

# Evaluación biomecánica de un modelo de defecto óseo en tibia de rata

C. Hernández-Flores\*

A. Delgado\*\*

V.M. Domínguez-Hernández\*\*\*

\* Servicio de Bioquímica, Instituto Nacional de Rehabilitación.

\*\* Departamento de Fisiología, Escuela de Medicina, Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, Chih.

\*\*\* Laboratorio de Biomecánica, Instituto Nacional de Rehabilitación.

## Correspondencia:

Cecilia Hernández-Flores,  
Servicio de Bioquímica, Instituto Nacional de Rehabilitación. Calz. México-Xochimilco Núm. 289,  
Col. Arenal de Guadalupe, México D.F. 14389. Tel.: +52 (55) 59991000, Ext. 19509, Fax: +52 (55) 56039127.  
Correo electrónico: cehernandez@inr.gob.mx.

Received article: 14/octubre /2010

Accepted article: 12/marzo/2011

## RESUMEN

El estudio de la reparación de un defecto óseo es importante en cirugía ortopédica y odontológica. Los defectos óseos pueden ser de tamaño crítico (no se reparan espontáneamente) o de tamaño no crítico (se reparan espontáneamente), en ambos tipos de defectos es necesario hacer estudios para inducir su completa reparación. El propósito de este trabajo fue valorar un modelo de defecto óseo no crítico por medio de análisis biomecánico destructivo de flexión a tres puntos en tibia de rata. Se estudiaron tres grupos, un grupo control intacto, un grupo con defecto y un tercer grupo con defecto al que se dejó reparar espontáneamente por 21 días. Encontramos diferencia significativa entre el grupo con defecto y el grupo control, esta diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) le da validez al modelo al poder diferenciar entre estos grupos, además, la energía a carga máxima fue significativamente diferente entre el grupo con reparación espontánea y el grupo control, lo que indica que el defecto se encuentra en proceso de reparación. Los resultados muestran que con nuestro modelo se puede valorar el avance de la reparación de un defecto óseo no crítico por medio de análisis biomecánico. Nuestro modelo es de bajo costo y permite el estudio de nuevos materiales, métodos y/o sustancias que favorezcan la disminución del tiempo de reparación ósea.

**Palabras clave:** Modelo de defecto óseo, reparación ósea, prueba biomecánica de flexión.

## ABSTRACT

The study of bone defects repair is one important aspect in orthopedic and odontological surgery. Missing segments of bone from trauma, tumors, and infection can be considered of critical size (do not repair spontaneously) and of non-critical size (do repair spontaneously). The goal of this work was to assess a non-critical bone defect model, through the biomechanical analysis of the three point flexural test in the rat tibia. We studied three groups: intact (control), defect and defect left to repair spontaneously for 21 days. We found a significant difference between the control group and the bone defect group, which validates the model; furthermore, the energy at maximum load was significantly different between the control group and the spontaneous repair group, an observation that indicates that healing of the bone defect is indeed the healing process of a bone defect can be evaluated; in addition, the low cost of our model allows the study of new materials, substances and methods aimed to accelerate bone repair.

**Key Words:** Bone defect model, bone repair, biomechanical bending test.

## INTRODUCCIÓN

Las fracturas así como los defectos óseos (carencia de un segmento óseo, pequeño o grande) causan un gran costo económico a la sociedad y a la persona que lo padece, los periodos de tratamiento pueden llegar a ser largos y complicados<sup>1,2</sup>. Es importante hacer estudios de nuevos materiales y tratamientos en modelos animales que disminuyan el tiempo de recuperación y que posteriormente lleven a la aplicación en humanos.

La reparación ósea ya sea de una fractura o de un defecto representa un reto desde el punto de vista biomecánico. Paralelamente al proceso de reparación biológica, el hueso experimenta una evolución en sus propiedades mecánicas hasta que se recuperan los valores anteriores a la lesión<sup>3,4</sup>. El tiempo necesario para la recuperación de las propiedades mecánicas depende de numerosos parámetros, como el tipo y tamaño de fractura o defecto, el tipo de hueso, las características del paciente, el tratamiento aplicado, etc<sup>5-7</sup>. La rapidez de reparación del tejido óseo en general, es inferior a la de otros tejidos, por lo que es necesario el estudio de nuevos materiales y estrategias que favorezcan la reparación sin dañar al hueso<sup>8-10</sup>. Para llevar a cabo este tipo de estudios es deseable contar con modelos animales que sean de fácil manejo y de bajo costo para poder experimentar con nuevos materiales, sustancias, entramados o combinaciones de estos capaces de sustituir al hueso en el tratamiento de defectos óseos de diferente etiología (traumática, tumoral, infecciosa o retiro de material de osteosíntesis)<sup>1,11-15</sup>.

