley A, Hosking DJ. Colles' fracture of the wrist as an indicator of underlying osteoporosis in postmenopausal women: a prospective study of bone mineral density and bone turnover rate. *Osteoporos Int* 1998; 8: 35-60.

45. Eberhardt C, Schwarz M, Kurth A. High dosage treatment of nitrogen-containing bisphosphonate ibandronate is required for osseointegration of cementless metal implants. *J Orthop Sci* 2005; 10: 622-6.
46. Eberhardt C, Schwarz M, Brahnkamp J, Bauss F, Kurth AA. Ibandronate improves osseointegration of cementless metal implants to a similar extent either given continuously or as a single equivalent dose. *Bone* 2006; 38: S48.
47. Eberhardt C, Habermann B, Tiemann S, Bauss F, Kurth AA. Improvement of osseointegration of cementless metal implant under Ibandronate is dose-dependent. *Bone* 2006; 38: S48.
48. Eberhardt C, Stumpf U, Brankamp J, Schwarz M, Kurth AH. Osseointegration of cementless implants with different bisphosphonate regimens. *Clin Orthop* 2006; 447: 195-200.
49. Eberhardt C, Habermann B, Müller S, Schwarz M, Bauss F, Kurth AHA. The bisphosphonate ibandronate accelerates osseointegration of hydroxyapatite-coated cementless implants in an animal model. *J Orthop Sci* 2007; 12: 61-6.
50. Egermann M, Schneider E, Evans CH, Baltzer AW. The potential of gene therapy for fracture healing in osteoporosis. *Osteoporos Int* 2005; 16: S120-8.
51. Egermann M, Goldhahn J, Schneider E. Animal models for fractures treatment in osteoporosis. *Osteoporos Int* 2005; 16(2 Suppl.): S129-38.
52. Einhorn TA. The cell and molecular biology of fracture healing. *Clin Orthop* 1998; 355S: S7-21.

53. Einhorn TA, Majeska RJ, Mohaideen A, Kagel EM, Bouxsein ML, Turek TJ, Wozney JM. A single percutaneous injection of recombinant human bone morphogenetic protein-2 accelerates fracture repair. *J Bone Joint Surg* 2003; 85-A(8): 1425-35.
54. Einhorn TA. The science of fracture healing. *J Orthop Trauma* 2005; 19(10 Suppl): S4-6.
55. Ensrud KE, Thompson DE, Cauley JA, Nevitt MC, Kado DM, Hochberg MC, Santora AC, Black DM. Prevalent vertebral deformities predict mortality and hospitalization in older women with low bone mass. Fracture Intervention Trial Research Group. *J Am Geriatr Soc* 2000; 48(3): 241-9.
56. Epstein S, Zaidi M. Biological properties and mechanism of action of ibandronate: application to the treatment of osteoporosis. *Bone* 2005; 37: 433-40.
57. Felsenberg D, Silman AJ, Lunt M et al. Incidence of vertebral fractures in Europe: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). *J Bone Miner Res* 2002; 17(4): 716-24.
58. Fisher JE, Rogers MJ, Halasy JM, Luckman SP, Hughes DE, Masarachia PJ, Wesolowski G, Russell RGG, Rodan GA, Reszka AA. Alendronate mechanism of action: geranylgeraniol, an intermediate in the mevalonate pathway, prevents inhibition of osteoclast formation, bone resorption, and kinase activation in vitro. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96: 133-8.
59. Fleisch H. Bisphosphonates: mechanism of action. *Endocr Rev* 1998; 19: 80-100.

60. Fleisch H. Can bisphosphonates be given to patients with fractures? *J Bone Miner Res* 2001; 16(3):437-40.
61. Flora L, Hassing GS, Cloyd CG, Bevan JA, Parfitt AM, Villanueva AR. The long term skeletal effects of EHDP in dogs. *Metab Bone Dis Rel Res* 1981; 3: 289-300.
62. Foux A, Black RC, Uthoff HK. Quantitative measures for fracture healing: an in vitro biomechanical study. *J Biomech Eng* 1990; 112(4): 401-6.
63. Foux A, Uthoff HK, Black RC. Healing of plated femoral osteotomies in dogs. A mechanical study using a new test method. *Acta Othop Scand* 1993; 64(3): 345-53.
64. Fraunfelder FW, Fraunfelder FT, Jensvold B. Scleritis and other ocular side effects associated with pamidronate disodium. *Am J Ophthalmol* 2003; 135: 219-22.
65. Freedman KB, Kaplan FS, Bilker WB, Strom BL, Lowe RA. Treatment of osteoporosis. Are physicians missing an opportunity? *J Bone Joint Surg Am* 2000; 82-A: 1063-70.
66. Friedl G, Radl R, Stihsen C, Rehak P, Aigner R, Windhager R. The effect of a single infusion of zoledronic acid on early implant migration in total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 2009; 91-A: 274-81.
67. Frost HM. The Biology of Fracture Healing. An Overview for Clinicians. Part I. *Clin Orthop* 1989; 248: 283-309.
68. Fyda HM, Callaham JJ, Fulghum CS, Seaber AV, Myers BS. A model of cortical window healing in the rabbit. *Orthopaedics* 1995; 18(2): 177-84.

69. Gasser JA, Ingold P, Venturiere A, Shen V, Green JR. Long-term protective effects of zoledronic acid on cancellous and cortical bone in the ovariectomized rat. *J Bone Miner Res* 2008; 23(4): 544-51.
70. Genant HK, Engelke K, Prevrhal S. Advanced CT bone imaging in osteoporosis. *Rheumatology (Oxford)*. 2008 Jul;47 Suppl 4:iv9-16.
71. Geusens P, Boonen S, Nijs J, Jiang Y, Lowet G, Van Audekercke R, Huyghe C, Caulin F, Very JM, Dequeker J, Van der Perre G. Effect of salmon calcitonin on femoral bone quality in adult ovariectomized ewes. *Calcif Tissue Int*, 1996; 59(4): 315-20.
72. Giannoudis PV, Schneider E. Principles of fixation of osteoporotic fractures. *J Bone Joint Surg Br* 2006; 88-B: 1272-8.
73. Giuliani N, Pedrazzoni M, Negri G, Passeri G, Impicciatore M, Girasole G. Bisphosphonates stimulate formation of osteoblast precursors and mineralized nodules in murine and human bone marrow cultures in vitro and promote early osteoblastogenesis in young and aged mice in vivo. *Bone* 1998; 22(5): 455-61.
74. Goh SK, Yang KY, Koh JS, Koh JSB, Wong MK, Chua SY, Chua DTC, Howe TS. Subtrochanteric insufficiency fractures in patients on alendronate therapy: a caution. *J Bone Joint Surg (Br)* 2007; 89B: 349-53.
75. Goldhahn J, Little D, Mitchell P, Fazzalari N, Reid IR, Aspenberg P, Marsh D. Evidence for anti-osteoporosis therapy in acute fracture situations. Recommendations of a multidisciplinary workshop of the International Society for Fracture Repair. *Bone* 2010; 46: 267-71.

