

Universidad Nacional de La Plata



Facultad de Odontología

Estudio Experimental de Oxigenoterapia Hiperbárica para Cirugía Bucomaxilofacial, Traumatología y Osteología. Terapéutica de lesiones óseas con elementos reactantes biológicos en estado gaseoso hiperbáricos.

Tesis para optar al Título de Doctor en Odontología

Autor: Odontólogo Magíster Ricardo Martín Stulgis

Directora: Prof. Dra. Sonia Beatriz Tosti

Codirector: Méd. Héctor Osvaldo Campos

Año 2020

PRÓLOGO	5
RESÚMEN y ABSTRACT	7
1-DETERMINACIÓN DEL TEMA DE TESIS	16
2-ESTADO DEL TEMA	20
3-FUNDAMENTACIÓN	32
3.1 Oxigenoterapia Hiperbárica (OHB). Elementos reactantes biológicos gaseosos hiperbáricos (O ₂ y aire).	33
3.2 Fundamentos de la Oxigenoterapia Hiperbárica.	34
3.3 Gases Medicinales. Farmacodinamia y farmacocinética de la OHB. Normas de seguridad.	44
3.4 Investigación aplicada: OHB en cirugía bucomaxilofacial, traumatología y osteología.	54
3.5 Traumatología comparada. Clasificación de fracturas en mandíbula y huesos largos.	56
3.6 Fisiopatología de la consolidación de fracturas. Isquemias traumáticas agudas (ITA).	62
3.7 Osteología. Sistema óseo macro-microscópico. Regulación del metabolismo mineral.	69
4-OBJETIVOS	83
5-HIPOTESIS	85
6-MATERIALES Y MÉTODOS	87
6.1 Diseño y Método aplicado en el estudio experimental.	88
6.2 Secuencia de los procedimientos experimentales y material utilizado.	107
6.3 Exploración quirúrgica por sistemas. Semiología.	123
6.4 Estudio histomorfométrico óseo.	126
6.5 Diagnóstico por imagen radiográfica.	129
6.6 Laboratorio bioquímico. Marcadores de formación y resorción ósea.	131
6.7 Análisis de orina 24 h.	134
6.8 Manejo de tejidos blandos. Complicaciones: infecciones anaerobias y amputaciones.	136
6.9 Evaluación de los movimientos articulares.	138

7-RESULTADOS	140
7.1 Histomorfometría de biopsia ósea. Parámetros dinámicos y estáticos.	141
7.2 Imágenes radiográficas.	173
7.3 Determinaciones séricas. Marcadores de formación y resorción.	186
7.4 Análisis de orina 24 h.	201
7.5 Manejo de la herida. Complicaciones.	205
7.6 Determinaciones séricas indicadoras de respuesta inmune. PCR.	207
7.7 Resultados complementarios del hemograma completo.	212
7.8 Indicadores de resolución del trauma. Movimientos articulares.	212
7.9 Evolución del peso durante la experiencia.	215
7.10 Mortalidad.	216
8-DISCUSIÓN	218
8.1 OHB y Medio Interno. Mecanismos de acción. Función neuroendocrina e inmune.	222
8.2 OHB y Sistema Nervioso Autónomo.	226
8.3 OHB y hormonas reguladoras del metabolismo mineral.	231
8.4 OHB e inducción de la formación ósea en lesión perforante de tibia y fracturaria de peroné.	234
8.5 OHB y efectos en el remodelado óseo.	241
8.6 Acción antimicrobiana de OHB en trauma agudo de miembro posterior, miembro inferior y mandíbula.	244
8.7 Recuperación funcional de las articulaciones.	251
8.8 Efecto de OHB en la función hepática y renal.	252
9-CONCLUSIONES	255
10-BIBLIOGRAFÍA	261
11-APÉNDICES	279
A. Modelo experimental de extrapolación para Traumatología y Osteología.	280
B. Fotografías: procedimientos experimentales y espacios de trabajo.	281
C. Fotografías: Cámaras Hiperbáricas Clase A, B y C.	283
D. Cronología de la OHB.	285
E. Hitos históricos de OHB en Argentina.	286

12-ANEXOS	287
A. Documentación respaldatoria.	288
-Acuerdo Operativo FOLP-FCV (UNLP).	288
-Admisión en Sociedad Argentina de Investigación Odontológica (SAIO).	289
-Certificado Sanitario FCAyF (UNLP).	290
-Prueba Piloto: informe elevado al CICUAL, FCV (UNLP).	291
-Trabajo de Laboratorio en Bioterio, Quirófano y Servicio de Radiología FCV (UNLP): informe elevado al CICUAL, FCV (UNLP).	292
-Servicio Anatomía Patológica HIBA: certificado retiro de preparados, informes e imágenes de histomorfometrías óseas.	293
-Laboratorio Rozenfeld (CEDIB SA): compromiso de confidencialidad.	294
-Servicio Osteopatías Médicas, Hospital de Clínicas San Martín (UBA): certificado retiro de muestras séricas.	295
-Oxígeno Medicinal Linde: e.g. remito recambio de cilindros.	296
B. Centros de Oxigenoterapia Hiperbárica en la República Argentina.	297
<u>AGRADECIMIENTOS</u>	<u>300</u>

PRÓLOGO

La etapa de formación específica en investigación comenzó en el año 2008 con el curso de Posgrado de Medicina Hiperbárica y Subacuática en el Hospital Naval Cirujano Mayor Pedro Mayo de la Armada Argentina. La Sociedad Argentina de Medicina Hiperbárica y Actividades Subacuáticas (SAMHAS) tuvo a su cargo la organización y el dictado de la currícula académica.

Posteriormente en la Universidad Nacional de La Plata se desarrolló la formación y actualización en metodología de la investigación, epistemología y estadística. Concluida la primera instancia preparatoria, siguieron los cursos en ciencia básica y aplicada que permitieron trabajar en un Bioterio utilizando un modelo de laboratorio. El ámbito de estudio fue la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Plata y la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires.

La capacitación práctica incluyó la instrucción como buceador deportivo en la Escuela Nacional de Buceo de Mar del Plata y la Asociación Profesional de Instructores de Buceo (PADI). Esto significó un aporte en el conocimiento de los fundamentos de la fisiología del buceo y la terapéutica de las afecciones médicas derivadas de su práctica.

En el año 2013, el siguiente paso de la especialización requirió realizar el Curso Superior de Posgrado en Medicina Hiperbárica en la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Católica Argentina. El Curso de Osteología de la Universidad Favaloro y el Curso Superior Universitario de Osteología en la Escuela de Medicina del Hospital Italiano de Buenos Aires posibilitaron disponer del sustento teórico en endocrinología, fisiopatología y biología ósea para obtener el mejor rendimiento de los datos experimentales.

RESUMEN Y ABSTRACT

RESUMEN

El trazo primario se basó en la idea de utilizar una tecnología que hiciera un aporte innovador, un complemento de las técnicas y destrezas del cirujano. Para alcanzar esta meta antes sería necesario comprobar la eficacia del tratamiento de Oxigenoterapia Hiperbárica (OHB) en la terapéutica del trauma óseo. El origen de la OHB deriva de la terapéutica de patologías que se pueden presentar luego de actividades profesionales de buceo o subacuáticas. Posteriormente se utilizó básicamente en el tratamiento de patologías o lesiones de etiología hipóxica. Los principios físicos y químicos de la termodinámica, las leyes y fundamentos de la mecánica de los fluidos, la hidráulica y neumática permiten comprender en forma práctica el funcionamiento de las cámaras hiperbáricas. Respirar oxígeno al 100% a 3 ATA es rápidamente tóxico para el tejido neuronal y nervioso. Por este motivo los tratamientos implican presurizaciones entre 1,4 ATA y 2,8 ATA por períodos de 60 a 120 minutos una o dos veces al día. El presente trabajo es un aporte a la cirugía bucomaxilofacial y especialidades médicas como traumatología y osteología, también para el estudio de propiedades y/o aplicación de nuevos materiales, elementos o compuestos biocompatibles con finalidad terapéutica. Posibilitó un avance hacia una nueva línea de investigación interdisciplinaria para posibles aplicaciones o indicaciones de OHB. El estudio experimental se realizó en base a un modelo animal de laboratorio para extrapolación clínica. Inicialmente se proyectaba que el alcance de sus resultados serían de interés solo para Cirugía Bucomaxilofacial (mandíbula humana), pero luego, debido a la metodología y evidencia científica obtenida se encontró que los datos podrían extrapolarse a traumatología humana (miembro inferior); osteología humana (densidad ósea en miembros y raquis); y traumatología veterinaria (miembro posterior de animales). El sustento científico para la extrapolación se originó contemplando una serie de factores conexos. En primera medida se basó en la filogenia entre especies, por relación evolutiva genética y morfológica entre diferentes grupos de organismos. Otro apoyo lo aportó el estudio del desarrollo embriológico óseo, específicamente los procesos de osificación. Básicamente son dos: osificación endocondral e intramembranosa o membranosa (membrana conjuntiva osteogénica). Ambos procesos intervienen en el crecimiento longitudinal de la mandíbula y los huesos largos apendicular y axial. Los otros pilares que dieron sostén metodológico fueron la función neuroendocrina y sus patologías asociadas; procesos fisiopatológicos análogos y manejo de lesiones con las mismas características y tiempos de cicatrización; el dosaje de marcadores séricos y urinarios por métodos complementarios a los utilizados en humanos. La fisiopatología y biología ósea relacionada con la recuperación de lesiones en el hueso se interpretó con estudios séricos de laboratorio bioquímico, histomorfométricos y radiológicos. El concepto de elementos reactantes o reactivos químicos de acción biológica y farmacológica se basó en el criterio de uso terapéutico de elementos químicos tales como el oxígeno 100 % y mezclas de gases a una presión atmosférica superior a 1,4 ATA en un recinto hermético presurizado con la finalidad de mejorar la resolución o cicatrización de lesiones óseas, como terapéutica complementaria de isquemias traumáticas

agudas (ITA). Para evaluar la respuesta ósea a los tratamientos se utilizaron dos lesiones distintas en un mismo miembro posterior izquierdo de un modelo animal de conejos californianos (extrapolable a mandíbula humana). Una lesión por biopsia, cavitaria bicortical en metaepífisis proximal tibial, y otra lesión por fractura simple diafisaria proximal de peroné. Las lesiones estudiadas son las definidas como consolidación ósea secundaria, sin reducción, con poca o escasa movilidad, con callo. La consolidación primaria es aquella que se presenta sin callo, con reducción y sin movilidad entre los bordes del trazo fracturario. Luego de una lesión se activa la proliferación del periostio y endostio que forman tejido de granulación, que posteriormente se transforma en tejido fibroso, condroide, y osteoide que reparan la herida. El enfoque abordó el estudio de la OHB y la respuesta terapéutica sobre el trauma óseo. El hueso es tejido conectivo especializado duro con tejidos blandos anexos de capacidad osteogénica (periostio y endostio). Los tejidos epitelial y muscular esquelético, aunque son de importancia en el proceso integral de cicatrización posterior a una injuria traumática exceden el trabajo de tesis doctoral donde el enfoque fue puesto en reducir los tiempos de consolidación de fracturas óseas con una estructura ósea equivalente a la lograda con tratamientos convencionales aplicados actualmente. La idea fue obtener un callo duro mineralizado, hueso laminar, en menos de 4 a 5 semanas posteriores al trauma. Secundariamente se observó si los tratamientos previnieron riesgo de complicaciones por infecciones anaerobias, mutilaciones o amputaciones en tejidos duros, y si mejoraban la función articular en caso de verse afectada. El esquema terapéutico simplificado implicó una muestra de 24 conejos machos, divididos en 3 grupos: Grupo 1 Postoperatorio (G 1) de 8 individuos con dos lesiones diferentes, una en tibia y otra en peroné, antibioticoterapia postoperatoria y OHB postoperatoria; un segundo grupo experimental Grupo 2 Preoperatorio (G 2) de 8 individuos con las dos lesiones óseas descritas, antibioticoterapia postoperatoria y OHB preoperatoria y postoperatoria; ambos tratamientos OHB fueron comparados a datos basales y a un Grupo 3 Control (G 3) con la misma cantidad de unidades experimentales (8) y las mismas lesiones óseas, antibioticoterapia postoperatoria, tratamiento Placebo con aire 1,3 ATA, sin OHB. Los tratamientos se realizaron en una cámara hiperbárica experimental de características técnicas monoplaza (Clase C). Los resultados obtenidos permitieron la posibilidad de dar un paso para la obtención de un nivel de evidencia B para una nueva indicación de OHB. La OHB indujo la osteogénesis y la neoangiogénesis, pero estos efectos deberían también explicarse comprobando los mecanismos de acción, si es por aumento en la proliferación de las células mesenquimales progenitoras óseas que acelerarían la construcción del callo óseo, por mecanismos hormonales o nerviosos, o ambos procesos simultáneamente. Los datos obtenidos y la evidencia científica consultada indicarían una acción sistémica de la OHB a nivel del Hipotálamo y a partir de allí una cascada de respuestas con participación del Sistema Nervioso Autónomo y el Sistema Inmune que explicarían su alcance terapéutico en el hueso. Tampoco se conoce con exactitud como la tensión tisular de oxígeno afecta la actividad metabólica y enzimática del osteoblasto en la formación ósea o del osteoclasto en la resorción (remodelado óseo). La tesis permitió investigar sobre la existencia de una acción de la OHB

que produjera un efecto positivo sobre lesiones óseas interviniendo en la función de los osteoblastos, osteoclastos y la velocidad de mineralización ósea in vivo. Los resultados obtenidos mediante estudios histomorfométricos, radiográficos, séricos y urinarios indicaron que la Oxigenoterapia Hiperbárica con esquema de tratamientos Grupo 1 Postoperatorio y Grupo 2 Preoperatorio como terapéutica complementaria de isquemias traumáticas agudas en fracturas óseas podría mejorar la cicatrización en el hueso, con un postoperatorio en menor tiempo. Existió diferencia entre en la respuesta osteogénica inducida con OHB y Control en relación al hueso afectado, tibia o peroné, y el tipo de trauma o lesión provocada.

En la lesión de tibia la consolidación o formación de callo óseo con OHB G 2 se produjo en tiempo más reducido respecto a G 3 Control. En tibia considerando velocidad de mineralización (VM) desde el día 15 al 25 postquirúrgico (PosQx) la OHB con tratamiento G 2 fue más rápida en μ /día que G 3 Control. G 1 fue más lento, pero con mejor estructura (hueso laminar), esto se corresponde con parámetros como superficie trabecular doble marcación (STDM) y volumen óseo. En tibia las propiedades estructurales y funcionales de la matriz mineralizada del callo óseo son superiores con G 2 OHB respecto a G 3 Control.