Existen diversos modelos animales de reparación ósea, en algunos de estos modelos se realiza una fractura que se estabiliza por medio de materiales de osteosíntesis, como clavos intramedulares, tornillos y fijadores externos<sup>16,17</sup>, estos procedimientos pueden presentar inestabilidad mecánica debido a los micromovimientos derivados de la variación natural del diámetro del canal medular, así como problemas relacionados con la presencia de materiales extraños al tejido óseo, que pueden causar alteraciones en la respuesta biológica<sup>6,12</sup>. Los modelos animales de defectos óseos se dividen en defectos óseos no críticos que son aquellos que durante su curso temporal se reparan espontáneamente y los defectos óseos críticos que son los que no llegan a repararse espontáneamente<sup>2,14</sup>.

Existen diferentes tipos de ensayos (tracción, compresión, torsión, flexión a tres puntos y flexión a cuatro puntos), para valorar las propiedades bio-

mecánicas del hueso completo, estos ensayos se han utilizado ampliamente para estudiar el tejido óseo, en diferentes tipos de huesos (tibias, peroné, vértebras, etc.) y modelos animales.

En este trabajo valoramos un modelo experimental de reparación de un defecto óseo no crítico por medio de análisis biomecánico de flexión a tres puntos, útil para el estudio de nuevos materiales, sustancias y entramados biológicos o sus combinaciones que puedan favorecer la reparación, sin la necesidad de utilizar material de osteosíntesis.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Animales

Veintiún ratas macho Wistar con un peso corporal (pc) de 300-340 gramos (g) fueron colocadas en cajas de policarbonato con ciclos de luz-oscuridad de 12:12, con alimento comercial estandarizado (Harlan 2018S) y agua a libre demanda. La anestesia general fue inducida con pentobarbital sódico (50 mg/kg, i.p.). Los animales fueron sacrificados en una cámara de CO<sub>2</sub>. Su manejo y mantenimiento se realizó con estricto apego a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio<sup>18</sup>.

### Grupos

Los animales se dividieron aleatoriamente en tres grupos de siete ratas cada uno y fueron organizados de la siguiente manera: T-00, ratas control no tratadas con edad y peso equivalente a las experimentales. T0-C ratas con un peso equivalente a los controles a las que se les practicó un defecto en la tibia derecha e inmediatamente después fueron ensayadas para confirmar que el defecto realmente cambia las propiedades biomecánicas del hueso. T3-C, ratas a las que se les practicó un defecto en la tibia derecha y se les permitió recuperarse durante tres semanas, tiempo en el que se considera que el defecto ha llegado a la etapa en la cual se encuentra relleno de hueso inmaduro<sup>4,19,20</sup>, lo que nos permite comparar contra un hueso intacto.

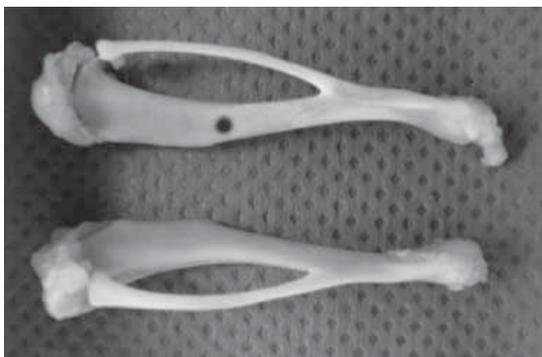
### Defecto óseo

El miembro posterior derecho fue afeitado y lavado con Dermoline (solución antiséptica y germicida de lodo-povidona 8 g/100 ml; DEGASA), se practicó

una incisión de 1 cm a través de la piel directamente sobre la cresta tibial, se puso especial cuidado de no dañar el hueso subyacente ni el músculo adyacente. La fascia superficial se separó de la piel y se retrajo para exponer la tibia. Se practicó un defecto unicortical de 1 mm de diámetro en el centro de la región de interés (Figura 1) mediante un taladro eléctrico (Mini drill Pros Kit Model PK-500) con una fresa dental de tungsteno para cirugía de hueso, con forma de bola, se limpió el área y se suturó la piel con puntos discontinuos simples a seda quirúrgica 000 (Atramat, México) montada en aguja redonda. Se monitoreó a los animales cada tercer día, verificando su estado de salud general y el miembro sometido a experimentación en particular, además se registró el pc de cada uno de los animales al final del experimento.