76. Goodship AE, Kenwright J. The influence of induced micromovement upon the healing of experimental tibial fractures. *J Bone Joint Surg Br* 1985; 67-B(4): 650-5.
77. Goodship AE, Watkins PE, Rigby HS, Kenwright J. The role of fixator frame stiffness in the control of fracture healing. An experimental study. *J Biomech* 1993; 26(9): 1027-35.
78. Goodship AE, Walker PC, McNally D, Chambers T, Green JR. Use of a bisphosphonate (pamidronate) to modulate fracture in ovine bone. *Ann Oncol* 1994; 5(Suppl 7): S53-5.
79. Goodship AE, Lawes TJ, Green J, Eldridge JD, Kenwright J. The use of bisphosphonates to inhibit mechanically related bone loss in aseptic loosening of hip prostheses. *Trans Orthop Res Soc* 1998; 23: 2.
80. Goodship AE, Lawes TJ, Rubin CT. Low-magnitude high-frequency mechanical signals accelerate and augment endochondral bone repair: preliminary evidence of efficacy. *J Orthop Res* 2009; 27(7): 922-30.
81. Green JR. Antitumor effects of bisphosphonates. *Cancer* 2003; 97(3Suppl): 840-7.
82. Grupo de Expertos en Osteoporosis de la SECOT. Recomendaciones de manejo clínico del paciente mayor de 50 años con fractura osteoporótica. *REEMO* 2003; 12(6) : 125-128.
83. Grupo de trabajo de la Sociedad Española de Investigaciones Óseas y Metabolismo Mineral (SEIOMM). Osteoporosis postmenopáusica. Guía de práctica clínica. *Rev Clin Esp* 2003; 203(10): 496-506.
84. Habermann B, Eberhardt C, Kurth AA. Ibandronate in fracture healing – an overview. *Bone* 2006; 38: S74.

85. Habermann B, Olender G, Eberhardt C, Augat P, Kurth A. Ibandronate affects callus formation and mechanical properties during fracture repair in ovariectomized Sprague-Dawley rats after 4 weeks of treatment. *Bone* 2008; 42(Suppl. 1): S53.
86. Hantes ME, Mavrodontidis AN, Zalavras CG, Karantanas AH, Karachalios T, Malizos KN. Low-intensity transosseous ultrasound accelerates osteotomy healing in a sheep fracture model. *J Bone Joint Surg Am* 2004 ; 86-A : 2275-82.
87. Harris ST, Watts NB, Genant HK, McKeever CD, Hangartner T, Keller M, Chesnut III CH, Brown J, Eriksen EF, Hoesly MS, Axelrod DW, Miller PD. Effects of risedronate treatment on vertebral and nonvertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis. A randomized controlled trial. *JAMA* 1999; 282: 1344-52.
88. Heaney RP. Is the paradigm shifting? *Bone* 2003; 33:457-465.
89. Herrera A, Martínez AA, Ferrandez L, Gil E, Moreno A. Epidemiology of osteoporotic hip Fractures in Spain. *Int Orthop* 2006; 30: 11-4.
90. Hornby SB, Ford SL, Mase CA, Evans GP. Skeletal changes in the ovariectomised ewe and subsequent response to treatment with 17 beta oestradiol. *Bone* 1995; 17(4 Suppl): 389S-94S.
91. Hornby SB, Evans GP, Hornby SL, Pataki A, Glatt M, Green JR. Long-term zoledronic acid treatment increases bone structure and mechanical strength of long bones of ovariectomized adult rats. *Calcif Tissue Int* 2003; 72: 519-27.
92. Hsu RW, Tai CL, Chen CY, Hsu WH, Hsueh S. Enhancing mechanical strength during early fracture healing via shockwave treatment: an animal study. *Clin Biomech* 2003; 18(6): S33-9.

93. Huybrechts KF, Ishak KJ, Caro JJ. Assessment of compliance with osteoporosis treatment and its consequences in a managed care population. *Bone* 2006; 38: 922-8.
94. Hyvönen PM, Karhi T, Kosma VM, Liimola-Luoma L, Hanijärvi H. The influence of dichloromethylene bisphosphonate on the healing of a long bone fracture, composition of bone mineral and histology of bone in the rat. *Pharmacol Toxicol* 1994; 75: 384-90.
95. Im G-I, Qureshi SA, Kenney J, Rubash HE, Shanbhag AS. Osteoblast proliferation and maturation by bisphosphonates. *Biomaterials* 2004; 25: 4105-15.
96. Ismail AA, O'Neill TW, Cooper C et al. Mortality associated with vertebral deformity in men and women: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). *Osteoporos Int* 1998; 8: 291-7.
97. Jazrawi LM, Bai B, Simon JA, Kummer FJ, Birdzell LT, Koval KJ. A biomechanical comparison of Schuhl nuts or cement augmented screws for plating of humeral fractures. *Clin Orthop* 2000; 377: 235-40.
98. Johnell O, Oden A, Caulin F, Kanis JA. Acute and long term increase in fracture risk after hospitalization for vertebral fracture. *Osteoporos Int* 2001; 12: 207-14.
99. Johnell O, Kanis J. Epidemiology of osteoporotic fractures. *Osteoporos Int*. 2005; 16 Suppl 2: S3-7.
100. Kalu DN. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner* 1991; 15: 175-91.

101. Kanis JA, Odén A, Johnell O, Jönsson B, de Laet C, Dawson A. The burden of osteoporotic fractures: a method for setting intervention thresholds. *Osteoporos Int* 2001; 12: 417-27.
102. Kanis JA, Odén A, Johnell O, de Laet C, Jönsson B, Oglesby AK. The components of excess mortality after hip fracture. *Bone* 2003; 32: 468-73.
103. Kanis JA, Adams J, Cooper C, Jönsson B, Preedy D, Selby P, Compston J. The cost-effectiveness of alendronate in the management of osteoporosis. Editorial. *Bone* 2008; 42(1): 4-15.
104. Keller TS, Mao Z, Spengler DM. Young's modulus, bending strength and tissue physical properties of human compact bone. *J Orthop Res* 1990; 8(4): 592-603.
105. Kenwright J, Goodship AE. Controlled mechanical stimulation in the treatment of tibial fractures. *Clin Orthop Relat Res* 1989; 241: 36-47.
106. Khan SA, Geus C, Holroyd B, Russell AS. Osteoporosis follow-up after wrist fractures following minor trauma. *Arch Inter Med* 2001; 161: 1309-12.
107. Klein P, Schell H, Streitparth F, Heller M, Kassi JP, Kandziora F, Bragulla H, Haas NP, Duda GN. The initial phase of fracture healing is specifically sensitive to mechanical conditions. *J Orthop Res* 2003; 21(4): 662-9.
108. Klotzbuecher CM, Ross PD, Landsman PB, Abbott TA III, Berger M. Patients with prior fractures have an increased risk of future fracture: a summary of the literature and statistical synthesis. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 721-39.

109. Koivukangas A, Tuukkanen J, KippoK, Jamsa T, Hannuniemi R, Vaananen K, Jalovaara P. Long-term administration of clodronate does not prevent fracture healing in rats. *Clin Orthop* 2003; 408: 268-78.
110. Kubo T, Shiga T, Hashimoto J et al. Osteoporosis influences the late period of fracture healing in a rat model prepared by ovariectomy and low calcium diet. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1999; 68: 197-202.
111. Kurth AA, Schwarz M, Brahnkamp J, Eberhardt C. Ibandronate improves osseointegration of cementless metal implants to a similar extent whether given continuously or as a single equivalent cumulative dose. *Bone* 2005; 36: S24.
112. Kurth AA, Eberhardt C, Müller S, Steinacker M, Schwarz M, Bauss F. The bisphosphonate ibandronate improves implant integration in osteopenic ovariectomized rats. *Bone* 2005; 37: 204-10.
113. Kurth AA, Eberhardt C, Schwarz M, Steinacker M, Bauss F. Ibandronate improves osseointegration of implants in experimental osteoporosis. *Bone* 2006; 38: S54.
114. Kwek EB, Gosh SK, Koh JS, Png MA, Howe TS. An emerging pattern of subtrochanteric stress fractures: a long-term complication of alendronate therapy? *Injury* 2008; 39: 224-31.
115. Lai KA, Shen WJ, Yang CY, Shao CJ, Hsu JT, Lin RM. The use of alendronate to prevent early collapse of the femoral head in patients with nontraumatic osteonecrosis. A Randomized clinical study. *J Bone Joint Surg* 2005; 87-A(10): 2155-9.
116. Lane et al. Osteoporosis: current model of prevention and treatment. *J Am Acad Orthop Surg* 1999; 7: 19-31.