En peroné desde el día 23 al 45 PosQx G 3 Control fue más rápido en μ /día que los tratamientos OHB G 1 y G 2. Sin embargo, en el mismo período de medición, G 1 alcanzó un nivel superior (50 % > Control) de STDM. Un dato relevante por tratarse de superficie ósea de hueso maduro. Las Radiografías coincidieron con los parámetros histomorfométricos estáticos volumen óseo y superficie osteoblástica para confirmar estas conclusiones. El callo óseo de tibia según las imágenes radiográficas tuvo mejor resolución con OHB G 2 que en G 3 Control. En peroné, no existieron diferencias entre grupos experimentales G 1 y G 2 en relación a G 3 Control. Las radiografías coinciden con los parámetros histomorfométricos volumen trabecular, volumen óseo total y VM, esto quiere decir que con diferentes métodos de medición se obtuvieron resultados semejantes. Calcemia con valor bajo respecto a Basal se relaciona con mejora en la densidad ósea y mayor calcificación. G 2 presentó mayor efecto hipocalcemiante, esto se asoció a niveles más altos de calcificación. G 1 redujo la calcemia entre el día 30 y 45 PosQx, coincidiendo con la histomorfometría donde se observó un aumento de la mineralización para esa misma fecha. La OHB sería más favorable en períodos diferentes, e.g. G 2 hasta el día 25-30 PosQx y G 1 a partir del día 30 PosQx. En tratamientos OHB la relación Calcemia-Fosfatemia habría sido mejor que en G 3 Control, G 2 tuvo valores más positivos durante toda la experiencia desde el día 10 prequirúrgico (PreQx) hasta el día 45 PosQx. Esto se pudo interpretar como mejor conservación de estructura mineral ósea que G 3 Control. G 2 obtuvo los mejores niveles de 25OHD entre el día 7 al 21 PosQx. Calciuria y Fosfaturia aportaron al análisis que G 2 enlazaría con el concepto de mayor conservación de hueso, estructura mineral y formación ósea de novo. Relación PTH-25OHD indicó la función regulatoria hormonal de calcemia y fosfatemia, G 2 y G 3 Control fueron semejantes entre el día 15 y 45 PosQx, PTH registró valores sin variaciones considerables. La curva de G 1 habría tenido un efecto similar a G 2 hasta el día 30 PosQx, desde el día 30 al 45 PosQx adquirió evolución ascendente, 25OHD marcó progresivamente valores más altos y PTH valores más bajos. Esto

coincidiría con el “efecto inercial” o “efecto inercia aceleración” donde existiría aumento de formación ósea en G 1 OHB a partir del día 30 PosQx cuando finalizó el tratamiento. Los datos obtenidos podrían deberse a un “efecto óseo descompresivo” producido por acumulación o saturación de oxígeno en un compartimento, que en este caso sería la zona donde existió la fractura ósea, considerándose la misma como un “compartimento óseo cicatrizal” donde el oxígeno “acumulado”, habría saturado los tejidos afectados y luego de terminar el suministro de OHB se habría producido una descompresión generadora de una respuesta biológica positiva (acelerada o aumentada) en heridas de hueso, promoviendo la cicatrización en menor tiempo y con mejores propiedades estructurales.

En tibia OHB G 2 encontró mejor respuesta osteogénica hasta el día 30 PosQx, resultados compatibles con mayor presencia de hueso laminar maduro que el logrado en tratamiento G 3 Control. Se confirmó por parámetros histomorfométricos dinámicos STDM, STSM y VM. En G 1 se habrían logrado mejores resultados entre el día 30 y 45 PosQx.

En peroné OHB G 1 habría logrado mejor respuesta osteogénica que G 3 Control, pero desde el día 30 al 45 PosQx. Confirmado con histomorfometría por STDM, STSM y VM. Estos parámetros comparados aportaron resultados que indicarían en síntesis, que los tratamientos con OHB G 1 y G 2 tuvieron un resultado superior que G 3 Control. Los resultados logrados en tibia y peroné del modelo de extrapolación con OHB G 1 y G 2 permitirían la extrapolación clínica quirúrgica y traumatológica bucomaxilofacial humana en el tratamiento complementario de fracturas en cuerpo y ramas ascendentes mandibulares (OHB G 1); tratamiento complementario de osteonecrosis mandibular por quimioterapia, radioterapia, bifosfonatos (OHB G 1); mejoramiento de la oseointegración de implantes de titanio odontológicos en mandíbula (OHB G 2); tratamiento complementario en cirugía ortognática, en casos con indicación de osteotomías mandibulares por requerimientos estéticos y funcionales en deformaciones, prognatismo, mordida abierta, disfunción de ATM (OHB G 2); casos que requieren cirugía correctiva por pseudoartrosis o consolidación ósea viciosa mandibular (OHB G 1).

No se registraron diferencias marcadas entre los grupos experimentales y control en la disminución de infecciones anaerobias de tejidos duros y blandos. Sin embargo la evidencia científica avalaría el uso de OHB complementaria de antibioticoterapia en esquema G 1 en infecciones con o sin origen odontogénico: osteomielitis aguda de mandíbula; artritis séptica (ATM); gangrena gaseosa; fascitis necrotizante; abscesos; celulitis; miositis. Las articulaciones no se vieron afectadas por las maniobras quirúrgicas o el proceso cicatrizal como para sacar conclusiones respecto a si un tratamiento OHB es mejor que otro. No se requirió la indicación de amputaciones en grupos experimentales OHB y G 3 Control.

PALABRAS CLAVE: consolidación ósea de mandíbula y tibia; patologías hipóxicas, osteogénesis endóstica y perióstica; extrapolación humana; modelo animal de laboratorio, velocidad de mineralización ósea, curación de fracturas con OHB.

ABSTRACT

The primary stroke was based on the idea of using a technology that made an innovative contribution, a complement to the techniques and skills of the surgeon. To achieve this goal it would be necessary to check the effectiveness of Hyperbaric Oxygen Therapy (HBO) treatment in the therapeutics of bone trauma. The origin of HBO derives from the therapeutics of pathologies that can occur after professional diving or underwater activities. It was then basically used in the treatment of pathologies or lesions of hypoxic etiology. The physical and chemical principles of thermodynamics, the laws and fundamentals of fluid mechanics, hydraulics and pneumatics allow to understand in a practical way the operation of hyperbaric chambers. Breathing oxygen 100 % to 3 ATA is rapidly toxic to neural and nerve tissue. For this reason treatments involve pressurizations between 1.4 ATA and 2.8 ATA for periods of 60 to 120 minutes once or twice a day. This work is a contribution to Oral and Maxillofacial Surgery and medical specialties such as traumatology and osteology, also for the study of properties and/or application of new materials, elements or biocompatible compounds for therapeutic purposes. It enabled progress towards a new line of interdisciplinary research for possible HBO applications or indications. The experimental study was conducted based on an animal laboratory model for clinical extrapolation. Initially it was projected that the scope of its results would be of interest only to Oral and Maxillofacial Surgery (human jaw), but then, due to the methodology and scientific evidence obtained it was found that the data could be extrapolated to human traumatology (lower member); human osteology (bone density in limbs and rachis); veterinary traumatology (hind leg of animals). Scientific support for extrapolation originated by considering a number of related factors. It was first based on phylogeny between species, by genetic and morphological evolutionary relationship between different groups of organisms. Other support was provided by the study of bone embryological development, specifically ossification processes. Basically there are two: endochondral and intramembranous ossification or membranous (osteogenic conjunctive membrane). Both processes are involved in longitudinal growth of the jaw and long appendicular and axial bones. The other pillars that gave methodological support were neuroendocrine function and its associated pathologies; similar pathological processes and injury management with the same characteristics and healing times; dosing serum and urinary markers by complementary methods to those used in humans. Physiopathology and bone biology related to bone injury recovery was interpreted with serum biochemical, histomorphometric and radiological laboratory studies. The concept of reacting elements or chemical reagents of biological and pharmacological action was based on the criterion of therapeutic use of chemical elements such as 100 % oxygen and mixtures of gases at an atmospheric pressure greater than 1.4 ATA in a pressurized airtight enclosure in

order to improve the resolution or healing of bone lesions, as complementary therapeutics of acute traumatic ischemias (ATI).

Two distinct lesions were used in the same left posterior limb of a Californian rabbit animal model (extrapolated to human jaw) were used to evaluate the bone response to treatments. One biopsy injury, bicortical cavity in tibial proximal metaepiphysis, and another simple proximal fibula fracture injury. The lesions studied are those defined as secondary bone consolidation, without reduction, with little or little mobility, with callus. Primary consolidation is one that occurs without callus, with reduction and without mobility between the edges of the fracturing. After an injury the proliferation of periosteum and endosteum that form granulation tissue is activated, which is subsequently transformed into fibrous, chondroid, and osteoid tissue that repair the wound. The approach addressed the HBO study and therapeutic response on bone trauma. Bone is hard specialized connective tissue with soft tissues annexed with osteogenic capacity (periosteum and endosteum). Skeletal epithelial and muscle tissues, although of importance in the integral process of healing after traumatic injury exceed the work of doctoral thesis where the focus was placed on reducing the consolidation times of bone fractures with a bone structure equivalent to that achieved with conventional treatments currently applied. The idea was to get a mineralized hard callus, laminar bone, in less than 4 to 5 weeks after trauma. It was secondarily observed whether treatments prevented the risk of complications from anaerobic infections, mutilations or amputations in hard tissues, and whether they improved joint function if affected. The simplified therapeutic scheme involved a sample of 24 male rabbits, divided into 3 groups: Postoperative Group 1 (G 1) of 8 individuals with two different lesions, one in tibia and one in fibula, postoperative antibiotic therapy and postoperative HBO; a second experimental group, Preoperative Group 2 (G 2) of 8 individuals with the two bone lesions described, postoperative antibiotic therapy and preoperative and postoperative HBO; both HBO treatments were compared to baseline data and a Group 3 Control (G 3) with the same number of experimental units (8) and bone lesions, postoperative antibiotic therapy, Placebo air treatment 1.3 ATA, without HBO. Treatments were performed in an experimental hyperbaric chamber of single-seat technical characteristics (Class C). The results obtained allowed the possibility of taking a step for obtaining a level of evidence B for a new indication of HBO. HBO induced osteogenesis and neoangiogenesis, but these effects should also be explained by checking mechanisms of action, whether it is by increasing the proliferation of bone progenitor mesenchymal cells that would accelerate the construction of bone callus, hormonal or nerve mechanisms, or both processes simultaneously. The data obtained and the scientific evidence consulted would indicate a systemic action of HBO at the level of the Hypothalamus and from there a cascade of responses in the participation of the Autonomous Nervous System and the Immune System that would explain its therapeutic scope in the bone. It is also not known exactly how tissue oxygen stress affects the metabolic and enzymatic activity of osteoblast in bone formation or osteoclast in resorption (bone remodeling). The thesis allowed research on the existence of an HBO action that would produce a positive effect on bone lesions by

intervening in the function of osteoblasts, osteoclasts and the rate of bone mineralization in vivo. Results obtained through histomorphometric, radiographic, serum and urinary studies indicated that Hyperbaric Oxygen Therapy with Group 1 Postoperative treatment scheme and Preoperative Group 2 as a complementary therapeutic of acute traumatic ischemias in bone fractures could improve bone scarring, with a postoperative period in less time. There was a difference between HBO-induced osteogenic response and control in relation to the affected bone, tibia or fibula, and the type of trauma or injury caused.

In tibia injury the consolidation or formation of bone callus with HBO G 2 occurred in a smaller time compared to G 3 Control. In tibia considering mineralization speed (MS) from day 15 to 25 post-surgical (PosSx) HBO with G2 treatment was faster in μ /day than G 3 Control. G 1 was slower, but with better structure (laminar bone), this corresponds to parameters such as double marking trabecular surface (DMTS) and bone volume. In tibia the structural and functional properties of the mineralized matrix of the bone callus are superior with G 2 HBO compared to G 3 Control.

In fibula from day 23 to 45 PosSx G 3 Control was faster in μ /day than HBO G 1 and G 2 treatments. However, in the same measurement period, G 1 reached a higher level (50 % > G 3 Control) of DMTS. A relevant data because it is a bone surface of mature bone. X-rays matched the static histomorphometric parameters bone volume and osteoblastic surface to confirm these conclusions. The tibia bone callus according to X-ray images had better resolution with HBO G 2 than in G 3 Control. In fibula, there were no differences between experimental groups G 1 and G 2 in relation to G 3 Control. X-rays match the histomorphometric parameters trabecular volume, total bone volume and MS, this means that similar results were obtained with different measurement methods. Calcemia with low value compared to Basal is related to improved bone density and increased calcification. G 2 had increased hypocalcemic effect, this was associated with higher levels of calcification. G 1 reduced the calcium level between day 30 and 45 PosSx, coinciding with histomorphometry where an increase in mineralization was observed for the same date. HBO would be more favorable in different periods, e.g. G 2 until day 25-30 PosSx and G 1 from day 30 PosSx. In HBO the calcemia-phosphatemia ratio would have been better than in G 3 Control, G 2 had more positive values throughout the experience from day 10 presurgical (PreSx) to day 45 PosSx. This could be interpreted as better bone mineral structure preservation than G 3 Control. G 2 got the best levels of 25OHD between day 7 and 21 PosSx. Calciuria and phosphaturia contributed to the analysis that G 2 would link to the concept of greater bone conservation, mineral structure and de novo bone formation. Ratio PTH-25OHD indicated the hormonal regulatory function of calcemia and phosphatemia, G 2 and G 3 Control were similar between day 15 and 45 PosSx, PTH recorded values without considerable variations. The G 1 curve would have had a similar effect to G 2 until day 30 PosSx, from day 30 to 45 PosSx acquired upward evolution, 25OHD progressively marked higher values and PTH lower values. This would coincide with the "inertial effect" or "acceleration inertia effect" where there would be increased bone formation in G 1 HBO from day 30 PosSx at the end of treatment. The data obtained could be due to a "decompressive bone effect" produced

by oxygen accumulation or saturation in a compartment, that in this case it would be the area where the bone fracture existed, considering it as a "scar bone compartment" where the "accumulated" oxygen would have saturated the affected tissues and after finishing the HBO supply would have produced a decompression generating a positive biological response (accelerated or increased) in bone wounds, promoting healing in less time and with better structural properties.

In tibia HBO G 2 found better osteogenic response up to day 30 PosSx, results compatible with greater presence of mature laminar bone than that achieved in treatment G 3 Control. It was confirmed by DMTS, SMTS, and MS dynamic histomorphometric parameters. G 1 would have achieved better results between day 30 and 45 PosSx.

In fibula HBO G 1 would have achieved better osteogenic response than G 3 Control, but from day 30 to 45 PosSx.. Confirmed with histomorphometry by DMTS, SMTS and MS. These compared parameters provided results that would indicate in summary that treatments with HBO G 1 and G 2 had a higher result than G 3 Control. The results of the extrapolation model achieved in tibia and fibula with HBO G 1 and G 2 would allow the surgical and traumatological extrapolation to human oral and maxillofacial surgery in complementary treatment of fractures in jaw body and ascending branches (HBO G 1); complementary treatment of jaw osteonecrosis by chemotherapy, radiation therapy, bisphosphonates (HBO G 1); improvement in osseointegration of dental titanium implants in the jaw (HBO G 2); complementary treatment of orthognatic surgery, in cases with indication of jaw osteotomies for aesthetic and functional requirements in deformations, prognathism, open bite, TMJ dysfunction (HBO G 2); cases requiring corrective surgery for pseudoarthrosis or vicious consolidation of the jaw (HBO G 1). There were no marked differences between experimental groups and control in the decrease of hard and soft tissues anaerobic infections. However, scientific evidence would support the use of complementary HBO of antibiotic therapy in G1 scheme in infections with or without dental origin: acute osteomyelitis of the jaw; septic arthritis (TMJ); gas gangrene; necrotizing fasciitis; abscesses; cellulite; myositis. The joints were not affected by surgical maneuvers or the healing process to draw conclusions as to whether one HBO is better than another. No indication of amputations was required in experimental groups HBO and G 3 Control.

KEY WORDS: jaw and tibia bone consolidation; hypoxic pathologies, endosteal and periosteal osteogenesis; human extrapolation; animal laboratory model; bone mineralization speed; HBO fracture healing.