### Prueba biomecánica

Las tibias fueron resecadas, se disecaron los tejidos blandos y se prepararon para los ensayos destructivos de flexión a tres puntos<sup>4,18,21-23</sup> en una máquina universal de ensayos (Instron 4502, Instron Inc., Canton, MA) y una celda de carga de 1 kN. La tibia derecha se colocó en dos barras redondas separadas a una distancia de 14 mm y se le aplicó una precarga de  $3.6 \pm 0.1$  N. Las pruebas se realizaron a una velocidad de 2.5 mm/min. La tibia derecha (con defecto) se colocó en medio de las barras, en el lado de tracción del hueso, cuidando que la tibia esté alineada en las barras del dispositivo al centro de los apoyos y se aplicó la carga en el lado opuesto hasta la ruptura de la tibia. En cuanto a la tibia izquierda (intacta) se



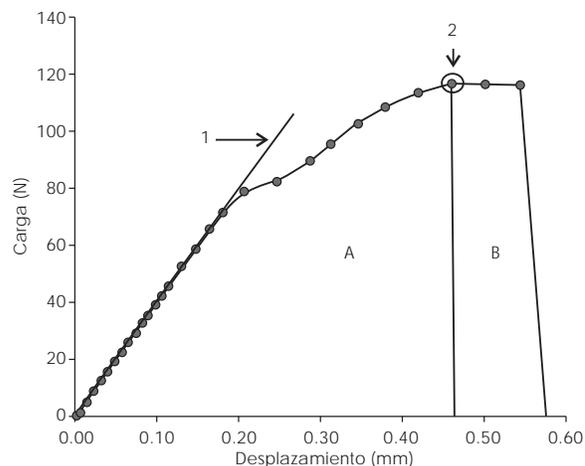
**Figura 1.** Tibias resecadas. En la parte superior de la figura se puede observar el defecto no crítico en la tibia y en la parte inferior se muestra la tibia contralateral intacta.

aplicó la carga al mismo nivel de la tibia derecha siguiendo el mismo procedimiento. Todas las pruebas se realizaron durante los primeros 30 minutos después del sacrificio.

Las curvas de carga y desplazamiento se registraron a través de la interface de la máquina universal de ensayos y capturadas en una computadora convencional. Se calcularon la rigidez, la resistencia, la energía a carga máxima y la energía máxima (Figura 2) a partir de cada una de las gráficas obtenidas por medio del programa Origin 8 (OriginLab, MA, EUA). Para cada grupo, las mediciones se normalizaron con la tibia control de cada animal.

### Análisis estadístico

Con base en el tamaño de la muestra y asumiendo no-normalidad de los datos se decidió realizar el análisis estadístico con pruebas estadísticas no paramétricas<sup>24</sup>. La prueba de Kruskal-Wallis es útil para comparar tres o más grupos, por lo que se empleó inicialmente para saber si existían diferencias entre los grupos (T-00, T0-C, T3-C). Sin embargo,



**Figura 2.** Medición de los parámetros biomecánicos.

- La rigidez es la pendiente de la curva carga-desplazamiento en su porción lineal inicial (1).
- La resistencia es la carga máxima que se registró durante el ensayo y corresponde al punto más elevado de la gráfica (2).
- La energía máxima es la que se requiere para que la tibia alcance su punto de mayor resistencia y se determina calculando el área bajo la curva (A).
- La energía total es la que se absorbe durante el ensayo para llevar el espécimen a la falla; se señala como el área total bajo la curva (suma de las áreas A + B).

en caso de existir diferencias no indica entre cuáles grupos existe esa diferencia. Por lo tanto, en caso de encontrar diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) se usó posteriormente la prueba U de Mann-Whitney comparando a cada uno de los grupos (e.g.,: T-00 vs T0-C, T-00 vs T3-C, etc.). El nivel de significancia fue de 0.05 y el análisis se realizó con el software SPSS 9.0 (SPSS Inc., Chicago IL, USA).

**RESULTADOS**

Durante el transcurso del experimento las ratas presentan un buen estado de salud en general, apoyan el miembro experimental, se alimentan y toman agua. El peso inicial de las ratas fue de 300 a 340 g de pc y al sacrificio fue de 400 a 423 g de pc, subieron en promedio entre 100 y 120 g de pc, lo que nos indica que crecieron de forma uniforme durante el curso del experimento.