117. Lau E, Ong K, Kurtz S, Schmier J, Edidin A. Mortality following the diagnosis of a vertebral compression fracture in the Medicare population. *J Bone Joint Surg Am* 2008; 90A: 1479-86.
118. Lawes TJ, Scott JC, Goodship AE. Increased insertion torque delays pin-bone interface loosening in external fixation with tapered bone screws. *J Orthop Trauma* 2004; 18(9): 617-22.
119. Lenart BA, Nevasier AS, Lyman S et al. Association of low-energy femoral fractures with prolonged bisphosphonate use: a case control study. *Osteoporos Int* 2009; 20(8): 1353-62.
120. Lenehan TM, Balligand M, Nunamaker DM, Wood FEJr. Effect of EHDP on fracture healing in dogs. *J Orthop Res* 1985; 3: 499-507.
121. Lewandrowski K, Schollmeier G, Ekkemkamp A, Uhthoff HK, Tomford WW. Incorporation of perforated and demineralized cortical bone allografts. Part II: A mechanical and histological evaluation. *Bio-Med Mater And Engineering* 2001; 11: 209- 19.
122. Lewiecki EM. Intravenous zoledronic acid for the treatment of osteoporosis. *Curr Osteoporosis Rep* 2008; 6:17-23.
123. Li J, Mori S, Kaji Y, Mashiba T, Kawanishi J, Norimatsu H. Effect of bisphosphonate (incadronate) on fracture healing of bones in rats. *J Bone Miner Res* 1999; 14(6): 969-79.
124. Li J, Mori S, Kaji Y, Kawanishi J, Akiyama T, Norimatsu H. Concentration of biphosphonate (incadronate) in callus areas and effects on fracture healing in rats. *J Bone Miner Res* 2000; 15(10): 2042-51.

125. Li C, Mori S, Li J, Kaji Y, Akiyama T, Kawanishi J, Norimatsu H. Long-term effect of incadronate disodium (Ym-175) on fracture healing of femoral shaft in growing rats. *J Bone Miner Res* 2001; 16(3): 429-36.
126. Lill CA, Fluegel AK, Schneider E. Sheep model for fracture treatment in osteoporotic bone: a pilot study about different induction regimens. *J Orthop Trauma* 2000; 14(8): 559-66.
127. Lill CA, Hessel J, Schlegel U, Eckhardt C, Goldhahn J, Schneider E. Biomechanical evaluation of healing in a non-critical defect in a large animal model of osteoporosis. *J Orthop Res* 2003; 21(5): 836-42.
128. Linde F, Sorenesen HC. The effect of different storage methods on the mechanical properties of trabecular bone. *J Biomech* 1993; 26(10): 1249-52.
129. Lippuner K, Golder M, Greiner R. Epidemiology and direct medical costs of osteoporotic fractures in men and women in Switzerland. *Osteoporos Int.* 2005; 16 Suppl 2: S8-S17.
130. Little DG, Smith NC, Williams PR, Briody JN, Bilston LE, Smith EJ, Gardiner EM, Cowell CT. Zoledronic acid prevents osteopenia and increases strength in a rabbit model of distraction osteogenesis. *J Bone Miner Res* 2003; 18(7): 1300-7.
131. Little DG, McDonald M, Bransford R, Godfrey CB, Amanat N. Manipulation of the anabolic and catabolic responses with OP-1 and zoledronic acid in a rat critical defect model. *J Bone Miner Res* 2005; 20(11): 2044-52.
132. Lovejoy CO, Burstein AH, Heiple KG. The biomechanical analysis of none strength: A method and its application to platycnemia. *Am J Phys Antropol* 1976; 44: 489-505.

133. Luppen CA, Blake CA, Ammirati KM, Stevens ML, Seeherman HJ, Wozney JM, Bouxsein ML. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 enhances osteotomy healing in glucocorticoid-treated rabbits. *J Bone Miner Res* 2002; 17(2): 301-10.
134. Lyles KW, Colón-Emeric CS, Magaziner JS et al. Zoledronic acid and clinical fractures and mortality after hip fracture. *N Engl J Med* 2007; 357(18): 1799-1809.
135. Madsen JE, Berg-Larsen T, Kirkeby OJ, Falck JA, Nordsletten L. No adverse effects of clodronate on fracture healing in rats. *Acta Orthop Scand* 1998; 69(5): 532-6.
136. Makhni EC, Ewald TJ, Kelly S, Day CS. Effect of patient age on the radiographic outcomes of distal radius fractures subject to nonoperative treatment. *J Hand Surg* 2008; 33A: 1301-8.
137. Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev* 2000; 21: 115-37.
138. Marie PJ. Strontium ranelate: new insights into its dual mode of action. *Bone* 2007; 40: S5-S8.
139. Markel MD, Wikenheiser MA, Chao EYS. A study of fractures callus material properties: Relationship to the torsional strength of bone. *J Orthop Res* 1990; 8(6): 843-50.
140. Markel MD, Winkenheiser MA, Morin RL, Lewallen DG, Chao, E.Y. Formation of bone in tibial defects in a canine model. Histomorphometric and biomechanical studies. *J Bone Joint Surg* 1991; 73-A(6): 914-23.

141. Matos MA, Tannuri U, Guarniero R. The effect of zoledronate during bone healing. *J Orthopaed Traumatol* 2010; 11: 7-12.
142. McCloskey EV, Yates AJP, Beneton MNC, Galloway J, Harris S, Kanis JA. Comparative effects of intravenous disphosphonates on calcium and skeletal metabolism in man. *Bone* 1987; 8(Suppl1):35-41.
143. McClung MR, Geusens P, Miller PD, Zippel H, Bensen WG, Roux C, Adami S, Fogelman I, Diamond T, Eastell R, Meunier PJ, Wasnich RD, Greenwald M, Kaufman J-M, Chestnut CH III, Reginster J-Y. Effect of risedronate on the risk of hip fracture in elderly women. *N Engl J Med* 2001; 344(5): 333-40.
144. McClung M, Recker R, Miller P, Fiske D, Minkoff J, Kriegman A, Zhou W, Adera M, Davis J. Intravenous zoledronic acid 5 mg in the treatment of postmenopausal women with low bone density previously treated with alendronate. *Bone* 2007; 41:122-8.
145. McDonald MM, Dulai SK, Godfrey C, Szynda T, Little DG. Endochondral repair and development proceed normally during zolendronic acid treatment. *Bone* 2006; 38: S56.
146. McDonald MM, Dulai SK, Godfrey C, Szynda T, Little DG. Single dose zolendronic acid treatment is superior to continuous treatment in enhancing hard callus formation and strength without delayed remodelling. *Bone* 2006; 38: S57.
147. McDonald MM, Mikulec K, Peacock L, Baldock PA, Little DG. Differing effects of pre and post-fracture bisphosphonate treatment on bone repair in estrogen-deficient rats. *Bone* 2008; 42(Suppl. 1): S79.
148. McDonald MM, Dulai SK, Godfrey C, Amanat N, Szynda T, Little DG. Bolus or weekly zolendronic acid administration does not delay

