

TO
1276.

TOCg
OLSZ

**BIOCOMPATIBILIDAD DE LA CÁSCARA
DE HUEVO UTILIZADA COMO MATERIAL DE RELLENO ÓSEO EN CONEJOS BLANCOS
NUEVA ZELANDA**

**GABRIEL EDUARDO PÉREZ VALDERRUTEN
RUBÉN DARÍO QUINTANA ACOSTA
PAOLA ANDREA MARTÍNEZ VERA
PAOLA ANDREA LÓPEZ SÁNCHEZ**

**COLEGIO ODONTOLÓGICO COLOMBIANO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y SALUD PÚBLICA
SANTIAGO DE CALI
2004-I**

**BIOCOMPATIBILIDAD DE LA CÁSCARA
DE HUEVO UTILIZADA COMO MATERIAL DE RELLENO ÓSEO EN CONEJOS BLANCOS
NUEVA ZELANDA**

GABRIEL EDUARDO PÉREZ VALDERRUTEN

RUBÉN DARÍO QUINTANA ACOSTA

PAOLA ANDREA MARTÍNEZ VERA

PAOLA ANDREA LÓPEZ SÁNCHEZ

**Trabajo investigativo para la cátedra de
Proyecto de Investigación**

Asesor Científico

DR. DIEGO FERNANDO SÁNCHEZ H.

Cirujano Maxilofacial

**COLEGIO ODONTOLÓGICO COLOMBIANO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y SALUD PÚBLICA
SANTIAGO DE CALI**

2004-I

DEDICATORIA

Queremos dedicar este trabajo a nuestras familias que nos han apoyado, tanto moral como económicamente en todo el transcurso de nuestras vidas y especialmente, han estado presentes en nuestro recorrido hacia la culminación de nuestra carrera profesional, sin ese apoyo los obstáculos de ese sendero, habrían sido mas difíciles de sobrellevar.

Gracias por todo el esfuerzo que han hecho para regalarlos el tesoro mas grande que tenemos, nuestro estudio y la posibilidad de salir adelante y de crecer más como personas y ahora, como profesionales.

AGRADECIMIENTOS

- A nuestros padres por todo el apoyo económico y moral que nos dieron en el transcurso de nuestro trabajo de tesis.
- Al Dr. Diego Sánchez. La Dra. Paula Bermúdez y la Dra. Blanca Acosta por guiarnos en el proceso y desarrollo del trabajo de tesis.
- Al Dr. Oscar Collazos por asesorarnos en la parte histopatológica del proyecto.
- A la fundación Zoológico de Cali, el Dr. Delio Orjuela y la Dra. Maria Alejandra Arango por sus conocimientos veterinarios, y la facilitación del lugar para el bioterio.
- Y a todos aquellos que de una u otra forma estuvieron pendientes del proceso de elaboración del proyecto.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	20
1. CONTEXTO DE LA INVESTIGACION	23
1.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	23
1.2 PREGUNTAS DE INVESTIGACION	23
1.3 JUSTIFICACIÓN	23
1.4 OBJETIVOS	24
1.4.1 Objetivo General	24
1.4.2 Objetivos específicos	24
2. MARCO TEÓRICO	26
2.1 HUESO	26
2.1.1 Tipos de hueso	27
2.1.2 Cicatrización ósea	31
2.1.3 Cicatrización de heridas traumáticas	38
2.2 INJERTOS	41
2.2.1 Definición	41
2.2.2 Indicaciones	41
2.2.3 Supervivencia del injerto óseo	41
2.2.4 Tejido donante aplicación clínica	42
2.2.5 Clasificación de los injertos	44
2.2.6 Efecto de la irradiación corporal en un trasplante óseo vascularizado	
Experimental	45
2.2.7 Inmunología	45
2.3 CASCARA DE HUEVO	48
2.4 CONEJOS	49

2.4.1 Generalidades	49
2.4.2 Anatomía del conejo	49
3. DISEÑO METODOLOGICO	62
3.1 Hipótesis	62
3.2 Tipo de estudio	62
3.3 Universo	63
3.4 Población	63
3.5 Muestra	63
3.6 Criterios de selección	63
3.6.1 Criterios de inclusión	63
3.6.2 Criterios de exclusión	64
3.6.3 Criterios de discontinuación o rechazó	64
3.7 VARIABLES	64
3.7.1 Variables	64
3.8 FORMULACION DE RECOLECCION DE INFORMACIÓN CODIFICADO	67
3.8.1 Instructivo para formulario de recolección de información codificado.	67
3.8.2 Instrumento de recolección de datos codificado	69
3.9 PRUEBA PILOTO	73
3.10 CONSIDERACIONES ETICAS	73
3.11 RECURSOS	74
3.11.1 Recursos humanos	74
3.11.2 Recursos físicos	75
3.11.3 Recursos financieros	76
3.12. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	77
3.13 DESARROLLO DEL TRABAJO DE CAMPO	78
3.13.1 Ingreso de los conejos a la fundación Zoológico de Cali	78
3.13.2 Manejo diario de los conejos en la fundación Zoológico de Cali	78
3.13.3 Toma de primeros exámenes de laboratorio	79

3.13.4 Tratamiento de la cáscara de huevo	80
3.13.5 Cirugía de los conejos	81
3.13.6 Posquirúrgico después de 24 horas	84
3.13.7 Eutanasia	84
3.13.8 Necropsia	84
4. RESULTADOS	86
4.1 PREQUIRURGICO	86
4.2 POSQUIRURGICO	86
5 DISCUSIÓN	105
6 CONCLUSIONES	108
7 RECOMENDACIONES	109
BIBLIOGRAFÍA	110

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Tejido donante aplicación clínica.	42
Cuadro 2. Pruebas para comprobar rechazo de órganos implantado.	47
Cuadro 3. Funciones corporales normales	53
Cuadro 4. Descripción de variables	66
Cuadro 5. Datos generales de los conejos	69
Cuadro 6. Posquirúrgico a las 24 horas	70
Cuadro 7. Posquirúrgico a los ocho días	71
Cuadro 8. Análisis histológico	72
Cuadro 9. Recursos humanos	74
Cuadro 10. Recursos físicos.	75
Cuadro 11. Recursos Financieros	76
Cuadro 12. Cronograma de actividades del año 2003	77
Cuadro 13. Cronograma de actividades del año 2004	77
Cuadro 14. Organización de los conejos en el bioterio	78

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Toma de muestras de sangre	79
Figura 2. Cáscara de huevo procesada	80
Figura 3. Anestesia a los conejos de los grupos A y B	81
Figura 4. Incisión en la zona de la cadera	82
Figura 5. Realización del defecto con la fresa de baja velocidad	82
Figura 6. Aplicación de la cáscara de huevo en el defecto óseo	83
Figura 7. Colocación de la sutura	83
Figura 8. Radiografías iniciales de grupos A y B.	87
Figura 9. Radiografía final del conejo del grupo A. Primera semana	88
Figura 10. Cortes histológicos del conejo del grupo A. Primera semana	89
Figura 11. Radiografía final del conejo del grupo B. Primera semana	90
Figura 12. Cortes histológicos del conejo del grupo B. Primera semana	90
Figura 13. Radiografía final del conejo del grupo C. Primera semana	91
Figura 14. Radiografía final del conejo del grupo A. Segunda semana	91
Figura 15. Cortes histológicos del conejo del grupo A. Segunda semana	92
Figura 16. Radiografía final del conejo del grupo B. Segunda semana	92
Figura 17. Corte histológico del conejo del grupo B. Segunda semana	93
Figura 18. Radiografía final del conejo del grupo A. Cuarta semana	94
Figura 19. Cortes histológicos del conejo del grupo A. Cuarta semana	94
Figura 20. Radiografía final del conejo del grupo B. Cuarta semana	95
Figura 21. Corte histológico del conejo grupo B. Cuarta semana	95
Figura 22. Radiografía final del conejo del grupo A. Sexta semana	96
Figura 23. Corte histológico del conejo del grupo A. Sexta semana	96
Figura 24. Radiografía final del conejo del grupo B. Sexta semana	97
Figura 25. Corte histológico del conejo del grupo B. Sexta semana.	97

Figura 26. Radiografía final del conejo del grupo A. Octava Semana	98
Figura 27. Corte histológico del conejo del grupo A. Octava semana	98
Figura 28. Radiografía final del conejo del grupo B. Octava semana	99
Figura 29. Corte histológico del conejo del grupo B. Octava semana	99
Figura 30. Radiografía final del conejo del grupo A. Décima semana	100
Figura 31. Corte histológico del conejo del grupo A. Décima semana	100
Figura 32. Radiografía final del conejo del grupo B. Décima semana	101
Figura 33. Corte histológico del conejo del grupo B. Décima semana	101
Figura 34. Radiografía final del conejo del grupo A. 16 ^a semana	102
Figura 35. Corte histológico del conejo del grupo A. 16 ^a semana	103
Figura 36. Radiografía final del conejo del grupo B. 16 ^a semana	103
Figura 37. Corte histológico del conejo del grupo B. 16 ^a semana	104

GLOSARIO

ASTRAGALO: el segundo hueso del Tarso en tamaño. Sirve de apoyo a la tibia, descansa sobre el calcáneo y se articula con los maléolos y con los escafoides.

AVASCULAR: sin aporte sanguíneo suficiente en un área hística.

CALLO: depósito de hueso entre y alrededor de los extremos de una fractura ósea durante su cicatrización.

CASCARA: cubierta exterior de una cosa o un fruto, quebradizo o no, pero siempre mas duro que el interior.

COLAGENO: proteína formada por haces de finas fibrillas reticulares, que se combinan para formar las fibras inelásticas de los tendones, ligamentos y fascias.

CONEJO: mamífero lagomorfo leporido, de forma que recuerda la de la liebre, pero de menor tamaño, vive en madrigueras, se domestica fácilmente, su carne es comestible y su pelo se emplea para filtros y otras manufacturas.

CONDUCTOS DE HAVERS: uno de los muchos conductos longitudinales minúsculos del tejido óseo, con un diámetro medio de 0.5mm. Cada uno contiene vasos sanguíneos, tejido conectivo, nervios y en ocasiones vasos linfáticos.

CORTISONA: fármaco glucocorticoide.

DETRITO: tejido muerto o enfermo, o cualquier cuerpo extraño que ha de ser retirado de una herida o zona de tratamiento.

DIAFISIS: tubo de hueso compacto que incluye la cavidad medular de los huesos largos.

EMBOLIA: trastorno circulatorio caracterizado por desplazamiento de émbolos a través del torrente sanguíneo, hasta que se bloquea la luz de un vaso.

EMBOLO: cuerpo extraño, volumen gaseoso o de aire, partícula tisular o tumoral o porción de un tumor que circula en la corriente sanguínea hasta que queda bloqueado en un vaso.

ESCAFOIDES: hueso par presente en las manos y los pies.

ESPICULAS: cuerpo afilado con una punta en forma de aguja.

EXUDADO: líquido, células u otras sustancias que se han expulsado lentamente desde las células o los vasos sanguíneos a través de pequeños poros u orificios en la membrana celular.

FAGOCITO: célula que es capaz de rodear, matar microorganismos y detritos celulares.

FAGOCITOSIS: proceso por el que ciertas células engloban y eliminan microorganismos y restos celulares.

FIBRINA: proteína fibrosa insoluble que proporciona un carácter semisólido al coágulo sanguíneo y es producida por acción de la trombina sobre el fibrinógeno en el proceso de la coagulación.

HEMORRAGIA: pérdida de una cantidad de sangre en un periodo de tiempo corto bien sea externa o internamente.

HIPEREMIA: aumento de la sangre en una parte del cuerpo, causada por un aumento en el flujo sanguíneo, como en la respuesta inflamatoria, por relajación local de las arteriolas o por obstrucción del flujo del retorno de la sangre desde un área. La piel que cubre un área hiperémica está roja y caliente.

HUEVO: cuerpo de contorno circular o elíptico resultante de la segmentación de la célula huevo, que producen las hembras de los animales ovíparos para la reproducción.

INFECCION: invasión del organismo por gérmenes patógenos que se reproducen y multiplican, produciendo una enfermedad por lesión celular local.

INFLAMACION: respuesta protectora de los tejidos del organismo frente un agente irritante e infeccioso.

INMUNOLOGIA: parte de la medicina que estudia los problemas de la reacción de los tejidos del sistema inmunitario del organismo a la estimulación antigénica.

INMUNIDAD: resistencia natural o adquirida de un organismo vivo a la agresión de agentes infecciosos o tóxicos.

IMPLANTE: material introducido o injertado en un órgano o estructura corporal, puede ser de tejido blando o duro.

MACROFAGOS: célula fagocítica del sistema reticuloendotelial, que tiene la función de fagocitar.

NECROSIS: muerte de una porción de tejido como respuesta a enfermedad o lesión.

NODULOS: masa pequeña y redonda.

OSEOINDUCCION: propiedad bioactiva que depende del intercambio iónico con el hueso huésped y los fluidos orgánicos.

OSEOCONDUCCION: colonización ósea en el interior de los poros de un biomaterial implantado.

OSEOREGENERACION: volver a generar hueso por diferentes medios en donde se ha perdido el tejido óseo.

OSTEOBLASTOS: célula que se origina en el ectomesénquima embrionario durante el desarrollo inicial del esqueleto se diferencia a partir del fibroblasto para intervenir en la formación del tejido óseo.

OSTEOCLASTO: célula gigante multinucleada que actúa en el desarrollo y en periodos de reparación, como la fragmentación y resorción del tejido óseo.

PERIOSTIO: membrana vascular fibrosa que recubre los huesos en su parte externa.

PIENSO: alimento concentrado del conejo.

POLIMORFONUCLEARES: que posee un núcleo con varios lóbulos o segmentos comunicados entre sí por finos filamentos.

POLISACARIDO: hidrato de carbono formado mediante la unión de varias moléculas de azúcar.

REGENERACIÓN: dar nuevo ser a una cosa que se degenero; reestablecerla, mejorarla.

SALMONELLA: microorganismo que causa infecciones en el aparato digestivo.

TRABECULA: cada uno de los tabiques que se extienden desde la envoltura de un órgano parenquimatoso a la sustancia de este, formando la sustancia esencial del estroma.

VENULA: cualquiera de los pequeños vasos sanguíneos que llevan sangre procedente de los plexos capilares y se anastomosan para formar las venas.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha venido utilizando una diferente gama de materiales ya sean de origen natural o sintético para el empleo de estos como materiales de relleno óseo. La hidroxiapatita natural de bovino o la hidroxiapatita sintética son ejemplos de estos. Todos los biomateriales utilizados cumplen la misma función en un tiempo determinado y todos tienen el mismo objetivo, inducir la regeneración ósea ya sea en corto o mediano plazo.

Otro elemento usado es el hueso liofilizado, pero por provenir de células se clasifica como injerto óseo. Este a su vez, se debe clasificar de acuerdo a las características del hueso que se va a rellenar marcando una gran diferencia con los materiales de origen inerte, así su objetivo final sea el mismo. Sin embargo, la utilización de técnicas y materiales para autoinjertos en pacientes con traumatismos severos se renueva cada día más, a raíz de los riesgos conocidos por el uso de autoinjertos de huesos humanos (vivos o de cadáveres), es necesario no descartar una posibilidad más al estudio e investigación de materiales sustitutos óseos inorgánicos con bajo índice de rechazo, escaso riesgo de infección y que pueda garantizar el tratamiento de grandes defectos óseos.

En estudios realizados con animales entre ellos conejos de raza nueva Zelanda donde se implantan con materiales como la Hidroxiapatita natural y sintética, o en perros de diferentes razas donde se utilizó autoinjertos de hueso con fines protésicos, se ha obtenido resultados excelentes desde el punto de vista de rehabilitación de la zona.

Existe otra rama de materiales llamados biocerámicos entre los cuales encontramos conchas, dientes y cáscara de huevo; la cual proviene de las aves y se crea por unas células generadoras de cáscara, que se origina a una temperatura de 37°C y no a 1200°C como las que fabrica el hombre.

La cáscara de huevo esta compuesta por una matriz proteica y un alto contenido de calcio (Ca) que le da la dureza, la capa calcárea contiene poros ubicados perpendicularmente a la superficie de la cáscara formando canales que la atraviesan totalmente. Sus paredes están tapizadas por dos membranas, compuestas por fibras de complejos proteínas-polisacáridos.

La cáscara de huevo con un procesamiento especial como trituración, deshidratación, y desproteínización tiene cualidades para ser utilizada como material de relleno óseo teniendo en cuenta que al recibir este procesamiento encontraríamos una gran cantidad de Calcio que es un componente básico para el hueso y nos ayudaría a formar nuevo hueso. Cumple las características de un material de relleno óseo.

El propósito de este estudio experimental longitudinal es determinar que la cáscara de huevo con este proceso podría ser un material que no genera ninguna reacción inmunológica y que se puede tener en cuenta para utilizarse como material de relleno óseo, inicialmente en conejos blancos nueva Zelanda y posteriormente ser utilizado en humanos con enfermedades periodontales. Lo que se busca es crear una nueva alternativa para todos los pacientes a un precio más accesible ya que debido a los bajos costos de la preparación de este nuevo material saldría más económico, en un 200% menos de los que se comercializan hoy en día.

En la actualidad se han realizado estudios cuyo objetivo es guiar la formación de hueso sano y suficiente para cubrir defectos óseos en los procesos alveolares de los maxilares, causados por enfermedad periodontal, y obtener rebordes alveolares adecuados en donde colocar prótesis dentales de manera convencional o con implantes dentales.

En el desarrollo de este trabajo se determinó la cantidad y la calidad de hueso neoformado en defectos óseos en conejos blancos nueva Zelanda, partiendo de un implante con cáscara de huevo procesada, también se logró determinar en diferentes periodos la forma como este

defecto óseo se va neofормando o regenerando. Desde un punto de vista clínico, radiográfico e histológico dependiendo el caso. Además se monitorearon los animales paraclínicamente para observar algún tipo de rechazo de este implante.

Este trabajo se realizó bajo unas normas de ley, donde se establece las consideraciones éticas pertinentes para llevar a cabo la investigación en animales. Para poder ser utilizado en humanos, debe pasar primero por diversos estudios en animales donde se demuestre que el material es inocuo y que es un material totalmente confiable en el momento de su uso.

1. CONTEXTO DE LA INVESTIGACION

1.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

¿La cáscara de huevo procesada presenta una respuesta adecuada en la neoformación ósea en defectos óseos de 2mm. a 8mm. de diámetro y 5mm. de profundidad?

1.2 PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Cómo determinar la cantidad y calidad de neoformación ósea inducida a partir de cáscara de huevo procesada en los diferentes periodos de tiempo (una semana, dos semanas, cuatro Semanas, seis semanas, ocho semanas, 10 semanas, 12 semanas, 16 semanas), en defectos que oscilen entre 2mm a 8mm de diámetro y hasta 5mm de profundidad, en conejos blancos Nueva Zelanda entre los cuatro y ocho meses de edad?

¿Para qué describir clínica, radiográfica, y hematológicamente el estado de los conejos prequirúrgico, y posquirúrgico, realizando la eutanasia a una semana, dos semanas, cuatro semanas, seis semanas, ocho semanas, 10 semanas, 12 semanas, 16 semanas)?

¿Será la cáscara de huevo es un implante inocuo, desde el punto de vista clínico e histopatológico, en conejos blancos Nueva Zelanda?

1.3 JUSTIFICACIÓN

Los implantes óseos se han venido trabajando ya hace varios años con resultados muy positivos, y cada día con mejores técnicas que traumatizan menos al paciente que los requiere. En el caso de los materiales para relleno óseo, se puede decir que hay una gran variedad de estos como lo son la hidroxiapatita natural, hidroxiapatita artificial, hueso liofilizado entre otros,

con resultados excelentes en diferentes áreas de la odontología que involucran periodoncia, implantología, cirugía, y prostodoncia entre otras.

Los materiales mencionados anteriormente tienen la característica que su uso no es accesible para todos los pacientes debido a los elevados costos en el mercado, dejando a los pacientes sin la posibilidad del tratamiento más adecuado en determinados casos. Teniendo en cuenta lo anterior, se están buscando nuevas fuentes y nuevas alternativas para la regeneración ósea, como la cáscara de huevo procesada, que tiene las características ideales, porque contiene altos contenidos de calcio y el tamaño de la partícula que es entre 100 y 300 micras ayuda a servir como estructura en el momento de la neoformación y a su vez brinda iguales o mejores resultados que los materiales que actualmente se manejan en el mercado, y con costos más bajos, dando así la oportunidad que todo paciente sin excepción tenga acceso a este plan de tratamiento.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo General. Determinar la cantidad y calidad de neoformación ósea inducida a partir de cáscara de huevo procesada en los diferentes periodos de tiempo (una Semana, dos Semanas, cuatro Semanas, seis Semanas, ocho Semanas, 10 Semanas, 12 semanas, 16 Semanas), en defectos que oscilen entre 2mm a 8mm de diámetro y hasta 5mm de profundidad, en conejos blancos Nueva Zelanda entre los cuatro a ocho meses de edad.

1.4.2 Objetivos específicos.

1.4.2.1 Describir las condiciones clínicas, radiográficas y paraclínicas (hemograma y calcio sérico) iniciales de los conejos de estudio.

1.4.2.2 Describir las condiciones clínicas, radiográficas paraclínicas (hemograma y calcio sérico) e histológicas postquirúrgicas de los conejos de estudio a una Semana, dos Semanas, cuatro Semanas, seis Semanas, ocho Semanas, 10 Semanas, 12 Semanas, 16 Semanas.