El promedio de las mediciones de cada uno de los parámetros biomecánicos normalizados

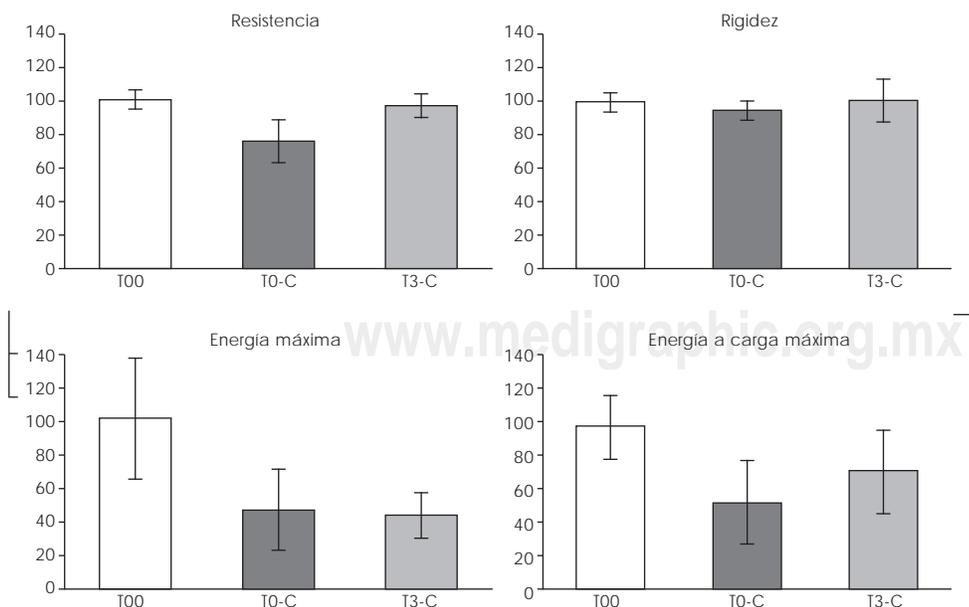
con respecto a la tibia contralateral para todos los grupos se muestran en el Cuadro 1 y Figura 3, en donde observamos que los valores más altos los presenta el grupo T00 que corresponde a las tibias intactas (valores biomecánicos normales) seguido de los valores correspondientes al grupo T3-C que corresponden al grupo con tres semanas de reparación en donde el defecto aún no se encuentra reparado completamente y por último los valores más bajos corresponden al grupo T0-C que pertenecen al grupo con defecto sin reparación (ensayado inmediatamente después de que se practicó el defecto).

El análisis de Kruskal-Wallis entre grupos se muestran en el Cuadro 2, en donde observamos que existe diferencia significativa para todos los parámetros excepto para la rigidez.

En el Cuadro 3, se muestran los resultados obtenidos para el análisis entre grupos con la prueba de U de Mann-Whitney. Para los grupos T00 vs T0-C encontramos diferencia significativa para los tres

**Cuadro 1.** Resultados del promedio de las mediciones de los parámetros obtenidos de cada una de las gráficas y normalizados con respecto a la tibia contralateral de cada animal.

	Energía a carga máxima (N-mm)	Energía máxima (N-mm)	Resistencia (N)	Rigidez (N/mm)
T00	95.05 ± 17.61	101.7 ± 35.8	100.94 ± 4.9	100.42 ± 4.73
T0-C	51.37 ± 25.00	46.88 ± 24.08	76.32 ± 15.09	95.47 ± 6.08
T3-C	79.36 ± 22.75	43.94 ± 12.82	96.62 ± 7.33	101.43 ± 12.05



**Figura 3.** Resultados de los datos normalizados de los cuatro parámetros medidos (Energía, energía a carga máxima, resistencia y rigidez) para los tres grupos estudiados. En las gráficas podemos observar que existen diferencias entre los grupos para tres de los parámetros analizados.

**Cuadro 2.** Resultados de la prueba Kruskal-Wallis.

Energía a carga máxima (N-mm)	Energía máxima (N-mm)	Resistencia (N)	Rigidez (N/mm)
0.004*	0.028*	0.004*	0.381

\* Diferencia estadísticamente significativa  $p < 0.05$ .

**Cuadro 3.** Resultados de la prueba de U de Mann-Whitney.

	Energía a carga máxima (N-mm)	Energía máxima (N-mm)	Resistencia (N)
T00 vs T0-C	0.007*	0.017*	0.001*
T00 vs T3-C	0.001*	0.181	0.181
T0-C vs T3-C	0.945	0.101	0.022*

parámetros probados. Esto nos indica que podemos diferenciar entre una tibia intacta y una con defecto óseo.