- endochondral fracture repair but weekly dosing enhances delays in hard callus remodelling. *Bone* 2008; 43(4): 653-62.
149. Meffert RH, Inoue N, Tis JE, Brug E, Chao EY. Distraction osteogenesis after acute limb-shortening for segmental tibial defects. Comparison of a monofocal and a bifocal technique in rabbits. *J Orthop Res* 2000; 89-A(6): 799-808.
150. Melhus G, Solberg LB, Dimmen S, Madesen JE, Norddsetten, Reinholt FP. Experimental osteoporosis induced by ovariectomy and vitamin D deficiency does not markedly affect fracture healing in rats. *Acta Orthop* 2007; 3: 393-403.
151. Melton LJ III, Chrischilles EA, Cooper C, Lane AW and Riggs BL. Perspective: how many women have osteoporosis? *J Bone Miner Res* 1992; 7: 1005-10.
152. Melton LJ III. Hip fractures: a worldwide problem today and tomorrow. *Bone* 1993; 14 (Suppl 1): S1-S8.
153. Meyer RA, Tsahakis PJ, Martin DF, Banks DM, Harrow ME, Kiebzak GM. Age and ovariectomy impair both the normalization of mechanical properties and the accretion of mineral by the fracture callus in rats. *J Orthop Res* 2001; 19: 428-35.
154. Meyer RA, Desai BR, Heiner DE, Fiechtl, Porter S, Meyer MH. Young, adult and old rats have similar changes in mRNA expression of many skeletal genes after fracture despite delayed healing with age. *J Orthop Res* 2006; 24: 1933-44.
155. Miclau T, Remiger A, Tepic S, Lindsey R, McIlff T. A mechanical comparison of the dynamic compression plate, limited contact dynamic

- compression plate, and point contact fixator. *J Orthop Trauma* 1995; 9(1): 17-22.
156. Millett PJ, Allen MJ, Bostrom MPG. Effects of alendronate on particle-induced osteolysis in a rat model. *J Bone Joint Surg Am* 2002; 84-A(2): 236-49.
157. Mochida Y, Bauer T, Akisue T, Brown PR. Alendronate does not inhibit early bone apposition to hydroxyapatite-coated total joint implants. A preliminary study. *J Bone Joint Surg* 2002; 84-A(2): 226-35.
158. Mori S. Fracture healing with anti-resorptive agents. *J Musculoskel Neuron Interact* 2003; 3(4): 314-6.
159. Morote S., Kanterewicz E., Villanueva A., Garcia M.J., Carballido E., Yanez A. Diagnóstico y tratamiento de la osteoporosis postmenopaúsica después de una fractura de Colles. *Aten Primaria*. 2000; 25(6): 422-4.
160. Morris CD, Einhorn TA. Bisphosphonates in orthopaedic surgery. Current concepts review. *J Bone Joint Surg Am* 2005; 87-A(7): 1609-18.
161. Munns CFJ, Rauch F, Zeitlin L, Fassier F, Glorieux FH. Delayed osteotomy but not fracture healing in pediatric osteogenesis imperfecta patients receiving pamidronate. *J Bone Miner Res* 2004; 19(11): 1779-86.
162. Namkung-Matthai H, Appleyard R, Jansen J, Hao LJ, Maastricht S, Swain M, Mason RS, MurrellGA, Diwan AD, Diamond T. Osteoporosis influences the early period of fracture healing in a rat osteoporotic model. *Bone* 2001; 28:80-6.

163. National Osteoporosis Foundation: Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. Washington, DC: National Osteoporosis Foundation; 2010.
164. Naves M, Díaz-López JB, Gómez C, Rodríguez-Rebollar A, Rodríguez-García M, Cannata-Andía JB. The effect of vertebral fracture as a risk factor for osteoporotic fracture and mortality in a Spanish population. *Osteoporos Int.* 2003; 14(6):520-4.
165. Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, prince R, Gaich GA, Regisnter J-Y, Hodsman AB, Eriksen EF, Ish-Shalom S, Genant HK, Wang O, Mitlak BH, Mellstrom D, Oefjord ES, Marcinowska E, Salmi J, Mulder H, Halse J, Sawcki AZ. Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2001; 344(19): 1434-41.
166. Neviaser AS, Lane JM, Lenart BA, Edobor-Osula F, Lorich DG. Low-energy femoral shaft fractures associated with alendronate use. *J Orthop Trauma* 2008; 22: 346-50.
167. Nevitt MC, Ettinger B, Black DM, Stone K, Jamal SA, Ensrud K, Segal M, Genant HK, Cumminngs SR. The association of radiographically detected vertebral fractures with back pain and function: a prospective study. *Ann Intern Med* 1998; 128: 793-800.
168. Newman E, Turner AS, Wark JD. The potential of sheep for the study of osteopenia: current status and comparison with other animal models. *Bone* 1995; 16 (4 Suppl.): 277S-84S.
169. Newton SI, Cooper RC, Gilbert JA, Johnson RB, Zardiackas LD. The ovariectomized sheep as a model for human bone loss. *J Comp Pathol*, 2004; 130(4): 323-6.

170. Nikolaou VS, Efstathopoulos N, Kontakis G, Kanakaris NK, Giannoudis PV. The influence of osteoporosis in femoral fracture healing time. *Injury* 2009; 40: 663-8.
171. NIH Consensus development panel on osteoporosis prevention, diagnosis and therapy. *JAMA* 2001; 285(6): 785-795.
172. Nyman MT, Paavolainen P, Lindholm TS. Clodronate increases the calcium content in fracture callus. An experimental study in rats. *Arch Orthop Trauma Surg* 1993; 112: 228-31.
173. Nyman MT, Gao T, Lindholm TC, Lindholm TS. Healing of a tibial double osteotomy is modified by clodronate administration. *Arch Orthop Trauma Surg* 1996; 115(2): 111-4.
174. Odvina CV, Zerwekh JE, Rao S, Maalouf N, Gottschalk FA, Pak CYC. Severely suppressed bone turnover: a potential complication of alendronate therapy. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90(3): 1294-1301.
175. O'Loughlin PF, Morr S, Bogunovic L, Kim AD, Park B, Lane JM. Selection and development of preclinical models in fracture-healing research. *J Bone Joint Surg Am* 2008; 90-A(Suppl 1): 79-84.
176. Olson K, Van Poznak C. Significance and impact of bisphosphonate-induced acute phase responses. *J Oncol Pharm Practice* 2007; 13: 223-9.
177. Pandey R, Quinn JMW, Sabokbar A, Athanasou NA. Bisphosphonate inhibition of bone resorption induced by particulate biomaterial-associated macrophages. *Acta Orthop Scand* 1996; 67(3): 221-8.