1.4.2.3 Establecer si la cáscara de huevo es un implante inocuo, desde el punto de vista clínico e histopatológico, en conejos blancos Nueva Zelanda.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 HUESO

El hueso es un tejido conectivo especializado cuya matriz extracelular se encuentra calcificada, con lo que quedan encarceladas las células que la secretaron formando osteocitos. Aunque el hueso es una de las sustancias más duras del cuerpo es un tejido dinámico que cambia constantemente de forma en relación con las tensiones que recibe. Por ejemplo, las presiones aplicadas a un hueso hacen que se resorban, en tanto que la tensión que se le aplica da por resultado desarrollo de nuevo hueso.^{3, 34,41,55}

El hueso es la red estructural primaria para el sostén y la protección de los órganos del cuerpo, con inclusión del cerebro y la medula espinal y los otros órganos que están dentro de la cavidad torácica, es decir, pulmones y corazón. Los huesos sirven también como palancas para los músculos que se insertan en ellos, y por tanto multiplican la fuerza de los músculos para lograr el movimiento, el hueso es un reservorio de diversos minerales del cuerpo. Por ejemplo, almacena cerca del 99% del calcio corporal. El hueso contiene una cavidad central llamada cavidad medular que alberga a la medula ósea órgano hematopoyético.^{3, 34,41,55}

El hueso está cubierto por su superficie externa salvo a nivel de las articulaciones sinoviales, por una túnica llamada periostio, que consiste en una capa externa de tejido conectivo denso fibroso y de una capa celular interna que contiene células osteoprogenitoras. Las cavidades centrales de los huesos están revestidas por endostio tejido conectivo delgado especializado compuesto por una monocapa de células osteoprogenitoras y osteoblastos.^{3, 34,55}

El hueso está compuesto de células que se encuentran en una matriz extracelular que ha quedado calcificada. La matriz calcificada está compuesta por fibras y sustancia básica. Las

fibras que constituyen el hueso son primordialmente, de colágeno tipo I. La sustancia básica es rica en proteoglucanos con cadenas laterales de condroitinsulfato y queratán sulfato.

Contiene también otras glucoproteínas como osteonectina, osteocalcina, osteopontina, sialoproteína ósea.^{3, 34,41}

Las células del hueso son células osteogénicas, que se diferencian en osteoblastos. Estos son los encargados de secretar la matriz. Una vez que estas células quedan rodeada por la matriz se vuelven inactivas y se conocen como osteocitos. Los espacios que ocupan los osteocitos reciben el nombre de lagunas óseas, los osteoclastos, células multinucleadas gigantes derivadas de precursores fusionados de la medula ósea, son los encargados de la resorción del hueso.^{3, 34,41}

Como el hueso es un tejido tan duro, son dos los métodos empleados para su estudio. Los cortes descalcificados se pueden preparar mediante descalcificación del hueso en una solución ácida para remover las sales de calcio como el formol. A continuación el tejido se puede embeber, cortar y teñir de manera sistemática para su estudio. Los cortes desgastados, que constituyen el otro método para preparar los cortes de hueso para estudio, consisten en aserrar el hueso en rebanadas delgadas, a lo que sigue desgaste de los cortes con abrasivos entre láminas de vidrio. Cuando el corte es suficientemente delgado para su estudio con microscopio de luz se monta de la manera adecuada cada sistema tiene sus desventajas: en los cortes descalcificados los osteocitos se deforman a causa del baño ácido descalcificante; En los cortes lijados las células se destruyen, y las lagunas y los canalículos quedan llenos de desechos óseos.^{3, 34,41}

2.1.1 Tipos de hueso.

• **Hueso esponjoso fino.** Es la clase de hueso que crece con más velocidad. Se encuentran en todos los huesos del esqueleto fetal y también en ciertas partes del postnatal. Además interviene en la información del callo óseo en una fractura que cicatriza los osteófitos y

las exostosis, a menudo presentes en muchas enfermedades, son capas de hueso esponjoso fino que se incorporan a la superficie externa o interna del hueso compacto de la corteza.^{4,6,34,41,55}

El hueso esponjoso fino constituye casi toda la corteza de los huesos fetales, y se localiza en algunas zonas corticales de las porciones que crecen rápido en el hueso de un niño. Aunque este tipo óseo se ubica en la corteza, no es hueso compacto; es poroso; sin embargo, los espacios no son en absoluto tan grandes como aquellos presentes en un hueso esponjoso grueso.^{4,6,34,41,55}

- **Hueso esponjoso grueso.** Posee espacios grandes irregulares con medula roja y amarilla, es el llamado "hueso poroso". Es una característica de la medula y en particular abunda en las epífisis, entre las cortezas de los huesos planos del cráneo. En el endostio siempre produce hueso esponjoso grueso en circunstancias normales, nunca se forma en la región externa de un hueso.^{4,6,34,41,55}

- **Hueso no lamelar.** Constituye el tejido óseo esponjoso fino. Posee una matriz en la cual la orientación de las fibras no produce la estratificación peculiar característica del tejido óseo lamelar más conocido. Una clase ordinaria de hueso no lamelar se denomina en ocasiones tejido óseo membranoso por la naturaleza entrelazada de sus fibras a través de la matriz. Los osteocitos presentan una disposición confusa característicamente irregular, sin alineación en hileras.^{4,6,41,42,55}

- **Hueso lamelar.** En este todas las fibras de colágeno exhiben alineación común en cada estrato y las células están dispuestas de tal manera que sus ejes longitudinales son paralelos. Como las direcciones de las fibras son diferentes en estratos vecinos, el resultado es un aspecto estratificado. Esta disposición de las fibras confiere a la sustancia ósea una resistencia semejante a la de la madera compuesta por varias hojas.^{4,6,41,42,55}

▪ **Hueso vascular primario.** Es la clase más frecuente de tejido óseo en el esqueleto infantil, incluyendo todos los huesos faciales y del cráneo. Es el tipo estándar de hueso periostio en el esqueleto en crecimiento y también pudiera formarse en algunas áreas endólicas. Son dos las clases de tejido óseo: primario y secundario. Todo el hueso que se deposita de manera directa en las superficies externas e internas de la corteza es "primario", y en correspondencia, se designa como primarios a los vasos sanguíneos rodeados en dichos depósitos. En algunas circunstancias, el hueso primario puede experimentar reconstrucción cortical. El resultado es "**hueso secundario**", que abarca el sistema haversiano. Los conductos vasculares primarios no poseen anillos concéntricos de laminillas en su periferia; tan solo son conductos ubicados en una matriz, compuesta en gran parte de laminillas circunferenciales. El hueso vascular primario también es la forma estándar de tejido óseo periostio en casi todo el resto de los animales. Esta clase fundamental de hueso se sustituye con tejido óseo secundario solo en un número relativamente bajo de grupos. Aunque el hueso vascular primario es el tipo dominante en el niño y en el adulto joven, en el esqueleto del anciano todavía se identifican muchos conductos vasculares primarios.^{4,6, 34,41,42,55}

▪ **Hueso vascular secundario.** Es hueso maduro compuesto por laminillas paralelas o concéntricas de 3 a 7 μm . Los osteocitos de sus lagunas están dispersos a intervalos regulares entre las laminillas y en ocasiones en el interior de estas. Los canalículos, que albergan a las extensiones osteosíticas, conectan a las lagunas vecinas entre sí, con lo que forman una red de conductos intercomunicantes que facilitan el flujo de nutrientes, hormonas y productos de desecho hacia los osteocitos y desde ellos. Por añadidura, las extensiones o prolongaciones osteosíticas dentro de estos canalículos entran en contacto con otras extensiones similares de los osteocitos vecinos y forman uniones comunicantes o de intersticio, que permiten a estas células comunicarse entre sí.^{4, 6, 34,41,42,55}

Como la matriz del hueso secundario esta mas calcificada, es más resistente que el hueso primario. Por añadidura, las fibras de colágeno del hueso secundario están distribuidas de modo que son paralelas entre si dentro de una laminilla determinada.^{4, 34,41,42}

- **Hueso no vascular.** Se reconoce como la única clase de hueso en algunas especies. Es una variedad que se caracteriza por un crecimiento muy lento, en el esqueleto humano se produce en sitios específicos donde la corteza se forma de manera pausada durante un periodo determinado. En todos los tipos de tejido óseo, en general, el grado de vascularidad indica la frecuencia del depósito óseo. Los conductos vasculares abundantes son característicos en cualquier región cortical que se forman con rapidez. Entonces, la variedad en la densidad de los conductos desciende de manera gradual, hasta las zonas totalmente a vasculares que corresponden a las producidas con mayor lentitud.^{4, 6,34,41,42}

- **Hueso fascicular.** Se denomina así porque contiene grupos masivos de fibras de colágena paralelas que fijan la membrana periodontal a la pared alveolar ósea. Esta clase de hueso se forma solo en lado de deposito "tensión" del alveolo.^{4,34,41,42}

Si embargo, puede haber una inversión en el sentido de la migración, y la superficie de este tipo de hueso se torna en sitio de resorción en el lado nuevo de "presión". El hueso siempre se deposita en el sentido dirigido hacia la raíz dental que se desplaza, y a medida que se forma, las fibras periodontales externas quedan rodeadas en su matriz.

En el lado de presión del alveolo es a menudo de tipo "convoluto"; esto es porque la lamina alveolar ósea migra hacia el hueso esponjoso a profundidad en relación con él y la compactación de los espacios convierte a las trabéculas esponjosas en hueso compacto del revestimiento alveolar cortical.^{4, 6, 34,41}

- **Hueso Condroide.** Se ubica en las crestas alveolares de crecimiento rápido. Se forma como una cubierta sobre el vértice de la cresta; también puede presentarse en otras partes del esqueleto, como en el vértice de un tubérculo que crece y donde se inserta un músculo. Posee

un aspecto peculiar de tipo cartilago, con células grandes dispuestas estrechamente de una matriz no lamelar a menudo basófila. El hueso condroide sufre metaplasia directa para convertirse en hueso

no lamelar ordinario, situación sugestiva de una clase que, en realidad, puede experimentar un tipo de remodelación o crecimiento intersticial.^{4, 6, 34,42}

Los huesos se clasifican según su forma en:

- Huesos largos, que tiene un cuerpo o diáfisis localizados entre dos cabezas (tibia).
- Huesos cortos, que tienen anchura y longitud aproximadamente iguales (Ej.: huesos del carpo de la muñeca).
- Huesos planos, que son como su nombre lo indican planos, delgados y amanera de laminas (huesos que conforman la estructura ósea del cráneo)
- Huesos irregulares, tienen forma irregular que no se ajustan a la forma de las otras clase (huesos esfenoides y etmoides dentro del cráneo)
- Huesos sesamoideos, son huesos de otro tipo que se desarrollan dentro de los tendones y en esos sitios favorecen la función mecánica del músculo (rotula) a través de una articulación.^{4, 6,}

34,42

2.1.2 Cicatrización ósea. La regeneración ósea se asemeja, en muchos aspectos, a la curación de las partes blandas. Existe una hemorragia inicial y una inflamación aguda discreta seguida de un estadio proliferativo o productivo en el que las células osteogénicas juegan un papel primordial. La continuidad entre los fragmentos óseos se establece, primero, mediante la aparición de una masa de hueso nuevo y, en ocasiones, de tejido cartilaginoso (callo provisional): una vez se ha restablecido la continuidad, este callo experimenta un remodelamiento lento con reabsorción y sustitución del mismo, de tal manera que, en condiciones favorables, se consigue una unión ósea firme. Algunas veces, la reparación es tan buena que el lugar de la fractura es, con el tiempo, apenas identificable.^{34,41,42,53}

• **Estadios Iniciales.** Para romper un hueso, por regla general, se necesita una fuerza considerable, los fragmentos suelen desplazarse y, además de existir una cantidad relativamente pequeña de hemorragia entre los extremos óseos, puede producirse un importante derrame sanguíneo debido a la rotura de vasos procedentes del periostio desgarrado y de las partes blandas adyacentes. Además de la hemorragia, aparecen cambios inflamatorios locales con hiperemia y exudado de un líquido rico en proteínas en el que puede depositarse la fibrina. Los polimorfonucleares son escasos a menos que exista una infección concomitante, fenómeno que es común solo en las fracturas compuestas, esto es, en los casos en que un fragmento óseo ha desgarrado la piel de encima o una membrana mucosa. Los macrófagos también invaden y fagocitan los coágulos sanguíneos y los detritos tisulares. Los hematíes a menudo desaparecen con gran rapidez del lugar de la fractura, dejando una masa de fibrina homogénea entre los extremos óseos. La existencia de grandes proporciones de coágulos sanguíneos y de detritos celulares entre los fragmentos óseos retrasa el proceso de regeneración ósea.^{34,41,42}

La necrosis ósea aparece sobretodo como consecuencia del desgarro de los vasos sanguíneos de la cavidad medular, cortical del hueso y del periostio: las primeras evidencias histológicas reconocibles se aprecian en el transcurso de uno o dos días; las células hematopoyéticas de la medula ósea muestran una disminución de la coloración nuclear. La grasa liberada por la medula ósea adiposa necrótica puede ser captada por los macrófagos y formar quistes grasos rodeados de células gigantes de cuerpo extraño. La lesión de la medula ósea adiposa puede acarrear graves consecuencias cuando los glóbulos grasos penetran en las vénulas de la medula ósea y originan una embolia grasa a nivel del lecho pulmonar, encéfalo o riñones. El hueso cortical, debido a la disposición de sus vasos, suele presentar una necrosis más extensa que el hueso esponjoso medular. La proporción de necrosis ósea depende en especial de las peculiaridades locales de la irrigación sanguínea; el astrágalo, el escafoides del carpo y la cabeza femoral, tras una fractura intracapsular, son muy propensos a experimentar una necrosis isquémica extensa. Cuando existe leño verde óseo (fractura conminuta) algunos de

los fragmentos pueden perder su irrigación sanguínea; se vuelven necróticos y, si son pequeños, son reabsorbidos por los osteoclastos.^{17, 18}

La necrosis ósea se reconoce histológicamente por la pérdida de los osteocitos a nivel de las lagunas óseas, pero algunas células pueden permanecer visibles mucho tiempo después de su muerte.^{17, 18, 34,42}

- **Formación de callo provisional.**

a) Reacción perióstica: Las células de la capa interna del periostio proliferan a lo largo de una zona bastante extensa revistiendo la corteza no necrótica de cada uno de los extremos óseos fracturados. Se forma un manguito de trabéculas óseas alrededor de cada extremo óseo en ángulo recto con respecto al hueso cortical, y se quedan ancladas al mismo.^{4, 17, 18, 34,41,42,60}

Más tarde se forman trabéculas óseas plexiformes, no tan bien orientadas, produciendo una red irregular cuyo patrón en este estadio no es influenciado por los esfuerzos. Esta formación de hueso nuevo depende de la irrigación sanguínea, que deriva en parte de los vasos periósticos supervivientes pero también del músculo y de otros tejidos blandos circundantes. Entremezclados con este manguito de hueso neoformado, existen a menudo nódulos de cartílago hialino que por lo general no aparecen hasta que la formación ósea ya está iniciada. La cantidad de cartílago que se forma en el callo provisional varía de manera considerable de una especie a otra. Los mamíferos de pequeño tamaño, como los ratones, ratas y conejos, tienden a formar principalmente un callo cartilaginoso, en tanto que el hombre la proporción de cartílago, aunque variable, es menor. Se cree que la formación de cartílago es promovida por una irrigación sanguínea inadecuada y por esfuerzos que producen deslizamientos, de tal manera que la aparición de cartílago es muy abundante en aquellas fracturas escasamente inmovilizadas: el hueso va sustituyendo de forma gradual al cartílago mediante un proceso de osificación endocondral.^{4, 17, 18, 34,41,42,60}

Los dos manguitos de callo que van aumentando avanzan uno hacia el otro hasta que se unen, estableciendo un puente en la línea de fractura y dejando una brecha entre los extremos óseos.

Este vendaje de callo externo contribuye a inmovilizar los fragmentos en los casos de una fractura poco fijada o inestable.^{4, 34,42,60}

La cantidad de callo perióstico que hace de puente varia en gran medida en las diversas localizaciones y en circunstancias diferentes. En las fracturas intracapsulares, como en una fractura subcapital del cuello femoral, el periostio está ausente y la unión depende, casi exclusivamente, de la formación de callo interno a cargo de los osteoblastos situados en la cavidad medular. Por contraste, las fracturas de la diáfisis de los huesos largos tubulares, como en el fémur y el humero, tienden a formar gran proporción de callo externo, de manera que el callo interno en la cavidad medular relativamente pequeña no es muy llamativo. La formación de un callo externo voluminoso es probable que dependa de la existencia de abundante músculo circundante no lesionado como fuente de irrigación sanguínea. Esto es así debido a que una de las dificultades de la regeneración de las fracturas de la tibia es que en esta localización el hueso esta cubierto en parte por un tejido subcutáneo relativamente avascular y tienden a formar una escasa proporción de callo. Las fracturas alineadas de forma deficiente y aquellas con gran movilidad del foco de fractura son propensas a producir abundante callo externo, en tanto que las fracturas que están inmovilizadas mediante fijación quirúrgica externa o interna, pueden unirse con escasa formación de callo.^{4, 17, 18, 34,42,60}

b) Reacción medular: La primera evidencia de la regeneración de una fractura es la penetración de capilares procedentes de la medula viable hacia el interior de la medula necrótica. Los capilares avanzan seguidos muy cerca por macrófagos, fibroblastos y osteoblastos. Los macrófagos fagocitan y van reabsorbiendo el material necrótico, en tanto que los osteoclastos comienzan a reabsorber los fragmentos de hueso esponjoso necrótico y la superficie endóstica de la cortical necrótica.^{4, 34,42,60}

Las células osteogénicas que recubren las trabéculas medulares y la superficie del endostio cortical van hipertrofiándose y produciendo nuevo hueso plexiforme en los espacios medulares:

el hueso nuevo es depositado, en parte, en la superficie de las trabéculas necróticas, las cuales, al ser rodeadas por hueso nuevo, pueden permanecer sin ser reabsorbidas durante meses o incluso años.^{4, 34,41,42}

En contraste con lo que ocurre en el callo externo, el cartílago es raro en la cavidad medular, quizás debido a que es un sitio relativamente vascular y esta protegido de los mecanismos de la tensión. Puede formarse, sin embargo, cuando la formación de callo alcanza la brecha o defecto de la fractura.^{4, 34,41,42}

c) **Reacción Cortical:** La reacción más llamativa a nivel de la corteza viva adyacente a la zona de fractura consiste en un incremento de la reabsorción osteoclástica con ensanchamiento de los conductos, y en parte, debido a una atrofia por desuso. Esta puede ir seguida mas tarde por cierto grado de actividad osteoblástica. En la cortical necrótica se observan cambios similares de los extremos óseos, una vez se ha producido una revascularización de los conductos de Havers a expensas de los vasos adyacentes del hueso viable o de los vasos periósticos y medulares. Es posible que la reabsorción del hueso necrótico haga todavía mayor el defecto de la fractura.^{4, 34,41,42}

* **Brecha de la fractura.** El callo perióstico realiza la unión de los fragmentos entre los cabos o extremos óseos de forma externa pero no directa. Como ya se ha dicho, inmediatamente después de la fractura el defecto de la misma es rellenado por coágulos sanguíneos, fibrina exudada y espículas óseas; todos estos materiales son atacados por los macrófagos y por los osteoclastos. El coágulo de fibrina, que suele persistir entre los cabos óseos, por último es invadido por vasos sanguíneos y tejido celular que contienen cantidades variables de células osteogénicas y fibroblastos, de tal forma que la unión ósea puede tener lugar de cualquiera de estas dos maneras.^{4, 34,42}

a) La osificación Directa es realizada por las células osteogénicas que se extienden procedentes del callo medular y perióstico. También puede formarse cartílago y convertirse en hueso. Este proceso es bastante rápido y efectivo.^{4, 34,42,52}

b) La unión fibrosa puede aparecer en un principio. El tejido fibroso crece procedente de la medula, del periostio o de ambos, se hace densamente colagenizado, y solo entonces se osifica de forma muy lenta. Este tipo tan lento de unión aparece de manera especial cuando existe inestabilidad, desviación o marcada reabsorción de los cabos óseos, necrosis masiva, irrigación sanguínea insuficiente, extensa lesión perióstica, fracturas conminutas o infección. En ocasiones, la transformación ósea tras una unión fibrosa es muy lenta y, algunas veces, no llega a producirse. En las fracturas sin unión, el tejido fibroso puede hacerse muy denso, hialino y por ultimo fibrocartilaginoso. La aparición de un área de necrosis fibrinoide eosinofila es seguida por una hendidura lineal que puede aumentar de tamaño y desarrollar un revestimiento similar al de una sinovia, formándose así una articulación falsa. Los extremos o cabos óseos enterrados en este tejido fibroso denso tienden a hacerse muy escleróticos.^{4, 34,42,52,102,103}

• **Estadíos Finales.** Remodelamiento final. Una vez ha tenido lugar una unión ósea y la función se ha restablecido, los cabos óseos comienzan a remodelarse para responder a los esfuerzos mecánicos. Si la fractura se ha unido formando un ángulo, se va incorporando nuevo hueso en el lado cóncavo en tanto que la reabsorción tiene lugar en la zona convexa, de tal manera que el hueso se hace mas recto. Sea como sea, el exceso de callo va reabsorbiéndose, y el hueso plexiforme, depositado rápidamente, se sustituye por hueso laminar de lenta formación, y cualquier residuo de hueso necrótico se reabsorbe. La cortical ósea se vuelve a formar a través del defecto de la fractura y poco a poco el callo medular es reabsorbido, haciéndose de nuevo el hueso tubular. Todo el proceso puede tardar alrededor de un año, aunque en los niños es más rápido y mas completo.^{4, 34,42}

▪ **Factores metabólicos que afectan a la curación ósea.** Algunos de los factores locales que intervienen en la curación ósea ya se han mencionado, pero al igual que en la curación general de las heridas, son así mismo importantes los factores generales. La carencia de vitamina C comporta una disminución tanto de la actividad fibroblástica como la osteogénica, de tal manera que la producción de colágeno y de hueso es deficitaria. Cuando se administra cortisona a animales con fracturas, existe también una demora de la curación de las mismas, aunque ello parece tener escasas consecuencias cuando se administra dicho fármaco en las dosis terapéuticas usuales. En la deficiencia de vitamina D puede formarse un abundante callo que no logra calcificarse, permaneciendo blando hasta que el déficit vitamínico es corregido.⁴

34,38,42,51

▪ **Tipos de osificación.** La formación de hueso durante el desarrollo embrionario puede producirse de dos maneras: formación intramembranosa y formación endocondral. El hueso que se forma por cualquiera de estos dos métodos es idéntico desde el punto de vista histológico.^{4, 34,41,42,95}