En el caso de T00 vs T3-C, encontramos diferencia significativa sólo para la energía a carga máxima.

La reparación del defecto se encuentra en curso. Lo que se refuerza con la diferencia significativa en resistencia al comparar los grupos T0-C vs T3-C.

## DISCUSIÓN

Es importante el estudio de nuevos tratamientos y materiales que estimulen la reparación de un defecto óseo para la cirugía ortopédica y odontológica, ya que causan costos económicos altos y periodos de tratamiento que pueden llegar a complicarse.

Diversas condiciones como fragmentos de hueso separado por trauma o cirugía, resección de tumores o quistes, retiro de material de osteosíntesis, tratamiento de fracturas o la pérdida de porciones de hueso debido a infecciones producen defectos de tamaños desiguales<sup>2,6,10</sup>. Tanto en los defectos óseos críticos como no críticos se busca estimular la reparación completa del defecto de forma más activa que siguiendo el curso normal de la consolidación, mediante la estimulación del tejido óseo por medio de materiales, factores de crecimiento o trasplantes<sup>2,9,10,25-27</sup>.

Para analizar las posibles ventajas de estas maniobras se necesitan modelos animales de experimentación. Existen diversos modelos experimentales para el estudio de la reparación ósea, en estos modelos se han utilizado diferentes especies

de animales como ratones, ratas, cabras, perros y conejos<sup>2,4,12,15,23,28-32</sup>; sin embargo, el mantenimiento, el material de osteosíntesis y la cirugía de estos modelos es costoso. Nuestro modelo en tibia de rata Wistar es económico, de fácil manipulación, bajo costo de mantenimiento y no requiere de material de osteosíntesis.

En nuestro modelo al crear un defecto no crítico en la tibia de la rata tenemos un mejor control del sitio de lesión, ya que al no crear una fractura completa no se sufre de desestabilización o consolidación viciosa (curación de una fractura con alineamiento anatómico incorrecto, que puede derivar en deformidades o mal funcionamiento). Tampoco es necesario utilizar material de osteosíntesis ya que no se afecta la estabilidad ósea y con esto evitamos la presencia de un cuerpo extraño que puede causar alteraciones en los procesos biológicos que se requieren para que una fractura consolide<sup>6</sup>.

El aumento de peso de todos los animales fue semejante al final del experimento, esto demuestra un control de la alimentación (libre demanda) y la respuesta del animal a la cirugía; durante cirugías invasivas el peso del animal puede disminuir y las condiciones generales de salud pueden verse afectadas, derivando en un retraso en la recuperación de los animales. Ya que la cirugía efectuada es de mínima invasión, el defecto es de mínima invasión, el defecto es de tamaño no crítico y el miembro operado no necesita ser estabilizado, el animal después de recuperarse de la cirugía consigue apoyar la extremidad, camina, se alimenta y toma agua, todos estos factores favorece su recuperación.

Por otro lado, debido a que existe variabilidad en las dimensiones del canal medular de cada animal, el grado de inestabilidad puede variar en esta proporción cuando se utiliza material de osteosíntesis<sup>6</sup>, en este modelo al no ser afectada la estabilidad ósea y no necesitar de material extraño al hueso, la reparación del defecto no se afecta por parámetros externos, no se induce una respuesta a ellos y de esta manera las variaciones que pueden existir en el canal afectan de forma mínima durante el curso de la reparación. Esto también es minimizado al tener un rango de peso inicial, cepa (Wistar) y sexo (machos) de los animales lo que reduce significativamente el impacto sobre el hueso al ser controlados, ya que se sabe que los parámetros biomecánicos y biológicos cambian al variar estas condiciones.

Además, para valorar el comportamiento biomecánico del hueso existen diferentes tipos de ensayos, como tracción, compresión, flexión a tres y cuatro puntos, torsión, pero el ensayo de flexión a tres puntos es el más adecuado para animales pequeños<sup>4,18,32,33</sup>. Aunque el comportamiento mecánico del hueso es complejo, se ha simplificado de diferentes maneras con la finalidad de proponer modelos que se aproximen a su comportamiento *in vivo*<sup>34,35</sup>. Las propiedades biomecánicas del hueso, no son valores homogéneos que se puedan definir de forma precisa, ello depende de la distribución mineral, el arreglo estructural, las variaciones entre individuos y la función del hueso a estudiar, estos valores se presentan en forma de curvas de las que podemos calcular los parámetros a estudiar y comparar<sup>4,21-23,32,34,36</sup>.