178. Papapetrou PD. Bisphosphonate-associated adverse events. *Hormones* 2009; 8(2): 96-100.
179. Papapoulos SE. Bisphosphonate actions: physical chemistry revisited. Review. *Bone* 2006; 38: 613-6.
180. Park SH, O'Connor K, McKellop H, Sarmiento A. The influence of active shear or compressive motion of fracture healing. *J Bone Joint Surg* 1998; 80-A: 868-78.
181. Park SH, Silva M. Effect of intermittent pneumatic soft-tissue compression on fracture-healing in animal model. *J Bone Joint Surg* 2003; 85-A(8): 1446-53.
182. Peter CP, Cook WO, Nunamaker DM, Provost MT, Seedor JG, Rodan GA. Effect of alendronate on fracture healing and bone remodeling in dogs. *J Orthop Res* 1996; 14(1): 74-9.
183. Phillips AM. Overview of the fracture healing cascade. *Injury* 2005; 36 Suppl 3:S5-7.
184. Pizones J, Plotkin H, Parra-García JI, Álvarez P, Gutierrez P, Bueno A, Fernández arroyo A. Bone healing in children with osteogenesis imperfecta treated with bisphosphonates. *J Pediatr Orthop*, 2005; 25(3): 332-5.
185. Plotkin LI, Manolagas SC, Bellido T. Dissociation of the pro-apoptotic effects of bisphosphonates on osteoclasts from their anti-apoptotic effects on osteoblasts/osteocytes with novel analogs. *Bone* 2006; 39: 443-52.
186. Reginster J-Y. Managing the osteoporotic patient today. *Bone* 2007; 40: S12-S18.

187. Reid IR, Brown JP, Burckhardt P et al. Intravenous Zoledronic Acid in Postmenopausal Women with Low Bone Mineral Density. *New Engl J Med* 2002; 346(9): 653-61.
188. Reid IR, Miller P, Lyles K, Fraser W, Brawn JP, Saidi Y et al. Comparision of a single infusion of zoledronic acid with risedronate for Paget's disease. *N engl J Med* 2005; 353: 898-908.
189. Rodgers JB, Monier-Faugere MC, Malluche H. Animal models for the study of bone loss after cessation of ovarian function. *Bone* 1993; 14(3): 369-77.
190. Rodriguez JPGS, Gajardo H, Pino AM, Seitz G. Abnormal osteogenesis in osteoporotic patients is reflected by altered mesenchymal stem cell dynamics. *J Cell Biochem* 1999; 414-23.
191. Rosen LS, Gordon D, Kaminski M, Howell A, Belch A, Mackey J. Long-term efficacy and safety of zoledronic acid compared with pamidronate disodium in the treatment of skeletal complications in patients with advanced multiple myeloma or breast carcinoma: a randomized, double-blind, multicenter, comparative trial. *Cancer* 2003, 98: 1735-44.
192. Rosen CJ, Kiel DP. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. Capítulo 13: Osteoporosis relacionada con la edad. Ed: Mediaci Trends, SL. 2005: 98-102.
193. Rozental TD, Vazquez MA, Chacko AT, Ayogu N, Bouxsein ML. Comparison of radiographic fracture healing in the distal radius for patients on and off bisphosphonate therapy. *J Hand Surg* 2009; 34A: 595-602.

194. Rozental TD, Makhni EC, Day CS, Bouxsein ML. Improving evaluation and treatment for osteoporosis following distal radial fractures. *J Bone Joint Surg Am* 2008; 90: 953-61.
195. Roux C. Antifracture efficacy of strontium ranelate in postmenopausal osteoporosis. *Bone* 2007; 40: S9-S11.
196. Ruff CB, Hayes WC. Cross sectional geometry of Pecos Pueblo femora and tibiae a biomechanical investigation: II. Sex, age, side differences. *Am J Phys Anthropol* 1983; 60(3): 462-3.
197. Ruggiero S, Gralow J, Marx RE, Hoff AO, Schubert MM, Huryn JM, Toth B, Damato K, Valero V. Practical guidelines for the prevention, diagnosis, and treatment of osteonecrosis of the jaw in patient with cancer. *J Oncol Prac* 2006; 2(1): 7-14.
198. Russell RGG, Croucher PI, Rogers MJ. Bisphosphonates: pharmacology, mechanism of action and clinical uses. *Osteoporos Int* 1999; Suppl. 2: S66-80.
199. Saito M, Shiraishi A, Ito M, Sakai S, Hayakawa N, Mihara M, Marumo K. Comparison of effects of alfacalcidol and alendronate on mechanical properties and bone collagen cross-links of callus in the fracture repair rat model. *Bone* 2010; 46: 1170-9.
200. Schell H, Epari DR, Kassi JP, Bragulla H, Bail HJ, Duda GN. The course of bone healing is influenced by the initial shear fixation stability. *J Orthop Res* 2005; 23: 1022-8.
201. Schell H, Lienau J, Epari DR, Seebeck P, Exner C, Muchow S, Bragulla H, Haas NP, Duda GN. Osteoclastic activity begins early and increases over the course of bone healing. *Bone* 2006; 38: 547-54.

202. Serbno I, Johnell O. Consequences of a hip fracture: a prospective study over 1 year. *Osteoporos Int* 1993; 3: 148-53.
203. Shanbhag AS, Hasselman CT, Rubash HE. Inhibition of wear debris mediated osteolysis in a canine total hip arthroplasty model. *Clin Orthop* 1997; 344: 33-43.
204. Shanbhag AS. Uso de los bisfosfonatos para mejorar la duración de las prótesis articulares totales. *J Am Acad Orthop Surg (Ed Esp)* 2006; 5: 239-49.
205. Silverman SL, Minfhall ME, Shen W, Harper KD, Xie S. Health-related quality of life subgroup of the Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation Study. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2611-9.
206. Skedros JG, Holyoak JD, Pitts TC. Knowledge and opinions of orthopaedic surgeons concerning medical evaluation and treatment of patients with osteoporotic fracture. *J Bone Joint Surg Am* 2006; 88A: 18-24.
207. Smith EJ, McEvoy A, Little DG, Baldock PA, Eisman JA, Gardiner EM. Transient retention of endochondral cartilaginous matrix with bisphosphonate treatment in a long-term rabbit model of distraction osteogenesis. *J Bone Miner Res* 2004; 19(10): 1698-1705.
208. Soininvaara TA, Jurvelin JS, Miettinen HJA, Suomalainen OT, Alhava EM, Kröger PJ. Effect of alendronate on periprosthetic bone loss after total knee arthroplasty: a one year, randomized, controlled trial of 19 patients. *Calcif Tissue Int* 2002; 71: 472-7.
209. Spence G, Phillips S, Champion C, Brooks R, Rushton N. Bone formation in a carbonate-substituted hydroxyapatite implant is inhibited

- by zoledronate. The importance of bioresorption to osteoconduction. *J Bone Joint Surg Br* 2008; 90-B(12): 1635-40.
210. Ström O, Borgström F, Sen SS, Boonen S, Haentjens P, Johnell O, Kanis JA. Cost-effectiveness of alendronate in the treatment of postmenopausal women in 9 European countries-an economic evaluation based on the fracture intervention trial. *Osteoporos Int* 2007; 18: 1047-61.
211. Stromsoe K. Fracture fixation problems in osteoporosis. *Injury* 2004; 35: 107-13.
212. Tägil M, W-Dahl A, Ästrand J, Little D, Toksvig-Larsen S. Decreasing the catabolic response by a single bisphosphonate infusion shortens the healing time in hemicallotaxis operations. *Bone* 2006; 38: S84.
213. Tarvainen R, Oikkonen H, Nevalainen T, Hyvönen P, Arnala I, Alhava E. Effect of clodronate on fracture healing in denervated rats. *Bone* 1994; 15(6): 701-5.
214. Thorndike EA and Turner AS. In search of an animal model for postmenopausal diseases. *Front Biosci* 1998; 16(3): 17-26.
215. Timoshenko SP y Goudier JN. *Theory of Elasticity*. McGraw-Hill 1970; London.
216. Tosteson ANA, Burge RT, Marshall DA, Lindsay R. Therapies for treatment of osteoporosis in US Women: cost-effectiveness and budget impact considerations. *Am J Manag Care* 2008; 14(9): 605-15.