DETERMINACIÓN DEL TEMA DE TESIS

1-DETERMINACIÓN DEL TEMA DE TESIS

Los protocolos de OHB utilizados en el trabajo de campo se basaron en indicaciones reconocidas para tratar cicatrización de lesiones refractarias, pie diabético, osteorradionecrosis e isquemias traumáticas periféricas agudas. A partir de esquemas terapéuticos clínicos y evidencia científica, el enfoque de mayor relevancia del trabajo estuvo en que la OHB podría “activar” la osteogénesis, aunque debían comprobarse los mecanismos responsables de dicha acción. La evidencia previa indicaba que el engranaje de acción podría deberse a procesos hormonales y nerviosos que intervienen en la proliferación de las células mesenquimales progenitoras óseas responsables de la formación del callo óseo. El incremento de la tensión tisular de oxígeno intervendría en la actividad metabólica y enzimática que participa en la formación y resorción ósea (remodelación). Su acción a nivel neuroendocrino provocaría efectos positivos vinculados a la función de los osteoblastos y osteoclastos en lesiones de hueso. Concretamente induciría favorablemente osteogénesis, velocidad de mineralización in vivo y estructura mineral ósea. **(Figura 1)** El uso de OHB podría formar el callo óseo en menor tiempo, sumando hiperoxia de tejidos, acción anti-isquemia y antiedema. La hiperoxia de tejidos reduciría notablemente la microbiota patógena de bacterias anaerobias, impidiendo así las infecciones de tejidos blandos necróticos y tejidos duros óseos. Los efectos locales y sistémicos que produce la OHB se pueden sintetizar en: hiperoxigenación, que revertiría el estasis microcirculatorio; vasoconstricción, que elimina el edema y el síndrome compartimental; restablecimiento de la función celular reparadora e inmunológica del huésped; reversión de la reperusión, que impediría la liberación de radicales libres de oxígeno tóxicos. Con esta terapéutica, al inicio del trabajo, también se esperaba reducir o eliminar el porcentaje de las patologías articulares, amputaciones y la mortalidad como consecuencia de complicaciones sistémicas postrauma.

El estudio experimental tuvo sustento en un modelo animal para extrapolación clínica, este método haría posible que el alcance de los datos obtenidos pudiera ser de interés en Cirugía Bucomaxilofacial, Traumatología y Osteología (metabolismo fosfocálcico y densidad ósea). Se abordó la investigación del tejido conectivo especializado duro, definido como hueso, y los tejidos blandos con capacidad osteogénica periostio y endostio. El endostio o perimielio es una membrana delgada que tapiza la superficie interna del hueso en la cavidad medular. Periostio es una gruesa membrana fibrosa que recubre la superficie del hueso (salvo articulaciones), constituida por una capa interna osteogénica y otra externa de tejido conectivo con vasos y nervios. **(Stedman, 1997)** La participación de los tejidos epitelial y muscular esquelético si bien son importantes para comprender el proceso integral de cicatrización posterior a una injuria traumática excede las posibilidades del presente trabajo.

En las cámaras hiperbáricas se utilizan presiones que superan la atmosférica, una Atmósfera Absoluta (1 ATA), desde 1,4 ATA hasta 2,8-2,9 ATA (máximo), con variaciones en este margen, tiempo de exposición y duración del tratamiento según la patología e indicaciones específicas. La unidad de medida deriva del

sistema utilizado en el submarinismo: Atmósfera Absoluta (ATA). A nivel del mar 1 ATA equivale a 760 mm Hg y a un Bar. Las cámaras hiperbáricas son recintos que pueden estar contruidos con materiales metálicos, metálicos combinados con plexiglás, hormigón, o de algún otro tipo de material resistente. Su funcionamiento implica replicar-reproducir una condición de inmersión o buceo con suministro de oxígeno 100 % e incremento de la presión ambiental, posibilitando aumentar la tensión arterial de O₂ a 2000 mmHg y la tensión de oxígeno de los tejidos a casi 400 mmHg. Estas dosis de oxígeno tienen numerosos beneficios bioquímicos, celulares, y efectos fisiológicos. El oxígeno molecular entra al organismo por inhalación, el O₂ gaseoso se difunde en la sangre por los alveolos pulmonares. Su transporte circulatorio está a cargo de la oxihemoglobina, de esta manera el oxígeno llega a todos los tejidos por difusión, allí la metabolización aerobia produce energía, dióxido de carbono y agua. El dióxido de carbono que ingresa en la sangre venosa se elimina en los pulmones durante la exhalación. **(Hammarlund, 1999)** En pacientes con buena función cardiopulmonar a 2 ATA existe una tensión de oxígeno de hasta 1000 mmHg y una tensión de oxígeno muscular de 221 mmHg. A 1 ATA es de alrededor de 29 mmHg y 59 mmHg respectivamente. A 760 mmHg, en reposo, la concentración plasmática de oxígeno es 0,3 ml por decilitro. **(Wells et al., 1977)** La administración de O₂ 100 % normobárico incrementa el oxígeno disuelto en sangre, alcanza los 1,5 ml por decilitro. En cambio, el suministro de O₂ 100 % a más de 2 ATA alcanza hasta 6 ml de oxígeno disuelto en plasma por cada 100 ml, suficiente para sostener los requerimientos basales metabólicos titulares sin requerir el transporte de hemoglobina **(Boerema, 1960)**. A 3 ATA el oxígeno 100 % es rápidamente tóxico para el tejido neuronal y nervioso. Por este motivo en la práctica los tratamientos implican presurizaciones entre 1,5 ATA y 2,8 ATA por períodos de 60 a 120 minutos, una o dos veces al día. **(Sheffield, 1988)** El oxígeno disuelto en el plasma aumenta notablemente su difusión hacia los tejidos si es inspirado a altas presiones parciales. En un vaso sanguíneo el radio de difusión de oxígeno es de 64 micrómetros y cuando se respira oxígeno en la cámara, el radio de difusión aumenta hasta 247 micrómetros, es decir que la difusión de oxígeno en condiciones hiperbáricas aumenta aproximadamente cuatro veces. Tratamientos hasta 2,8 ATA poseen un efecto preventivo en la formación y reducción del tamaño de las burbujas de gas inerte en circulación (ca. $\frac{2}{3}$), este límite previene la enfermedad por descompresión y embolia gaseosa.

Estudios realizados en Gosport, Reino Unido (RU), sobre la estimación de riesgo de enfermedad por descompresión en el escape de submarinos siniestrados en la Marina Real Británica utilizan como base para las mediciones el modelo lineal exponencial (basado en Haldane). En este modelo el cuerpo es representado en compartimentos independientes, cuando un compartimiento es supersaturado se describe como “cargado”. La carga total del gas inerte tisular es la suma de la carga de gas inerte nitrógeno (N) y la presión parcial de los gases metabólicos: O₂, monóxido de carbono (CO) y vapor de agua. **(Thalmann, 1997)**

El oxígeno gaseoso para uso terapéutico y buceo se denomina Oxígeno Medicinal según la *European Medicines Agency* (EMA). Es un gas inhalatorio, que contiene oxígeno como sustancia activa y único

ingrediente, contenido en un cilindro presurizado. Se trata de una sustancia natural descrita en la Farmacopea Europea que pertenece al grupo de gases medicinales.

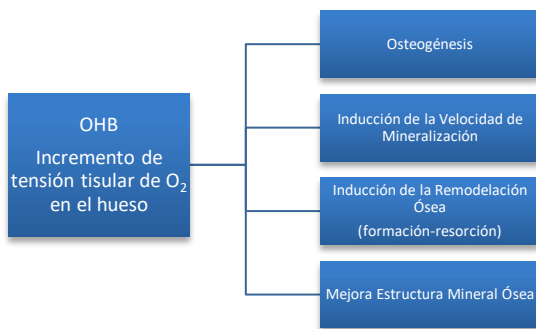


Figura 1. Esquema de principales efectos estudiados de la OHB en tejido óseo.

El tratamiento en cámara hiperbárica tiene cuatro fases: la fase de compresión, la fase de isopresión, fase de descompresión y la fase de post-presurización o post-tratamiento. Existen dos tipos de cámaras hiperbáricas: monoplasa y multiplaza. En una cámara monoplasa puede tratarse un solo paciente a la vez, mientras que en una cámara multiplaza pueden recibir tratamiento varios pacientes simultáneamente. Otra diferencia entre estas dos cámaras es que la cámara monoplasa presuriza con oxígeno 100 %, mientras que la multiplaza se presuriza con aire y el paciente recibe oxígeno 100 % por una máscara de suministro. **(Subbotina, 2006)** La investigación aplicada aporta nuevas herramientas para resolver situaciones complejas que ponen a prueba la aptitud e idoneidad del especialista en cirugía. Al mismo tiempo brinda la oportunidad de contribuir a la Odontología como ciencia de investigación y mejorar la calidad de vida humana. En la medida de las posibilidades disponibles, la motivación estuvo siempre centrada en la idea de contribuir al desarrollo de conocimientos que aporten soluciones en la atención sanitaria de la población.

ESTADO DEL TEMA

2-ESTADO DEL TEMA

A lo largo de la historia natural los traumatismos han formado parte de la vida cotidiana de los seres vivos. El trauma es una lesión caracterizada por una alteración estructural, resultado de una exposición aguda a una fuente de energía que puede ser mecánica, térmica, eléctrica o química. Los principios generales de las leyes del movimiento de los cuerpos de Newton: inercia, fuerza y acción-reacción rigen la transferencia de energía que involucra a los tejidos corporales. **(Durán, 2000)**

La cantidad de pacientes traumatizados crece desde hace años o, en el mejor de los casos, se mantiene constante por diversas causas como accidentes en el hogar, de tránsito, laborales, actividades de ocio y deportes, conflictos bélicos, violencia social. Las cifras estadísticas sobre causas y porcentaje de incidencia de trauma, presentan similitudes en países con culturas y situaciones socioeconómicas muy diferentes. Obviamente no se incluyen en esta consideración las regiones con conflictos bélicos, que representan situaciones excepcionales en todo sentido, no comparables a la convivencia en paz.

El estado del tema centró su atención en una revisión de trabajos sobre causas e incidencia de accidentes donde el hueso sufre un daño severo y también estudios de OHB donde se procuró lograr un efecto benéfico en el mecanismo de recuperación ósea a partir de la injuria recibida. Los conocimientos o fundamentos sobre la acción de los fármacos usados hasta el momento para patologías óseas permitieron la posibilidad de estudiar cual sería la acción del oxígeno en condiciones hiperbáricas sobre el hueso.

Actualmente, a pesar del conocimiento que se tiene sobre las propiedades farmacodinámicas del oxígeno hiperbárico, todavía resulta difícil tener disponibles protocolos por consenso que puedan utilizarse para el tratamiento de lesiones óseas por fracturas o aplastamiento mandibulares o en miembros superiores o inferiores. La literatura actual carece de estudios clínicos y de investigación básica aleatorios (randomizados) con niveles de evidencia A o B que especifiquen dosis, frecuencia, duración de los tratamientos. La mayoría de las publicaciones referidas a OHB se presentan en la forma de reportes de casos, situación que llevó al inicio de la investigación propuesta, para obtener evidencia científica confiable, válida, reproducible, y así ofrecer continuidad a nuevos trabajos de investigación en este campo de estudio.

El enfoque sobre las estadísticas de morbimortalidad tendría importancia en la detección de causas y prioridades terapéuticas en el manejo de patologías endémicas. En esta tesis se puso especial atención en aquellas causas externas de mortalidad en países representativos de América.

Chen et al. (2009) en el *Office of Analysis and Epidemiology (OAE)*, un trabajo publicado por el *National Health Interview Survey (NHIS)*, analizaron episodios de injurias/trauma y circunstancias que las producen desde 1997 hasta 2007. Observaron que las caídas son la primera causa externa de injuria (38 %), 23 % en actividades de ocio excluyendo deportes, con el detalle que a partir de 2004, y hasta 2007 las torceduras articulares o esguinces con contusiones y heridas superficiales aumentó notablemente, a su vez el trauma en

miembros superiores e inferiores representó el 30 % de todas las lesiones corporales reportadas. **(Li & Baker, 2012)**

El Instituto Brasileño de Geografía y Estadística **(IBGE, 2009)** presentó un estudio sobre las principales causas de muerte por grandes regiones, con datos del Ministerio de Salud Federal, para el período 2005-09 según el informe, las causas externas de mortalidad (accidentes de tránsito, en el hogar y deportes, suicidios, homicidios) alcanzaron el 12,2 % siendo también la tercera causa más frecuente, pero muy cerca de las debidas a neoplasias (12,8 %), la primera es por dolencias/patologías del aparato circulatorio (27,6 %). En la última publicación de la Pesquisa Nacional de Salud (2015) las causas externas de accidentes y violencias en 12 meses fueron divididas en tres situaciones para su análisis: 1-Accidentes de Trabajo, 4,4 % de la población total del país femenina y masculina (18-40 años); 2-Violencia o agresión de persona desconocida 3,1 % de la población mayor de 18 años; 3-Tránsito, el 79,4 % de la población de 18 años o más siempre usan cinturón de seguridad en el asiento delantero del automóvil.

La adhesión a su uso depende del nivel de instrucción, 75,3 % sin instrucción o ciclo de formación incompleto, y 89,7 % instrucción superior completa. En cuanto al uso de casco en motos, la región Sur y Centro-Oeste registró mayor uso. La proporción de personas envueltas en accidentes de tránsito con lesiones corporales en 2013 fue de 3,1 % de la población (ca. 6,5 millones de personas). De este total 47,2 % dejaron sus actividades habituales luego del trauma, y 15,2 % tuvieron secuelas o discapacidad. En síntesis 62,4 % (ca. 4 millones de personas) de los accidentados no recuperaron su vida normal. Esto constituiría un problema de salud de importancia. Más adelante se verá como los datos se repiten, con similitudes notorias, en otros países y regiones, constituyendo un problema global.

Prado & Muñoz de la Rosa (2009) publicaron un estudio de su experiencia entre los años 2000-07 en el servicio de traumatología y ortopedia del Hospital Ángel C. Padilla de la Provincia de Tucumán (Argentina). La atención médica de 5.157 pacientes (ca. 736 casos por año) que sufrieron lesiones por accidente de tránsito: fracturas óseas, hematomas, lesiones articulares, lesiones ligamentarias, lesiones de las partes blandas y heridas graves de miembro. En orden decreciente, registraron por frecuencia, la siguiente prevalencia: pacientes con fracturas de miembro superior (24 %); de miembro inferior, tobillo y pie (18 %); cadera (15 %); rodilla (6 %); columna (3,5 %); la mínima frecuencia correspondió a pelvis y acetábulo (2,5 %). Existe un problema con impacto negativo en los casos de fracturas expuestas y de heridas graves de los miembros. Desde la producción del accidente, la llegada de ambulancias al lugar del hecho y el traslado a un centro hospitalario de complejidad transcurren entre 1 y 2 horas, contribuyendo a la aparición de complicaciones y secuelas. Argentina tiene uno de los índices más altos del mundo de mortalidad por accidentes viales, con más de 7.550 personas por año. Las principales instituciones que computan los accidentes de tránsito muestran que estos ocasionan 21 muertes por día; otros registros elevan estas cifras a entre 27 y 33 personas; además, es una de las principales causas de muerte en los jóvenes. Se estima que sólo en un 15 % de las lesiones producidas por vehículos de motor, la falla es atribuible a factores técnicos;

el 85 % restante involucra al factor humano. La tasa de mortalidad por accidentes de tránsito varía entre los diferentes países. La Argentina hasta 2009, registró una tasa por cada 100.000 habitantes de 26,26 %; Venezuela, 19,32 % y Brasil, 18,53 %.