El ensayo biomecánico de las tibias ressecadas se realiza entre los 30 minutos inmediatos a la disección de las tibias. Durante el diseño de este modelo realizamos pruebas sometiendo las tibias a diferentes intervalos de tiempo y condiciones (tibias totalmente sumergidas en solución fisiológica, tibias cubiertas con gasas empapadas de solución fisiológica, o tibias dejadas al aire), que fueron ensayadas inmediatamente después de la disección y hasta 2 horas después bajo las diferentes condiciones, encontramos que pasados 30 minutos las propiedades biomecánicas cambian (datos no mostrados).

Algunos estudios reportan que las propiedades mecánicas del hueso cambian dependiendo del grado de hidratación, lo que concuerda con lo que nosotros observamos<sup>34,37</sup>. Manjulabala y cols<sup>4</sup>, no encontraron diferencia significativa durante los tiempos de hidratación probados (3 y 6 horas)

mencionan que 3 horas es suficiente para recuperar las condiciones del hueso después lavarlas con detergente líquido posterior a ser ressecados, en nuestro modelo no es necesario ningún tratamiento posterior a la resección de la tibia, ni es necesario hidratarla como lo mostraron nuestros estudios previos, ya que el ensayo siempre se realiza dentro de los primeros 30 minutos después de su disección, en donde los parámetros biomecánicos todavía no se alteran.

Los valores promedio obtenidos con el ensayo biomecánico de la tibia para los parámetros probados presentan diferencias con respecto al grupo T00 que es el grupo de tibias intactas, los valores de este grupo bajo nuestras condiciones los tomamos como los parámetros normales para una tibia de rata Wistar macho de entre 400 y 420 g de pc, a partir de nuestros datos (Cuadro 1 y Figura 3). En cuanto a las tibias que se les dejó reparar espontáneamente por tres semanas presentan valores diferentes a los de la tibia intacta, esto indica que la tibia aún no está completamente reparada; para el grupo de tibias con defecto los valores promedio comparados con los de las tibias intactas son diferentes, excepto en rigidez.

Estas diferencias nos dieron soporte para continuar con el análisis estadístico por medio de pruebas no paramétricas por ser un grupo con un número de individuos pequeños.

El análisis estadístico de la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis de los parámetros biomecánicos de los tres grupos muestra que existe diferencia significativa para todos excepto para la rigidez (Cuadro 2), lo que indica que podemos comparar tres de los cuatro valores probados entre los grupos. La rigidez no presenta diferencia significativa, lo que concuerda con Cerrud y cols<sup>34</sup>, que reportan que la rigidez calculada a partir de sus gráficas es prácticamente la misma que tenían al principio del ensayo y señalan que este resultado no es un error de medición.

El análisis entre grupos presenta diferencia significativa para la prueba no paramétrica U-Mann-Whitney para los tres parámetros probados entre los grupos T00 y T0-C (Cuadro 3), lo que nos indica que por medio de análisis biomecánico podemos diferenciar entre el grupo con tibias intactas y el grupo con defecto, esto da validez al modelo, ya que al diferenciar entre una tibia con defecto de tamaño no crítico contra una intacta podemos probar materiales o sustancias que favorezcan el proceso de reparación y los podemos distinguir por medio de análisis de flexión a tres puntos, esta ob-

servación se refuerza entre T0-C y T3-C al encontrar diferencia significativa en cuanto a la resistencia.

En el caso de T00 y T3-C, encontramos diferencia significativa sólo para la energía a carga máxima (Cuadro 2), este resultado nos confirma que el defecto a tres semanas de la cirugía aún está en proceso de reparación y que las propiedades biomecánicas aún no se han recuperado a tres semanas. Este resultado se correlaciona con el análisis que realizó Landry y cols<sup>19</sup>, en donde desde el punto de vista histopatológico reportan que a tres semanas de reparación el defecto se encuentra relleno pero no reparado, lo que concuerda con Manjulabala y cols<sup>26</sup>. Por otro lado Neri Basurto y cols<sup>20</sup>, reportan, de estudios de microscopía electrónica de barrido, que antes de 14 días de reparación de una fractura en tibia de rata el callo óseo es material fibrilar y que después de este tiempo se inicia la calcificación, terminando a los 30 días.

Este estudio nos induce a evaluar de forma minuciosa en tiempos más cortos (cada tercer día) la recuperación de las propiedades biomecánicas de un defecto óseo no crítico ya que a medida que se incrementa la mineralización aumenta la resistencia a la compresión.