217. Tse LF, Wong KC, Kumta SM, Huang L, Chow TC, Griffith JF. Bisphosphonates reduce local recurrence in extremity giant cell tumor of bone : a case-control study. *Bone* 2008; 42(1): 68-73.
218. Turner CH, Burr DB. Basic biomechanical measurements of bone: a tutorial. *Bone* 1993; 14: 595-608.
219. Turner AS, Alvis M, Myers W, Stevens ML, Lundy MW. Changes in bone mineral density and bone-specific alkaline phosphatase in ovariectomized ewes. *Bone* 1995; 17(4 Suppl): 395S-402S.
220. Turner AS. Animal models of osteoporosis. Necessity and limitations. *Eur cells mat* 2001; 1: 66-81.
221. Van der Poest Clement E, Patka P, Vandormael K, Haarman H, Lips P. The effect of alendronate on bone mass after distal forearm fracture. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 586-93.
222. Van der Poest Clement E, Van England M, Ader H, Roos JC, Patka P, Lips P. Alendronate in the prevention of bone loss after a fracture of the lower leg. *J Bone Miner Res* 2002; 17: 2247-55.
223. Van Staa TP, Dennison EM, Leufkens HG, Cooper C. Epidemiology of fractures in England and Wales. *Bone* 2001; 29: 517-22.
224. Venesmaa PK, Kroger HP, Miettinen HJ, Jurvelin JS, Suomalainen OT, Alhava EM. Monitoring of periprosthetic MBD after uncemented total hip arthroplasty with dual-energy X-ray absorptiometry: A 3-year follow-up study. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1056-61.

225. Venesmaa PK, Kroger HP, Miettinen HJ, Jurvelin JS, Suomalainen OT, Alhava EM. Alendronate reduces periprosthetic bone loss after un-cemented total hip arthroplasty: a prospective randomized study. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 2126-31.
226. Visekruna M, Wilson D, McKienan FE. Severely suppressed bone turnover and atypical skeletal fragility. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 2948-52.
227. Von Knoch F, Jaquier C, Kowalsky M, Schaeren S, Alabre C, Martin I, Rubash HE, Shanbhag AS. Effects of bisphosphonates on proliferation and osteoblast differentiation of human bone marrow stromal cells. *Biomaterials* 2005; 26: 6941-9.
228. Wallace AL, Draper ERC, Strachan RK, MaCarthy ID, Hughes SPF. The effect of devascularisation upon early bone healing in dynamic external fixation. *J Bone Joint Surg Br* 1991; 73-B(5): 819-25.
229. Walsh WR, Sherman P, Howlett CR, Sonnabend DH, Ehrlich MG. Fracture healing in a rat osteopenia model. *Clin Orthop* 1997; 342: 218-27.
230. Wang C-J, Wang J-W, Weng L-H, Hsu C-C, Huang C-C, Chen H-S. The effect of alendronate on bone mineral density in the distal part of the femur and proximal part of the tibia after total knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 2003; 85-A: 2121-6.
231. Weaver MJ, Miller MA, Vrahas MS. The orthopaedic implications of diphosphonate therapy. *J Am Acad Orthop Surg* 2010; 18: 367-74.
232. White AA, Panjabi MM, Southwick WO. The four biomechanical stages of fracture repair. *J Bone Joint Surg* 1977; 59A(2): 188-92.

233. Wilkinson JM, Egleton AC, Stockley I, Peel NFA, Hamer AJ, Eastell R. Effect of pamidronate on bone turnover and implant migration after total hip arthroplasty: a randomized trial. *J Orthop Res* 2005; 23: 1-8.
234. Woo S, Hellstein J, Kalmar JR. Systematic review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *An Int Med* 2006; 144(10): 753-61.
235. World Health Organization. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1994; 843: 1-129.

ANEXOS

1.- INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Representación de la potencia de inhibición de la reabsorción de los bifosfonatos más utilizados en la clínica.....	página 39
Tabla 2. Principales trabajos experimentales sobre el efecto de distintos bifosfonatos en la consolidación de las fracturas.....	página 69-70
Tabla 3. Número de cortes considerados para cada una de las muestras del estudio.....	página 128
Tabla 4: Rangos de densidades consideradas en cada una de las isodensidades o “máscaras” utilizadas para el estudio densitométrico.....	página 129
Tabla 5: Recopilación de observaciones para cada una de las muestras tras la preparación y realización de los ensayos mecánicos y estudios densitométricos.....	página 136
Tabla 6: Valores de las superficies de corte de la tibias no operadas y del callo de fractura de las operadas tanto del grupo control como del grupo ZOL expresado en mm ² y medidos en los cortes axiales de TAC. También se expresa el aumento proporcional de la superficie del callo respecto a la de la tibia.....	página 145
Tabla 7. Descriptivos correspondientes a la variable área de hueso obtenida a partir de imágenes de TAC para los callos de los grupos control y zoledronato.....	página 146
Tabla 8. Test de ANOVA para la variable área de hueso obtenida a partir de imágenes de TAC para los callos de los grupos control y zoledronato.....	página 147
Tabla 9. Descriptivos correspondientes a la variable relación de áreas para los callos de los grupos control y zoledronato.....	página 148

Tabla 10. Test de ANOVA para la variable relación de áreas para los callos de los grupos control y zoledronato.....página 148

Tabla 11. Descriptivos correspondientes a la variable área de hueso obtenida a partir de imágenes de TAC para los huesos no operados de los grupos control y zoledronato.....página 149

Tabla 12 Test de ANOVA para la variable área de hueso obtenida a partir de imágenes de TAC para los huesos no operados de los grupos control y zoledronato.....página 150

Tabla 13: Tabla de valores del ensayo de flexión a cuatro puntos.....página 152

Tabla 14: Tabla de descriptivos para las variables obtenidas mediante el ensayo de flexión a cuatro puntos.....página 152

Tabla 15. ANOVA de un factor de los parámetros de flexión para la comparación entre los grupos control y zoledronato.....página 157

Tabla 16. Valores de los parámetros del ensayo a torsión.....página 158

Tabla 17. Tabla de descriptivos para las variables obtenidas mediante el ensayo de torsión para los huesos osteotomizados.....página 158

Tabla 18. ANOVA de un factor de las variables de % de par torsor, tenacidad y rigidez para los huesos osteotomizados.....página 161

Tabla 19. Tabla de descriptivos para las variables obtenidas mediante el ensayo de torsión para los huesos no operados.....página 161

Tabla 20. ANOVA de un factor de las variables de % de par torsor, tenacidad y rigidez torsional para los huesos no operados.....página 164

Tabla 21. Resultados obtenidos para las variables Volumen total del callo (Vtot31) y densidad media del callo (Dtot31).....página 166

Tabla 22. Tabla de descriptivos para las variables obtenidas en el estudio densitométrico del callo completo para los huesos osteotomizados.....página 166