La agencia pública norteamericana *Centers for Disease Control and Prevention (CDC, 2008)* publicó un informe del *National Center for Health Statistics (NCHS)* para el período 2004-07, midió que la primera causa de injuria fue la caída doméstica en el entorno domiciliario; luego estaría el sobreesfuerzo por actividad física en deportes y actividad recreacional; en menor medida golpes por o contra objetos o persona, accidentes en medios de transporte con vehículos, bicicletas, motos, peatones; en último caso, con menor frecuencia, se ubicaron las lesiones por corte o amputación. En base a estadísticas publicadas por el NCHS, los accidentes de tránsito encabezan las causas de muerte más frecuente en ambos sexos, entre 5 y 34 años. En Estados Unidos durante todo 2017 la muerte por causas externas o accidentes e injuria ocupó el tercer lugar junto a los accidentes cerebrovasculares. **(Kochanek et al., 2019)** En el período 1999-2017 las principales causas de morbilidad fueron: circulatorias-cardiovasculares (1ra) y tumores malignos (2da), representaron aproximadamente el 50 % de todas las causas. Las infecciones de las vías respiratorias alcanzaron el cuarto lugar. **(Tejada-Vera, 2019)** No se incluyen estadísticas de la pandemia de coronavirus SARS CoV2 (COVID-19) por tratarse de una situación global en pleno desarrollo al momento de impresión de la tesis doctoral.

La Dirección de Estadística e Información de Salud (DEIS) publicó que en la Argentina las Causas externas o Accidentes continuaron ocupando el cuarto lugar dentro de las causas de fallecimientos en edades de 45 a 55 (11-12 %); seguido por enfermedades infecciosas: neumonía o influenza (8 %). Según estos datos, a partir de los 55 años de edad el riesgo de accidentes o muerte por causas externas desaparece. En cambio en personas de 5 a 35 años de edad fue la primera causa fatal, de 35 a 44 la tercera. Aquí radicaría el interés y la relación con el tema de tesis, en la franja etaria de 5 a 40 años de edad se existe una población susceptible de requerir tratamientos por lesiones traumáticas, entre esos tratamientos podría incluirse la OHB. La Dirección de Estadísticas e Información de Salud **(DEIS, 2018)** de Argentina en su Anuario de Estadísticas Vitales, Información Básica, presentó un cuadro de defunciones por causas externas clasificadas según mecanismo e intencionalidad. La primera causa registrada tanto en mujeres como varones fue por vehículos de transporte terrestres, seguido por ahorcamiento o sofocación y en tercer lugar heridas por armas de fuego.

Los datos de la Asociación Civil Luchemos por la Vida, marcaron que las muertes por accidentes de tránsito 2008-13 superaron los 7500 cada año. En un estudio comparado se registró la evolución del problema en cinco años, allí observaron en Suecia una reducción de 25 % en la mortalidad. En Estados Unidos (EEUU) existió una reducción de 11 %; en Argentina 10 %. El total de muertos en accidentes de tránsito ascendió a 6627 (cifras provisionales al 06/01/2020). Promedio diario: 19. Promedio mensual: 552. **(<http://www.luchemos.org.ar>, 2020)**

El informe de mortalidad del Ministerio de Salud Nacional y del Sistema Estadístico de Salud (2010-14) publicado en el Instituto Nacional de Estadística y Censos de la República Argentina (**INDEC, 2015**), definió que el trauma en Argentina se ubicó como la tercera o cuarta causa de muerte considerando causas externas como accidentes, violencia social, e infecciones sobrevenidas por estas patologías. Teniendo en cuenta esos factores esta situación sería solo superada por la tasa de mortalidad de enfermedades cardiovasculares, respiratorias y tumores. Las causas externas de morbimortalidad ocasionan daños sociales y económicos por pérdida de vidas y mayor cantidad de heridos con secuelas físicas y psicológicas, litigios y costos legales, pérdida de empleo o pérdida de capacidad laboral, incremento de gastos previsionales, también grandes incrementos en los costos de los Seguros de Salud públicos y privados. Según los indicadores de Salud 2012-17 la tasa de mortalidad total en Argentina mantuvo los registros desde 2014. Primera causa: enfermedades del sistema circulatorio; segunda tumores malignos; tercera sistema respiratorio; y cuarta causas externas, accidentes. (**INDEC, 2018**)

Isakov et al. (1980) estudió pacientes con trauma grave de extremidades en el período agudo, reportó cambios en el sistema inmune como fagocitosis y baja concentración plasmática de IgA e IgG. Los estudios inmunológicos demostraron que con OHB la recuperación de estos parámetros se produjo 5 a 7 días antes que en el grupo control. El Instituto de Medicina de Emergencia Sklifosovsky de Moscú es un centro de referencia mundial en el uso de OHB para prevención de la infección postrauma de pacientes con: fracturas expuestas; amputaciones de muslo, pierna, brazo; heridas masivas con síndrome por aplastamiento de los tejidos blandos; lesiones masivas de piel. Investigadores rusos han reportado la combinación exitosa de la técnica de Ilizarov y la OHB en el tratamiento de pacientes con fracturas expuestas.

Las publicaciones de OHB en osteomielitis refractaria son de tipo reporte o serie de casos clínicos. Hasta la fecha de revisión bibliográfica no se han encontrado ensayos clínicos controlados aleatorios (ECCA) sobre este tema.

Strauss (1981) publicó un reporte de 700 casos de recuperación más favorable y en menor tiempo de fracturas tratadas con OHB. En 1982 realizó otro estudio sobre la remodelación ósea en conejos con la aplicación de OHB.

Triplett & Branham (1981) hizo un estudio sobre osteomielitis mandibular con extrapolación humana de resultados obtenidos de huesos largos en conejos. Dividió la muestra en tres grupos uno control sin OHB, otro con OHB, y otro con OHB y antibióticos. En el grupo experimental con OHB encontró una respuesta favorable que coincidió con la del grupo OHB y antibióticos, sin embargo en este último grupo los resultados indicaron sinergismo farmacológico.

Nilsson (1989) investigó la cicatrización ósea en un estudio experimental con un modelo animal en pequeños animales de laboratorio. Los efectos de OHB en la consolidación de fracturas con osteotomía de mandíbula proximal a la entrada de la arteria dentaria inferior en ratas comparada a la respuesta ósea de otra osteotomía en tibia de conejos. El tratamiento de la herida lo hizo en 3 grupos que recibieron O₂ 100 % 2,8

ATA 2 horas por día, otro con heparina subcutánea, y otro con dextrano por infusión. Encontró que la heparina tiene efectos morfológicos positivos, reduce tejidos dañados en la estructura del esmalte de pulpa de incisivos, odontoblastos y órgano del esmalte. Los dextranos no tienen efectos amelodentinarios. Nilsson encontró que la OHB tiene un efecto similar a la heparina, induciendo efectos reparativos, como formación de osteodentina en pulpa, y reacción condroide en hueso. Utilizó fosfatasa alcalina ósea como marcador sérico de formación.

Agaian & Khangulian (1991) demostraron la ventaja clínica del uso de la OHB en el tratamiento de 60 pacientes con el síndrome por aplastamiento (crush-syndrome) comparando con un grupo de 50 pacientes no tratados con OHB. Se observó la reducción de la hipoxia de los tejidos, normalización relativamente más rápida de la función renal en los pacientes con insuficiencia renal aguda, disminución de la toxemia, mayor velocidad de los procesos reparativos, alivio de la anemia y mioglobinemia, disminución de las moléculas de mediano peso molecular en sangre.

Radonic et al. (1995) revisando de manera retrospectiva a 189 heridos de la guerra en Croacia (ex Yugoslavia) con lesiones vasculares, demostró una mejoría manifiesta de la cicatrización con la inclusión de OHB en casos de isquemia prolongada por afectación vascular junto con el desbridamiento de los tejidos desvitalizados, fasciotomía profiláctica, la reconstrucción microquirúrgica y uso amplio de los injertos autógenos. Seis pacientes murieron por causas asociadas al trauma y en 16 casos por amputaciones.

Zamboni investigó el tejido epitelial y muscular, específicamente el efecto de OHB sobre colgajos e injertos en cirugía plástica. **(Zamboni, 1993)** Es de particular importancia su investigación en músculo esquelético. Se trató de un trabajo en un modelo animal con ratas de laboratorio Donde realizó un análisis morfológico de la microcirculación aplicando OHB durante el síndrome de isquemia-reperfusión en músculo esquelético. Demostró que el tejido muscular presenta mayor sensibilidad a la isquemia-reperfusión que el epitelio.

Dividió a las unidades de estudio en grupo control sin isquemia, y grupos experimentales con 4 horas de isquemia-reperfusión en diferentes etapas, tratados con OHB 2,5 ATA, 60 minutos. Observó que en la primera hora después de la isquemia, al iniciar la perfusión mejoró el resultado terapéutico por uso de OHB, logró inhibir la vasoconstricción progresiva por isquemia y redujo la adhesión de los neutrófilos a las paredes de las vénulas. Otra conclusión fue que la OHB aumentaría significativamente la supervivencia de los colgajos isquémicos, encontró que el efecto de la OHB dura cerca de 5 horas luego de terminado el tratamiento. **(Zamboni et al., 1996)**

Bouachour et al. (1996), en un ECCA realizado en Francia con 36 pacientes (2 grupos de 18) que presentaban injurias traumáticas, aplicó OHB en cámara multiplaza, 90 minutos por sesión, 2 sesiones 2,5 ATA por día, 6 días. En grupo control se aplicó un método placebo sin OHB. Investigó tiempo de cicatrización de heridas, efectos adversos, índice de amputaciones, tiempo de hospitalización. Hizo seguimiento hasta la finalización de la curación. Demostró el beneficio de usar OHB para las heridas con síndrome por aplastamiento en los pacientes que tenían las fracturas grado III-B y III-C de Gustilo.

Reportaron la curación completa en 17 de 18 pacientes en el grupo tratado con OHB, en el grupo control la curación completa fue en 10 de 18 pacientes. El tiempo de la curación de los pacientes en ambos grupos no fue estadísticamente diferente, 50 días en el grupo OHB versus 55 días en el grupo control. Este estudio no mencionó el método de designación aleatoria, métodos de inclusión y exclusión definidos de los pacientes. por lo que perdió puntaje en la evaluación formal. Obtuvo un nivel de evidencia B, aceptado por la comunidad científica, actualmente continúa siendo considerado un trabajo de referencia para justificar la indicación en isquemias periféricas traumáticas agudas.

El Reporte Técnico para OHB en el Reino Unido de la Universidad de Birmingham y la Escuela de Farmacología Universidad de Keel (RU) en marzo de 2012 confirman este dato y la calificación de evidencia para esta indicación de OHB. (<http://www.birmingham.ac.uk>, 2012)

Ueng et al. (1998) realizaron un estudio experimental sobre elongación de tibia en conejos. Se observó en el grupo tratado con OHB la inmediata tendencia a la formación más rápida del callo, con mayor densidad mineral ósea que en el grupo que no recibió OHB. El grupo que recibió OHB mediata y elongación, no tuvo diferencia con el grupo control. La zona central del callo elongado posee células parecidas a fibroblastos (fibroblastic-like), células mesenquimales osteoprogenitoras derivadas del periostio, endostio y células de la médula ósea con capilares y tejido condroide. Según este trabajo la OHB aumentaría la proliferación de las células mesenquimales progenitoras óseas que, a su vez, aumentan la formación del callo.

Desola et al. (1998) en Europa las indicaciones de OHB son definidas por la *European Underwater & Baromedical Society* (EUBS), una sociedad internacional fundada en el año 1973 en el Instituto Karolinska de Estocolmo (Suecia). La integran miembros de 34 países europeos y su objetivo es el estudio de la medicina subacuática e hiperbárica en todos sus aspectos. En 1978 un comité de expertos de la *Undersea & Hyperbaric Medical Society* (UHMS), el *European Committee for Hyperbaric Medicine* (ECHM) y el Comité Coordinador de Centros de Medicina Hiperbárica (CCCMH) de España, se reunieron con la finalidad de consensuar objetivos comunes, como el control de calidad en los aspectos técnicos y asistenciales. A partir de ese consenso se clasificó a las indicaciones de OHB en tres categorías:

1-Preferentes: en las que la OHB constituye el único tratamiento eficaz, o bien posee un efecto esencial, junto a otras intervenciones terapéuticas.

2-Complementarias: aquellas enfermedades en las que la aplicación de la OHB no es imprescindible ni esencial, pero donde en cambio posee una acción altamente beneficiosa, bien probada en estudios clínicos y experimentales.

3-Experimentales: fueron definidas las situaciones en que la OHB puede tener un efecto terapéutico favorable, en algún aspecto de la enfermedad, basado en una hipótesis terapéutica consistente, con un sistema de control y de evaluación de resultados definido y aplicable, y dentro del contexto de estudios controlados.

El sistema de clasificación contempla las siguientes patologías que pueden ser tratadas con OHB:

Indicaciones Preferentes: embolismo gaseoso (EG); enfermedad por descompresión (ED); síndrome de hiperpresión intratorácica (SHI); intoxicación aguda por monóxido de carbono (ICO); gangrena gaseosa (GG)-mionecrosis clostridial.

Indicaciones Complementarias: traumatismos agudos de partes blandas, síndrome de aplastamiento y síndromes compartimentales, traumatismos de tejidos óseos, osteomielitis crónicas refractarias (OMCR), retardos de cicatrización por vasculopatías periféricas (arteriosclerosis, arteriopatía diabética, síndrome postrombótico, tromboangeítis obliterante, vasculitis por esclerodermia, isquemias postraumáticas); lesiones radioinducidas de hueso, tejidos blandos y mucosas; infecciones necrosantes de tejidos blandos no clostridiales.

Experimentales: encefalopatía hipoxico-isquémica, autismo, enfermos con esclerosis múltiple (EM) desmielinizante.

Tanto el Comité de OHB de la UHMS o su equivalente europeo, el ECHM, aceptan otras indicaciones complementarias o experimentales de la OHB. A saber: intoxicación por cianuro, anemias refractarias a transfusiones, quemaduras térmicas, intoxicación por tetracloruro de carbono, la mucormicosis y retinopatías oclusivas agudas (ROA).

Contraindicaciones: la presencia de neumotórax con mecanismo valvular, toracotomías, antecedente de neumotórax espontáneo, hipersusceptibilidad a los episodios convulsivos, enfermedades infecciosas y catarrales de vías respiratorias altas, dispepsias flatulentas y las sinupatías agudas o crónicas son contraindicaciones para el uso de OHB como tratamiento preferente, complementario o experimental.

(Desola, 2009)

La *European Medicines Agency* (EMA), es una agencia descentralizada de la Unión Europea (UE) desde 1995, con sede en Londres, responsable de la evaluación científica de fármacos desarrollados por compañías farmacéuticas para el uso en la UE, esto incluye el oxígeno y gases de uso medicinal.

La *Food and Drug Administration* (FDA) en Estados Unidos remite a la UHMS la aprobación de sus indicaciones, posteriormente su fallo define la aptitud de cada indicación. En Argentina la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) cumple el mismo rol que la FDA en Estados Unidos de América (EEUU).

Marx (1999) en la segunda edición de Kindwall abordó el tema de lesiones óseas por radiación, desarrolló un protocolo de referencia para el tratamiento de la osteonecrosis. Aplicó el esquema terapéutico 20/10, 20 sesiones de OHB Preoperatorias; cirugía; y otras 10 sesiones de OHB Postoperatorias. La histopatología demostró el aumento de la densidad vascular y celularidad respecto a basal. Induciendo la neovascularización con reducción de la fibrosis en el tejido. Hasta 2006, incluyendo los trabajos de Marx, hay 15 publicaciones sobre aplicación de OHB en osteonecrosis mandibular. Todas son descripciones de series de casos.