Los modelos animales son indispensables para el estudio de nuevos materiales y estrategias de reparación ósea, en particular los modelos en rata como el nuestro por ser económico, de fácil manejo, sin la interferencia de material de osteosíntesis y por ser adecuado para diferenciar etapas durante el proceso de reparación ósea desde el punto de vista biomecánico.

### CONCLUSIONES

Por medio del análisis biomecánico destructivo de flexión a tres puntos utilizado para estudiar este modelo de defecto óseo no crítico se consigue diferenciar de una manera sencilla entre una tibia de rata intacta y una tibia de rata con defecto. Además se logra diferenciar entre una tibia de rata en proceso de reparación y una tibia de rata con un defecto sin reparación.

Este modelo de defecto óseo, tiene amplias posibilidades de aplicación para el estudio de nuevos materiales combinación de materiales, cultivos celulares y/o entramados, para estimular la reparación ósea en un tiempo menor al del curso normal, ya sea para cirugía ortopédica, traumatología, cirugía plástica y odontología, ya que es económico, de fácil manejo y análisis.

Por otro lado, este tipo de modelos permite caracterizar el comportamiento del hueso, en este caso para un defecto óseo no crítico y bajo ciertas condiciones los datos obtenidos pueden ser útiles en modelos de simulación para realizar análisis con modelos computacionales.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo para el análisis estadístico al Dr. Saúl Renán León y al Dr. Antonio Miranda Duarte y por las sugerencias durante el desarrollo de este trabajo a la Dra. en C.Q. Rebecca E. Franco y Bourland.

Los autores desean expresar su reconocimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT; este trabajo fue financiado a través del proyecto 112002-5-J34778-U.

### REFERENCIAS

1. Pape HC, Pufe Th. Bone defect and nonunions-What role does vascularity play in filling the gap? *Injury* 2010; (41): 553-554.
2. Keibl C, Fúgl A, Zanoni G, Tangl S, Wolbank S, Redl H, Griensven M. Human adipose derived stem cells reduce callus volume upon BMP-2 administration in bone regeneration. *Injury Int J Care Injured* 2011.
3. Sharir A, Barak MM, Shahar R. Whole bone mechanics and mechanical testing. *The Veterinary Journal* 2008; (177): 8-17.
4. Manjulabala I, Lui Y, Epari DR, Roschger P, Shell H, Fratzi P, Duda GN. Spatial and temporal variations of mechanical properties and mineral content of the external callus during bone healing. *Bone* 2009; (45): 185-192.
5. Albert H, Burstein PH D, Timothy M, Wright PH D. Fundamentals of orthopaedic biomechanics. Edit. Williams and Wilkins. (Baltimore, Maryland USA), 1994.
6. Buckwalter JA, Einhorn TA, Marsh LJ. Bone and joint Healing. CH8, RP-FPRG-0627. [www.lww.com](http://www.lww.com).
7. Dimitriou R, Tsiridis E, Giannoudis PV. Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury. Int J Care Injured* 2005; (36): 392-1404.
8. Dinatale E, Guercio E. Regeneración ósea guiada (GBR). Revisión de la literatura. *Acta Odontol Venez* 2008; 46(4): 554-561.
9. Lizarbe MA. Sustitutivos de tejidos: de los biomateriales a la ingeniería tisular. *Rev R Acad Cienc Exact Fis Nat (Esp)* 2007; 101(1): 227-249.
10. Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: An update. *Injury. Int J Care Injured* 2005; (36S): S20-S27.
11. Ochoandiano S. Relleno de cavidades óseas en cirugía maxilofacial con materiales aloplásticos. *Rev Esp Cir Oral y Maxilofac* 2007; (29): 21-32.
12. Reicherta JC, Saifzadeha S, Wullschlegera ME, Eparia DR, Schutza MA, Dudac GN, et al. The challenge of establishing preclinical models for segmental bone defect research. *Biomaterials* 2009; (30): 2149-2163.
13. Rojas S, Dominguez VM. Procedimientos, técnicas y comunicaciones en injertos óseos, investigación e información en ortopedia. *Acta Ortopédica Mexicana* 2002; (16): 225-230.
14. Lutolf MP, Weber FE, Schmoekel HG, Schense JC, Kohler T, Müller R, Hubbell JA. Repair of bone defects using synthetic