Tabla 23. Tabla resumen de los test ANOVA para la variable volumen del callo obtenida para los dos grupos de estudio.....página 168

Tabla 24. Tabla resumen de los test ANOVA para la variable densidad media del callo obtenida para los dos grupos de estudio.....página 169

Tabla 25. Tabla de descriptivos para la variable Volumen de hueso en la zona de osteotomía calculada para dos cortes. Comparación entre los huesos no operados del grupo control y del zoledronato.....página 170

Tabla 26. Test de ANOVA correspondiente a la comparación entre los valores obtenidos para la variable Volumen de hueso calculada para dos cortes de los huesos no operados del grupo control y del grupo zoledronato.....página 171

Tabla 27. Tabla de descriptivos para la variable Densidad media del hueso en la zona de osteotomía calculada para dos cortes. Comparación entre los huesos no operados del grupo control y del zoledronato.....página 171

Tabla 28. Test de ANOVA correspondiente a la comparación entre los valores obtenidos para la variable Volumen de hueso calculada para dos cortes de los huesos sanos del grupo control y del grupo zoledronato.....página 172

Tabla 29. Resumen de descriptivos para la variable % de volumen regenerado de la isodensidad 1 para los dos grupos de estudio.....página 177

Tabla 30. Resumen de descriptivos para la variable % de volumen regenerado de la isodensidad 2 para los dos grupos de estudio.....página 177

Tabla 31. Resumen de descriptivos para la variable % de volumen regenerado de la isodensidad 3 para los dos grupos de estudio.....página 177

Tabla 32. Resumen de descriptivos para la variable % de volumen regenerado de la isodensidad 4 para los dos grupos de estudio.....página 178

Tabla 33. Test de ANOVA para la variable % de volumen regenerado en la isodensidad 1 obtenido para la comparación de los grupos control y zoledronato.....página 179

Tabla 34. Test de ANOVA para la variable % de volumen regenerado en la isodensidad 2 obtenido para la comparación de los grupos control y zoledronato.....página 179

Tabla 35. Test de ANOVA para la variable % de volumen regenerado en la isodensidad 3 obtenido para la comparación de los grupos control y zoledronato.....página 179

Tabla 36. Test de ANOVA para la variable % de volumen regenerado en la isodensidad 4 obtenido para la comparación de los grupos control y zoledronato.....página 180

Tabla 37. Resumen de descriptivos para la variable densidad media de la isodensidad 1 para los dos grupos de estudio.....página 184

Tabla 38. Resumen de descriptivos para la variable densidad media de la isodensidad 2 para los dos grupos de estudio.....página 184

Tabla 39. Resumen de descriptivos para la variable densidad media de la isodensidad 3 para los dos grupos de estudio.....página 184

Tabla 40. Resumen de descriptivos para la variable densidad media de la isodensidad 4 para los dos grupos de estudio.....página 185

Tabla 41. Test de ANOVA para la variable densidad media de la isodensidad 1 obtenido para la comparación de los grupos control y zoledronato.....página 185

Tabla 42. Test de ANOVA para la variable densidad media de la isodensidad 2 obtenido para la comparación de los grupos control y zoledronato.....página 186

Tabla 43. Test de ANOVA para la variable densidad media de la isodensidad 3 obtenido para la comparación de los grupos control y zoledronato.....página 186

Tabla 44. Test de ANOVA para la variable densidad media de la isodensidad 4 obtenido para la comparación de los grupos control y zoledronato.....página 186

Tabla 45. Tabla en la que se recogen los estudios que han utilizado pruebas biomecánicas para la evaluación de resultados, especificando el tipo de ensayo y los resultados.....página 206 - 207

2.- INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructura química de los bifosfonatos.....	página 37
Figura 2. Esquema de la tibia de la oveja (gris) y la colocación del fijador externo (azul) con las referencias utilizadas.....	página 102
Figura 3. Fotografía del sistema de fijación externa utilizado para la estabilización de la osteotomía en la tibia de la pata de la oveja.....	página 107
Figura 4. Esquemas de los ensayos de flexión, a cuatro y tres puntos.....	página 110
Figura 5. Representación de los momentos flectores en los ensayos de flexión a tres y cuatro puntos.....	página 111
Figura 6. Esquema de la configuración del ensayo de flexión a cuatro puntos.....	página 115
Figura 7. Perfil polar de rigidez de un hueso osteotomizado y su contralateral sano.....	página 117
Figura 8. Figura esquemática de los puntos de apoyo en el ensayo de flexión a cuatro puntos y fotografía del ensayo.....	página 118
Figura 9. Gráfica típica de un ensayo de flexión en uno de los planos.....	página 118
Figura 10. Ensayo de torsión y fin del ensayo con rotura tibial.....	página 123
Figura 11. Grafica obtenida del ensayo a torsión.....	página 124
Figura 12. Gráfica de la curva par torsor-desplazamiento angular ²³²	página 125
Figura 13. Selección de la región de interés para la el estudio densitométrico de la totalidad del callo.....	página 127
Figura 14. Representación 3D de las isodensidades generadas para el estudio del callo en la zona de fractura.....	página 129

Figura 15: Imágenes de las tibias del grupo control en cortes coronales. La línea horizontal corresponde al corte a partir del cual se ha reconstruido la proyección axial.....página 139-40

Figura 16. Cortes axiales a nivel de la osteotomía de las tibias intervenidas y al mismo nivel en las tibias contralaterales del grupo control. Se ha medido la superficie de cada corte.....página 140-41

Figura 17: Imágenes de las tibias del grupo tratado con zoledronato (ZOL) en cortes coronales. La línea horizontal corresponde al corte a partir del cual se ha reconstruido la proyección axial.....página 142-43

Figura 18. Cortes axiales a nivel de la osteotomía de las tibias intervenidas y al mismo nivel en las tibias contralaterales del grupo tratado con zoledronato (ZOL). Se ha medido la superficie de cada corte.....página 143-44

Figura 19. Diagrama de cajas para la variable área de hueso obtenida a partir de imágenes de TAC para los callos de los grupos control y zoledronato.....página 146

Figura 20. Diagrama de cajas correspondiente a la variable relación de áreas para los callos de los grupos control y zoledronato.....página 147

Figura 21. Diagrama de cajas para la variable área de hueso obtenida a partir de imágenes de TAC para los huesos no operados de los grupos control y zoledronato.....página 149

Figura 22. Elipses de perfil polar de rigidez de los huesos osteotomizados.....página 153

Figura 23. Elipses de perfil polar de rigidez para los huesos contralaterales no operados.....página 154

Figura 24. Gráfica de cajas y arbotantes de la variable índice de rigidez.....página 155

Figura 25. Gráfica de cajas y arbotantes de la variable índice de áreas.....página 155

Figura 26. Gráfica de cajas y arbotantes de la variable índice de planitud.....página 156

Figura 27. Diagrama de cajas de la variable % par torsor para los huesos osteotomizados.....página 159

Figura 28. Diagrama de cajas de la variable % de tenacidad para los huesos osteotomizados.....página 159

Figura 29. Diagrama de cajas de la variable % rigidez torsional para los huesos osteotomizados.....página 160

Figura 30. Diagrama de cajas de la variable % par torsor para los huesos no operados.....página 162

Figura 31. Diagrama de cajas de la variable % de tenacidad para los huesos no operados.....página 162

Figura 32. Diagrama de cajas de la variable % rigidez torsional para los huesos no operados.....página 163