Subbotina (2006)

Strauss (2002) publicó en Kindwall un estudio sobre lesiones por trauma e isquemias periféricas traumáticas agudas (“Práctica en Medicina Hiperbárica”). Detalló su experiencia en las indicaciones de OHB referidas a la recuperación de los diferentes tejidos involucrados cuando se produce el trauma: epitelial, conectivo muscular, hueso, médula ósea, médula espinal, tejido nervioso.

Muhonen & Lindholm (2002) observó que la OHB tiene un efecto de aumento en la actividad osteoblástica y osteogénica. Comparó dos grupos de conejos, uno con OHB y otro sin OHB, con mandíbulas irradiadas y oseodistracción.

Martel et al. (2003) reportó éxito con el uso de OHB en 31 pacientes con fracturas expuestas tratadas con osteosíntesis por el método de Ilizarov: 22 pacientes presentaron isquemia de diferente grado de los miembros y 9 pacientes lesiones de tejidos blandos. Los pacientes recibieron 10 a 15 sesiones de OHB a 1,6-1,8 ATA, 40-60 minutos de exposición. Se observó la disminución del edema traumático unos 7-9 días más temprano que en casos no tratados con OHB, demarcación entre los tejidos vitales y no viables más temprana y la reducción de la reacción inflamatoria general al trauma.

Komatsu & Hadjiargyrov (2004) estudiaron la activación de la transcripción del factor inducible de hipoxia HIF-1, sus genes diana, factor fibroblástico de crecimiento endotelial VEGF, HO-1, hemoxigenasa, iNOS, óxido nítrico sintetasa inducible durante la reparación de fracturas óseas. Los investigadores realizaron un estudio experimental sobre elongación de los huesos en conejos. La elongación de tibia fue realizada con tutores externos adaptados especialmente para este proceso. Se observó que en el grupo de animales tratados con OHB inmediata (3 ATA 2h/día) existió una tendencia a la formación más rápida del callo y mayor densidad mineral ósea que en el grupo que no recibió este tratamiento. El grupo que recibió la OHB mediata, después del período de espera y elongación, prácticamente no tenía diferencia con el grupo control. La zona central del callo elongado se compone de células fibroblasto-like con pequeños vasos y algunas zonas de cartílago. Las células fibroblasto-like incluyen células mesenquimales osteoprogenitoras derivadas del periostio y endostio. En el estudio encontraron que las exposiciones intermitentes a presiones elevadas de oxígeno durante el tratamiento de OHB, promovió la neoangiogénesis, aumentó la proliferación de las células mesenquimales progenitoras óseas y la formación del callo. Sus resultados demostraron que el factor de crecimiento fibroblástico (FGF) se incrementó en forma inmediata a la injuria y retornó a su valor normal dentro de los 3 días posteriores, esto sería antes del inicio de la angiogénesis. En cambio VEGF tuvo su pico de expresión a los 7 días posinjuria. La angiogénesis comenzó luego de la semana posinjuria. VEGF recuperó niveles normales de expresión a los 21 días posteriores al trauma en tejidos epitelial, muscular y óseo.

Iriarte Ortabe (2006) realizó una revisión sobre el empleo de la Oxigenoterapia mediante Cámara Hiperbárica en Cirugía Oral y Maxilofacial, describió su uso en osteorradionecrosis mandibular, osteomielitis y la oseointegración de implantes de titanio odontológicos.

Subbotina (2006) hasta el año 2000 el uso de OHB en Argentina tenía aprobación para pie diabético, gangrena gaseosa, celulitis necrotizante, osteonecrosis en cáncer orofacial, tratamiento de la intoxicación por monóxido de carbono, osteomielitis, intoxicación con cianuro y sustancias metahemoglobinizantes, tratamiento de úlceras crónicas de miembros inferiores, tratamiento de embolia gaseosa iatrogénica durante procedimientos cardiovasculares.

En 2001 la Superintendencia de Servicios de Salud en su Programa Médico Obligatorio de Emergencia (PMOE) argentino incluyó solo tres indicaciones para OHB: enfermedad por descompresión, gangrena gaseosa y embolia gaseosa. La ANMAT regula el uso farmacológico de gases medicinales y equipos médicos como autoclaves, calderas, cámaras hiperbáricas. El Ministerio de Salud de la Nación en el Programa Médico Obligatorio (PMO) nomenclata las prestaciones donde se reconocen las indicaciones de OHB recomendadas y aprobadas por la Sociedad Argentina de Medicina Hiperbárica y Actividades Subacuáticas (SAMHAS).

La FDA y UHMS de EEUU desde el año 2003 permiten 14 indicaciones clínicas de OHB, actualmente vigentes: embolismo gaseoso; enfermedad por descompresión; intoxicación aguda por monóxido de carbono; gangrena gaseosa; isquemias traumáticas periféricas agudas por aplastamiento y síndrome compartimental; osteomielitis crónicas refractarias; lesiones por radiación, osteoradionecrosis y radionecrosis de tejidos blandos; absceso intracraneano; necrosis aséptica de cadera, pie diabético; infecciones necrotizantes de tejidos blandos, colgajos e injertos, quemaduras térmicas, anemia aguda excepcional; y la más reciente, sordera súbita. (<http://www.uhms.org>, 2011)

Buettner (2007) investigó sobre el efecto favorable de OHB en el tratamiento de fracturas abiertas e injurias traumáticas.

Fok & Jan (2008) publicaron un trabajo enfocado en el efecto de OHB sobre la expresión del factor endotelial de crecimiento vascular (VEGF) en un modelo animal con defectos óseos congénitos de conejos neozelandeses, esquelétalmente maduros o adultos. El VEGF es responsable de la neovascularización en la cicatrización de heridas y desarrollo embrionario. La expresión de VEGF en tejido fibroso y médula ósea estaría afectada in vitro e in vivo por la tensión tisular de oxígeno. En el trabajo observaron por inmunohistoquímica que a las 12 semanas existió más hueso laminar que en el otro grupo a las 6 semanas. Esquema: 20 individuos, en cuatro grupos, dos controles con normobaría realizando mediciones a las 6 semanas, y dos experimentales con OHB 90 minutos, 2,4 ATA por día, secuencia terapéutica 5 días por 2 de descanso durante 30 días. Esta es una línea de investigación centrada en el estudio del factor vascular de crecimiento endotelial, como mediador en la actividad angiogénica durante la fase proliferativa de la cicatrización de las heridas.

Thom (2011) en un trabajo de la Universidad de Pennsylvania encontró que la OHB movilizó células madre de la médula ósea. Utilizó linfocitos como marcador sanguíneo de oxidación. Demostró un aumento en la subpoblación de células progenitoras hematopoyéticas con el marcador CD34 luego de una sesión de OHB 2

ATA, sin modificación del recuento de leucocitos. Se encontró que existiría una relación entre aumento de expresión de NO sintetasa endotelial y la promoción de células progenitoras hematopoyéticas. Esto sería de utilidad en el tratamiento de la anemia aguda en terapia intensiva. La OHB estimularía el citocromo oxidasa, suprimiría la activación de la creatinina quinasa citoplasmática mitocondrial y mantiene la creatinina quinasa citoplasmática alta en el diencéfalo, estabilizaría niveles elevados de AMP en el estadio de pérdida de sangre, prevendría la disminución de presión parcial de oxígeno arterial (PaO₂), de ATP y de creatina fosfato en la corteza sensoriomotora y áreas subcorticales.

Strauss (2012) publicó en la revista de la UHMS un trabajo sobre acción de OHB en músculo esquelético y síndrome compartimental. Observó que el uso de OHB mejora el transporte de oxígeno tisular, mitigando la injuria por reperfusión y la repetición de cirugías reparadoras, mejorando la cicatrización de heridas por aplastamiento.

Bennett et al. (2012) en una revisión sobre oxigenoterapia hiperbárica para la promoción o curación de fracturas y tratamiento de fracturas sin unión, tomaron como referencia la base de datos de *Cochrane*, *Medline* y *Embase*, en total 122 publicaciones, con la finalidad de actualizar la información disponible en estudios aleatorios controlados con criterios de inclusión y exclusión definidos, que comprueben eficacia o beneficio de OHB en tratamiento de cicatrización ósea deficitaria, y fracturas establecidas sin unión o pseudoartrosis entre fragmentos con y sin tratamiento de OHB. Según su trabajo, hasta 2012, no existiría evidencia clínica relevante que soportara o refutara la efectividad de OHB en el manejo de resolución de fracturas. Esto coincidió con las presentaciones en 2014, en el 18vo Congreso Internacional de Medicina Hiperbárica (ICHM) llevado a cabo en la Universidad Católica Argentina. En la revisión publicada por *Wiley & Sons*, Bennett, Stanford y Turner recomendaron la necesidad de mayor evidencia científica, basada en estudios de calidad en el tratamiento de estas lesiones si es que existiera algún efecto positivo, pero no aclararon si debieran realizarse en investigación básica o clínica. De los 122 estudios luego de la selección por metodología y reporte de efecto positivo de OHB, quedaron 11, de los cuales se escogieron como referencia actual, tres estudios clínicos iniciados, uno de Millard sobre fracturas expuestas de tibia y lesiones severas de tejidos blandos, con un reclutamiento estimado de 250 pacientes con fracturas de tibia Gustilo 3, con tratamiento de OHB dentro de las 48 horas de producido el trauma. Los otros dos corresponden a Knobe, uno sobre fracturas intrarticulares de calcáneo y tejidos blandos con una muestra estimada de 160 pacientes, con reducción abierta y fijación interna en fracturas agudas desplazadas intrarticulares de calcáneo con OHB 20 días postoperatorios, 90 minutos por sesión, versus placebo o control. El estudio de Knobe se centra en fracturas de radio distal, procurando una recuperación más rápida y mejor consolidación de los fragmentos. Se planificó una muestra de 100 pacientes adultos con fracturas de radio distal, divididos en dos grupos, uno con tratamiento convencional y otro con 10 sesiones de OHB.

En síntesis, el nivel de evidencia encontrado para las indicaciones de OHB relacionadas a traumatología se ubicaría en la categoría de evidencia B, pocos estudios doble ciego controlados aleatorios, con un estudio

simple y evidencia C, basada solo en consenso de expertos y estudios no controlados. Surge de esta información la necesidad de realizar mayor cantidad de estudios con nivel de evidencia B, y A con dos concordancias (réplicas), estudios aleatorios doble ciego controlados, con adecuada calidad metodológica.

Según el consenso de la ECHM el nivel de evidencia para las diferentes indicaciones de OHB sería:

1-“B” intoxicación por CO; síndrome compartimental (isquemias periféricas traumáticas agudas); prevención de osteorradionecrosis mandibular; radionecrosis de tejidos blandos y pie diabético.

2-“C” enfermedad por descompresión; embolia gaseosa; infecciones anaerobias; colgajos e injertos; osteoradionecrosis en otros huesos; sordera súbita; osteomielitis refractaria crónica; quemaduras de segundo grado (> 20 %); isquemias oftalmológicas.

3-“D” necrosis de cuello femoral; infarto agudo de miocardio; mediastinitis; otitis externa maligna; embolia arterial; anemia falciforme. Estudios sin control, sin consenso de expertos.

4-“E” parálisis facial; cistitis intersticial; tinnitus; retinitis pigmentosa. Sin evidencia de acción benéfica, sesgo metodológico o interpretativo sin ninguna conclusión positiva.

5-“F” evidencia que contraindica el uso de OHB en esclerosis múltiple; insuficiencia fetoplacental y parálisis cerebral. (<http://www.achobel.be>, 2004)

FUNDAMENTACIÓN

3-FUNDAMENTACIÓN

3.1- Oxigenoterapia Hiperbárica (OHB). Elementos reactantes biológicos gaseosos hiperbáricos (O₂ y aire).

El oxígeno (O₂) es un elemento químico gaseoso de número atómico 8, peso atómico 15.9994, punto de ebullición -183° C y de fusión -218° C, densidad de 1,14 g/cm³. Se condensa a -182,95 C y se congela a -218,79 C. Es incoloro, inodoro e insípido dependiendo de la presión y temperatura.

En condiciones normales de presión y temperatura, dos átomos del elemento se enlazan para formar el dióxígeno, un gas diatómico incoloro, inodoro e insípido con fórmula O₂.

Es de gran interés por ser el elemento esencial en los procesos de respiración de la mayor parte de las células vivas y en los procesos de combustión. Es uno de los elementos más abundantes en la corteza terrestre.

Un humano adulto en reposo respira de 1,8 a 2,4 gramos de oxígeno por minuto.

La concentración de oxígeno en el cuerpo de un ser vivo se mide como presión parcial, normalmente disminuye en su trayecto por los sistemas: respiratorio, arterial y venoso.

Esta sustancia comprende una importante parte de la atmósfera y resulta necesaria para sostener la vida terrestre. **(Southwood, 2003)**

El oxígeno elemental O₂ empezó a acumularse en la atmósfera aproximadamente hace 2500 millones de años, después de la aparición de cianobacterias procariontas, microorganismos capaces de realizar fotosíntesis oxigénica. Las cianobacterias cambiaron el ciclo biogeoquímico de la Tierra y su atmósfera.

El oxígeno diatómico constituye aproximadamente el 20,8 % del volumen de la atmósfera terrestre.

La Tierra es una excepción entre los planetas del Sistema Solar por la alta concentración de oxígeno gaseoso en su atmósfera. **(Buchel et al., 1965)**

El oxígeno gaseoso no combinado suele existir en forma de moléculas diatómicas, O₂, pero también existe en forma triatómica, O₃, llamada ozono.

El oxígeno elemental se produce por cianobacterias, algas y plantas, su actual concentración en la atmósfera es requerida para la respiración celular de las formas complejas de vida. Los organismos aerobios mediante la respiración utilizan el oxígeno para convertir los nutrientes en energía (ATP). **(Curtis, 2008)**

Se considera que más del 60 % del peso humano y mamífero es agua, 63 % es intracelular y 37 % extracelular. El agua extracelular tiene la siguiente distribución: 27 % líquido intercelular, 7 % plasma, y 3% líquido transcelular. Para comprender la baromedicina se deben considerar y estudiar los efectos de la presión en los fluidos.

3.2 Fundamentos de la Oxigenoterapia Hiperbárica

La OHB puede explicarse por los principios de la mecánica de los fluidos y las leyes de la termodinámica. El estudio de la materia en las fases gaseosa y líquida en base a cambios de volumen, presión y temperatura. **(Mott, 2006)** Al nivel del mar la presión atmosférica es equivalente a 1 (una) atmósfera y la presión hidrostática es de 0 (cero) atmósfera, sumadas dan la unidad de medida utilizada en medicina hiperbárica: Atmósfera Absoluta (ATA). Cada 10 metros bajo el nivel del mar existe 1 (una) atmósfera hidrostática a la cual hay que sumarle la presión atmosférica. A 10 metros de profundidad existen 2 (dos) ATA, 1 (una) “atmósfera hidrostática” sumada a una “atmósfera atmosférica”. A 20 metros de profundidad se tendrían 3 ATA, a 30 metros 4 ATA, y así sucesivamente. Esto explica el protocolo y la dosis terapéutica del oxígeno hiperbárico aplicado en diferentes patologías nombradas.