▪ **Formación intramembranosa del hueso.** La mayor parte de los huesos planos se forman por formación intramembranosa, este proceso se produce en un tejido mesenquimatoso ricamente vascularizado cuyas células están en contacto entre si por medios de prolongaciones largas. Las células del mesenquima se diferencia en osteoblastos que secretan matriz ósea, sustancia que forma una red de espículas y trabéculas, cuyas superficies se encuentran pobladas por estas células. Esta región de oostogénesis inicial se conoce como centro primario de osificación. Las fibras de colágena de estas espículas y estas trabéculas en desarrollo están orientadas al azar, como cabe esperar en el hueso primario. La formación de osteoide va seguida con rapidez por calcificación, y los osteoblastos que quedan atrapados en sus matrices se convierten en osteocitos. Las proyecciones de estos osteocitos están también rodeadas en hueso en formación, con lo que se establece un sistema de canalículos. La

actividad mitótica sostenida de las células mesenquimatosas ofrecen una provisión de células osteoprogenitoras indiferenciadas, que forman osteoblastos.^{4, 34,41,95}

Conforme se establece la red de tipo esponjoso de las trabéculas, el tejido conectivo vascular que se encuentra en sus intersticios se transforma en medula ósea. La añadidura de trabéculas a la periferia incrementa el tamaño del hueso en formación. Los huesos de mayor tamaño como el occipital de la base e cráneo cuentan con varios centros de osificación, que se fusionan entre si para formar un solo hueso. La región de los tejidos mesenquimatosos que se conservan sin calcificar se diferencia en periostio y endosito en el hueso en desarrollo. Mas aun, el hueso esponjoso profundo en relación con el periostio y la capa perióstica de la duramadre de los huesos planos se transforman en hueso compacto con lo que forman las tablas internas y externas con el diploe entre ellas.^{4, 34, 41,42,95}

- **Formación endocondral de hueso.** La mayor parte de los huesos largos y cortos del cuerpo se desarrollan por formación endocondral. Este tipo de formación del hueso se produce en dos etapas: 1) Se forma un modelo cartilaginoso hialino en miniatura, y 2) el modelo de cartílago sigue creciendo y sirve como andamio estructural para el desarrollo del hueso se reabsorbe y queda sustituido por este ultimo.^{4, 34, 41,42,95}

2.1.3 Cicatrización de heridas traumáticas.

2.1.3.1 Tejidos Blandos. Existen tres fases en la reparación de heridas en tejidos blandos. En la primera fase (inflamatoria), hay una respuesta vascular inmediata que resulta en una inflamación de la herida. Hay un infiltrado celular que consiste inicialmente en leucocitos polimorfonucleares seguidos después de 24 horas por monocitos, que se convierten en las células dominantes alrededor del 5 día. Los macrófagos polimorfonucleares están activamente comprometidos en la fagocitosis, se pueden notar formaciones de nuevos vasos sanguíneos en los bordes de la herida en asociación con la movilización, resultando en la síntesis de tejido de granulación.^{17, 18,50}

La segunda fase de reparación de heridas (proliferativa) esta establecida por el cuarto o quinto día. Los macrófagos aun son predominantes, pero con el tiempo hay un incremento en el número de fibroblastos. Los fibroblastos son activos en la síntesis de colágeno extracelular y proteoglicanos. Cuando las segunda fase de reparación esta establecida, la herida es llena de tejido de granulación vascular que contiene nuevos capilares, fibroblastos y macrófagos. Se puede notar que al final de esta fase hay un aumento intrínseco en la fuerza mecánica de la herida.^{4, 17, 18,42,50}

La tercera fase (maduración) se caracteriza por un remodelado extensivo con un aumento en la fortaleza de la herida, el cual es el resultado de la disminución del número de fibroblastos y macrófagos concurrente con una disminución de la vascularidad esta situación crea una densa y relativa cicatriz avascular de fibras colágenas. Con el tiempo hay un cierto grado de remodelación del colágeno.^{4, 17, 18,42}

Existen tres tipos de cicatrización de heridas: primera intención, cierre primario retardado y segunda intención.^{4, 17, 18,42}

- Primera intención: la cicatrización por primera intención ocurre cuando los bordes de la herida son aproximados inmediatamente después de que la herida ha sido creada. La epitelialización y la contracción tienen muy poco que ver con la cicatrización por primera intención, aunque ocurre una mínima epitelialización en las primeras 24 horas y sella la herida de contaminación bacterial. El epitelio no provee fuerza a la herida que ha cerrado.^{4, 17, 18,42,50}

- Cierre primario retardado: el cierre de heridas contaminadas debe ser retardado, para permitir la inflamación y la respuesta inmune para el control de la contaminación. El cierre primario retardado disminuye la morbilidad de heridas infectadas, mientras que el desarrollo de la fuerza de la herida no haya cambiado.^{4,42,50}

- Segunda intención: esta forma de cicatrización esta dada por proceso biológicos naturales sin ninguna intervención quirúrgica, y usualmente ocurre en heridas largas asociadas con perdidas

de tejidos blandos o ablución. Aunque la epitelialización y la disposición de colágeno están involucradas, la contracción es el fenómeno más importante en el cierre espontáneo de heridas largas abiertas. A menos que la contracción ocurra y una estructuras dérmicas, la superficie granular es cubierta solamente por una capa de células epiteliales que son inútiles en proveer cobertura con fuerza e integridad.^{4,42,50}

2.2 INJERTOS

2.2.1 Definición. Un injerto es parte de un tejido que se separa de su zona dadora o donante, privándola completamente de su aporte sanguíneo antes de transferirlo al lecho receptor del que se deberá nutrir.^{5,17,26,30,43,44,68}

2.2.2 Indicaciones.

- Aportar células osteogénicas como matriz para la curación de fracturas que no consolidan.
- Utilizados como espaciadores.
- Para reconstrucción de defectos congénitos o adquiridos.^{5, 14, 15,17,22,23,27}

2.2.3 Supervivencia del injerto óseo. Los injertos óseos esponjosos se revascularizan en horas, por anastomosis entre capilares más invasión de estos gracias a su estructura abierta. Sin embargo, los injertos óseos corticales precisan de una reabsorción osteoclástica e infiltración vascular de c. haversianos antes de que se inicie el depósito óseo. Esto precisa de meses, y mientras tanto el injerto aumenta en porosidad y disminuye su resistencia. Por tanto, los injertos óseos esponjosos estructuralmente son más débiles que los corticales, pero la formación de hueso es más temprana en el esponjoso, y mientras su resistencia se mantiene constante, los elementos necróticos son reabsorbidos y remodelados. El injerto óseo cortical muestra una reabsorción incompleta del hueso necrótico y al final la mezcla de formación y reabsorción del hueso no aporta mayor resistencia al hueso. Por ello si precisamos una mínima capacidad tensil con revascularización rápida el injerto esponjoso es el de elección. Para reforzar se usan injertos óseos corticoesponjosos.^{5, 14, 15, 17,22,23, 27,28,64,72,89,90,98,99}

2.2.4 Cuadro 1. Tejido donante aplicación clínica.

<ul style="list-style-type: none"> • Tibia 	<p>Se utiliza como fuente de injerto osteoperióstico de hueso cortical y hueso esponjoso. Deben obtenerse pequeñas cantidades de hueso para no dejar un defecto residual en la zona donante.^{26,43,44,65}</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Olécranon y Trocánter mayor 	<p>Zonas usadas para obtener injertos de pequeña cantidad, como los empleados en mano traumática, debido a que la morbilidad postoperatoria es considerable.^{26,43,44,65}</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Hueso iliaco 	<p>No vascularizado: durante las últimas décadas ha sido la fuente más importante de injertos óseos compuestos de cortical y esponjosa. Se puede obtener un espesor entre 1.3-1.7 cm. entre la espina iliaca anterosuperior y el tubérculo de la cresta iliaca. Tiene como ventaja el hecho de ser una zona muy accesible y que deja un defecto secundario leve.^{26,43,44,65}</p> <p>Vascularizado: Taylor mostró que la arteria nutriente principal de este hueso es la arteria circunfleja iliaca profunda, la cual se utiliza junto con colgajos osteocutáneos libres para reconstrucción mandibular.^{26,43,44,65}</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Calota 	<p>No vascularizado: en el adulto el espesor de</p>

	<p>la calota es de 7 mm., siendo variable según la zona de esta. Su uso principal es para la reconstrucción de defectos faciales.^{22, 23,32,33,37,80}</p> <p>Vascularizado: usados como colgajos osteomusculares: colgajo temporoparietal en reconstrucción de defectos maxilares; colgajo frontoparietal en la reconstrucción de defectos faciales (reconstrucción nasal).^{22, 23,32,33,37,65,80}</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Costilla 	<p>No vascularizado: se trata de un hueso con gran poder osteogénico. Empleado principalmente para defectos craneales y mandibulares.^{26,43,44,65}</p> <p>Vascularizado: tiene una vascularización parecida a los huesos largos. El pedículo más comúnmente utilizado para colgajos osteomusculares compuesto de arco costal y pectoral mayor es la arteria toracoacromial. También se usa como colgajo el serrato anterior con su pedículo sobre la arteria torácico lateral. Se emplean en la reconstrucción mandibular.^{26,43,44,65}</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Escápula 	<p>Vascularizado: se emplea un colgajo osteomuscular (m. trapecio) con su arteria nutriente, la arteria cervical transversal, para</p>

	la reconstrucción de pequeños defectos mandibulares. También se usa un colgajo basado en la arteria circunfleja escapular. ^{26,43,44,65}
• Peroné	Vascularizado: se trata de un hueso largo utilizado como colgajo libre a partir de su arteria nutriente, la peronéa, para la reconstrucción de defectos en la extremidad inferior. ^{26,43,44,65}
• Metatarso	Vascularizado- el metatarso se ha transferido como colgajo dorsal del pie par a la reconstrucción del primer dedo de la mano, o bien, para la reconstrucción de la rama mandibular en anquilosis congénita de la articulación temporomandibular. ^{26,43,44,45,46,65}

2.2.5 Clasificación de los injertos.

2.2.5.1 Injerto autógeno o autoinjerto: Injertos transferidos de una posición a otra dentro del mismo individuo. Éste tipo de injerto comprende, hueso cortical, o hueso esponjoso y medula, y se cosechan de sitios donantes bucales y extrabucales.^{6,14,15, 21,26,67,84,85}

2.2.5.2 Aloinjertos u homoinjerto: Injertos transferidos entre miembros de la misma especie genéticamente diferentes. Se ha usado hueso esponjoso y medula viables, hueso esponjoso y medula esterilizados y por tercero hueso congelado.^{6,10,62,74,75,77,79,104}

2.2.5.3 Heteroinjertos o xenoinjertos: injertos tomados de un donante de otra especie.^{6,10,48,58,63,96}

2.2.5.4 Materiales alo plásticos: Materiales para implantes inertes utilizados como sustitutos de los injertos de hueso.^{6,10, 12, 24,25,37,59,76,79,86,87,93}

2.2.5.5 Isoinjertos isogénico o singénico: Se realiza entre dos individuos genéticamente idénticos o entre animales de la misma cepa isogámica.^{6,10,25,97}

2.2.6 Efecto de la irradiación corporal en un trasplante óseo vascularizado experimental. La irradiación puede causar despoblación de células endoteliales en la arteria del trasplante, aunque la permeabilidad del pedículo vascular se mantiene. La viabilidad y mineralización del tejido óseo transplantado fue normal. Así mismo, se observan grandes cambios en la médula ósea, que mostró un marcado incremento en el contenido de células grasas, y una reducción secundaria de las células inmunocompetentes derivadas de la médula ósea. Estos cambios fueron más evidentes en los injertos que se irradiaron 6 días antes de su trasplante.^{57,81,82,83}

La irradiación total corporal no prejuzga la utilización de injertos óseos vascularizados, mostrando un efecto inmunosupresor sobre el endotelio vascular y la médula ósea Este método podría ser un procedimiento racional para evitar manipulación al receptor en alotrasplantes óseos vascularizados.^{57,81,82,83}

2.2.7 Inmunología. El rechazo del injerto se produce porque el receptor reconoce como extraño a este. Esto ocurre por la existencia de antígenos llamados de histocompatibilidad que

se encuentran en la superficie celular. Su concentración varía de unos tejidos a otros, por tanto la supervivencia del injerto va a depender de la disparidad de estos entre el tejido receptor y donante. Existen dos tipos de rechazo:^{13,47,78}

- **Tipo 1-** Los antígenos del tejido donante no son reconocidos como propios, lo cual desencadena una respuesta hística, caracterizada por edema, vasodilatación e infiltrado de macrófagos y linfocitos que son las células mediadoras del reconocimiento del antígeno.^{13,47,78}

- **Tipo 2-** ya ha habido un reconocimiento previo de los antígenos del tejido donante, quedando almacenado en los linfocitos memoria la posibilidad de la producción de anticuerpos específicos, desencadenando una respuesta humoral con rechazo inmediato.^{13,47,78}

Para determinar una compatibilidad entre donante y receptor, antes del trasplante se realizan varias pruebas inmunológicas, entre las cuales se encuentran: Tipificación tisular, Cultivos mixtos de linfocitos, determinaciones de anticuerpos citotóxicos y la prueba de Tipificación cruzada final.^{13,47,78}

2.2.7.1 Tipificación tisular: La identificación de las especificidades del HLA que conforman el fenotipo o genotipo de un individuo se denominan tipificación de tejidos. Si la donación es de un familiar vivo se debe realizar la tipificación de tejido y si es de un cadáver la tipificación de tejido se hace mediante la obtención del órgano.^{36,47,78}

2.2.7.2 Determinación de niveles de anticuerpos citotóxicos: Antes de realizar el trasplante, se debe determinar si el receptor posee anticuerpos preformados, ya que el injerto podría fracasar por la presencia de anticuerpos citotóxicos, a pesar de una compatibilidad HLA aceptable. Generalmente, el suero del receptor se somete a pruebas pretrasplante de detección selectiva para detectar la presencia de anticuerpos contra un panel aleatorio de linfocitos. Aunque dicha técnica solo sirva para clasificar al receptor como sujeto de respuesta baja o alta, sería deseable una respuesta de anticuerpos citotóxicos contra el panel de linfocitos inferior al 10%.^{36,78}

2.2.7.3 Compatibilidad cruzada de receptor/donante: Es la prueba final inmediatamente antes de realizar un trasplante, para la detección de anticuerpos citotóxicos específicos contra antígenos del receptor, esta prueba se realiza utilizando suero fresco del receptor y linfocitos de la sangre periférica del donante, esplenocitos o células de los ganglios linfáticos. No se realiza el trasplante sin la compatibilidad cruzada es positiva.^{36,78}

2.2.7.4 Cultivo mixto en linfocitos (MLC): Se realizará MLC en trasplante de vivos emparentados, para detectar la diferencia de Lupus HLA. Estudios recientes han indicado que el MLC es útil en la predicción de la tasa de éxito post-trasplante. Sin embargo, no es útil en donantes de injertos de cadáveres, ya que su realización requiere de varios días.^{36,78}

Cuadro 2. Pruebas para comprobar rechazo de órganos implantados.

PRUEBA	SIGNIFICADO
Tipificación del HLA	Correlación con supervivencia en LRD, pero de utilidad dudosa en trasplante de donantes cadáveres.
MLC	Usado para LRD solamente, dada la necesidad de un periodo de cultivo de 5-7 días.
Anticuerpos citotóxicos	Deseable poseer 10% de sensibilización contra un panel aleatorio.
Tipificación cruzada directa	Realizado inmediatamente antes del trasplante, después de la obtención de la muestra del donante.

MLC: Cultivo mixto de linfocitos. LRD: Trasplantes de donantes emparentado vivo.^{36,78,107}

2.3 CASCARA DE HUEVO

A través de los años la cáscara de huevo ha tenido diferentes usos tales como drogas homeopáticas, comidas, fragancias y saborizantes entre otros.^{35,39,40,100}

En Estados Unidos anualmente se acumulan mas de 150.000 desechos de cáscara de huevo, por esta razón OVOGEN® mediante estudios tanto físicos como químicos obtuvieron de la cáscara del huevo diferentes componentes como carbonato de calcio precipitado, usado en farmacéutica y productos de higiene; de la membrana se obtuvieron muco polisacáridos de proteína ácida, colágeno tipo I, tipo V y tipo X, lisosomas, aminoácidos, ácido siálico que es precursor en drogas antiinflamatorias, sialoproteínas y osteopontín, que son importantes en el metabolismo del hueso.^{1,7,35,38,39,61,71,92,100}

En otras partes del mundo se han desarrollado diferentes estudios de la cáscara de huevo. En Chile, un grupo de estudiantes de la Universidad Católica tienen como objetivo estudiar los principios que gobiernan la composición, arquitectura y métodos de ensamblaje de cerámicas biológicas, como la cáscara de huevo, para sintetizar cerámicas con propiedades específicas imitando los procesos biológicos.^{7, 35,39,40,67,100,105}

En Cuba en el Instituto de Nutrición e Higiene de los alimentos, se desarrolló una investigación para conocer el grado de contaminación del huevo por Salmonella y la calidad sanitaria de este alimento, dando como resultado una calidad sanitaria satisfactoria por la determinación de Enterobacterias totales como en el aislamiento de Salmonella. De acuerdo con los resultados obtenidos, la cáscara de huevo resulta ser un hábitat propicio para el crecimiento y desarrollo de estos microorganismos.^{35,39,100,105}

2.4 CONEJOS

2.4.1 Generalidades. Los mamíferos son vertebrados amniotas, muy diferentes unos de otros, caracterizados por tener temperatura constante: pelos que recubren el cuerpo: mamas, para la alimentación de las crías. Entre la clasificación de los mamíferos encontramos una subclase denominadas Terios, la cual se subdividen en una infraclase llamada Euterios, allí encontramos el orden de los lagomorfos, que son animales de talla media, con la cola corta. Tienen 2 pares de incisivos superiores (duplicidentados): los segundos ocultos por los primeros. La mandíbula se mueve en sentido transversal y su régimen alimenticio es el vegetariano; entre las especies principales encontramos: los *Lepus* europeas (liebre) y *oryctolagus cuniculus* (Conejo).^{9,16, 54,,88,91,106}

Son muchas las razas de conejos que se explotan satisfactoriamente, citamos a continuación algunas de ellas, por ejemplo:

- Razas grandes, peso entre 5 y 7 Kg.: gigante alemán, widder alemán, plateado grande claro, etc.
- Razas medianas, peso entre 3 y 4 Kg.: nueva Zelanda (blanco o rojo), vienés (azul, blanco o gris), ruso, rex, conejos de angora, etc.
- Razas pequeñas, peso alrededor de 2 Kg.: chinchilla pequeño, manchado pequeño, widder pequeño, plateado pequeño, etc.

2.4.2 Anatomía y fisiología del conejo.

2.4.2.1 Esqueleto y articulaciones: El conjunto de huesos (esqueleto), también denominado aparato pasivo del movimiento, está constituido por muchos huesos distintos. El esqueleto sirve de apoyo a las partes blandas, a las que también protege, y sirve de punto de inserción para los músculos, tendones y ligamentos. El crecimiento óseo comienza al nacer, concluyendo por lo común en el momento en que los animales alcanzan la madures sexual. Las deficiencias

en la alimentación y manejo que se producen durante esta fase de desarrollo pueden tener como consecuencia daños irreparables.^{69,88,106}

2.4.2.2 Músculos: Los músculos unen los distintos huesos entre sí y permiten la locomoción. La explotación en corrales y jaulas exige poco de la musculatura de los conejos, por lo que los músculos exhiben color pálido. En cambio, los músculos que se ejercitan mucho muestran color más rojizo. El movimiento favorece la irrigación sanguínea de los músculos, resultando entonces éstos reforzados.^{9,88,106}

2.4.2.3 Corazón y sistema circulatorio: El corazón bombea la sangre por los vasos sanguíneos hasta los órganos, que dependen del oxígeno que reciben continuamente a través de la circulación sanguínea. Como en otros animales mamíferos y en el hombre, solamente un corazón sano es capaz de mantener de debidas condiciones la circulación de la sangre. El funcionalismo cardíaco puede medirse por la frecuencia del pulso o de los latidos del corazón (valor normal: 120-150 latidos por minuto). En las conejas, al final de la gestación se produce una especial sobrecarga circulatoria, por lo que entonces resulta importante la integridad de la función cardíaca: debe quedar garantizado el abastecimiento de las crías contenidas en la matriz. También durante la lactación resulta sobrecargado el sistema circulatorio, ya que entonces las mamas deben estar intensamente irrigadas para la producción de leche.^{9,88, 106}

2.4.2.4 Respiración y órganos respiratorios: La respiración de los conejos está regulada por la tasa de anhídrico carbónico (CO₂) presente en la sangre. Si aumenta este contenido se acelera automáticamente. Esto permite inhalar mayor cantidad de oxígeno y expulsar más dióxido de carbono.^{9,88, 106}

El aire es aspirado por las aberturas nasales, para ingresar luego a través de las fosas nasales y la tráquea en los pulmones. Aquí tiene lugar en las vesículas pulmonares el intercambio de los llamados gases respiratorios que son el oxígeno (O₂) y el dióxido de carbono (CO₂). El

oxígeno es captado por los glóbulos rojos sanguíneos, mientras que el CO₂ es cedido a éstos en las vesículas pulmonares a cambio del oxígeno.^{9, 88,106}

Derivados de las cavidades nasales, los conejos poseen unos senos nasales que no son de fácil acceso, por lo que no están suficientemente ventilados. Bacterias y diversos gérmenes patógenos pueden asentarse en ellos con facilidad, resultando luego difícil la erradicación de los microorganismos. Por esta razón se debe disponer de un buen clima en los alojamientos.^{88,106}

2.4.2.5 Canal digestivo y proceso de la digestión:

- **Cavidad bucal y dientes.** La abertura bucal de los conejos cuenta en sus laterales con pelos táctiles y es relativamente pequeña. La cavidad bucal es pequeña en su porción anterior, pero se ensancha en la posterior. En la parte anterior están los dientes incisivos: dos a cada lado de la mandíbula superior, y uno a cada lado en la inferior. Los molares tienen una ancha superficie de masticación, carece de raíz y a medida que se desgastan se adelantan. El bolo alimenticio empapado de saliva atraviesa el esófago para llegar al estómago.¹⁰⁶

- **Estómago e intestino.** El conejo tiene un estómago unilocular, que acumula el alimento y continúa en éste los procesos digestivos iniciados en la cavidad bucal. La mucosa del estómago segrega ácido clorhídrico y la enzima proteolítica pepsina. Este ácido actúa también contra las bacterias y virus, mientras que la pepsina desdobla la proteína en la dieta en unidades menores, que luego pueden aprovecharse.¹⁰⁶

El estómago de los conejos está continuamente lleno de restos alimenticios. La ingestión regular de alimento (30-50 comidas al día) va seguida del transporte de la comida desde el estómago poco musculado, hasta el intestino delgado. Por consiguiente, los conejos deben tener oportunidad constante de ingerir pequeñas cantidades de pienso. En los ayunos prolongados es frecuente que sufran de trastornos digestivos. En el contenido gástrico se encuentran siempre pelotas de pelo que se entremezclan con la papilla alimenticia.