Figura 33. Diagramas de cajas para la variable volumen total del callo entre el grupo control y grupo ZOL de los huesos osteotomizados.....página 167

Figura 34. Diagramas de cajas para la variable densidad media del callo entre el grupo control y el grupo ZOL de los huesos osteotomizados.....página 168

Figura 35. Diagramas de cajas para la variable volumen total del callo entre grupo control y grupo ZOL de los huesos no operados.....página 170

Figura 36. Diagramas de cajas para la variable densidad media del callo entre el grupo control y el grupo ZOL de los huesos no operados.....página 172

Figura 37. Diagrama de cajas agrupado para la variable % del volumen de la isodensidad frente al total del hueso en la zona del espacio de fractura. En amarillo la isodensidad 1, en azul la isodensidad 2, en morado la isodensidad 3 y en naranja la isodensidad 4.....página 174

Figura 38. Diagrama de cajas para la variable % del volumen de la Isodensidad 1 frente al total del hueso en la zona del espacio de fractura.....página 175

Figura 39. Diagrama de cajas para la variable % del volumen de la Isodensidad 2 frente al total del hueso en la zona del espacio de fractura.....página 175

Figura 40. Diagrama de cajas para la variable % del volumen de la Isodensidad 3 frente al total del hueso en la zona del espacio de fractura.....página 176

Figura 41. Diagrama de cajas para la variable % del volumen de la Isodensidad 4 frente al total del hueso en la zona del espacio de fractura.....página 176

Figura 42. Diagrama de cajas agrupado para la variable densidad media para cada isodensidad. En amarillo la isodensidad 1, en azul la isodensidad 2, en morado la isodensidad 3 y en naranja la isodensidad 4.....página 181

Figura 43. Diagrama de cajas para la variable densidad media en la zona de fractura.....página 181

Figura 44. Diagrama de cajas para la variable densidad media correspondiente a la isodensidad 1.....página 182

Figura 45. Diagrama de cajas para la variable densidad media correspondiente a la isodensidad 2.....página 182

Figura 46. Diagrama de cajas para la variable densidad media correspondiente a la isodensidad 3.....página 183

Figura 47. Diagrama de cajas para la variable densidad media correspondiente a la isodensidad 4.....página 183

3.- INDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Rigidez a flexión.....página 97

Ecuación 2: Ecuación de la elipse obtenida del PPRF.....página 100

Ecuación 3. Parámetros que definen la ecuación de la elipse.....página 100

Ecuación 4. Ecuación que define el índice de rigidez.....página 101

Ecuación 5: Ecuación que define la relación de áreas.....página 102

Ecuación 6: Ecuación que define el índice de planitud.....página 102

Ecuación 7: Recta de calibrado para el cálculo de densidades óseas
a partir del número de Hounsfield obtenido por TAC.....página 111

4.- INFORME DE LA COMISIÓN DE ÉTICA E INVESTIGACIÓN

VNIVERSITAT [Q*] Facultat de Medicina i Odontologia
ID VALÈNCIA

INFORME DE LA COMISION DE ÉTICA E INVESTIGACIÓN

Reunidos los miembros de la **Comisión de Ética e Investigación** de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universitat de València, y una vez estudiada la documentación presentada por

D^a. Marta Salom Taverner

tienen a bien informar que el proyecto de investigación titulado:

“Estudio del efecto del alendronato sobre la consolidación de las fracturas”

cuyo investigador responsables es el

Profesor Francisco Gomar Sancho

cumple la legislación vigente sobre animales de experimentación:

REAL DECRETO 1201/2005 de 10 de octubre sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos (BOE núm 252 de 21 octubre 2005).

A los efectos oportunos, se firma en Valencia con fecha tres de noviembre de dos mil seis.

EL PRESIDENTE




Federico Pallardo Calatayud
Vicedecano de Investigación

5.- INFORME DE LA CONSELLERIA DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN DE LA GENERALITAT VALENCIANA



CONSELLERIA D'AGRICULTURA,
PESCA I ALIMENTACIÓ

GENERALITAT VALENCIANA
CONSELLERIA D'AGRICULTURA, PESCA I ALIMENTACIÓ
C/ Amadeu de Saboya, 2 - VALENCIA
Registre General

Data 11 DIC. 2006

EIXIDA 96676 04

INMACULADA NOGUERA SALVÁ
Unidad Central de Investigación
Facultad de Medicina y Odontología
Universidad de Valencia
Avda. Blasco Ibañez nº 17
46010 VALENCIA

Ref.: FBA/mb
Asunto: Remisión autorización procedimiento 2006/001

Adjunto remito la autorización de procedimiento 2006/001 correspondiente al Centro de Usuario 46/003 "Unidad Central de Investigación Facultad de Medicina y Odontología. Universidad de Valencia".

Valencia, 11 de diciembre de 2006

El Jefe de Servicio de Innovación
Y Tecnología Ganadera

Francisco Beltran Andreu



CONSELLERIA D'AGRICULTURA,
PESCA I ALIMENTACIÓ

PROPUESTA DE AUTORIZACION PROCEDIMIENTO 2006/001

Vista la solicitud de autorización para realizar el proyecto "ESTUDIO DEL EFECTO DEL ALENDRONATO SOBRE LA CONSOLIDACION DE LAS FRACTURAS", realizada en fecha 8.11.2006 con nº registro de entrada 30911 por Dña. Inmaculada Noguera en calidad de Veterinaria responsable del bienestar animal del centro usuario 46/003 "Unidad Central de Investigación Facultad de Medicina y Odontología. Universidad de Valencia".

Teniendo en cuenta que la investigadora Marta Salóm Taverner y D. Francisco Gomar Sancho se hallan homologados según Resolución de fecha 11.10.2006 del DOG 16.10.2006.

Considerando el informe del Comité de Etica del Centro de fecha 3 de noviembre de 2006.

En virtud de lo dispuesto en el art.18, punto 2 del Real Decreto 1201/2005, en el que se requiere autorización previa para llevar a cabo dicho experimento.

PROPONGO: Autorizar la realización del procedimiento para el número de animales, especie y periodo de tiempo solicitado.

Valencia a 29 de noviembre de 2006
El Jefe de Servicio de Tecnología Ganadera

Francisco Beltrán Andreu

AUTORIZACION PROCEDIMIENTO 2006/001

Vista la propuesta del Jefe de Servicio de Tecnología Ganadera de autorización para realizar el proyecto "ESTUDIO DEL EFECTO DEL ALENDRONATO SOBRE LA CONSOLIDACION DE LAS FRACTURAS", realizada en fecha 8.11.2006 con nº registro de entrada 30911 por Dña. Inmaculada Noguera en calidad de Veterinaria responsable del bienestar animal del centro usuario 46/003 "Unidad Central de Investigación Facultad de Medicina y Odontología. Universidad de Valencia".

Teniendo en cuenta que la investigadora Marta Salóm Taverner y D. Francisco Gomar Sancho se hallan homologados según Resolución de fecha 11.10.2006 del DOG 16.10.2006.

Considerando el informe del Comité de Etica del Centro de fecha 3 de noviembre de 2006.

En virtud de lo dispuesto en el art.18, punto 2 del Real Decreto 1201/2005, en el que se requiere autorización previa para llevar a cabo dicho experimento.

AUTORIZO: La realización del procedimiento para el número de animales, especie y periodo de tiempo solicitado.

Valencia a 29 de noviembre de 2006
El Director General de Investigación, Desarrollo e
Innovación Agropecuaria.

Eduardo Primo Millo