Estado gaseoso de la materia

Sistema material gaseoso macroscópico: homogeneidad, baja densidad, ocupación de todo el volumen del recipiente que los contiene, forma soluciones por difusión. *Sistema material gaseoso microscópico*: moléculas muy separadas entre sí, animadas en perpetuo movimiento dentro del volumen ocupado, posee choques intermoleculares y hacia el recipiente que lo contiene. **(Montiel, 2006)** La ecuación de la hidrostática, fue demostrada por el experimento de Torricelli (1643) quien con la columna de mercurio en Florencia, logró medir por primera vez la presión atmosférica, equivalente a 760 mm de columna de mercurio.

Ley Barométrica

En una atmósfera isoterma la presión varía con la altura, según expresa la fórmula barométrica de Halley. **(Maury, 2012)**

La fuerza por unidad de área que ejerce un fluido (aire, oxígeno) disminuye con la altura. Existe una variación de la presión atmosférica respecto a la altura, a mayor altura menor presión y viceversa.

Existen cuatro variables o magnitudes que definen el estado gaseoso para su estudio: temperatura (T), presión (P), volumen (V) y masa (m). La ley de los gases ideales perfectos define el comportamiento de los gases existentes en la naturaleza, dependen de las magnitudes densidad, temperatura y presión. **(Figura 2)**

Los gases que cumplen con exactitud las leyes físicas de Boyle-Mariotte, Charles y Gay-Lussac se denominan gases perfectos o ideales. **(Atkins & Jones, 2012)**

Ley de Boyle-Mariotte

A temperatura constante, el volumen de un gas es inversamente proporcional a su presión.

Ley de Charles

A presión constante el volumen de un gas es directamente proporcional a su temperatura absoluta.

Ley de Gay-Lussac

A volumen constante la presión de un gas es directamente proporcional a la temperatura absoluta.

Ley del gas ideal

El producto de la presión por el volumen, dividido por la temperatura absoluta, en el estado inicial, es igual al producto de la presión por el volumen, dividido por la temperatura absoluta, en el estado final, siempre que la masa del gas sea constante.

Ley de Dalton

La presión (P) total de una mezcla de gases es igual a la suma de las presiones parciales (Pa) de cada uno de los componentes. **(Brown et al., 2004)**

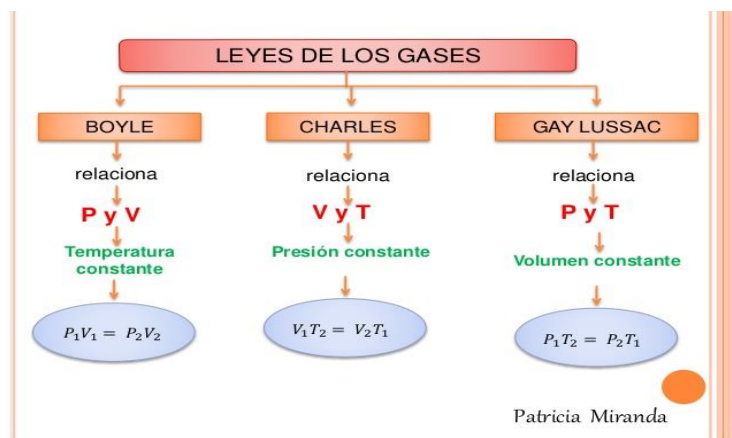


Figura 2. Leyes constitutivas de la “Ley del gas ideal” **(Miranda, 2016)**

Ley de Henry

A temperatura constante, la cantidad de gas disuelto en un líquido es directamente proporcional a la presión parcial que ejerce el gas sobre el líquido. **(Atkins & Jones, 2012)**

Principio de Arquímedes

Todo cuerpo sumergido total o parcialmente en un líquido sufre un empuje de abajo hacia arriba igual al peso del volumen de líquido desalojado. **(Calinger, 1999)**

Ley de Fick

La magnitud de la difusión es proporcional al gradiente de presiones parciales de los gases o de las concentraciones de los líquidos.

Ecuación de Poiseuille

El flujo de un líquido que pasa a través de un tubo depende del gradiente de presión entre ambos extremos. **(Pfitzner, 1976)**

La oxigenoterapia hiperbárica utiliza aire, oxígeno o combinación de oxígeno y aire en diferentes ciclos.

Al respirar aire comprimido, la sangre que pasa a través de los pulmones está expuesta a una presión parcial de nitrógeno y oxígeno, proporcional a la presión del aire respirado, Estos gases logran circular en solución de acuerdo a la ley de Dalton y Henry. El exceso de oxígeno es consumido por los tejidos, pero el nitrógeno se almacena gradualmente hasta saturar los tejidos a la presión correspondiente. Dos son los factores que

determinan la cantidad de nitrógeno en solución, la profundidad o grado de presión y el tiempo de permanencia en ella. **(Mauvesin & Espinosa, 2011)** Este proceso de saturación es reversible y normalmente durante el ascenso o la descompresión, los tejidos se desaturan del nitrógeno absorbido, siguiendo el proceso inverso, eliminándose el gas por vía pulmonar. Cuando la velocidad de ascenso es lenta y permite que el nitrógeno en exceso sea transportado desde los tejidos por la sangre, y alcance luego los pulmones, no se observan manifestaciones de enfermedad. Pero si la descompresión es demasiado rápida, la sangre y los tejidos que se encuentran sobresaturados con nitrógeno, quedan bruscamente con una presión parcial interna del gas, muy superior a la presión parcial en la atmósfera. En estas condiciones, el nitrógeno tiende a abandonar la sangre y los tejidos en forma de burbujas y provoca bloqueos locales o generales en la circulación. Se ha sostenido que las burbujas de nitrógeno cuando alcanzan el tamaño de un eritrocito pueden bloquear la circulación capilar afectando aún más la desaturación de los tejidos. Swindle en 1935 fijó la atención sobre un fenómeno fisiológico que acompaña la descompresión, la isoaglutinación de los eritrocitos, que produce dificultades mecánicas en la circulación. **(Swindle, 1943)** Cuando una burbuja de gas inerte se ha desarrollado es importante removerla tan rápido como sea posible o disminuir su tamaño. Esto se logra recomprimiendo, con el incremento de la difusión del gas inerte aumenta el gradiente desde la burbuja hacia la sangre y los tejidos. El uso de OHB soluciona el problema y disminuye los síntomas clínicos y las posibles secuelas. **(Mauvesin & Espinosa, 2011)**

Respiración celular

Se compone de una serie de procesos bioquímicos donde compuestos orgánicos son transformados por oxidación en sustancias inorgánicas. De esta manera la célula obtiene la energía necesaria para mantener sus funciones. La glucosa y los ácidos grasos son los compuestos más energéticos para las funciones celulares, las proteínas se degradan cuando ya se han consumido las reservas de los dos compuestos anteriores.

Las mitocondrias son las organelas donde se lleva a cabo la respiración celular aeróbica en las células eucariotas. Luego del ciclo de Krebs y la glucólisis, el catabolismo prosigue hacia la fosforilación oxidativa. En la oxidación mitocondrial, el sistema bioquímico antioxidante o anti especies reactivas de oxígeno (ERO) posee en primera línea: enzimas catalasas, glutatión peroxidasa, superoxidodismutasa, glutatión intracelular (regulador homeostático del estado oxido-reducción), NADPH y NADH. La segunda línea antiERO la constituyen las vitaminas E, C, A, B, K y P.

En cambio en la oxidación microsomal se generan ERO: anión superóxido, peróxido de hidrógeno y radical hidroxilo. **(De Robertis et al., 2011)** La respiración celular es anaerobia cuando los electrones y protones liberados son aceptados por otras sustancias como nitrato, amoníaco, sulfato o dióxido de carbono. Aquí el oxidante no es el oxígeno del aire como en la respiración aerobia. Se trata de otro mecanismo de obtención de energía (ATP) de las moléculas orgánicas. En condiciones anaerobias las células eucariotas prefieren utilizar el oxígeno si se encuentra disponible. **(Blanco, 2007)** El oxígeno hiperbárico podría incrementar las enzimas antioxidantes en tejidos nervioso y muscular esquelético y liso por el incremento de los niveles de

glutación, reduce la peroxidación lipídica y previene la activación de neutrófilos en respuesta al daño endotelial, evitando la injuria por isquemia reperfusión. **(Tjarnstrom et al., 1999)**

Fisiología de la respiración

El propósito de la respiración es proveer oxígeno a los tejidos y eliminar dióxido de carbono. La ventilación pulmonar consiste en el movimiento de entrada y salida de aire entre la atmósfera y los alveolos pulmonares. El proceso de la respiración puede dividirse en dos etapas funcionales principales: inspiración y espiración. Los pulmones se dilatan y contraen por movimiento ascendente y descendente del diafragma.

En una respiración distendida se produce un volumen de ventilación pulmonar de aproximadamente 500 ml, si la persona realiza una inspiración forzada el volumen se puede elevar a 3000 ml, esto da como diferencia con la espiración forzada el volumen de reserva espiratoria (1100 ml).

La frecuencia respiratoria es 12-13 veces por minuto en condiciones normales, de esta manera se produce una difusión de oxígeno y dióxido de carbono entre los alveolos y la sangre, que transporta estos gases hacia las células, y viceversa. El pulmón es una estructura elástica que colapsaría como un globo, soltando todo su aire a través de la tráquea, si no existieran fuerzas que lo mantienen distendido. La presión pleural es levemente negativa. La presión pleural normal al comienzo de la inspiración es, aproximadamente, de 5 cm de agua, que es el grado de succión precisa para mantener los pulmones abiertos en su posición de reposo. Luego, durante la inspiración normal, la expansión de la caja torácica crea una presión aún más negativa, del orden de ca. 7.5 cm de agua. **(Guyton & Hall, 2016)**

En el cuerpo humano existen 300×10^6 alvéolos que se encargan de difundir gases hasta una capacidad de 80-100 m². Las presiones en todas las secciones del árbol respiratorio son exactamente iguales a la presión atmosférica, que es considerada de 0 cm de agua. Para lograr el flujo de aire durante la inspiración, la presión en los alveolos debe caer a un valor inferior al de la presión atmosférica.

Durante la espiración, suceden los cambios opuestos: la presión alveolar aumenta hasta aproximadamente 1 cm de agua, y ello fuerza a salir de los pulmones medio litro de aire inspirado durante los 2 a 3 segundos que dura la espiración. La presión de N₂ en la atmósfera es de 597 mmHg, no ingresa en el alvéolo y el capilar. La presión de O₂ atmosférico en el aire es 159 mmHg, en el alveolo es de 104 mmHg, en el capilar es de 40mmHg en condiciones basales. La presión de CO₂ en la atmósfera es de 3mmHg, en el alveolo es de 40 mmHg y en el capilar es de 45 mmHg. Las presiones parciales (Pa) de cada uno de los gases da como resultado la presión atmosférica total de 760 mmHg. Por la *ley de Fick*, la diferencia de presiones de O₂ entre alveolo y capilar hace que pase O₂ al capilar hacia el extremo arterial, de allí a las venas pulmonares. La eliminación de CO₂ depende de la siguiente diferencia de presiones: en el capilar 45 mmHg, en el alvéolo 40 mmHg, así el CO₂ va a difundir por la membrana hematogaseosa al alvéolo y de este a la atmósfera. La regulación o control se realiza por mecanismos como el flujo sanguíneo, metabolismo, centros nerviosos y endócrinos. Ante un aumento del flujo sanguíneo se produce aumento de PaO₂ y una disminución de PaCO₂. **(Guyton & Hall, 2016)**

Circulación sistémica, pulmonar y endotelio

El corazón es un órgano tetracameral, la circulación sanguínea es doble y completa recorre dos ciclos, tomando como punto de partida el corazón.

Circulación mayor, circulación sistémica o general. El recorrido de la sangre comienza en el ventrículo izquierdo del corazón, cargada de oxígeno, y se extiende por la arteria aorta y sus ramas arteriales hasta el sistema capilar, donde se forman las venas que contienen sangre pobre en oxígeno. Desembocan en una de las dos venas cavas (superior e inferior) que drenan en la aurícula derecha del corazón.

Circulación menor, circulación pulmonar o central. La sangre pobre en oxígeno parte desde el ventrículo derecho del corazón por la arteria pulmonar que se bifurca en sendos troncos para cada uno de ambos pulmones. En los capilares alveolares pulmonares la sangre se oxigena a través de un proceso conocido como hematosis y se reconduce por las cuatro venas pulmonares que drenan la sangre rica en oxígeno, en la aurícula izquierda del corazón. La sangre aunque parte del corazón y regresa a éste lo hace a cavidades distintas. El circuito se cierra cuando la sangre pasa de la aurícula izquierda al ventrículo izquierdo.

Endotelio.

La pared vascular tiene como componente estructural común, en todo el aparato circulatorio, un revestimiento interno liso de una capa de células endoteliales. Es epitelio simple que se encuentra tapizando el interior de los vasos sanguíneos. Los capilares se componen exclusivamente por esta capa de células endoteliales, mientras que los demás vasos tienen zonas de tejido conectivo y músculo liso rodeando el endotelio. **(Houssay et al., 1952)** En general se definen tres zonas análogas: la túnica interna, la túnica media y la túnica externa o adventicia. El aparato circulatorio se divide en macrocirculatorio y microcirculatorio. El macrocirculatorio está constituido el por corazón y grandes vasos. El microcirculatorio por arteriolas, capilares y vénulas. Ambos regulan el flujo sanguíneo en el organismo. El sistema microvascular realiza el intercambio de oxígeno, dióxido de carbono, agua, sales, sustancias nutritivas y metabolitos, más del 99 % de los vasos pertenecen al sistema microvascular. En la microcirculación la mayor parte del intercambio de sustancias se produce en la pared capilar y en las vénulas poscapilares. La nutrición de las células se realiza por difusión a través del escaso líquido que las rodea, denominado espacio intersticial o líquido tisular. Depende de la permeabilidad de los capilares. A ellos llegan moléculas e iones del plasma pero no proteínas plasmáticas. La presión hidrostática del agua y solutos tiene tendencia a llevar líquido hacia el exterior y la presión coloidosmótica u oncótica de las proteínas plasmáticas hará que el agua ingrese en los vasos capilares. Existe una diferencia de presiones, en el extremo capilar arterial la presión hidrostática es mayor, en el extremo venoso la presión coloidosmótica es mayor. En los capilares arteriales existen macrófagos estacionarios que representan uno de los factores más importantes de defensa frente a infecciones, por fagocitosis de restos de actividad antiinfecciosa en hígado, bazo y médula ósea. Las vénulas tienen mayor participación en los procesos inflamatorios.