Especialmente en los conejos de pelo largo (conejos de Angora), esto ocasionando notables alteraciones digestivas, al quedar obstaculizado el transporte digestivo del alimento.¹⁰⁶

El alimento pasa desde el estómago al intestino delgado, que consta de tres tramos: duodeno, yeyuno e íleon, en los que se desarrollan los principales procesos digestivos. Las grasas, carbohidratos y proteínas de los alimentos se desdoblan en componentes menores, que son absorbidos por el intestino. Para el desarrollo de los procesos de la digestión son necesarios el líquido biliar del hígado y la secreción del páncreas. Esta secreción y la bilis se vierten directamente en el intestino delgado.¹⁰⁶

En el intestino grueso, constituido por el ciego, colon y recto, se digieren con ayuda de bacterias las porciones vegetales más difícilmente digestibles (celulosa). Como resultado se forman ácidos grasos, que son expulsados con las llamadas heces del ciego e incitan con su olor a que los conejos vuelvan a ingerir las pelotillas de excrementos. Esta particularidad de los conejos recibe el nombre de cecotrofia (coprofagia) y permite el aprovechamiento óptimo del alimento, a la vez que constituye una fuente adicional de vitamina B.¹⁰⁶

Los conejos son capaces de controlar a voluntad la emisión de heces; esto significa que se puede educar en buena medida a un conejo a que mantenga limpia su jaula.¹⁰⁶

2.4.2.6 Órganos urinarios y genitales: Tanto en el macho como en la hembra cuentan con un conducto común de emunción: la uretra, que en el conejo macho discurre por el pene y en la hembra desemboca en la vagina. Desde el punto de vista funcional, ambos sistemas orgánicos no tienen nada en común. Los órganos urinarios sirven para limpiar la sangre y eliminar las sustancias nocivas presentes en ésta, mientras que los órganos genitales sirven para la reproducción.¹⁰⁶

- **Órganos urinarios.** Constituido por dos riñones, dos uréteres, una vejiga de la orina y una uretra. Los riñones se hallan situados en la cavidad abdominal, a derecha e izquierda de la columna vertebral. El riñón derecho está un poco más cerca de la cabeza que el izquierdo. En los riñones tiene lugar la filtración continuada de la sangre, con objeto de limpiarla de sustancias nocivas, que luego son expulsadas con la orina. El color de la orina de conejo es

amarillento y el líquido es ligeramente turbio. También pueden evidenciarse cristales de urea, lo que no significa que el animal esté enfermo. En la sección de un riñón se aprecia una capa cortical y una zona medular. La filtración se produce en la capa cortical, mientras que en la zona medular se concentra la orina formada y se acumula en la pelvis renal. La orina fluye a través del uréter, pasando así desde los riñones a la vejiga urinaria, situada en la cavidad de la pelvis; en ella se acumula la orina. Cuando está llena la vejiga urinaria, se vacía al exterior a través de la uretra. Deficiencias de racionamiento pueden provocar también en los conejos la formación de cálculos urinarios, que se depositan en la vejiga, dificultando la emisión de orina.¹⁰⁶

- **Órganos genitales del macho.** Los testículos del conejo son alargados y se encuentran en el interior de una bolsa cutánea bajo la piel. Carecen de la bolsa escrotal existente en otras especies animales. Al nacer, los testículos se hallan en la cavidad abdominal. Solamente después del nacimiento se produce el descenso de los testículos a través del canal inguinal. En el aparato genital del macho, también forman parte los epidídimos, las glándulas sexuales (próstata, glándulas de las vesículas seminales y glándulas bulbouretrales) y el pene, con los cuerpos cavernosos y músculos.^{29, 106}

- **Órganos genitales de la hembra.** Están constituidos por dos ovarios, dos oviductos, una matriz con dos cuernos uterinos y dos aberturas al exterior y la vagina. Los óvulos maduran en los folículos de los ovarios.^{29, 106}

Cuadro 3. Funciones corporales normales

Temperatura corporal a partir de la 3ª semana de vida:	38,5-39,3 grados C.
La frecuencia respiratoria en reposo por minuto:	entre 30 y 60.
Madurez sexual, machos y hembras:	alrededor de las 15 semanas (entre 12 y 18 semanas)
Ciclo sexual:	Ausencia de ciclo anual

Ovulación:	Se produce sólo tras el acto sexual (unas 10-12 horas más tarde)
Duración de la gestación:	unos 31 ó 32 días
Número de crías por camada:	4 a 12 (15)

2.4.2.7 Reproducción. La conejas están dispuestas para un nuevo apareamiento a las pocas horas de parir, además debidamente alimentadas y en buen estado de salud, pueden volver a ser cubiertas con éxito. En el coito, los espermatozoides son eyaculados en la vagina, desde donde son impulsados por movimientos activos y pasivos relativamente rápidos a través de los cuernos uterinos hasta el punto donde se ha de producir la fecundación, en la parte superior del oviducto. Los espermatozoides son muy activos y conservan durante muchas horas su capacidad fecundante. Unas 10-12 horas después del coito se liberan los óvulos maduros del ovario y, al cabo de pocos minutos, ingresan en los oviductos. La fecundación de los óvulos se produce alrededor de 12-16 horas tras la cópula. A diferencia de lo que sucede con los espermatozoides, que conservan su capacidad fecundante durante 30-32 horas en el oviducto, esta facultad la mantienen los óvulos sólo corto tiempo: unas 6-8 horas tras la ovulación. Producida la fecundación, los óvulos pasan a la matriz, donde transcurridos 8-10 días se asientan sólidamente (implantación). La gestación de la coneja dura 31 ó 32 días.¹⁰⁶

2.4.2.8 Piel, pelo, glándulas cutáneas (mamas). La piel protege a los conejos de acciones externas (luz, humedad), a la vez que regula la temperatura corporal. Los tejidos cutáneo y subcutáneo están constituidos como en todos los demás animales. Sólo el tejido subcutáneo muestra alguna particularidad en los conejos. Puede desplazarse con facilidad, al adherirse al cuerpo flojamente, lo que permite coger y trasladar los conejos sujetos por la piel. Como formaciones anejas a la piel están el pelo, uñas y mamas.¹⁰⁶

Los pelos cobertores y las cerdas componen la capa de pelo, que en los conejos de pelambre normal recubren los finos, delicados y más cortos pelos lanosos. Por cada pelo cobertor existen 20-40 pelos lanosos. El pelo cobertor es mucho más grueso que el lanoso, y las cerdas son especialmente largas.¹⁰⁶

Los largos pelos táctiles se sitúan en la cabeza y en el labio superior, en el mentón y junto a los ojos. Estos pelos, al ser tocados, envían un estímulo al sistema nervioso y ayudan a los animales a orientarse.¹⁰⁶

Los conejos tienen en las patas anteriores cinco uñas; las llamadas uñas pulgares se sitúan en posición más alta y no contactan con el suelo. En las patas posteriores hay cuatro uñas. Cuando los conejos deambulan sobre suelos duros, las uñas se desgastan. En cambio cuando los animales se mueven poco y el suelo es blando, no se produce este desgaste, en cuyo caso las uñas deben cortarse regularmente con ayuda de una tijera especial.¹⁰⁶

Para la alimentación de sus crías, la coneja cuenta con 6-10 mamas, dispuestas a derecha e izquierda de pecho y abdomen. Durante la lactación se forma leche continuamente en las glándulas mamarias para que mamen las crías.¹⁰⁶

En el curso de la gestación aumentan de tamaño las mamas, que ven incrementado su peso, en particular entre los días 16 y 26 de preñez. Tras el parto, se produce un último empuje en el desarrollo mamario hasta el día 15 posterior al nacimiento de las crías.¹⁰⁶

2.4.2.9 Alimentación. El tracto gastrointestinal del conejo es el sistema orgánico más sensible a sufrir trastornos, viéndose influido por una alimentación óptima, equilibrada y adecuada para esta especie. Los defectos de alimentación pueden tener graves consecuencias. Además de saciar el hambre, que obedece ante todo al descenso de las tasas de glucosa, aminoácidos, ácido láctico y ácidos grasos volátiles en la sangre, los conejos distinguen evidentemente los distintos piensos por el sabor y, de acuerdo con su apetito, los toman selectivamente.¹⁰⁶

El contenido de energía del pienso desempeña un papel decisivo en la ingestión de alimento por los conejos. Si la concentración de energía está por encima de una determinada cifra, se

ingere menos pienso. A este respecto conviene recordar el mecanismo regulador que supone la cecotrofia: Los conejos toman directamente del ano las heces fecales, que, a diferencia de las duras ordinarias, tiene conformación alargada y consistencia pegajosa (heces blandas), y las vuelven a digerir. Este proceso se realiza con particular intensidad cuando existen carencias energéticas. Si la tasa energética del pienso es suficiente, los conejos ingieren más cantidad de heces blandas en caso de déficit de proteína en la ración.¹⁰⁶

2.4.2.10 Composición del pienso. El valor nutritivo del pienso depende de los componentes. Este debe contener Proteína bruta: Es el componente más importante del cuerpo. Si la cantidad de proteína bruta alcanza valores superiores al 20% de la ración total, aumenta el riesgo de sufrir daños la salud de los conejos, ya que el tracto gastrointestinal de estos no esta preparado para cifras tan elevadas de proteínas.¹⁰⁶

Fibra bruta: regulan la actividad digestiva. El contenido de fibra bruta de la ración debe estar entre el 13 y 16%.¹⁰⁶

Hidratos de carbono: son los componentes de la dieta encargados de aportar energía. Las necesidades energéticas por animal dependen del peso y superficie corporales, así como de los rendimientos.¹⁰⁶

Grasas: solo se encuentran en escasa proporción en los piensos para conejos (1 a 2%). Si la porción de grasa se incrementa en los piensos compuestos del 2 al 4%, cabe esperar mejores resultados en el cebo de los conejos.¹⁰⁶

Sales minerales (calcio, fósforo, sodio y potasio): resultan absolutamente necesarias para la constitución de la sustancia ósea. Por volverse a expulsar con la orina el 60% del calcio ingerido, es preciso aportar este elemento regularmente con la dieta.¹⁰⁶

Vitaminas (A, B, y E): deben aportarse en parte a los conejos con el pienso, mientras que las vitaminas del complejo B las generan también bacterias en el intestino de estos animales, utilizando luego los conejos mediante la cecotrofia.¹⁰⁶

2.4.2.11 La cría de conejos. La cría en espacios abiertos es hoy en extremo excepcional. Los conejos se explotan en instalaciones exteriores o interiores, eligiéndose entre los suelos con o sin paja, así como entre la cría aislada, en grupos o en grandes poblaciones.^{11, 106}

2.4.2.12 Cómo se producen las enfermedades.

Causas de la enfermedad y control sanitario

Las enfermedades se manifiestan por síntomas más o menos característicos:

- Menos consumo de pienso, pérdida de apetito.
- Alteración de las heces, diarrea.
- Aumento del volumen del abdomen.
- Respiración dificultada, contracciones en los flancos, aberturas nasales pegajosas y con costras, suciedad de la cara interna de las patas anteriores.
- Posición inclinada de la cabeza, trastornos del equilibrio.
- Flujo ocular, párpados hinchados o adheridos entre si.
- Pérdida de peso, enflaquecimiento.
- Lesiones de la piel, inflamaciones (dermatitis) con engrosamiento, abscesos en la piel o tejido subcutáneo.
- Caída del pelo, decalvaciones (circunscritas o generalizadas)
- Alteraciones en las mamas.
- Lesiones en los órganos genitales de los machos o hembras.^{2, 106}

Las causas de las enfermedades pueden ser:

- Alteraciones hereditarias.
- Defectos de alimentación.
- Deficiencia de manejo (alojamiento).
- Contagios por virus, bacterias, hongos, infestaciones por parásitos uni o pluricelulares.

- Intoxicaciones.
- Lesiones y heridas.^{2, 106}

2.4.2.13 Defectos de manejo. Las enfermedades de manejo se originan por:

- Frío (especialmente amenazados las crías jóvenes)
- Calor (temperaturas elevadas de los alojamientos en verano)
- Gases nocivos en alojamientos cerrados, sin ventilación suficiente.
- Heridas por salientes agudos de jaulas o alojamientos.
- Numero excesivo de animales en una jaula o alojamiento (ello provoca mordeduras)
- Mala limpieza o desinfección insuficiente de alojamientos o jaulas.¹⁰⁶

2.4.2.14 Las enfermedades infecciosas se producen por:

- Alteración directa de órganos aislados (enfermedad orgánica) o de la totalidad del cuerpo (enfermedad general) como resultado de la acción de gérmenes patógenos.
- Producción de sustancias venenosas (toxinas) por los microorganismos (enfermedad orgánica o enfermedad general).¹⁰⁶

Es importante tener en cuenta que los conejos se producen con frecuencia heridas entre si por mordeduras. Estas últimas se originan en las luchas por establecer las categorías sociales dentro del grupo de machos adultos o bien, cuando es excesivo el número de conejos mantenidos en una jaula. La inadecuada construcción de éstas permite que cuelguen fuera las extremidades de los conejos, y las esquinas y aristas son causas frecuentes de pequeñas heridas en la piel. Sujetar los conejos de mala manera por criadores inexpertos es causa frecuente de fractura de la columna vertebral.¹⁰⁶

2.4.2.15 Medidas preventivas contra las enfermedades. Las vacunaciones constituyen la mejor medida preventiva contra las enfermedades, siempre que se apliquen racionalmente, en la edad adecuada y repetidas con regularidad. Por desgracia, solo se dispone de vacunas para

unas pocas enfermedades infecciosas de los conejos, en particular para prevenir determinadas infecciones víricas.¹⁰⁶

La ley de medicamentos, (legislación Alemana), prescribe que las vacunas solo puede aplicarlas el veterinario. Diversos laboratorios ofrecen vacunas contra:

La enfermedad hemorrágica de los conejos (RHD) o peste china:

Arvilap (Albrecht, Aulendorf): Virus RHD inactivado.

Dosis: 1ml subcutáneo

Programa de vacunación: A partir de la 6 semana de vida. Repetir una vez al año. ¡No vacunar animales ya enfermos!

Cunivak RHD (Laboratorio Dessau-Tornau): Virus RHD inactivado

Dosis: 0.5ml subcutáneo o intramuscular.

Programa de vacunación: A partir de la 6 semana de vida. Descendencia de conejas vacunadas, a partir del 3 mes de vida. También pueden vacunarse las conejas preñadas. Repetir una vez al año.

Rika-Vacc (Riemser Tierarzneimittel GmbH, WDT, Garbsen): Virus RHD inactivado.

Dosis: 0.5 ml. subcutáneo o intramuscular.

Programa de vacunación: A partir de la 6 semana de vida. Descendencia de conejas vacunadas, a partir del 3 mes de vida. También pueden vacunarse las conejas preñadas. Repetir una vez al año.

Vacuna Heteróloga contra la Mixomatosis:

Vacuna viva contra la mixomatosis (Rhone-Merieux, Laupheim)

Dosis: 0.5 ml. estrictamente subcutáneos.

Vacunar solo conejos sanos, en casos excepcionales se forman tumores conjuntivos hasta del tamaño de un huevo de gallina, que pueden persistir varias semanas.

Programa de vacunación: Conejos de cebo, a partir de la 4 semana de vida. Conejos reproductores, a partir de la 8 semana de vida. Repetir cada 4-6 meses.

Vacuna Homologa contara la mixomatosis:

Cunivak Nyxo s.c (Laboratorio dessau-tornau)

Dosis 1 ml. subcutáneo.

Cunivak jet (Laboratorio dessau-tornau)

Dosis: 0.1 ml. de vacuna resuspendida, utilizando el inyector (dermojet).

Vacuna Riemser contra la mixomitosi s (Riemser Tierarzneimittel GMBH, WDT, GARBSEN)

Dosis: 1 ml. subcutáneo

Programa de vacunación: Solo deben vacunarse los animales que no parezcan debilitados. No vacunar con menos de 4 semanas de edad.

Momentos de vacunar: Entre abril y junio, eventualmente, de acuerdo con la duración del invierno, también uno o dos meses antes.

Animales jóvenes: En agosto / septiembre. Repetir cada 6 meses.¹⁰⁶

2.4.2.16 Medidas inespecíficas de limpieza y desinfección.

Limpieza: La retirada regular del estiércol de los alojamientos, por lo menos 2 veces a la semana, evita la acumulación en la cama de gérmenes patógenos, como bacterias y coccidios. Existe una limpieza en seco que se realiza con escoba, tras lo cual se enjuaga con agua, (limpieza húmeda). Es necesario secar bien a continuación, antes de distribuir nueva cama de paja.^{8, 20,70,73, 106}

Desinfección: Sirven para la adecuada eliminación de microorganismos patógenos, bien en el transcurso de una enfermedad infecciosa, con objeto de reducir la cantidad de agentes patógenos bien como medida preventiva que atenúe desde el principio la presión microbiana. Al aplicar el producto se debe conocer si el producto se puede aplicar en presencia de animales o no, ya que estos pueden producir irritación de las mucosas o enfermedad en las vías respiratorias de los conejos.^{8, 20,49,56,70,73106}

La colocación de mallas metálicas contra mosquitos y moscas en las ventanas y puertas del alojamiento impedirán la entrada de insectos que puedan transmitir el virus del RHD o mixomatosis.^{8, 20,70, 106}

2.4.2.17 Enfermedades infecciosas. Infecciones Víricas

Mixomatosis: Es una infección vírica de los conejos que es transmitida desde los conejos silvestres a los domésticos por insectos picadores y garrapatas.¹⁰⁶

3 DISEÑO METODOLOGICO

3.1 HIPOTESIS

Los componentes de la cáscara de huevo tales como el calcio, el fósforo entre otros, tienen la capacidad de inducir osteogénesis, por lo tanto, la cáscara de huevo servirá como material aloplástico para utilizarse en defectos óseos pequeños de un diámetro aproximado de 2mm a 8mm de ancho y hasta 5mm de profundidad, en un tiempo estimado entre cuatro y seis meses; colocándose en la parte del defecto como una especie de relleno creando un espacio entre los tejidos blandos y el hueso, dejando que las células osteogénicas tengan la facilidad de restaurar el hueso perdido en menor tiempo.

3.2 TIPO DE ESTUDIO

El estudio será experimental preclínico de intervención.

Experimental porque se desarrollará el trabajo de campo en animales vivos los cuales se tendrán que mantener en óptimas condiciones para la parte clínica quirúrgica donde se hará la correcta implantación del material de intervención y su proceso posquirúrgico donde se sacrificarán los animales en diferentes fechas (una Semana, dos Semanas, cuatro Semanas, seis Semanas, ocho Semanas, 10 Semanas, 12 Semanas, 16 Semanas) después de haber sido implantados.

Debido a los estudios que se realizarán después del sacrificio de los animales en el trabajo de campo, se pasará a un trabajo de laboratorio donde se desarrollarán cortes histológicos en los lugares en los cuales se ha implantado el material aloplástico para describir el proceso por el cual se ha venido regenerando hueso, y estas descripciones se harán en tiempos diferentes, a una Semana, dos Semanas, cuatro Semanas, seis Semanas, ocho Semanas, 10 Semanas, 12 Semanas, 16 Semanas que son las fechas en las cuales los animales son sacrificados

3.3 UNIVERSO

Se utilizarán conejos de la familia Nueva Zelanda blancos que oscilen entre los cuatro a ocho meses de edad.

3.4 POBLACION

28 conejos de la familia Nueva Zelanda blancos entre las edades de cuatro a ocho meses de edad.

3.5 MUESTRA

Se selecciona a través de un muestreo no probabilístico, una muestra de 28 conejos de la familia Nueva Zelanda Blancos. Será dividida en tres grupos de ocho ejemplares cada una, con cuatro machos y cuatro hembras por grupo. Los cuatro conejos restantes serán de reemplazo, dos hembras y dos machos.

Se decide este tipo de muestreo por los elevados costos de mantenimiento y exámenes necesarios para cumplir los objetivos; al igual de no contar con ninguna medición de referencia de la variable de estudio para determinar con este un tamaño de muestra probabilístico.

3.6 CRITERIOS DE SELECCIÓN

3.6.1 Criterios de inclusión

- Conejos físicamente normales y sanos que no tengan ninguna enfermedad al momento de ser escogidos
- Conejos de raza Nueva Zelanda blancos, dentro de las edades de cuatro a ocho meses de edad.
- Conejos de raza Nueva Zelanda blancos, que no tengan malformaciones óseas.

- Conejos hembras que no estén preñadas.
- Conejo Nueva Zelanda blanco con el peso y tamaño normales.
- Conejo Nueva Zelanda blanco que desde su nacimiento no hayan presentado infecciones o cualquier tipo de enfermedad.
- Conejos Nueva Zelanda blancos activos o ejercitados con alta capacidad de movimiento.

3.6.2 Criterios de Exclusión.

- Alteración en los resultados de los exámenes clínicos, de laboratorio y radiográficos previos al procedimiento quirúrgico.

3.6.3 Criterios de discontinuación o retiro.

- Enfermedades que se adquieran durante el proceso investigativo inducidos por microorganismos, tales como virus, hongos, bacterias, parásitos.
- Conejo hembra que quede preñada en medio del proceso.
- Muerte del animal por cualquier causa patológica.