- mimetics of collagenous extracellular matrices. *Nature Biotechnology* 2003; (21): 513-518.
15. Liebschner MAK. Biomechanical considerations of animal models used in tissue engineering of bone. *Biomaterials* 2004; (25): 1697-1714.
  16. Navarro M, Michiardi A, Castano O, Planell JA. Biomaterials in orthopaedics. *J R Soc Interface* 2008; (5): 1137-58.
  17. Andreassen TT, Fledelius Ch, Ejersted Ch, Oxlund H. Increases in callus formation and mechanical strength of healing fractures in old rats treated with parathyroid hormone. *Acta Orthop Scand* 2001; 72(3): 304-307.
  18. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Tomo DLXX No. 11 México, D.F. miércoles 22 de agosto de 2001. Diario Oficial.
  19. Landry PS, Marino AA, Sadasivan KK, Albright JA. Bone injury response. An animal model for testing theories of regulation. *Clin Orthop Relat Res* 1996; (332): 260-73.
  20. Neri R, Solís L, Villegas H. Estudio de la consolidación ósea en rata por microscopía electrónica de barrido ambiental. *Vet Méx* 2008; (39): 187-198.
  21. Bak B, Andreassen TT. Reduced energy absorption of healed fracture in the rat. *Acta Orthop Scand* 1988; (59): 548-51.
  22. Díez MP, Chávez D, Mercado R, Domínguez VM, Torres MA, Lomeli PA, Méndez J. Modelo experimental de fracturas y consolidación ósea en ratas. *Rev Mex Ortop Traum* 2002; (16): 113-117.
  23. Guillerminet F, Beaupied H, Fabien-Soulè V, Tomè D, Benhamou CL, Roux C, Blais A. Hydrolyzed collagen improves bone metabolism and biomechanical parameters in ovariectomized mice: an *in vitro* and *in vivo* study. *Bone* 2010; (46): 827-834.
  24. Siegel S, Castellan NJ. *Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences* (second edition). Edit. McGraw-Hill (New York), 1988.
  25. Soucacos PN, Johnson EO, Babis G. An update on recent advances in bone regeneration. *Injury, Int J Care Injured* 2008; (39S2): S1-S4.
  26. Drosse I, Volkmer E, Capanna R, De Biase P, Mutschler W, Schieker M. Tissue engineering for bone defect healing: an update on a Multi-component approach. *Injury, Int J Care Injured* 2008; (39S2): S9-S20.
  27. De Long WG, Einhorn TA, Koval K, McKee M, Smith W, Sanders R, Watson T. Bone grafts and bone graft substitutes in orthopaedic trauma surgery. A critical analysis. *J Bone Joint Surg Am* 2007; 89(3): 649-658.
  28. Anderson M, Dhert W, Bruijn J, Dalmeijer R, Leenders H, Blitterswijk C, Verbout A. Critical size defect in the Goat's os ilium. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 1999; (364): 231-239.
  29. Nandi SK, Kundu B, Datta S, De DK, Basu D. The repair of segmental bone defects with porous bioglass: An experimental study in goat. *Research in Veterinary Science* 2009; (86): 162-173.
  30. Nielsen FF, Karring T, Gogolewski S. Biodegradable guide for bone regeneration Polyurethane membranes tested in rabbit radius defects. *Acta Orthop Scand* 1992; (63): 66-69.
  31. Nielsen HM, Andreassen TT, Ledet T, Oxlund H. Local injection of TGF- $\beta$  increases the strength of tibial fractures in the rat. *Acta Orthop Scand* 1994; (65): 37-41.
  32. Beaupied H, Lespessailles E, Benhamou CL. Evaluation of macrostructural bone biomechanics. *Joint Bone Spine* 2007; (74): 233-239.
  33. Vashishth D. Small animal bone biomechanics. *Bone* 2008; (43): 794-797.
  34. Cerrud SM, Narváez MY, Muñoz V, Schouwenaars R. Modelado del comportamiento mecánico del hueso (análisis de los efectos del grado de hidratación). *Ingeniería Mecánica. Tecnología y Desarrollo* 2005; (1): 223-232.
  35. Hernández CJ, Keaveny TM. A biomechanical perspective on bone quality. *Bone* 2006; (39): 1173-1181.
  36. Schrieffer JL, Robling AG, Warden SJ, Fournier AJ, Mason JJ, Turner CH. A comparison of mechanical properties derived from multiple skeletal sites in mice. *Journal of Biomechanics* 2005; (38): 467-475.
  37. Evaw FG. *Mechanical properties of bone*. Edit. Charles C Thomas (Springfield IL), 1973.