Bozler clasifica el músculo liso en dos grupos, los vasculares que reciben inervación simpática y parasimpática; y los viscerales carentes de inervación, tienen actividad automática, comportamiento como sindicio. Automatismo: corazón, intestino. **(Bozler, 1930)** En la mayoría de los músculos lisos solo unas fibras están inervadas por nervios excitadores e inhibidores, las demás reciben el estímulo en forma indirecta por mediadores químicos como la simpatina o acetilcolina. Sobre la musculatura lisa actúan fármacos simpaticotrópicos, parasimpaticotrópicos y musculotrópicos. El músculo liso consume menos oxígeno que el estriado, pero el O₂ es fundamental para mantener el tono. El músculo se relaja en una atmósfera de nitrógeno, al readmitir oxígeno el tono se recupera. En la anaerobiosis hay glucólisis y ácido láctico, al retornar a la aerobiosis existe un aumento en el consumo de oxígeno (pago de la deuda de O₂), resíntesis de glucógeno, reducción de ácido láctico. **(Houssay et al., 1952)** El óxido nítrico (NO), un potente vasodilatador en el endotelio. Mantiene el tono vascular dilatado en la proporción exacta para conservar la presión arterial en valores normales y permitir la perfusión tisular. El endotelio, además de la acción antiagregante plaquetaria relacionada con el efecto del NO, produce prostaciclina antiagregante, y una acción fibrinolítica relacionada con la síntesis y secreción del activador del plasminógeno tisular. El endotelio normalmente proporciona una superficie no trombogénica, el sulfato de heparán actúa como un cofactor para la activación de la antitrombina, una proteasa que inactiva varios factores en la cascada de coagulación. Interviene en la formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis). Actúa en vasoconstricción y vasodilatación, controlando de esta manera la presión arterial. En la disfunción endotelial existe aumento de especies reactivas del oxígeno (ERO) que podrían antagonizar con la producción de óxido nítrico. El NO actúa como un neurotransmisor o neuromodulador en células neuronales o no neuronales. Es un gas inorgánico, incoloro, soluble en agua y lípidos, penetra fácilmente las membranas celulares y entra en reacciones con otras sustancias. Es rápidamente neutralizado in vivo por la hemoglobina o el anión superóxido. Por su alta capacidad de difusión, entra en todas las estructuras de las células. Es sintetizado por la NOSintetasa, encontrada en los vasos endoteliales, en neuronas y polimorfonucleares (macrófagos, neutrófilos). La vía metabólica de NO es protectora respecto a la toxicidad de las ERO. La mitocondria es la fuente importante de especies reactivas de oxígeno y también tiene la capacidad de generar NO. **(Brunton et al., 2019)** Denominado inicialmente como factor de relajación derivado del endotelio EDRF. Es una sustancia dilatadora por excelencia, activa adhesión de las plaquetas y leucocitos, la respuesta inmune, maneja diferentes funciones en el tracto gastrointestinal, respiratorio y genitourinario, contractibilidad miocárdica y apoptosis celular. El NO regula la circulación sanguínea local en diferentes órganos, induce broncodilatación relajación adaptativa del estómago, intestino y vejiga.

Es un neuromodulador del sistema nervioso central, estimula la liberación de glutamato, facilita la transmisión de los impulsos nerviosos en las sinapsis. Todavía no existe evidencia certera, pero en condiciones de oxigenación hiperbárica debería aumentar la producción de NO y vasodilatación. Aparentemente se da en presiones más altas que las terapéuticas. En dosis terapéuticas de OHB existe un

efecto llamado Robin Hood, que consiste en ausencia de vasoconstricción en áreas isquémicas. En realidad sería una vasoconstricción periférica en tejido sano para un mayor rendimiento y aporte hacia el tejido patológico o pobre donde hay vasodilatación. Otro posible efecto de la OHB sobre el endotelio, tal vez menor, pero que es útil mencionar es el reflejo de inmersión mamífero, que produce vasoconstricción periférica por activación del simpático y bradicardia. **(Lundgren & Ferrigno, 1985)**

Regulación del tono endotelial

a) Humoral

La acetilcolina sola produce acción vasoconstrictora. La adrenalina, noradrenalina, angiotensina, vasopresina, prostanoïdes derivados del ácido araquidónico son vasoconstrictores.

La acetilcolina sumado al NO tienen un efecto directo de aumento de la vasodilatación. Acetilcolina más Factor endotelial o Factores derivados del endotelio tienen acción vasodilatadora. El Factor hiperpolarizante endotelial, las prostaciclina, la bradicinina son vasodilatadores.

Endotelina puede actuar como vasoconstrictor o vasodilatador.

b) Miógena

El aumento de fosfato contrae músculo liso, los canales iónicos se abren por estiramiento de membrana, mayormente de capilares.

c) Metabólica

Mediada por adenosina, equilibrio ácido-base, dióxido de carbono, potasio, hipoxia.

Eje Hipotálamo-Sistema Nervioso Autónomo (SNA)-Sistema Inmune (SI)

La interacción del eje Hipotálamo-SNA-SI serviría para explicar el mecanismo de acción de la OHB, su efecto en el medio interno y específicamente en el hueso. El hipotálamo endócrino, junto al tálamo forma el diencefalo (sistema límbico). La hipófisis podría considerarse un órgano endócrino efector del Hipotálamo, conectada por el infundíbulo, se encuentra bajo el hipotálamo en la silla turca, posee una parte anterior (adenohipófisis) y una posterior (neurohipófisis). Almacena y secreta hormonas y factores hipotálamicos inhibidores o estimulantes séricos de otras glándulas (tiroides, paratiroides y suprarrenales). **(Jara Albarrán, 2011)** El tercer factor interviniente es el Sistema Inmune. El estímulo o inducción de OHB que llega al cerebro conduce a la activación de vías de comunicación centrales hacia la periferia. Las hormonas y transmisores liberados por las vías efectoras de comunicación (SNA-Hipófisis-Adrenal) se unen a los receptores expresados en las células del sistema inmune (SI), leucocitos, generando una respuesta en su función. El sistema nervioso y endócrino regulan al sistema inmune bidireccionalmente. Las células inmunes activadas producen citoquinas, hormonas y factores de crecimiento que afectan la actividad neural. Los órganos linfoides primarios y secundarios están inervados por fibras nerviosas noradrenérgicas postganglionares y neuropéptidos. Las células linfoides expresan adrenorreceptores para muchos neurotransmisores. En el aspecto conductual, el condicionamiento clásico de Pavlov puede aumentar o deprimir la respuesta inmune. Un ejemplo de la conexión existente entre sistemas reguladores del medio

interno es el del estrés. Existe copiosa evidencia que asocia al estrés con susceptibilidad a enfermedades infecciosas. Las respuestas neuroendocrinas a OHB podrían inducirse por mediadores liberados por células inmunes activadas. Existe evidencia que el SNA regula las respuestas inmunes directamente a través de contactos celulares con células del sistema inmune, células del estroma y células accesorias. Los linfocitos poseen receptores específicos para una variedad de neuropéptidos (sustancia P, somatostatina, péptido intestinal vasoactivo inmunoreactivo) y catecolaminas. Esto se ha demostrado mediante perfiles farmacológicos y estudios de unión de ligandos. Los agonistas para adrenoceptores β pueden inhibir una serie de reacciones inmunes celulares que incluyen proliferación de macrófagos y linfocitos, actividad de células natural killers (NK), producción de citoquinas por macrófagos (mediada por adrenoceptores α) y la expresión de receptores para interleucina-2 en linfocitos como respuesta a mitógenos.

Por el contrario la actividad humoral puede inducirse por acción de catecolaminas, la secreción de IgM específica de antígeno se incrementa por la activación de los adrenoceptores β_2 y la latencia de la respuesta máxima de anticuerpos se disminuye mediante la activación de los adrenoceptores α . La adhesión celular de los linfocitos a las células endoteliales disminuye por agonistas de adrenoceptores β_2 . **(Garza & Carr, 1997)** En síntesis el simpático suprime la respuesta inmune celular y potencia la respuesta inmune humoral. El parasimpático tendría un efecto opuesto, suprime la respuesta inmune humoral y potencia la respuesta inmune celular. Esto ha sido confirmado en la tesis por los resultados obtenidos ($>$ leucocitos, $<$ linfocitos). Un indicio más a favor de la acción parasimpaticomimética de OHB.

Se ha demostrado que el sistema inmune también tiene la capacidad de modular al sistema neuroendocrino. **(Downing & Kendall, 1996)**

Los leucocitos pueden producir sustancias biológicamente activas: IL-1 α y β , IL-2, IL-6, IL-8, interferón-gamma, eicosanoides, factor activador de plaquetas, aminas (histamina, serotonina), péptidos (sustancia P, bradiquinina, angiotensina II, polipéptidos tímicos) y enzimas (fosfolipasa A2). Todas estas moléculas pueden ser liberadas a la circulación y potencialmente pueden modular la vía Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal (HHA) y al SNA. **(Payan et al. 1987)**

Por otro lado las citoquinas que pueden modular la vía HHA y el SNA serían IL-1, IL-2, IL-6 y TNF- α (proinflamatorias). OHB induciría síntesis de citoquinas antiinflamatorias. Se han demostrado receptores de citosinas en el cerebro, hipotálamo, hipocampo eminencia media, el tercer ventrículo y en la hipófisis.

Tienen peso molecular 17-26 kDa, no atraviesan la barrera hematoencefálica. **(Caballero Hernández et al., 2001)**

Otro mecanismo de impacto en el cerebro involucra acciones de los prostanoides, las citoquinas circulantes actúan en el endotelio estimulando la producción de citoquinas por el SNC, mediante activación de funciones prostanoides. **(Dunn & Wang, 1995)**

La producción hipotalámica de prostaglandinas se incrementa después de la administración de IL-1 β , IL-6 y TNF- α o endotoxina. Las prostaglandinas pueden transferir señales inflamatorias periféricas a las neuronas

hipotalámicas, lo cual puede inducir liberación de citoquinas en el cerebro y activación del eje H-H-A y del SNA. **(Buckingham et al., 1996)**

El SNC expresa citoquinas mientras que el sistema inmune produce neuropéptidos.

Otra vía de regulación, en estudio, sería la regulación del eje Hipotálamo-SNA-SI sobre la expresión de factores tróficos proteicos, mediadores celulares denominados factores de crecimiento **(Domouzoglou et al., 2015)**, ante estímulos recibidos por el medio interno (ej.: lesión, tratamiento farmacológico) se encargan de la comunicación intercelular por un mecanismo diferente a hormonas y neurotransmisores.

Los factores de crecimiento (G-CSF, TGF- β , endotelial vascular, derivado de plaquetas y fibroblastos), poseen un mecanismo de señalización intercelular de membrana, que luego de un estímulo externo, activan ligandos de los receptores tirosina quinasa que provocan una cascada interna celular de reacciones enzimáticas que facilita la adaptación de la célula a su entorno, por mediación de mensajeros secundarios.

Por ejemplo el factor estimulante de colonias de granulocitos induce la maduración a neutrófilos de células precursoras localizadas en la médula ósea y endotelio. G-CSF actúa en células neuronales como factor neutrófico y estimula la producción de glóbulos blancos. **(Schneider et al., 2005)**

Acción sistémica de la Oxigenoterapia Hiperbárica. SNA y Endotelio.

El SNA es un sistema eferente, transmite impulsos nerviosos desde el sistema nervioso central (SNC) hasta aparatos y sistemas, es involuntario y responde a señales nerviosas de la médula espinal, tallo cerebral e hipotálamo. El principal centro de mediación y control de las señales es el hipotálamo, el cual manda impulsos a las neuronas eferentes autónomas. Es un mecanismo diferente al del control de la hipófisis.

Las fibras preganglionares del simpático y parasimpático utilizan la acetilcolina como neurotransmisor. Las fibras postganglionares del parasimpático también utilizan acetilcolina como neurotransmisor, en cambio en el simpático la mediación es realizada por catecolaminas (noradrenalina y norepinefrina).

Diversas hormonas y la estimulación nerviosa están involucradas en la síntesis de noradrenalina y norepinefrina por la médula adrenal. Las catecolaminas tienen tejidos blanco y actúan en adrenerreceptores específicos (α y β)

El sistema nervioso simpático tiene su cuerpo de neuronas preganglionares cortas en el encéfalo o médula espinal. Las neuronas postganglionares ubicadas en los ganglios simpáticos poseen un axón postganglionar largo hacia los órganos efectores. El sistema nervioso parasimpático posee también un núcleo cerebroespinal, neuronas preganglionares largas y axón postganglionar corto con sinapsis en el órgano efector diana. La interacción Hipotálamo-SNA-SI se manifiesta en otro ejemplo “somático”: el síndrome general de adaptación **(Selye, 1946)**, conjunto de síntomas físicos y psíquicos que aparecen en situaciones novedosas o de estrés. Los efectos de OHB también pueden comprenderse por medio del estudio de la acción de los fármacos vasodilatadores, colinérgicos y parasimpaticomiméticos. El déficit de oxígeno (hipoxia) es consecuencia de una perfusión inadecuada (isquemia). Los tratamientos de OHB se centran en aumentar la perfusión (oferta de O_2) y reducir los requerimientos (demanda de O_2). La mayor parte de la demanda de O_2

o el mayor requerimiento de energía lo utiliza el músculo en su contracción. De esta manera aumenta la resistencia periférica, aumenta la presión arterial. Los betabloqueantes y los antagonistas del calcio, así como los nitratos, reducen la demanda de O_2 . La hiperoxia normobárica reduce la frecuencia cardíaca en humanos y en animales. En hiperbaria también produce este efecto, considerado parte del aumento del tono parasimpático. Se ha descrito este efecto en el seguimiento de los pacientes durante sesiones de oxigenoterapia hiperbárica. **(Lund et al., 2000)** Una disminución de la frecuencia cardíaca, de 10-15 % es un indicador favorable de la influencia del oxígeno hiperbárico, el aumento del pulso indicaría un signo negativo. Este criterio lo utilizan los especialistas en oxigenoterapia hiperbárica en Rusia para evaluar la coherencia del protocolo de tratamiento en cada paciente individualmente. **(Yefuni, 1986)** Mediante inhibidores de la acetilcolinesterasa con acción central pueden mejorarse de manera temporaria las capacidades cognitivas y enlentecer la progresión de la enfermedad de Alzheimer. Este efecto reportado en la clínica con OHB podría explicar su acción como fármaco parasimpaticomimético. El paradigma de la acción antagonista de OHB serían los fármacos parasimpaticolíticos, sustancias con acción antagonista en los receptores muscarínicos de la acetilcolina (ej. atropina). Inhiben la secreción glandular lagrimal y sudorípara, relajan la musculatura lisa en bronquitis crónica, aceleran la acción cardíaca. Otros efectos: enfermedad de los navegantes (cinetosis); síndrome de adaptación espacial por estimulación repetida de sistema vestibular, mareos, náuseas, vomito, síndrome que guarda similitud con la “intolerancia ortostática” provocada por la microgravedad en el espacio cuando los astronautas cambian la posición corporal bruscamente, el organismo aumenta el ritmo cardíaco y la presión arterial para mantener más sangre regresando al corazón (recep. β_1), y así evitar el desmayo. Por otro lado también tendrían efecto opuesto a la OHB los fármacos anticolinérgicos, bloqueantes de los efectos muscarínicos de la acetilcolina, pero no de los nicotínicos. La acción de sustancias simpaticomiméticas y parasimpaticomiméticas sobre los receptores de membrana expresan una respuesta celular que podría relacionarse con la acción de la OHB. En el SNA existen receptores adrenérgicos (α y β), y receptores colinérgicos (muscarínicos y nicotínicos)

Las catecolaminas liberadas (20 %) por las glándulas suprarrenales al torrente sanguíneo **(Caballero Hernández et al., 2001)**, en el músculo liso vascular tienen un efecto de vasoconstricción por acción en los receptores α (alfa) simpaticomiméticos. Por otro lado el efecto de vasodilatación depende de antagonistas α_1 adrenérgicos. La acción de las catecolaminas en beta receptores incrementa las funciones cardíacas. Intervienen en el metabolismo sobre los receptores β_3 , β_1 y β_2 incrementando el catabolismo de glucógeno y la lipólisis en el hígado y músculo esquelético. Los antagonistas de los β (beta) adrenérgicos bloquean la acción de la adrenalina y la noradrenalina en los beta receptores. Los β bloqueantes protegen el corazón de los efectos de la estimulación simpática sobre el consumo de Oxígeno. Reducen taquicardia, hipertensión y la liberación de renina mediada por receptores β_1 en el riñón.

3.3-Gases Medicinales. Farmacodinamia y farmacocinética de la OHB. Normas de Seguridad.

La oxigenoterapia hiperbárica implica el uso de hiperoxia hiperbárica con fines terapéuticos.