3.7 VARIABLES

3.7.1 Variables.

Para análisis histológico se tomarán en cuenta las siguientes variables:

- Género: Macho, Los genitales externos presentan: saco escrotal y pene, el pene sobrepasa el ano y las zonas laterales son carentes de pelo.
Hembra, Los genitales externos presentan: orificio urogenital y ano. Las bolsas perianales se sitúan lateralmente a la apertura urogenital.
- Implante: se determinará al azar dentro del grupo de estudio, y se describirá en cual de ellos está presente.

- Estratificación por formación: se dividirá en 3 zonas fácilmente observables y medibles.

Cartílago Embrionario: presentará una proliferación celular, donde se encontrarán condroblastos y osteocitos, además fibras dispuestas de manera desordenada, mostrará un aspecto fibrilar.

Cartílago Maduro: Es la zona media que se encuentra entre el cartílago inmaduro o embrionario y el osteoide.

Osteoide: Es la zona periférica de la regeneración, que se caracteriza por encontrar una mezcla de cartílago y de hueso

- Formación ósea: se determinará por observación; y se clasificarán en:

Ordenada por presentar una disposición estratificada en la maduración.

Desordenada se presentará por la disposición no estratificación de la maduración.

- Celularidad medular: se determinará por observación; clasificándola en tres categorías:

Aumentada, normal o disminuida; dependiendo de la cantidad que se observará en la médula ósea.

- Vascularidad: se determinarán 2 parámetros:

Periférica: donde se observara si este proviene desde la periferia hacia la zona medular.

Interior: donde se observará si este proviene de la zona medular a la periferia.

- Cicatrización: se determinará por la observación clínica de la apariencia dérmica consecutiva al daño y reparación colágena de esta.

Primera intención: Es la que se realiza por capas de la más interna a la externa dando una apariencia superficial lisa y se desarrolla en un mes.

Segunda intención: Es la que se realiza en capas desordenadas, a través del tejido de granulación dando una apariencia superficial rugosa, blanda y rosada. Se desarrolla por más de un mes.

Cuadro 4. Descripción de variables

Variable	Código	Escala de variable		Categoría	Medición
		Cuantitativa	Cualitativa		
Género	1	X		Hembra Macho	Observación de órganos sexuales externos
Implante	2		X	Si No	Se describe que si el animal recibió o no el material de implante
Estratificación de formación	3	X		Embrionaria Maduro Osteoide	Se mide en milímetros según las imágenes histológicas obtenidas
Formación ósea	4	X		Ordenada Desordenada	Se determina por observación microscópica
Celularidad medular	5	X		Aumentada Normal Disminuida	Se determina por observación microscópica
Vascularidad	6	X		Interior Periférica	Se determina por observación microscópica
Cicatrización	7	X		Primaria Secundaria	Se determina por observación clínica

3.8 FORMULARIO DE RECOLECCION DE INFORMACIÓN CODIFICADO

3.8.1 Instructivo para formulario de recolección de información codificado.

1 Sexo: Macho, Los genitales externos presentan: saco escrotal y pene, el pene sobrepasa el ano y las zonas laterales son carentes de pelo.

Hembra, Los genitales externos presentan: orificio urogenital y ano. Las bolsas perianales se sitúan lateralmente a la apertura urogenital.

2 Implante: se determinará al azar dentro del grupo de estudio, y se describirá en cual de ellos está presente.

3 Estratificación por formación: se dividirá en 3 zonas fácilmente observables y medibles. Cartílago Embrionario: presentará una proliferación celular, donde se encontrarán condroblastos y osteocitos, además fibras dispuestas de manera desordenada, mostrará un aspecto fibrilar.

Cartílago Maduro: Es la zona media que se encuentra entre el cartílago inmaduro o embrionario y el osteoide.

Osteoide: Es la zona periférica de la regeneración, que se caracteriza por encontrar una mezcla de cartílago y de hueso

4 Formación ósea: se determinará por observación; y se clasificarán en:

Ordenada por presentar una disposición estratificada en la maduración.

Desordenada se presentará por la disposición no estratificación de la maduración.

5 Celularidad medular: se determinará por observación; clasificándola en tres categorías:

Aumentada, normal o disminuida; dependiendo de la cantidad que se observará en la médula ósea.

6 Vascularidad: se determinarán 2 parámetros:

Periférica: donde se observará si éste proviene desde la periferia hacia la zona medular.

Interior: donde se observará si este proviene de la zona medular a la periferia.

7 Cicatrización: se determinará por la observación clínica de la apariencia dérmica consecutiva al daño y reparación colágena de esta.

Primera intención: Es la que se realiza por capas de la más interna a la externa dando una apariencia superficial lisa y se desarrolla en un mes.

Segunda intención: Es la que se realiza en capas desordenadas, a través del tejido de granulación dando una apariencia superficial rugosa, blanda y rosada. Se desarrolla por más de un mes.

3.8.2 Formulario de recolección de datos codificado

Cuadro 5. Datos generales de los conejos

CONEJO	EDAD	GENERO	TAMAÑO	PESO	HEMOGRAMA INICIAL	CALCIO	GRUPO
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24							
25							
26							
27							
28							

Cuadro 6. Posquirúrgico a las 24 horas

CONEJO	CICATRIZACION	FIEBRE	INFLAMACION	MOVILIDAD	ALIMENTO
1					
2					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
12					
13					
14					
15					
16					
27					
28					

Cuadro 7. Posquirúrgico a los ocho días

CONEJO	HEMOGRAMA	CICATRIZACION	FIEBRE	INFLAMACION	EUTANASIA	ANALISIS HISTOLOGICO	CALCIO	RX	GRUPO
1									
2									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									
19									
20									
21									
22									
23									
24									
25									
26									
27									
28									

Cuadro 8. Análisis histológico

CONEJOS	GRUPO	ESTRATIFICACION	FORMACION OSEA	CELULARIDAD MEDULAR	CICATRIZACION	VASCULARIDAD	EUTANASIA
1							
2							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24							
25							
26							
27							
28							

3.9 PRUEBA PILOTO

Se tomó como prueba piloto el anterior estudio "Análisis histológico de la cáscara de huevo como material aloplástico para la regeneración ósea en conejos" realizado en el C.O.C. de la ciudad de Cali. En este estudio se trabajó con siete conejos blancos nuevo Zelanda, donde tres de ellos se implantaron en las patas derechas traseras con cáscara de huevo triturada, deshidratada y esterilizada, y otros tres en la misma zona anatómica, se les realizó el defecto óseo, demostrando que al finalizar el estudio, 4 meses después de ser operados los conejos, no se produjo ningún rechazo del injerto de tipo anafiláctico, se encontró que se había regenerado hueso partiendo desde cartílago de la periferia hacia el centro a diferencia de los que solo se les hizo el defecto que se regeneró hueso pero en forma viceversa.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se decidió complementar el estudio, siguiendo las recomendaciones del trabajo ya mencionado, dentro de las cuales eran desproteínizar la cáscara de huevo, marcar la zona del defecto con el fin de identificarlo más fácil en el momento de la radiografía, y magnificar la muestra para determinar el tiempo y las etapas de formación de este hueso en formación.

3.10 CONSIDERACIONES ÉTICAS

El trabajo de campo necesitaba de la aprobación y supervisión de un comité de ética veterinaria que según la ley 84 de 1989, y tiene que estar conformado por tres entes representantes legales, uno de Una sociedad protectora de Animales, otra del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) y el otro de la secretaría de salud municipal.

Se enviaron diferentes cartas a estas entidades para citar a los representantes de estas entidades, los primeros que respondieron fueron los representantes de la sociedad protectora de animales, Dr. Delio Orjuela y la Dra. Maria Alejandra Arango veterinarios del Zoológico de Cali, seguidamente devolvieron la carta desde el ICA con la Dra. Andrea Camelo y

posteriormente el Dr. Andrés Osorio representante de la secretaria de salud municipal en el área de zoonosis.

A estas personas se les presentó una exposición, donde se mostró todos los objetivos, justificación e hipótesis del trabajo, cumpliendo con las normas éticas que el trabajo requería, dieron unas pequeñas recomendaciones y aprobaron el trabajo de campo.

(Ver anexos de las cartas enviadas).

3.11 RECURSOS

3.11.1 Recursos humanos.

Cuadro 9. Recursos humanos

Personal	Dedicación de horas durante el trabajo de grado	Valor Hora en pesos colombianos	Valor Total en pesos colombianos
Paola Andrea Martínez	400	0	0
Gabriel Eduardo Pérez	400	0	0
Rubén D. Quintana	400	0	0
Paola Andrea López	400	0	0
Blanca Lucía Acosta	16	18.000	288.000
Paula Bermúdez	32	18.000	576.000
Diego Sánchez	64	18.000	1.152.000
Oscar Collazos	10	10.000	100.000*
Katia Altman	16	18.000	288.000
Héctor Fabio Mueses	16	18.000	288.000
SUBTOTAL			0

* Recursos propios subvencionados por los investigadores.

3.11.2 Recursos físicos.

Cuadro 10. Recursos físicos.

Rubro	Cantidad	Valor unidad	Valor total
Borradores	2	500	1.000
Cartuchos	4	40.000	160.000
Computador	240	1.500 x hora	360.000
Fotocopias por páginas	3200	100	320.000
Conejos	28	25.000	700.000
Comida para conejos	252 kg	1.000 x Kg	252.000
Desparasitario	28	5.000	140.000
Exámenes de laboratorio	206	9.710	2.000.260
Fármaco- cirugía	28	17.900	501.200
Antibióticos extras	6	5.000	30.000
Instrumental de cirugía	100	5.00	50.000
Papel por resmas	5	6.000	30.000
Refrigerios	75	3.000	225.000
Transporte*	500	1.000	500.000
Jaulas	28	20.000	560.000
Bioterio	1	400.000	400.000
Huevos	150	200	30.000
Proceso del huevo	1 lb.	356.000	356.000
Estudio radiográfico	30	8.400	252.000
Placas Histológicas	90	2.500	225.000
TOTAL			7.033.660

**Esta anunciado por pasajes de buses.*

3.11.3 Recursos financieros. Análisis histológico

Cuadro 11. Recursos Financieros

Rubro	VALOR
Recursos Humanos patrocinados por C.O.C.	2'592.000*
Recursos humanos pagados por investigadores	100.000
Recursos Físicos	7.092.460
TOTAL	7.192.460
Imprevistos 5%	359.623
GRAN TOTAL	7.552.083

*Costo subvencionado por el C.O.C.

3.13 DESARROLLO DEL TRABAJO DE CAMPO

3.13.1 Ingreso de los conejos a la fundación Zoológico de Cali

El ingreso de los conejos fue el día jueves 3 de julio del 2003 a las 11 de la mañana. Los conejos fueron traídos desde Pereira donde se les dió comida antes y después del viaje.

A los conejos se alimentaban con concentrado y pasto verde fresco.

En el Zoológico de Cali, los conejos fueron organizados en las jaulas dentro del bioterio, y se separaron machos de hembras asignándoseles un número a cada uno y posteriormente se dividieron en tres grupos de la siguiente manera: Primer grupo (A): ocho conejos implantados; Segundo grupo (B): ocho conejos no implantados; Tercer grupo (C): ocho conejos control; Cuarto grupo (D): Cuatro conejos de reemplazo.

Cuadro 14. Organización de los conejos en el bioterio.

	Machos	Hembras
Grupo A con implante	Conejos 1 al 4	Conejos 5 al 8
Grupo B con defecto/sin implante	Conejos 9 al 12	Conejos 13 al 16
Grupo C control paraclínico	Conejos 17 al 20	Conejos 21 al 24
Grupo D Reemplazo	Conejos 27 y 28	Conejos 25 y 26

3.13.2 Manejo diario de los conejos en la fundación Zoológico de Cali. Diariamente entre las siete y nueve de la mañana se procedió con el mantenimiento de las jaulas limpiando cada una de las bandejas de los excrementos y orina de los conejos; se les proporcionaba alimento (Conejina marca SOYA) 120gr. por conejo y agua en bebederos con capacidad de almacenar 500ml. Uno de los conejos presentaba alteraciones en las vías respiratorias como

consecuencia del viaje desde el criadero hasta el bioterio, esta enfermedad fue diagnosticada y tratada por el veterinario del Zoológico de Cali. Se le suministró Terramicina de larga acción 28mg. vía intramuscular. Los conejos se tuvieron en adaptación por tres semanas y media con las anteriores condiciones.

3.13.3 Toma de primeros exámenes de laboratorio. El día siete de julio del 2003 se llevó cada uno de los conejos al laboratorio del zoológico para tomarles muestras de sangre las cuales se iban a convertir en: Hemograma y Calcio Sérico.

Cada conejo fue pesado antes de ser sangrado, la muestra fue tomada de las orejas de los conejos utilizando Xilol tópico como dilatador, se utilizaron agujas con calibre 25 por 1 ½ y jeringas de 5ml. para sacar la mayor cantidad de suero y realizar los exámenes correspondientes. (Ver figura 1). Algunos de los conejos debido a su imposibilidad de extraer la sangre de las orejas fueron anestesiados con Isoflurano inhalado al 2%, 2lt. por seg. y se extrajo la muestra desde la parte interna del fémur del conejo. Cada conejo fue desparasitado con Ivermetina 2U de insulina. El conejo número 23 presentaba alteraciones en el hemograma debido a una enfermedad que tuvo en las vías respiratorias a causa del viaje desde Pereira, se le aplicó Terramicina Larga Acción 28mg. Intramuscular el día siete de Julio, mostrando una notable mejoría el día 11 de Julio al observar que se había comido toda la ración del concentrado.

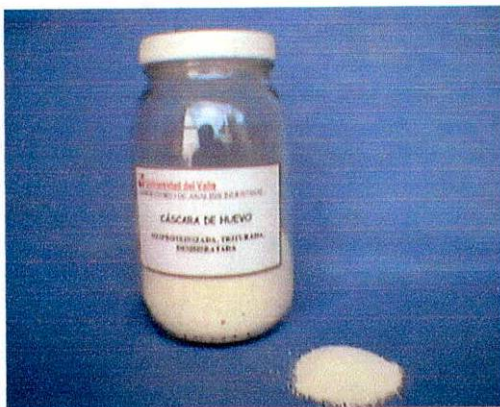
Figura 1. Toma de muestras de sangre



3.13.4 Tratamiento de la cáscara de huevo. El implante de cáscara de huevo se obtuvo a partir de 150 huevos con cáscara blanca de la misma avícola, se extrajo la clara y la yema, luego se trituró la cáscara manualmente para facilitar su almacenamiento. Posteriormente se llevó la muestra al Laboratorio de Análisis Industrial de la Universidad del Valle para realizar el respectivo proceso.

Se tomó la cáscara de huevo y se depositó en un recipiente, el cual se llevó a la estufa a 105°C para secarla, se dejó durante 24 horas, luego; se trituró la muestra nuevamente en un molino eléctrico donde el tamaño de cada partícula oscilaba entre 100 y 300 micras; se solubilizó la proteína de la cáscara de huevo colocándola en un recipiente donde se le agregó agua y se agitó magnéticamente por dos horas y este proceso se repitió 10 veces; luego se deshidrató la muestra nuevamente llevándola a una estufa a 105°C por 24 horas, antes de la cirugía se esterilizó la cáscara en un autoclave durante 25 minutos.

Figura 2. Cáscara de huevo procesada



Se realizó el análisis de los componentes de la cáscara de huevo antes de ser procesada arrojando los siguientes resultados:

Proteínas: 5.99%, Calcio 99.86%, Magnesio 1.07%, Fósforo 0.20%.

Después de que la muestra se le realizó los procesos mencionados arrojó los siguientes resultados:

Proteínas: 2.71%, Calcio 102.69%, Magnesio 1.07% y Fósforo 0.15%.

Para el análisis se utilizaron los siguientes métodos:

El NTC 282 para la proteína, la absorción atómica de llama para el Calcio y el Magnesio y la espectrofotometría para el fósforo.

3.13.5 Cirugía de los conejos. El día 29 de Julio del 2003 a las siete y 20 AM. se inició el proceso de las cirugías de los conejos. Se llevó cada uno de los conejos a la sala del laboratorio donde se inició con la cortada del pelo con una tijera a nivel de la cadera del lado derecho. Con una cuchilla Minora se afeitó una zona grande para limpiar y desinfectar con mayor facilidad, se trasladó el conejo al quirófano del Zoológico de Cali uno a uno de los conejos, donde se le inyectó anestesia general Zolptil (Tiletamina, Zolazepan) local Roncaína (Lidocaína con Epinefrina) 2ml. en el sitio de la incisión para obtener una vasoconstricción.

Figura 3. Anestesia a los conejos de los grupos A y B



Se procedió con una incisión en línea recta con hoja de bisturí No. 15 sobre la cresta iliaca en el conejo, se incidió de la misma manera la endodermis y músculo así se llegó al hueso, una vez en él, se desinsertó el músculo con el periostótomo descubriendo por completo la cresta iliaca, luego con una sonda periodontal impregnada con azul de metileno se marcó el sitio del defecto con las medidas 2mm a 8mm. con 5mm. de profundidad.

Figura 4. Incisión en la zona de la cadera



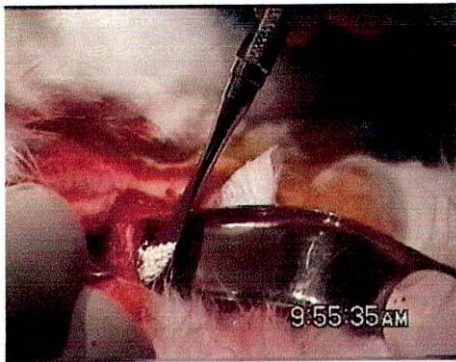
Se utilizó una pieza de baja velocidad con una fresa de carburo redonda número tres la cual se pasó por la línea marcada, se irrigó constantemente con suero fisiológico, se extrajo el fragmento de hueso y se perfeccionó el defecto con una cureta de Lucas hasta que se retiró toda la medula ósea para dejar el defecto sin sangre, se realizó una perforación en la superficie superior del defecto donde se introdujo un alambre quirúrgico 0.7 para demarcar la zona y ubicarla radiográficamente.

Figura 5. Realización del defecto con la fresa de baja velocidad



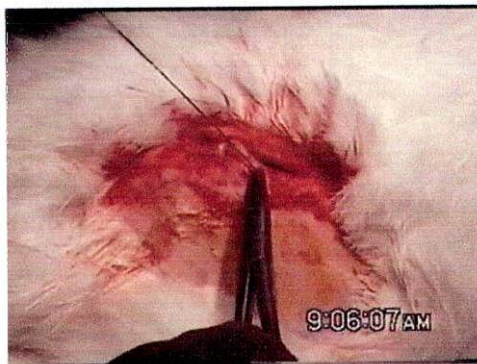
Esto se hizo en los conejos del número uno al número 16, pero a los conejos del número uno al número ocho se les implantó la cáscara de huevo deshidratada, triturada, desproteinizada y esterilizada previamente en autoclave.

Figura 6. Aplicación de la cáscara de huevo en el defecto óseo



A los conejos se les aplicó un lubricante ocular para evitar la resequedad de los ojos llamado Viscotears (Ácido poliacrílico) dos gotas, a su vez se tatuó a cada conejo con su respectivo número en la oreja. Se suturó internamente con Catgut 3.0 de forma continua, y con seda 3.0 en puntos simples en la parte externa, se limpió con Isodine (Yodopovina).

Figura 7. Colocación de la sutura



A cada conejo se le aplicó antibiótico Terramicina de larga acción 30mg. Y analgésico Ketoprofeno (Ketorolaco + Ibuprofeno) 2mg. por Kg. de peso. Luego se trasladaron los conejos a la sala de rayos X para su respectiva radiografía y finalmente se aplicó un repelente contra zancudos y moscas gusaneras llamado Curagán.

Los conejos fueron llevados a sus respectivas Jaulas y se colocaron dormidos de tal manera que no se obstruyeran sus vías respiratorias.

3.13.6 Posquirúrgico después de 24 horas. El día 30 de Julio del 2003 se abrió el bioterio a las 8:45am, donde se encontró el conejo número 11 muerto a las 3pm. Murió el conejo número tres. Se les realizó la necropsia, se determinó que la causal de la muerte fue una embolia en ambos casos debido a burbujas de grasa en las venas, esto como resultado del estrés de los conejos. Se les aplicó a los demás conejos Butarfanol 0.1mg. por Kg. de peso. Se les aplicó Isodine (Yodopovina) en la zona de la herida.

EL día dos de Agosto se tomaron dos de los conejos de reemplazo machos, y se realizó la cirugía, uno con implante y el otro sin implante, siguiendo los mismos pasos de los conejos ya operados.

Al día cuatro de agosto del 2003 se encontró que todos los conejos han respondido satisfactoriamente sin alteraciones.

3.13.7 Eutanasia. Se tomó un conejo del grupo A, B y C, en las semanas indicadas. Se anestesiaron totalmente con Zoletil (Tiletamina + Zolazepan) 50mg (0.6ml/Kg. de peso). Se tomaron muestras de sangre para los hemogramas y exámenes de Calcio Sérico como ya se escribió anteriormente, luego se tomó radiografía de la zona de la cirugía donde se colocó el conejo en posición anatómica, posteriormente se procedió con la eutanasia.

3.13.8 Necropsia. Para la necropsia se incidió en la misma zona donde se realizó la cirugía, se retiró el ala de la cadera con un osteótomo. Se realizó la disección retirando tejidos de pulmón, riñón, páncreas, intestino grueso, intestino delgado, hígado para su respectivo análisis histológico. Cabe nombrar la aparición de un sesgo en el momento de la necropsia, ya que se extraviaron las muestras de los tejidos de los conejos número cuatro y número 12, por esta razón, no se obtuvieron resultados histológicos de la séptima eutanasia.

Estas muestras se colocaron en formol al 10% para conservar los tejidos y evitar su descomposición y fueron llevados al respectivo laboratorio, las muestras de los órganos fueron procesadas inmediatamente a diferencia de los fragmentos de hueso que necesitaron una

descalcificación que duró aproximadamente cinco a ocho días con ácido nítrico al 10%, se deshidrató con alcohol etílico al 95% en tres pasos, y cada paso duró una hora, posteriormente se colocó en Isopropanol al 100% en tres pasos de una hora cada uno, luego se sumergió la muestra en Xilol en 2 pasos de una hora cada uno, la muestra se colocó en parafina líquida a 56°C en 2 pasos de una hora cada uno para petrificar la muestra, se llevó al micrótopo donde se cortó en un tamaño de cinco micras de ancho, nuevamente se colocó en Xilol con el fin de retirar la parafina, luego se sumergió en Isopropanol al 100% para retirar el Xilol en 3 pasos de una hora cada uno.

Para rehidratar la muestra se llevó a alcohol etílico al 95% en 2 pasos de una hora cada uno, se lavó con agua. Se tiñeron los núcleos de las células de la muestra con Hematoxilina, se lavó nuevamente con agua y se colocó en ácido clorhídrico con el fin de retirar el exceso del colorante, se volvió a lavar con agua, posteriormente se sumergió en agua amoniacal para intensificar la coloración de los núcleos de las células de la muestra, se lavó con agua.

El resto de las células acidófilas se tiñeron con eosina y se lavó nuevamente con agua.

Finalmente se deshidrató la muestra con los pasos iniciales para ser cubiertas con el cubreobjetos y poder ser observadas al microscopio.

Para poder observar las placas de los cortes histológicos se calibró al observador en la descripción de células y zonas histológicas que se requerían valorar, basados en un estudio previo realizado por estudiantes del Colegio Odontológico Colombiano como trabajo de grado, titulado "Análisis histológico de la cáscara de huevo como material aloplástico para la regeneración ósea en conejos".

4. RESULTADOS

4.1 PREQUIRURGICO

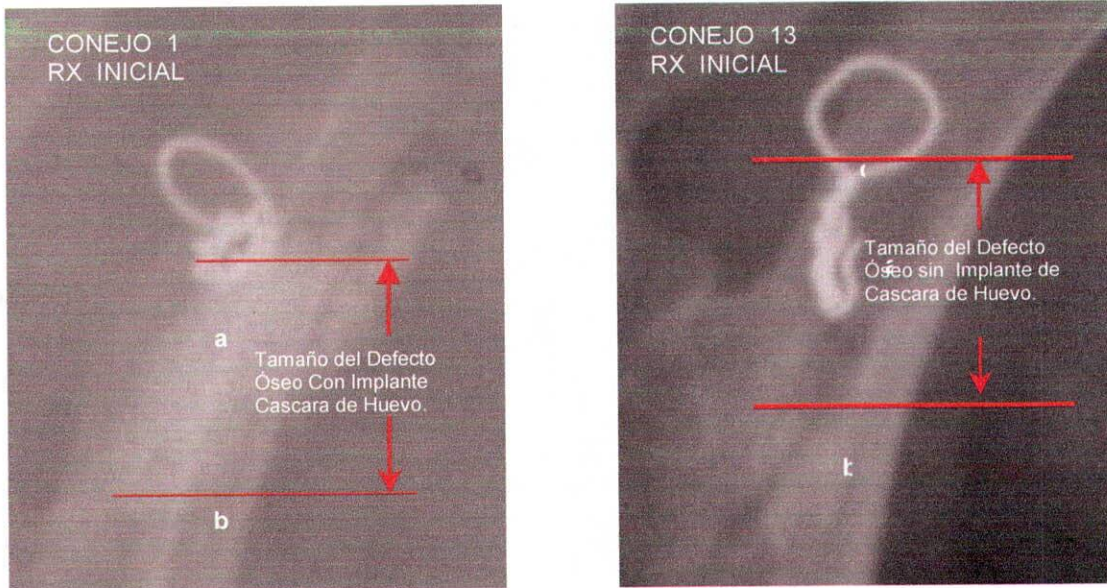
En los exámenes de hemograma y Calcio séricos realizados a todos los conejos, no se encontraron alteraciones. Todos los conejos que llegaron para el estudio, se encontraban en condiciones aptas para ser parte de éste. Tenían 4 meses de edad al llegar, movilidad, pelo tamaño y peso normal para la edad en la que se encontraban. Radiográficamente encontramos que ninguno presentaba alteraciones óseas y se encontraban con sus huesos formados y maduros.

4.2 POSQUIRURGICO

En el grupo A, se encontró que todos los conejos presentaron hemogramas sin ninguna alteración. En el examen del Calcio Sérico se encontró dentro del rango que es 5.6 – 12.0mg/dl. un leve aumento. A diferencia del grupo B que no se encontró ninguna alteración entre los exámenes iniciales y posquirúrgicos. El grupo C por ser un grupo control sirvió como guía para medir o diferenciar los resultados obtenidos por los conejos operados.

Radiográfica mente encontramos que los conejos del grupo A se les observaba una zona radio opaca en el ala de la cresta iliaca derecha indicando la zona donde se colocó el implante, el los conejos del grupo B se observó en el ala de la cresta iliaca derecha una zona radio lucida donde indica que es la zona del defecto óseo sin implante. En el grupo A y B se marco la zona con un alambre quirúrgico el cual se ve como un aro radio opaco encima del la parte donde se realizo el defecto.

Figura 8. Radiografías iniciales de grupos A y B.



- a. Implante con cáscara de huevo.
- b. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- c. Material Quirúrgico para marcación del defecto.

- a. Espacio del defecto óseo.
- b. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- c. Material Quirúrgico para marcación del defecto.

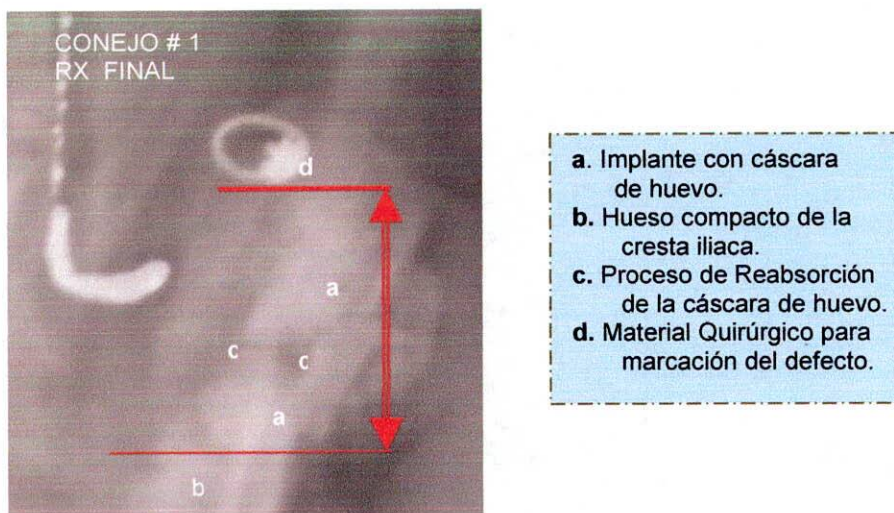
Los tres primeros días después de realizada la cirugía, fue un periodo crítico donde los conejos se encontraban débiles, llevando a la muerte de dos conejos, uno del grupo A y otro del grupo B (Conejos numero tres y numero 11), que fueron inmediatamente excluidos del estudio y reemplazados por dos conejos del grupo D (Conejos numero 27 y numero 28), que cumplan con las mismas características de los conejos numero tres y numero 11.

Después de la primer semana de realizada la cirugía se encontró que todos los conejos de los grupos A, B, C y D se encontraban en una notable mejoría.

- Primera Eutanasia: (Una semana), En la primer semana se les realizo eutanasia a los conejos numero 1, numero 13 y numero 17, representantes de los grupos A, B y C respectivamente.

Se encontró que la zona afeitada se encontraba en regeneración de pelo, el conejo del grupo A (numero uno) estaba en aparente normalidad y se encontró radiográfica mente que en la zona donde se encuentra la cáscara de huevo, se observaron espacios radio lucidos muy pequeños determinando zonas de reabsorción de la cáscara de huevo del centro hacia la periferia, y de la periferia hacia el centro, observamos un encapsulamiento del implante el cual abarca aproximadamente un 10% de todo el implante.

Figura 9. Radiografía final del conejo del grupo A. Primera semana



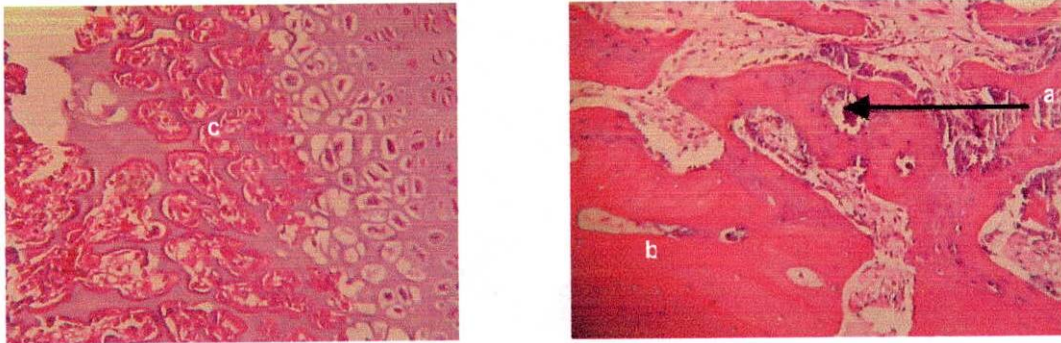
Histológicamente se encontró músculo estriado normal en la periferia, se observó cartílago neoformado en plena actividad, condroblastos, áreas con vasos sanguíneos y cerca al cartílago se presentó una pequeña fibrosis.

Se pudo distinguir tres áreas diferentes, músculo normal en la periferia seguido de tejido fibroso, cartílago en actividad y por ultimo hueso.

Se encontraron células mononucleares debido a una inflamación aguda, que progresó a una inflamación crónica.

La proporción que se observó de cartílago neoformado es de aproximadamente 60 a 70%, y de hueso neoformado aproximadamente de 30 a 40%. Se encontró hueso maduro hacia la periferia, y depósitos de Ca que connotaba con cáscara de huevo. Hubo lagos sanguíneos de la médula tapizados con endotelios. Se encontró que la neoformación ósea inicia desde la periferia y se dirige hacia el centro del defecto óseo, además de gran cantidad de osteoblastos, alto infiltrado mononuclear, macrófagos y una respuesta inflamatoria debido a la presencia de Ca.

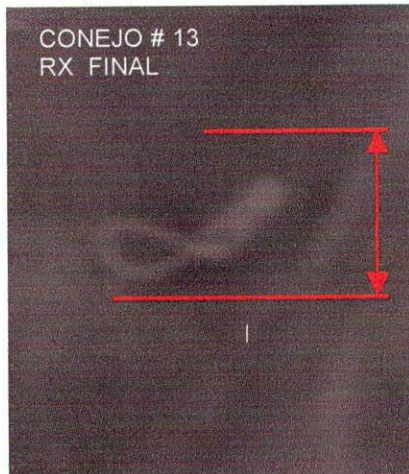
Figura 10. Cortes histológicos del conejo del grupo A. Primera semana



- a. Implante con cáscara de huevo.
- b. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- c. Proceso de Reabsorción de la cáscara de huevo y proceso de neoformación ósea.

En el conejo del grupo B (Conejo numero 13), estaba ligeramente delgado, no había comido desde el día de la cirugía, presento secreciones por la nariz y por el ano en el momento de la eutanasia, radiográfica mente encontramos que la zona radio lucida donde todavía no se alcanzan a ver centros de regeneración ósea.

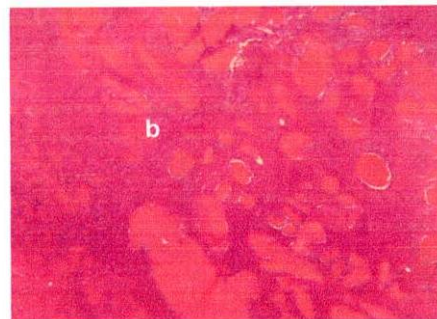
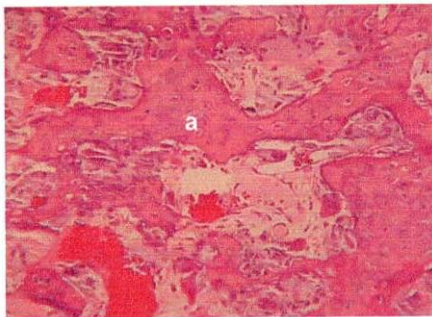
Figura 11. Radiografía final del conejo del grupo B. Primera semana



- a. Espacio del defecto óseo.
- b. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- c. Material Quirúrgico para marcación del defecto.

Histológicamente se observó necrosis con severo infiltrado inflamatorio, plasmocitos y linfocitos en hueso. En el músculo se detalló necrosis que pudo haber sido ocasionado por la falta de irrigación o sobrecalentamiento de la zona en el momento de la cirugía. En la zona periférica se encontró neoformación ósea en menor proporción que en el conejo numero uno. Esta regeneración fue inducida por osteoblastos, más pausada y la medula ósea estaba inflamada con cantidad de infiltrado crónico, hubo una posible osteomielitis.

Figura 12. Cortes histológicos del conejo del grupo B. Primara semana



- a. Espacio del defecto óseo hueso compacto de la cresta iliaca.
- b. Necrosis del hueso posible osteomielitis

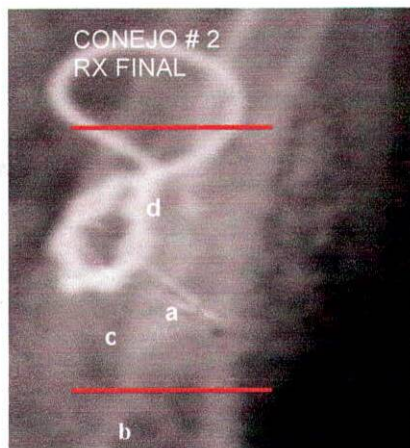
En el conejo del grupo C (Conejo numero 17) se encontró que estaba totalmente normal en el hueso.

Figura 13. Radiografía final del conejo del grupo C. Primera semana



- Segunda Eutanasia: (Dos semanas). Se les realizó eutanasia a los conejos numero dos, numero 10 y numero 18. Representantes de los grupos A, B y C respectivamente. Todos los conejos clínicamente se encontraban en aparente normalidad. En el conejo del grupo A (Conejo numero dos), se observó que el proceso de reabsorción de la cáscara de huevo abarcaba un 20%, desde la periferia hacia el centro del defecto.

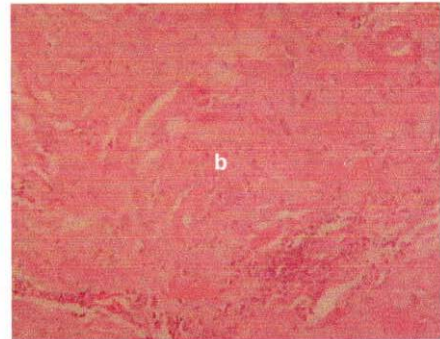
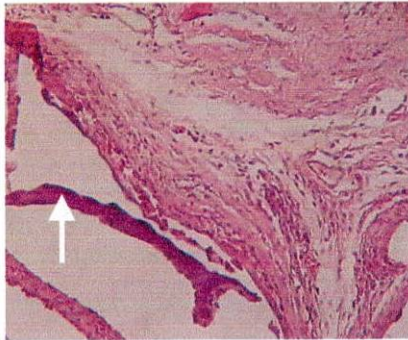
Figura 14. Radiografía final del conejo del grupo A. Segunda semana



- a. Implante con cáscara de huevo.
- b. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- c. Proceso de Reabsorción de la cáscara de huevo.
- d. Material Quirúrgico para marcación del defecto.

Histológicamente se observó una sustancia osteoide, inflamación aguda y crónica con polimorfonucleares debido a una posible reacción a cuerpo extraño, se encontró también linfocitos tratando de formar cicatrización granulomatosa, y un sinsitio (Acumulo de células cuando se identifica la presencia de cuerpo extraño).

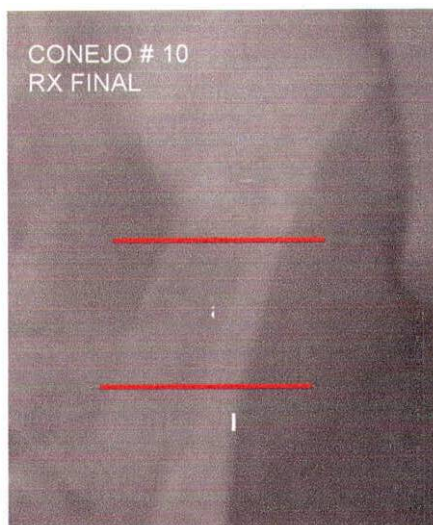
Figura 15. Cortes histológicos del conejo del grupo A. Segunda semana



- a. Implante con cáscara de huevo.
- b. Fibrosis cartilaginosa.

En el conejo del grupo B (Conejo numero 10), se observó una zona radio mixta indicando una disminución de tamaño del defecto desde la periferia hacia el centro del defecto.

Figura 16. Radiografía final del conejo del grupo B. Segunda semana



- a. Espacio del defecto óseo.
- b. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- c. Material Quirúrgico para marcación del defecto.

Histológicamente se observó mayor cantidad de hueso con médula ósea, donde no hay una inflamación tan severa como en el conejo número dos, se encontró un leve infiltrado de polimorfonucleares hacia la periferia del defecto óseo, y una regeneración ósea pero no esta construida a partir de cartílago denotando que hay regeneración ósea pero no una neoformación

Figura 17. Corte histológico del conejo del grupo B. Segunda semana



a. Proceso de regeneración ósea sin cartílago.

En el conejo del grupo C (Conejo número 18) se encontró las mismas características que en el conejo número 17 de la primera eutanasia, teniendo en cuenta este dato del grupo C se tomaron estos dos conejos (números 17 y 18) como el grupo control de todos los conejos.

- Tercer Eutanasia: (Cuatro semanas). Se realizó eutanasia a los conejos número cinco y número nueve, Representantes del grupo A y B respectivamente. El conejo del grupo A (Conejo número 5) clínicamente se encontraba en buenas condiciones aparentes, había recuperado su movilidad y su pelaje seguía creciendo, a diferencia del conejo del grupo B (Conejo número 9) que presentó una pequeña infección 21 días antes de la eutanasia, en la herida externa que llegó hasta planos profundos, se le aplicó 0.5ml Ketoprofeno al 10% para el dolor, se mezcló 1cm de Clorhexidina con 9cm de suero fisiológico y se colocó dentro de toda la herida, al drenar la infección se encontró que en el hueso ya se había desalojado el alambre quirúrgico, se le aplicó Cefazolina sódica 0.3 x gr., se le aplicó caléndula y gualanday como antimicótico y antiinflamatorio. Para el día de la eutanasia el conejo se encontraba en perfectas condiciones físicas aparentes. radiográficamente encontramos en el conejo del grupo A

(Conejo numero 5). Se encontró que la cáscara de huevo ha sido reabsorbida desde la periferia hacia el centro en un 50% presentándose esta reabsorción en forma radio mixta.

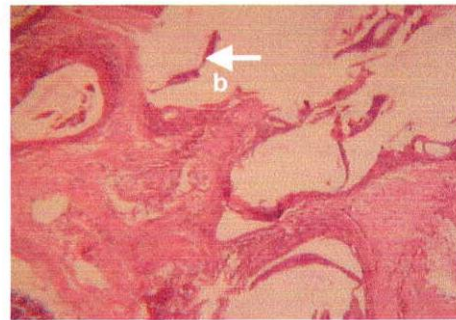
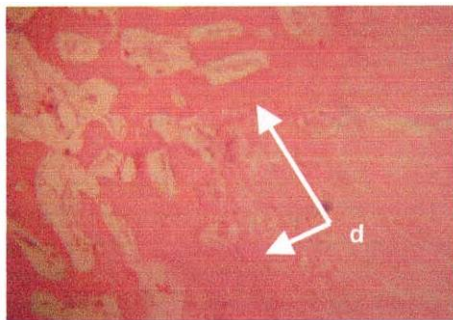
Figura 18. Radiografía final del conejo del grupo A. Cuarta semana



- a. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- b. Zona de reabsorción de la cáscara de huevo.
- c. Implante en cáscara de huevo.
- d. Material Quirúrgico para marcación del defecto.

Histológicamente se encontró células de proliferación medular y no había absorción completa de cáscara de huevo que se encontraba rodeada por una fibrosis de tejido inflamatorio. Se observó que en el centro de la medula ósea fue bastante proliferativa, se denotó que la dirección de la neoformación ósea se dirigió desde el centro del defecto ósea hacia la periferia del mismo.

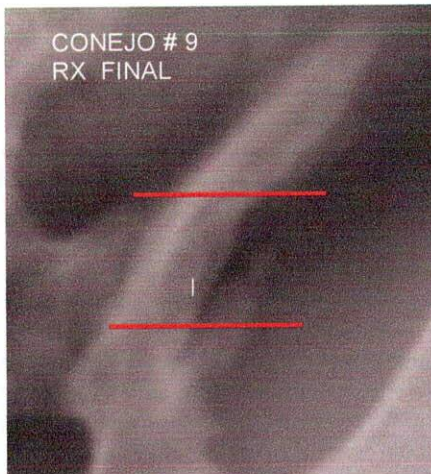
Figura 19. Cortes histológicos del conejo del grupo A. Cuarta semana



- a. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- b. Zona de reabsorción de la cáscara de huevo.
- c. Implante en cáscara de huevo.
- d. Proceso de neoformación ósea.

En el conejo del grupo B (Conejo numero nueve). Se encontró radiográfica mente que el tamaño del defecto se redujo, también se notó que la zona de la periferia del defecto era más radio mixta y que el centro del mismo se encontró más radio lúcido. En este conejo no se observó la presencia del aro quirúrgico debido al drenaje de la infección

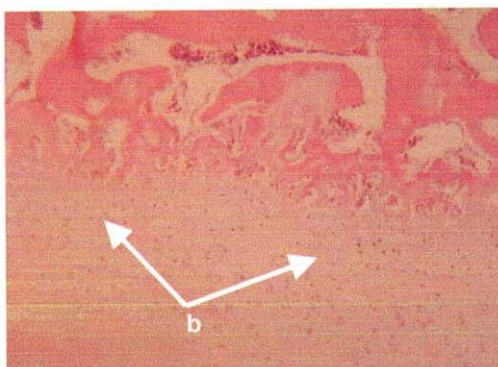
Figura 20. Radiografía final del conejo del grupo B. Cuarta semana



- a. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- b. Espacio del defecto con mayor radio opacidad.
- c. Espacio del defecto óseo.

Histológicamente se pudo apreciar que hubo una médula ósea no tan proliferativa como en el conejo numero cinco, en este conejo no fue tan perceptible encontrar periostio pero se presentó una regeneración de hueso, por la marcada presencia de osteoblastos y megacarioblastos

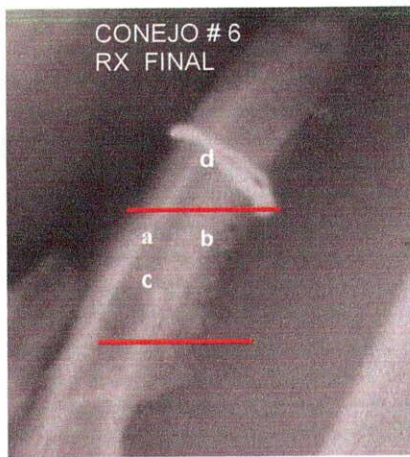
Figura 21. Corte histológico del conejo grupo B. Cuarta semana



- a. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- b. Regeneración ósea.

• Cuarta Eutanasia: (Seis Semanas). Se realizó eutanasia de los conejos numero seis y numero 14. Representantes de los grupos A y B respectivamente. El conejo del grupo A (Conejo numero seis), Clínicamente era un conejo en aparente normalidad al igual que el conejo del grupo B (Conejo numero 14). radiográfica mente se observó que en el conejo numero seis el implante se encuentra en un estado radio mixto en la zona central del defecto y más radio lúcido en la zona de la periferia del defecto. El implante se ha reabsorbido en un 80% aproximadamente.

Figura 22. Radiografía final del conejo del grupo A. Sexta semana



- a. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- b. Zona del defecto radio mixto.
- c. Proceso de reabsorción de la cáscara de huevo.
- d. Material Quirúrgico para marcación del defecto.

Histológicamente se observó que no presentó actividad medular en cantidad, pero si hubo características de hueso en vías de formación acompañado de actividad inflamatoria, además se encontró una marcada proliferación fibroblástica.

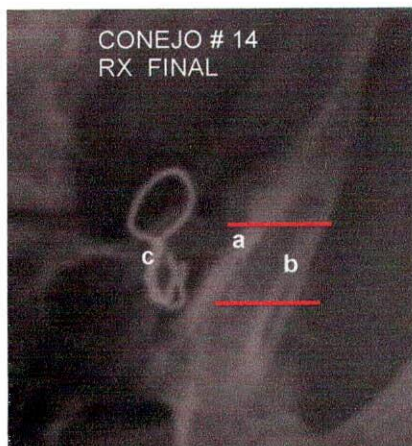
Figura 23. Corte histológico del conejo del grupo A. Sexta semana



- a. Proceso de reabsorción de la cáscara de huevo.

En el conejo numero 14 se encontró que radiográficamente el tamaño del defecto se siguió reduciendo en un alto porcentaje y se observó que en la periferia se ve más radio opaco.

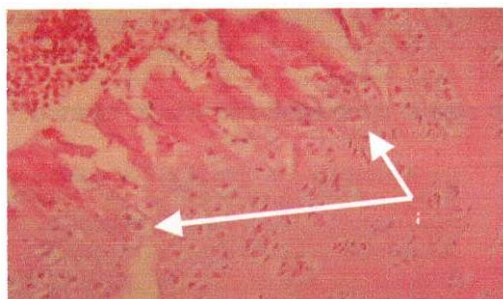
Figura 24. Radiografía final del conejo del grupo B. Sexta semana



a. Hueso compacto de la cresta iliaca.
b. Espacio del defecto.
c. Material Quirúrgico para marcación del defecto

Histológicamente en este conejo hubo una proliferación medular más activa, un hueso casi maduro y se encontró una banda de tejido fibroso sin inflamación.

Figura 25. Corte histológico del conejo del grupo B. Sexta semana

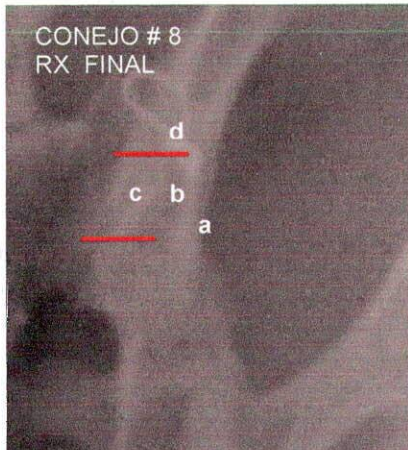


a Proceso de regeneración ósea.

- Quinta Eutanasia: (Ocho semanas). Se realizó eutanasia de los conejos numero ocho y numero 16. Representantes de los grupos A y B respectivamente. El conejo del grupo A (Conejo numero ocho), Clínicamente era un conejo en aparente normalidad al igual que el conejo del grupo B (Conejo numero 16). radiográficamente se observó que en el conejo

numero ocho la zona del defecto estaba radio mixta y la cáscara de huevo esta reabsorbida en un 90% aproximadamente.

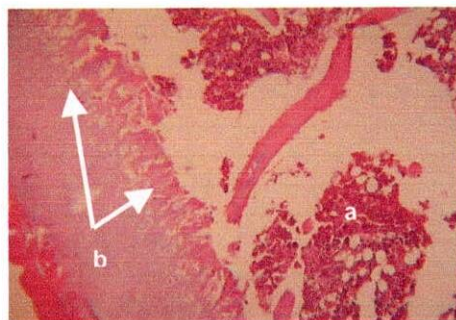
Figura 26. Radiografía final del conejo del grupo A. Octava Semana



- a. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- b. Zona del defecto radio mixto.
- c. Proceso de reabsorción de la cáscara de huevo.
- d. Material Quirúrgico para marcación del defecto.

Histológicamente se observó una neoformación ósea que partía desde la matriz ósea cartilaginosa hacia la periferia donde se encontraron depósitos de hueso primario; se notó la presencia de gran cantidad de células estrelladas unidas a la matriz ósea cartilaginosa.

Figura 27. Corte histológico del conejo del grupo A. Octava semana



- a. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- b. Proceso de neoformación ósea.

En el conejo número 16 se encontró que el tamaño del defecto está reducido en un 80% y se encuentra radio mixto en señal que está completando su normalidad de regeneración.

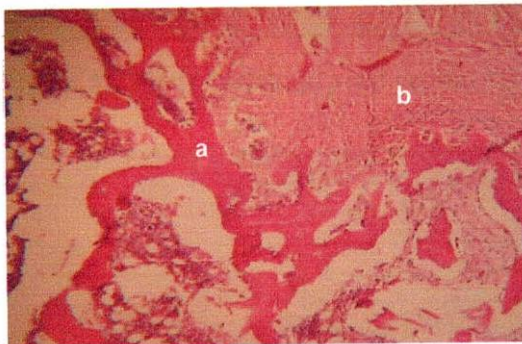
Figura 28. Radiografía final del conejo del grupo B. Octava semana



- a. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- b. Espacio del defecto radio mixto.
- c. Material Quirúrgico para marcación del defecto.

Histológicamente en este conejo no hubo presencia de cartílago, ya que el tejido es invadido por un callo fibrocartilaginoso conformando una malla de hueso membranoso que es sustituido por hueso por medio de células provenientes del periostio.

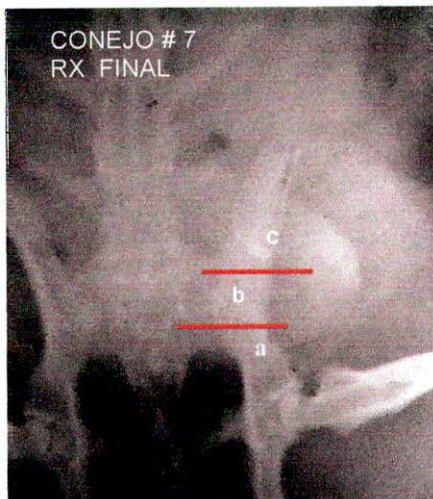
Figura 29. Corte histológico del conejo del grupo B. Octava semana



- a. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- b. Regeneración ósea sin cartílago.

- Sexta Eutanasia: (10 semanas). Se realizó eutanasia de los conejos numero siete y numero 15. Representantes de los grupos A y B respectivamente. El conejo del grupo A (Conejo numero siete), Clínicamente era un conejo en aparente normalidad al igual que el conejo del grupo B (Conejo numero 15). Radiográfica mente se observó que en el conejo número siete la zona del defecto se ve en las mismas condiciones que los conejos de control, llegando a un 85% aproximadamente de radio opacidad normal.

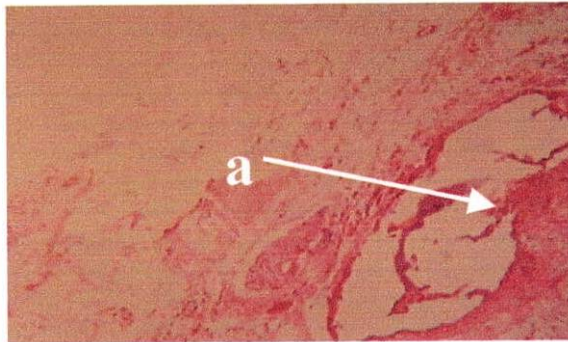
Figura 30. Radiografía final del conejo del grupo A. Décima semana



- a. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- b. Zona del defecto radio mixto.
- c. Material Quirúrgico para marcación del defecto.

Histológicamente se encontró una buena neoformación ósea, presentó aisladamente unos focos inflamatorios bordeando espículas óseas, también se pudo observar ciertas bandas de tejido fibroso con periostio.

Figura 31. Corte histológico del conejo del grupo A. Décima semana



- a... Cáscara de huevo en proceso de reabsorción.

En el conejo numero 15 se encontró que el tamaño del defecto se redujo en un 90% aproximadamente dejando solo una huella radio lucida en uno de los bordes externos del defecto

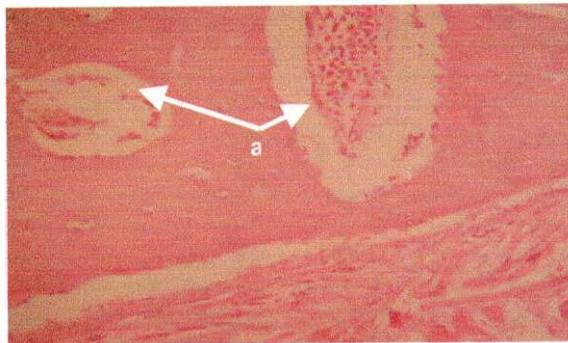
Figura 32. Radiografía final del conejo del grupo B. Décima semana



- a. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- b. Espacio del defecto radio mixto.
- c. Material Quirúrgico para marcación del defecto.

Histológicamente se encontró unas características de medula ósea normal y hueso totalmente regenerado.

Figura 33. Corte histológico del conejo del grupo B. Décima semana



- a Proceso de regeneración ósea.

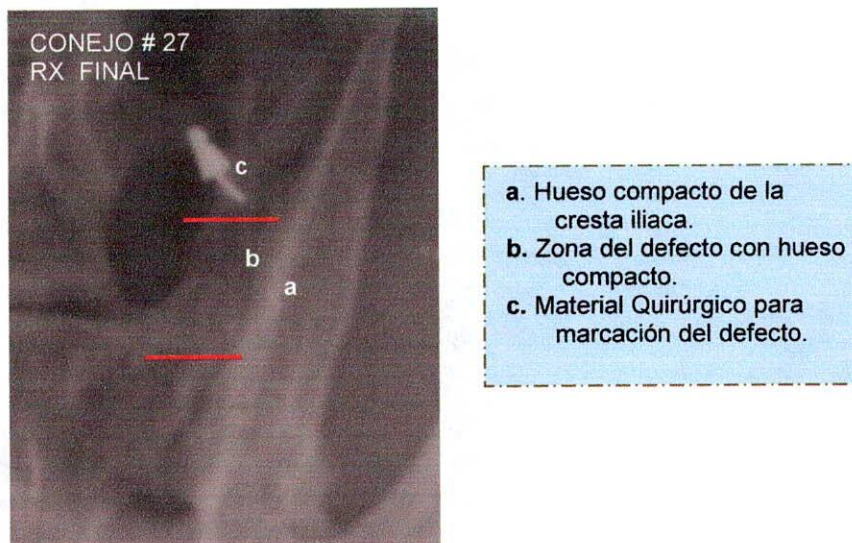
- Séptima Eutanasia: (12 semanas). Se realizó eutanasia de los conejos número cuatro y número 12. Representantes de los grupos A y B respectivamente. El conejo del grupo A (conejo número cuatro), clínicamente era un conejo con aparente normalidad al igual que el conejo del grupo B (conejo número 12). Radiográficamente se encontró que en el conejo número cuatro, la cáscara de huevo estaba reabsorbida en un 95% aproximadamente desde la zona de la periferia hasta el centro del defecto, notando en esta misma zona radio mixta el proceso de neoformación.

A diferencia que en el conejo número 12, donde se encontró una zona radio mixta en la zona del defecto que estaba reducida en un 90% aproximadamente.

No existen datos histopatológicos.

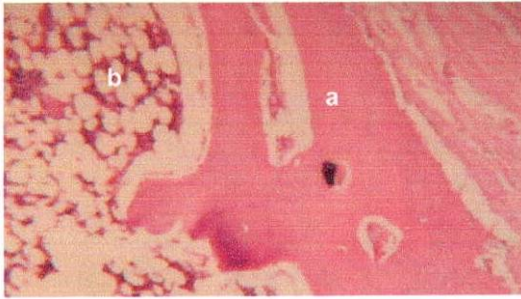
- Octava Eutanasia: (16 semanas). Se realizó eutanasia de los conejos numero 27 y numero 28. Representantes de los grupos A y B respectivamente. El conejo del grupo A (Conejo numero 27), clínicamente era un conejo en aparente normalidad al igual que el conejo del grupo B (Conejo numero 28). Radiográficamente se observó que en el conejo del grupo A la zona del defecto está aparentemente en condiciones de normalidad y sin ningún rastro de cicatrización ósea.

Figura 34. Radiografía final del conejo del grupo A. 16^a semana



Histológicamente se observó un hueso totalmente neoformado y con el ciclo completo de su proceso de calcificación.

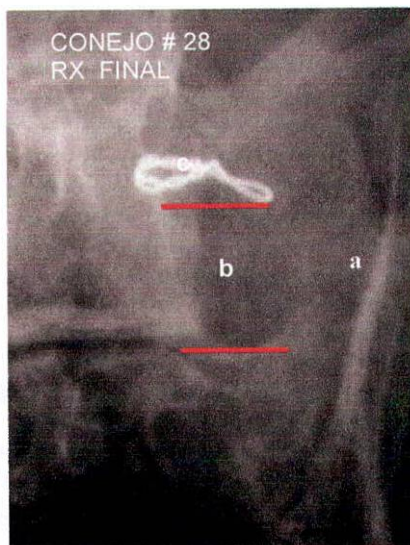
Figura 35. Corte histológico del conejo del grupo A. 16^a semana



- a. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- b. Zona del defecto con hueso compacto.

Por último en el conejo numero 28 se encontró que la zona del defecto está muy radio mixta y en vías de regeneración pero no se detallan zonas radio lucidas.

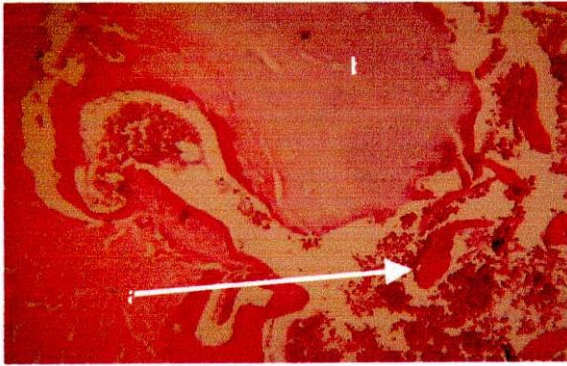
Figura 36. Radiografía final del conejo del grupo B. 16^a semana



- a. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- b. Espacio del defecto radio mixto.
- c. Material Quirúrgico para marcación del defecto.

Histológicamente el hueso se encontró regenerado en su totalidad además se observó una pequeña porción de cartilago.

Figura 37. Corte histológico del conejo del grupo B. 16ª semana



- a. Hueso compacto de la cresta iliaca.
- b. Cartilago maduro.

5 DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo demostraron que el uso de la cáscara de huevo en defectos óseos realizados en la cresta ilíaca de conejos blancos nueva Zelanda fue totalmente inocuo, al no presentar alteraciones paraclínicas. También demostró que cumplía con todas las características de un material de relleno óseo formando un hueso estructuralmente exacto al hueso del área que se reemplazó; en un corto periodo el defecto que se realizó presentó diversos tipos de células osteogénicas y de defensa como repuesta a la agresión causada, y en combinación con el implante utilizado de cáscara de huevo, inició un proceso de formación de cartílago hialino osteoide capaz de generar hueso. Al ser comparado con el defecto sin implante, este presentó células inflamatorias en abundancia y ausencia de cartílago, lo que produjo una regeneración en lugar de una neoformación ósea.

Finalmente a las 16 semanas después de realizada la cirugía se encontró que tanto en el conejo del grupo implantado A como el conejo del grupo con el defecto óseo B el hueso histológicamente se encontró formado; sin embargo, en el conejo A que fue implantado con la cáscara de huevo no se encontró ninguna cicatriz, mientras que el conejo B del grupo con el defecto óseo presentó una huella radiolúcida denotando la presencia de una cicatrización ósea.

En el trabajo realizado en el 2002 por Moncada L, Retrepo M., Triviño S., Sánchez D., Acosta B., titulado "Análisis histológico de la cáscara de huevo como material aloplástico para la regeneración ósea.", se pudo afirmar que la cáscara de huevo es un material que puede ser usado para relleno óseo. La cáscara de huevo fue sometida a un proceso de trituración, deshidratación y esterilización donde no se presentó ningún tipo de reacción inmunológica, sin embargo, se corrió con un riesgo bastante alto al no retirar las proteínas de la cáscara de huevo, debido a que provienen de otra especie animal.

En el presente trabajo de investigación se tuvo en cuenta realizar la desproteinización de la cáscara de huevo para evitar posibles reacciones inmunológicas. Además, se aumentó el grupo de sujetos de estudio para poder determinar en diferentes períodos la evolución de este proceso de formación ósea, determinando así, los diferentes Estadios por los que pasa este material para poder sustituir el hueso faltante.

Al implantar la cáscara de huevo se descubrió que produce ciertos depósitos de calcio que son reconocidos inicialmente como objetos extraños por el encapsulamiento del material y la presencia de distintos tipos de células de defensa.

A corto plazo se encontró en los diferentes cortes de tejido óseo la aparición de tejido cartilaginoso hialino o inmaduro anunciando una formación ósea estructuralmente idéntica a la del hueso de la zona en la cual se trabajó. Posteriormente, el cartílago inmaduro se convirtió en cartílago maduro y osteoide por la presencia de células estrelladas que estaban en proceso de neoformación ósea. Después de las 16 semanas de intervención se encontró un hueso totalmente formado sin dejar ninguna cicatriz ósea.

La gran diferencia con los resultados obtenidos por el grupo de conejos a los cuales se les realizó el defecto sin implante fue la estructuración de la regeneración del hueso, comenzando por una gran vascularización que se encargó de la movilización de las células osteogénicas y que en forma desordenada fue creando hueso que 16 semanas después se encontró sano, regenerado pero con señales de cicatrización.

Un sesgo que se presentó durante la investigación fue que al momento de realizar la eutanasia de los conejos no se discriminaron los géneros, los que no permitió obtener resultados de la diferencia en la regeneración entre machos y hembras.

En un estudio realizado por Martínez-González J.M, Barona Dorado CFurió-Bacete V.Baca Pérez-Bryan R.Donado Azcárate en el año 2001 en conejos Blancos Nueva Zelanda donde se

utilizaron las extremidades inferiores posteriores se realizaron defectos óseos como nichos receptores de hidroxiapatita natural en una extremidad e hidroxiapatita sintética en la otra, se obtuvo resultados similares, en los cuales en un periodo de cuatro meses se encontró un hueso totalmente regenerado. Para el estudio realizado con hidroxiapatita natural y sintética, se necesitó más recursos económicos para obtener unos resultados iguales a los que se obtuvieron con la cáscara de huevo como material de relleno óseo donde se utilizó un 200% menos de recursos económicos.

6 CONCLUSIONES

Se concluyó que la cáscara de huevo procesada, es un material que usado para relleno óseo en conejos blancos nueva Zelanda, no representa ningún tipo de reacción inmunológica siendo este un material inocuo en su utilización. En 16 semanas, los defectos óseos que se realizaron en la intervención quirúrgica a los 16 conejos quedaron totalmente regenerados, con la única diferencia que en los implantados con este nuevo material se produjo una neoformación ósea, es decir, se creó un hueso que progresó desde cartílago finalizando en el mismo tipo de hueso de la cresta iliaca de estos conejos, hueso compacto, y estructuralmente es más exacto que el obtenido por medio de una regeneración normal.

Gracias a estos resultados se puede afirmar la cáscara de huevo triturada, deshidratada, desproteínizada y esterilizada es un material que cumple con las características ideales para ser utilizada como material de relleno óseo en diferentes áreas de odontología como son Periodoncia, Cirugía, Rehabilitación, etc.

El procesamiento de este material es realmente económico, brindando una nueva alternativa para el acceso de éste a los diferentes planes de tratamiento.

7 RECOMENDACIONES

Las recomendaciones para las siguientes investigaciones son:

- La continuación inmediata de este trabajo en una muestra estadísticamente significativa.
- Los sujetos de estudio sean manipulados con todos los cuidados respectivos para evitar sesgos en los resultados.
- Trabajar este mismo material en defectos óseos en cavidad oral de diferentes especies de animales.
- Utilizarlo en pacientes con defectos óseos ausentes de infección, para ver resultados en humanos.

BIBLIOGRAFIA

1. ALARCON TEMAZAS, Alex. Aplicación de la cáscara de huevo en la regeneración ósea. Investigación realizada en la carrera de odontología en la Univalle. La Paz- Bolivia. 24 de Octubre de 2001. 1-2p.
2. ANDERSON, J.R. Patología de Muir. Editorial Sepas. 1997. p. 86-92.
3. ARIAS, J.L. FERNÁNDEZ, M.S. Extracellular matrix molecules on shell formation and structure. Proc. XXI World's poultry congresso, 20-24 august. Montreal. P. 10.
4. BARRIOS, G. Biología ósea. Odontología, su fundamento biológico. Tomo 1 p:47-67. Ed. Latros.
5. BARRIOS, G. Implantes alo plásticos. Odontología, su fundamento biológico. Tomo 4. Cap. 20 p:891-899. Ed. Latros. 1991
6. BARRIOS, G. Injertos óseos. Odontología, su fundamento biológico. Tomo 4. Cap. 19. Pág. 879-887. Ed. Latros. 1991.
7. BENITES, G. SARNO, J. DELFINO, M. Disolución de la cáscara de huevo en HCL, Comunicaciones científicas 2000. Universidad Nacional del noreste Argentino. Disponible en: Email: mdelfino@exa.unne.edu.ar.
8. BENNETT, B.T. BROWN, M.J. SCHOFIELD, J.C. Elementos esenciales para investigación animal. Una guia para la investigación animal. Centro de información del

9. bienestar animal. Departamento de agricultura de E.U.A: Biblioteca nacional de agricultura. 2001. Disponible en www.nal.usda.gov7awic/pubs/noawicpubs/essenti2.htm
10. BONILLA, A. PINAUD, R. CÁRDENAS, C. GALLEGO, F. Comparación osteointegradora entre dos tipos de implantes coralinos de diferente porosidad.www.encolombia.com/orto13399-comparacion.html
11. BRYANY, R.M. BANISTER, K. YERA, B. Recomendaciones para la eutanasia de los animales de experimentación. Parte I. Laboratorio animal. Vol. 30. Disponible en: www.secal.es/esuta1.htm.
12. BURSTEING, DE FDO. COBEN, S. ROGER, H. The use of hidroxiapatita cement in secondary craneofacial reconstruction. Plastic and reconstructive surgery, Vol. 104 No. 5. p. 1270-75. October 1999.
13. CALBO, B.J. La respuesta inmunitaria en el transplante de Aloinjertos óseos. Inmunología. Vol. 19. No. 4. 2000. p. 148-155.
14. CAMELO, C. NEVINS, M.L. Tratamiento de las bifurcaciones de clase II con injertos de hueso autógeno y la membrana de PTFEe. Revista internacional de odontología restauradora y periodoncia. Vol. 4. No. 3. 2000. p. 245-254.
15. CAMPS, I. CASELLAS, A. PEJOAN, J. FERNÁNDEZ. I. Regeneración ósea, sustitución osea,p.r.g.f.www.dentinator.net/Especialidades/implants/articulos/artimplant5PRGF.htm
16. CARDOSO, C.A. DE OSORIO, A.M. El uso de los animales de laboratorio en investigación biológica. Séptimo encuentro de investigación de la ACFO. 1998

17. CARRANZA, F.A. Cirugía ósea reconstructiva, periodontología clínica. P 677-686. Ed. Mc Graw Hill. Interamericana. Octava edición. 1998.
18. CASSOLIS, J.D. BOWERS, G.M. Regeneración ósea supracrestal. Estudio piloto. Revista internacional de odontología restauradora y periodoncia. Vol. 3. No. 2. 1999. p. 131-138.
19. CHAFFEE, V. PARKS, V. Principios generales del manejo. Biología y clínica del conejo y roedores. Cap. 1. Pág: 1-6. 1993
20. CHAFFEE, V. PARKS, V. Principios generales del manejo. Biología y clínica del conejo y roedores. Cap. 2. Pág: 7-17. 1993.
21. CHICO A, CASÁIS R, GARCÍA A. Centro quirúrgico veterinario .Autoinjertos corticales de cubito: cuatro casos clínicos. www.ciberconta.unizar.es/cirugiaveterinaria/Mas_Informacion-/Trabajos5/Autoinjertos_corticales-pdf.
22. CHIMAL-MONROY, J. BRAVO, T. KROTZSCH, F. DIAZ, L. Implantes de fibroniquel MR aceleran la formación de hueso nuevo en defectos óseos inducidos experimentalmente en cráneos de rata. Un estudio histológico. Centro de investigaciones regionales "Dr. Hideyo Noguchi" Universidad autónoma de Yucatán, México, 1997. Disponible en: instituto de investigaciones biomédicas UNAM, apartado postal 70228. C.P.04510. México D.F.
23. CHRITOPH, H. HAMMERLE, A.J. OLAH, J.S. The biological effect of natural bone mineral on bone neof ormation on the rabbit skull. Clinical oral implants, research. 8. p. 198-207. 1997.

24. CIENAGA, M. Uso de hidroxiapatita coralina como sustituto de injerto óseo. Revista mexicana de ortopedia y traumatología. Vol. 12. NO. 5. 1998. p. 410-415.

25. CUADRADO, MA. DE PEDRO, J.A. DE LUCAS, F.G. CEBRIAN, J.L. FURIO, B. Reparación experimental de grandes defectos óseos mediante el implante de un extracto parcialmente purificado de BMP. Rev.Orto.traum., 36 IB No. 4. p: 488-494. 1992.

26. DANIEL, C. Injertos óseos alveolares. Análisis fisiológico para la aplicación de una nueva técnica quirúrgica. Disponible en: www.encolombia.com.

27. DASSO, M.V.N. FERNANDEZ, M. ARIAS, M.V. Reparación ósea mediante aló implantes sometidos a diferentes métodos de conservación en conejos. Archivos de medicina veterinaria. Vol. 30. No. 2. Valdivia, 1998.

28. DAVIS, W.L. Formación de hueso. Histología y embriología bucal. Cap. 6. P. 90-92. Ed. Internamericana McGraw Hill. 1998.

29. DYCE, K. WENSIING, C.J. Anatomía veterinaria. Segunda edición. Ed. McGraw Hill interamericana.

30. DENNISEN, H. MONTONARI, C. MARTINETTI, R. VAN LINGEN, A. VAN DEN HOOF, A. Alveolar bone response to submerged bis-phosphonat-complexed hidroxyapatite implants. J. periodontal. Vol. 71. No. 2. p. 279-286. Febrero 2000.

31. DÍAZ FERNÁNDEZ, J. PÉREZ ARREDONDO, R. Injerto óseo del seno maxilar en la reparación de defectos craneofaciales específicos. Hospital provincial docente "saturnino lora", santiago de cuba. Rev Cubana Estomatol 1998; 35 (2): 37-42.

32. DÍAZ FERNÁNDEZ, J. RODRÍGUEZ ROMÁN, L.. Caracterización del injerto parietal. Hospital Clínico quirúrgico Docente "Saturnino Lora" Santiago de Cuba. Rev Cubana Cir 1996;35(2).
33. ELEJABEITIA, J. PALOMA, A. Incorporación de los grandes injertos óseos craneales intercalados: Comparación entre autoinjertos y Aloinjertos crió preservados. Departamento de cirugía plástica reparadora y estética. Clínica Universitaria de Navarra. Facultad de medicina. Disponible en: www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol22/biblio3/bsuple14.html.
34. ENLOW, D.H. Hueso y cartílago, crecimiento Maxilofacial. Tercera ed.cap.18 p. 466-506. Ed. McGraw Hill. 1990.
35. ESCRIBANO, j. MARTINEZ, L. VENGUE, G. GONZALEZ, M. Informes el huevo. Colegio de farmacéuticos de Madrid-Alkhaid solutions, S.A. 2002. Disponible en: [file:///a:\El huevo.htm](file:///a:\El%20huevo.htm).
36. ESQUIBEL, L. RUEDA, A. OSORIO, J. Reconstrucción mandibular y de la articulación temporomandibular en el paciente pediátrico. Disponible en: www.encolombia.com/odontología/accomf/accomf602reconstruccion.htm
37. FERNÁNDEZ, S. PEREIRA, R. PIERA, O. Hidroxiapatita en defectos óseos craneales. Comunicación previa. Revista Cubana de cirugía. Vol. 36. 1997. p. 159-164.
38. GANONG, W. Control hormonal del metabolismo del Calcio y fisiología del hueso, fisiología médica. Cap. 21. p. 413-426. 14 Ed. Editorial Manual moderno.
39. GANZALEZ, M. Ciencias para futuros ciudadanos. El huevo. Disponible en: ciencias@nalejandria.com. Pag. 1-6. 2000.

40. GARCÍA, R. Chilenos estudian la cáscara de huevo. Diario el mercurio. 8 de octubre de 2001. Disponible en: www.cimat.cl.
41. GARTNER, P. HIATT, L. Cartilago y hueso. Atlas color de histología. Segunda edición. Pág. 60-63. Médica panamericana. 1995.
42. GENESER, F. Tejido esquelético, histología general. Pág. 206-226. Ed. Médica panamericana.
43. GIL, J. GARRIDO, L. GIL, R. Materiales para la reparación y sustitución ósea. Factores de crecimiento y terapia genética en cirugía ortopédica y traumatología. Mapfre medicina, 2003. Vol. 14. No. 1.
44. GONZALEZ, J.M. La hidroxiapatita en el relleno de los defectos óseos. Disponible en: www.coem.org/reviste/anterior/07_09/articulo.html.
45. GROSS, A.E. DUNCAN, C.P. Revision arthroplasty of the acetabulum in association with loss of bone stock. J.bone and Joint surg. Vol. 80-a. Pág. 440-451. 1998. <http://www.traumazamora.org/articulos/revicotilo/revicotilo.htm>.
46. HARREL, S.K. Acceso quirúrgico mínimamente invasivo para el injerto óseo periodontal. Revista internacional de odontología restauradora y periodoncia. Vol. 2. No. 2. P. 157-165. 1998.
47. ILZARBE, L. FERNANDEZ, F. El efecto paraguas. Aportaciones a la discusión de irrigación interna/irrigación externa en implantología (cuarto estudio). Revista española de odontología en implantes. No. 1. Vol. III. Enero 2000.

48. Instituto superior de ciencias médicas de la Habana. Uso de osteocoral como material de implante de bolsas intraóseas de dientes monoradiculares. Revista cubana de estomatología. 1999; 37 (3). P. 203-211.
49. JOKLIK, W. AMOS, W. Esterilización y desinfección. Zinnsser microbiologías. Cap. 10. p. 267-283. Edición 20. Ed. Panamericana. 1998.
50. KRUGER, G. Transplante de tejidos. Cirugía buco-Maxilofacial. Cap. 16. Quinta edición.. p. 268-290. 1998.
51. LEE, P. LEE, K. Tissue engineered bone formation using chitosan/tricalcium phosphate sponges. Journal of periodontology. Vol. 71. p. 410-17. 2001.
52. LEESON, T.S. LEESON, C.R. PAPARO, A.A. Hueso y cartilago. Texto/atlas histología. P. 167-189. Ed. McGraw Hill.
53. LEONARDIS, D. PÉCORÀ, G.C. Prospective study on the augmentation of the maxillary sinus with Calcium sulfate: histological results journals of periodontology. Vol. 71. 2000. p. 940-46.
54. LETERME, P.I.A. ESTRADA, F.I.A. Análisis de los alimentos y forrages destinados a los animales. Notas de laboratorio nutrición animal. Laboratorio de nutrición animal. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. p. 2-14. 2001.
55. LINDHE, J. Periodontología clínica e implantología odontológica. Tercera edición. Ed. Médica panamericana. P. 607.

56. LÓPEZ, M. HERRANZ, G. Experimentación en animales. Documentación-deontología biológica. Cap. 27. 2000.
57. LÓPEZ, R.A. GAMARA, R.F. Eficacia y seguridad de los rayos ultravioleta en la esterilización de los elementos atrosópicos. Disponible en: www.orto12398eficcia.com.
58. LUNDERG, A.K. LUNDERG, D. SENNERBY, L. TAYLOR, A. Aumento de hueso craneal usando membranas bioabsorbibles como soporte de injertos autólogos de hueso. Un intraindividual estudio en conejos, clin. oral. implant Res. 1997; 8: 90-95. Muksmunksgaard. 1997.
59. MANTILLA, V.F. Los injertos óseos, la hidroxiapatita. Implantología oral, Atlas color. Edición 1. Ed. Catálogo científico. P. 111-119.
60. MANTILLA, V.F. Metabolismo óseo, implantología oral. Atlas color. Edición 1. Ed. Catálogo científico. P. 103-109. 1985.
61. Manual de laboratorio química y análisis industrial. Universidad del Valle. 1989.
62. MARTÍNEZ, G. BARONA, D. FURIO, V. La hidroxiapatita en el relleno de los defectos óseos. Disponible en: www.coem.org/revista/anterior/07-97/articulo.html.
63. MELLONING, J. Evaluación histológica de xenoinjerto óseo bovino en el tratamiento de los defectos óseos periodontales en seres humanos. Revista internacional de odontología restauradora y periodoncia. Vol. 4. No. 1. 2000.
64. MELLONING, T.J. Matriz derivada de esmalte para cirugía reconstructora periodontal. Informe técnico, clínico e histológico documentados. Revista internacional de odontología restauradora y periodoncia. Vol. 3. No. 1.1999.

65. MENDOZA, H. Injertos óseos alveolares: Análisis fisiológico para la aplicación de una técnica quirúrgica.
66. MISCH, M. MISCH, E. Reparación de defectos severos, localizados a nivel alveolar para la colocación de implantes usando injertos óseos mandibulares. *Implant dentista*. Vol. 2. No. 2. 1996.
67. MONCADA, L.M. RESTREPO, M.F. TRIVIÑO, S.M. Análisis histológico de la cáscara de huevo como material aloplástico para la regeneración ósea. Trabajo de grado. Colegio Odontológico Colombiano. Santiago de Cali. 2002.
68. MORTEN, K. FU, C. Free vascularized bone grafts for reconstructions of traumatic bone defects of mandible and maxilla. Disponible en: www.google.com
69. MRAD DE OSORIO, A. ROSENKRANZ, A. Ambiente. Guía para el uso de animales de laboratorio. Parte I. Cap. 3. p. 16-38. 1990.
70. MRAD DE OSORIO, A. ROSENKRANZ, A. Ética y alternativas. Guía para el uso de animales de laboratorio. Parte I. Cap. 4. p. 39-42.
71. MURRAY, R.K. MAYAS, P.A. Hormonas que regulan el metabolismo del Calcio. *BIOQUIMICA DE HARPER*. Cap. 47. p. 631-640. Ed. Del manual moderno, 14ª edición. 1997.
72. MUSCOLO, L. AYERZA, M.A. CALABRESE, M.E. SANTINI, E. Resultados a largo plazo de los trasplantes óseos masivos. *Transplantes* 2 (1): 1225. 1995.
73. OLFERT, D. ERNEST, D.V.M. CROSS, M. MCWILLIAM, A.N.N. Responsabilidad para el cuidado y uso de los animals de experimentación. CCPA, manual. Vol. 1. Segunda edición. 1998.

74. OMNISHI, H. FUGGI, N.A. Histochemical investigation of the bone formation process by guide bone regeneration in rat jaws. Effects of PTFE. Membrane application periods on newly formed bone. Depart of fixed prosthodontics, faculty of dentistry, Niggata, Universite, J of periodontology. Vol. 71. No. 3. p. 341-352. July 9-1999.
75. PABLOS DE, J. ALFARO, C. MARTÍNEZ, G. Valor de la desmineralización de Aloinjertos en el tratamiento de grandes defectos óseos. Rev. Ortop.traum.36 IB. No. 4. p. 495-503. 1992.
76. PARDIAS, L. GONZALEZ, M. Efectividad del implante de hidroxiapatita en dfectos óseos periodontales. Policlínico principal de urgencias, Bayazo-oste. Multinet. 1998; 3 (1).
77. PARRA, O. Aloinjertos-autoinjertos. Disponible en: www.usc.es7spubl732vsvsar-1.htm.
78. PAYA, C. Biomineralización. Central de puntos de bioquímica oral. Gerson Sepúlveda. Disponible en: www.odontología.uchile.cl/alumnos/segundo/bio1.htm.
79. PEREA, O. GONZALEZ, R. GUILLOT, Z. DEL VALLE, R. Bioimplantes coralinos en tumores óseos benignos. Rev. Cubana ortop. Traumatol. P. 1-6. 1995.
80. PICCO, M.I. LÓPEZ, M. Reconstrucción de hueso malar mediante injerto de calota. Rev. ADM. Caso clínico. Vol. Lvi. No. 2. Marz-abr. 1999. p. 76-79.
81. PORTO, B.E. Valoración clínica e histológica de la membrana de hueso desmineralizado liofilizado utilizada para aumentar el reborde. Revista internacional de odontología restauradora y periodoncia. Vol. 3. no. 6. 1999. p. 601-607.
82. QUINTANA, J.C. Aumento del reborde alveolar atrófico con Hidroxiapatita porosa. Rev. Cubana de estomatología. P. 1-4. 1995.

83. QUINTANA, J.C. Experiencias clínicas con coralina humana en cirugía Maxilofacial. Rev. Cubana de estomatología. 1997; 34 (2: 76-79).
84. RALPH, W. PHILLIPS, M.S. Productos del yeso, principios básicos. Ciencias de los materiales dentales de Skinner. Interamericana McGraw Hill. Cap. 5. p. 69-72. edición 9. 1993.
85. RASPERINI, G. RICCHI, G. SILVESTRE, M. Técnica quirúrgica para tratar defectos intraóseos con un derivado de la matriz del esmalte. (Emdogain). Revista internacional de odontología restauradora y periodoncia. Vol. 3. No. 6. 1999.
86. REMANGEN, W. PREZXMECKY, L. Acrecentamiento óseo con hidroxiapatita. Hallazgos histológicos en 55 casos. Implant dentistry. Vol. 2. No. 1. 1996. p. 13-20.
87. REYNOLDS, M. AICHELMANN-REIDY, M. GRISHONDRA, L. BRANCHMAILS. The efficacy of bone replacement grafts in the treatment of periodontal osseus defects. A systematic review. Annals of periodontology, December 2003. Vol. 8. No. 1.
88. ROCCA, E.L. CAMPOS, J.L. et al. Biología del conejo. Curso de cunicultura. Barcelona. Real escuela oficial y superior de avicultura. Primera edición. Cap. 2. P. 27-59. 1980.
89. ROMERO, J.F. REYES, J.O. Injertos óseos. Revisión bibliográfica medicina oral. Vol. 3. No. 4. Oct-Dic. 2000. p. 114-118.
90. SANCHEZ, T.A. Especial implatoprótesis. Facultad de odontología de la U.C.M.
91. SANFORD, M. El conejo doméstico, biología y producción. Zaragoza, Acribia S.A. 1998.
92. SCHAAFSMA, A. PAKAN, I. HOFSTEDDE, G.J. MUSKIET, F.A. VANDERVEER, E. DE VRIES, P.J. Mineral, aminoacid, and hormonal composition of chicken eggshell powder and the

evaluation of its use in human nutrition. National library of medicine, poult sci 2000 dec. 79 (12). 1833-88.

93. SCHMID, J. HAMMERLE, C. FLUCKIGER, L. WINKLER, J.R. Llenado de espacios de sangre con y sin membranas en la regeneración ósea guiada. Un estudio comparativo en conejos usando membranas bioabsorbibles. Clin oral imp. Res. 1997: 8: 75-81. Munksgaard. 1997.

94. SCIOPINI, A. BRUSHI, E. MARTINO, C. Regeneración del hueso en la técnica de expansión del proceso alveolar edéntulo. Estudio histológico y ultraestructural de 20 casos clínicos. Revista internacional de odontología restauradora y periodoncia. Vol. 3. No. 3. 1999.

95. SIMION, M. JOVANOVIĆ, S. TRISI, P. SACARANO, A. Aumento vertical de la cresta alveolar que rodea implantes dentales utilizando la técnica con membrana y hueso autógeno o Aloinjertos en humanos. . Revista internacional de odontología restauradora y periodoncia. Vol. 2. No. 1. 1998.

96. SHIMIZU, Y. SUGAWARA, H. MIZUNUMA, K. INADA, K. FURUSAMA, T. YAMASHITA, S. Remodelamiento óseo con vidrio bioactivo e hidroxiapatita reabsorbible. Implant dentistry. Vol. 4. No. 2. 1998. p. 15-21.

97. SHORS, E.C. Coralina bone graft substitutes. Ortopedic clinics of North America. Vol. 30. No. 4. p. 599-613. Octubre 1999. Disponible en: www.mdconsult.com.

98. SHWARTZ, S. DALY, G. Principios de cirugía. Vol. 1. p. 2062-2067. Séptima edición. Ed. Interamericana.

99. SOTOMAYOR, T. ACOSTA, M.E. Evaluación del osteocoral con material de implante en bolsas infraóseas de dientes multiradiculares. Rev. Cubana. Estomatol. P. 181-196. 1999.
100. STURKIE, P.D. Formación de la cáscara de huevo y metabolismo esquelético. Fisiología. Aviar. Cap. 15. p. 268-269. 1998.
101. TAY, B.K. PATEL, W. BRADFORD, D.S. Calcium phosphate base bone substitutes. Mimicry of the mineral phase of bone. Orthopaedic clinics of North America. Vol. 30N 4. p. 615-623. October 1999.
102. TENCATE, A.R. Hueso, histología del desarrollo, estructura y función. Ed. Médica panamericana. P. 146-169. 1986.
103. TODD. SANFORD. DAVIDSON. Descalcificación y tinción del hueso. Cap. 40. Tomo 2. Octava edición. Ed. Salvat. 1990.
104. VANDERSALL, D.C. ROSENBERG, E. ROSE, F.L. Consideraciones clínicas y biológicas sobre los autoinjertos y Aoinjertos en el tratamiento de regeneración periodontal. Clínicas odontológicas de Norte América. Avances en periodoncia II. Vol. 3. p. 483-507. Ed. McGraw Hill.
105. VELASQUEZ, J. Producción avícola y porcícola. Santafé de Bogotá. Centro de enseñanza escolarizada. Universidad Santo Tomás. 1986.
106. WINKELMANN, J. LAMMERS, H. Enfermedades de los conejos. Editorial Acribia S.A.
107. WOZNEY, J.M. Revisión de morfoproteína ósea. Artículos científicos. Instituto de genética de Cambridge, MA. 1997. Disponible en: www.p11_96Anover.com