La dosis de oxígeno bajo condiciones hiperbáricas actúa como un fármaco que depende de la presión (PO_2), tiempo, metabolismo tisular y saturación de cada compartimiento.

La actividad de un fármaco se produce en áreas especializadas o específicas de las células en receptores o enzimas, existen sitios inespecíficos como las membranas celulares, formando un complejo fármaco-receptor, en un acoplamiento tridimensional o cerradura. La apertura de la cerradura define el inicio de la actividad de la sustancia.

La dosis se refiere a la cantidad de fármaco que producirá una respuesta biológica particular. La potencia y cinética de un fármaco se determina por la dosis. **(Ciancio & Bourgault, 1990)**

Descripción y propiedades de los Gases Medicinales

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica, colabora en la protección de la salud humana, controlando la calidad de productos manufacturados que pudieran afectarla.

Resolución (MS) N°1130/00 gases medicinales regula fabricación, comercialización, importación.

Gas medicinal: Todo producto constituido por uno o más componentes gaseosos, destinado a entrar en contacto directo con el organismo humano, de concentración y tenor de impurezas conocidos y acotados de acuerdo a especificaciones. Actuando principalmente por medios farmacológicos, inmunológicos, o metabólicos, a los fines de prevenir, diagnosticar, tratar, aliviar o curar enfermedades o dolencias.

Usos del gas medicinal

Terapia de inhalación; anestesia; diagnóstico "in vivo"; conservación-transporte de órganos, tejidos, células.

Gases medicinales Oxígeno gaseoso medicinal, Oxígeno líquido medicinal, Óxido Nitroso medicinal, Aire medicinal, Dióxido de Carbono medicinal, Nitrógeno medicinal, Helio líquido, Mezclas de gases.

Exigencias Generales: Envases

Forma Gaseosa: en cilindros de acero sin costura según norma IRAM 2529 a presión de 150 bar en tiempo no menor a 30 min o a 200 bar en 40 min.

Forma Líquida: en recipientes cilíndricos del tipo criogénico que son los termos estáticos y termos móviles.

Rotulado del rotulo del envase de los gases medicinales deberá contar con los siguientes datos cruz griega color verde que identifica a los gases medicinales. Nombre genérico del gas que contiene. Número de Certificado otorgado por la autoridad sanitaria.

Composición. Especificaciones técnicas (contenido y presión)

Identificación de la empresa titular y del fabricante. Número de lote.

Nombre del Medicamento

Oxígeno Medicinal Gas, gas medicinal comprimido, 99.5 %, en botellas.

Oxígeno (O_2) gas $\geq 99,5$ % comprimido a una presión de 200 bar (15 °C).

Forma Farmacéutica

Gas para inhalación.

Gas medicinal comprimido. Gas incoloro e inodoro. **(Elgadban, 2017)**

Datos Clínicos

Indicaciones terapéuticas. Tratamiento de las hipoxias de etiología diversa que precisan una oxigenoterapia normobárica o hiperbárica. Alimentación de los respiradores en anestesia, reanimación. Vector de los medicamentos para inhalación administrados mediante nebulizador.

Propiedades farmacodinámicas

Grupo farmacoterapéutico: Gases Medicinales.

La fracción de Oxígeno del aire ambiente es de aproximadamente el 21 %.

El Oxígeno es un elemento indispensable para el organismo, interviene en el metabolismo y en el catabolismo celular y permite la producción de energía en forma de ATP.

La variación de la presión parcial de Oxígeno de la sangre (PaO_2) repercute sobre el sistema cardiovascular, el sistema respiratorio, el metabolismo celular y el sistema nervioso central.

La respiración de O_2 a una $Pa \geq 1,4$ atmósferas (oxigenoterapia hiperbárica) tiene por objeto aumentar la cantidad de Oxígeno disuelto en la sangre arterial, nutriendo directamente las células.

Propiedades farmacocinéticas

Absorción, distribución, metabolismo y excreción.

El Oxígeno administrado por inhalación se absorbe mediante intercambio alveolocapilar, a razón de 250 ml de aire por minuto en un individuo en reposo.

Se encuentra disuelto en el plasma y es transportado por los hematíes en forma de oxihemoglobina.

Liberado a nivel tisular por la oxihemoglobina se utiliza a continuación a nivel de la cadena respiratoria mitocondrial para la síntesis de ATP. Tras reacciones catalizadas por enzimas, vuelve a encontrarse en forma de CO_2 y H_2O . **(West, 2005)**

Fracción inspirada

Cantidad de oxígeno administrado expresado en porcentaje (eg. 100 % de O_2) o en presión parcial del agente (PaO_2).

Ejemplo: O_2 100 % x 2 ATA (760 mmHg x 2)/100= 1520 mmHg.

Fracción alveolar: el O_2 llega al alveolo y pasa a la sangre (captación) quedando una concentración del agente inhalatorio en el alveolo.

Captación alveolar paso de O_2 a la sangre arterial por coeficiente de solubilidad, más soluble menos saturación, iguala la PaO_2 en sangre arterial y alveolo.

A mayor gradiente de presión de O_2 del alvéolo y arterial se produce mayor pasaje arterial.

El aumento del gasto cardíaco da como resultado mayor flujo sanguíneo pulmonar, más captación de O_2 .

La acción del O₂ está en relación directa con la PaO₂ cerebral (SNC-SNA-Hipotálamo), ésta se aproxima a la presión parcial arterial en equilibrio que equivale a la alveolar.

El efecto se mantiene con una adecuada PaO₂ cerebral con dosis suficiente de mantenimiento.

Eliminación: redistribución de O₂ en diferentes compartimientos, luego del metabolismo mitocondrial en células principalmente hepáticas (también osteocitos, cél. musculares, neuronas) se elimina como CO₂ en la exhalación y agua que pasa a la sangre que es filtrada por los riñones y eliminada por medio de la orina.

(Bordow et al., 2003)

Posología y forma de administración

La posología depende del estado clínico del paciente. La dosis de oxígeno debe ajustarse de acuerdo con los requisitos individuales de cada paciente y teniendo en cuenta el riesgo de intoxicación por oxígeno.

La oxigenoterapia tiene como objetivo, mantener una PaO₂ > 60 mmHg (i.d. 7,96 kPa) o una saturación de oxígeno en la sangre arterial ≥ 90 %, ajustando la fracción de oxígeno en el gas inspirado (FiO₂).

Se deberá evaluar la terapia con oxígeno de forma continua y medir el efecto del tratamiento a través del valor PaO₂ o de la saturación de oxígeno arterial (SpO₂). Esquema diagnóstico:

- a) $SpO_2 \geq 95\%$ = Normal.
- b) $SpO_2 < 95\%$ = Patológico.
- c) $SpO_2 < 92-90\%$ = Insuficiencia respiratoria.

Si el oxígeno se administra diluido en otro gas, su concentración mínima en el aire inspirado debe ser del 21 %, es decir la fracción inspirada (FiO₂) debe ser del 21 %, pudiendo llegar hasta una concentración del 100 %.

Oxigenoterapia Normobárica

Ventilación espontánea

Paciente con insuficiencia respiratoria crónica: el oxígeno debe administrarse a un flujo bajo de entre 0,5 y 2 l/ min, variable en función de los resultados obtenidos en la gasometría.

Paciente con insuficiencia respiratoria aguda: el oxígeno debe administrarse a un flujo de 0,5 a 15 litros/minuto, variable en función de los resultados obtenidos en la gasometría.

Ventilación asistida

La concentración de oxígeno (FiO₂) mínima es 21 %, pudiendo llegar hasta el 100 %. **(Bordow et al., 2003)**

Oxigenoterapia Hiperbárica (OHB)

La duración de las sesiones en una cámara hiperbárica a una presión de 2 a 3 ATA (2,026 a 3,039 bar) es variable entre 90 y 120 minutos. Estas sesiones pueden repetirse 2 y 4 veces al día en función de las indicaciones y del estado clínico del paciente.

La definición de normoxia es la fracción del oxígeno inspirado entre 15-21 %, que permite mantener el metabolismo aeróbico y la homeostasis del organismo. Fuera de estos límites serán:

Anaerobiosis (menos de 0,01 % de O₂), hipoxia (menos de 15 % de O₂), oxígeno normobárico en concentraciones moderadamente aumentadas en el aire inspirado (22-44 % de O₂), hiperoxia (45-100 % de O₂) y oxígeno hiperbárico (OHB), tensión de O₂ 100 % 1,4 ATA. **(Subbotina, 2006)**

Cuando un paciente respira oxígeno puro en un medio hiperbárico, se obtiene un aumento proporcional de la PaO₂ y en los tejidos (PtO₂). La PaO₂ a 3 ATA puede sobrepasar los 2000 mmHg. La hemoglobina alcanza su estado de saturación al 100 % de oxígeno normobárico y a medida que incrementa la presión de oxígeno inspirado, el sobrante de oxígeno permanece en el plasma. La cantidad del oxígeno diluido en plasma en condiciones normales es de 0.3 ml/100 ml. **(Sheffield, 1988)** A 3 ATA con una PaO₂ superior a 2.000 mmHg, el plasma transporta 6 ml de oxígeno en cada 100 ml, es decir una cantidad de oxígeno disuelto 20 veces mayor que en las condiciones normales, que equivale a la diferencia arterio-venosa de volumen de oxígeno en sangre en condiciones normales.

Esta oxigenación plasmática, accesible y eficaz, aporta un complemento energético adecuado en territorios comprometidos o hipóxicos. Boerema logró con este mecanismo mantener con vida un modelo animal en el interior de una cámara hiperbárica, sin aporte circulatorio, con tasas de hemoglobina de 0,5 %. **(Boerema, 1960)**

Oxígeno en Anestesiología

Una buena anestesia tiene como objetivo el equilibrio hemodinámica por adecuada perfusión, previniendo isquemia de órganos sensibles, miocardio, encéfalo, riñones. El O₂ es parte de la técnica de anestesia general durante las diferentes fases:

Inducción: luego de realizada se preoxigenación con O₂ 100 % con máscara facial.

Fase inicial de flujo alto: requiere una concentración inspirada de O₂ no menor al 30 %. **(Foldes, 1958)**

Fase de reducción de flujo: concentraciones de O₂ entre 40-50 o 60 %.

Fase de mantenimiento: necesita consumo de O₂ muy bajo.

Fase de recuperación: flujo de O₂ muy alto, O₂ 100%.

El flujo metabólico es la administración de O₂ que el paciente consume en sangre, inicialmente alto, decrece con saturación de la sangre y tejidos.

Se deben tener en cuenta tres conceptos:

Solubilidad del agente inhalatorio (isoflurano, sevoflurano, desflurano, halotano), cuanto menor sea la solubilidad, mejor.

La fracción de O₂ es el porcentaje de O₂ que se administra al paciente en relación a la mezcla total de gases administrados, variable en cada fase.

El flujo de gas (O₂, anestésico, óxido nitroso, aire comprimido) es el volumen de gas en litros administrado por unidad de tiempo, minutos. **(Jaffe & Samuels, 2006)**

Forma de administración

Oxigenoterapia Normobárica

Consiste en hacer respirar al paciente una mezcla gaseosa más rica en oxígeno que el aire ambiente, es decir, con una concentración de oxígeno (FiO₂) superior al 21 %, a una presión parcial de oxígeno comprendida entre 0,21 y 1 atmósfera (i.d. 0,213 y 1,013 bar).

En los pacientes que no presentan problemas de ventilación: el oxígeno puede administrarse por ventilación espontánea con ayuda de unas gafas nasales, de una sonda nasofaríngea o de una mascarilla, que deberán adaptarse al flujo de oxígeno.

En los pacientes que presentan problemas de ventilación, o anestesiados, el oxígeno se administra mediante dispositivos especiales como tubo endotraqueal, mascarilla laríngea, a través de una traqueotomía con ventilación asistida, u otros.

Oxigenoterapia Hiperbárica

Consiste en hacer respirar al paciente oxígeno a una presión parcial superior a 1 atmósfera (1,013 bar), $\geq 1,4$ ATA. El oxígeno se administra en recipiente presurizado o en cámara.

Las Cámaras Hiperbáricas son recintos herméticos capaces de soportar presiones mayores a la atmosférica, destinados a tratamiento, entrenamiento o aptitud, certificados para ocupación humana. Pueden estar contruidos de metal, acrílico y hormigón. **(Kindwall, 2008)**

Se clasifican en:

Multiplaza-Clase A para uso humano. **(Apéndice C)**

Monoplaza-Clase B para uso humano.

Experimental-Clase C para uso de animales.

Para el desarrollo de la tesis doctoral se estudiaron en detalle las características, propiedades y método de uso de las Cámaras Hiperbáricas Monoplaza Clase B y Clase C. **(Apéndice C)**

Embarazo y lactancia

La experiencia documentada con el uso de oxigenoterapia (hiperbárica) en mujeres embarazadas es limitada. No se comprobó cierre del ductus o fibroplasia retrolental. Actualmente no se considera el embarazo como una contraindicación. En las pruebas sobre animales, se ha observado toxicidad en la reproducción después de administrar oxígeno a presión y concentración alta. Se desconoce hasta qué punto estos resultados se pueden aplicar a los humanos. Si fuera necesario, es posible administrar oxígeno normobárico en bajas concentraciones durante el embarazo de manera segura. Altas concentraciones de oxígeno y de oxígeno hiperbárico están autorizadas en caso de indicaciones debidamente justificadas.

El oxígeno medicinal puede ser utilizado durante la lactancia sin riesgo para el lactante.

Efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar maquinaria

No se han realizado estudios sobre los efectos en la capacidad para conducir, utilizar maquinaria o realizar actividad deportiva. No se recomienda realizar ningún tipo de actividad física dentro de las 24 horas posteriores a la aplicación de tratamiento OHB.

Efectos adversos, contraindicaciones y complicaciones de OHB

Los efectos tóxicos de altas concentraciones de oxígeno son debidos tanto a las altas concentraciones de oxígeno como a la duración de la exposición. Los síntomas no aparecen generalmente hasta después de 6-12 horas. Síntomas precoces de la toxicidad por oxígeno son el dolor pleurítico y la tos seca.

Trastornos del oído y del laberinto: Sensación de presión en el oído medio, ruptura de la membrana timpánica. **(Desola et al., 1998)**

Trastornos oculares: Fibroplasia retrolental en neonatos, especialmente prematuros, expuestos a altas concentraciones de oxígeno: exposición a $FiO_2 >40\%$, PaO_2 superior a 80 mmHg (10,64 kPa) o exposición de forma prolongada (más de 10 días a una $FiO_2 >30\%$). Aparece entre 3 y 6 semanas después del tratamiento, pudiendo experimentar una regresión o provocar un desprendimiento de retina, o incluso una ceguera permanente.

Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos: Síndrome de distress respiratorio.

Fibrosis pulmonar con tratamientos con oxígeno a largo plazo.

Lesiones pulmonares con concentraciones de oxígeno (FiO_2) $> 80\%$.

Reducción de la capacidad vital en algún grado después de tratamiento con O_2 100 % en períodos prolongados (ca. 18 h).

Desarrollo de shunts intrapulmonares por inhalación de oxígeno puro.

Dolor en senos nasales y neumotórax por barotraumatismo.

Atelectasias, pleuritis.

Trastornos del sistema nervioso: Ansiedad, confusión, pérdida de consciencia, epilepsia inespecífica.

En la insuficiencia respiratoria crónica en particular, existe la posibilidad de aparición de apnea por depresión respiratoria relacionada con la supresión súbita del factor estimulante hipóxico por el brusco aumento de la presión parcial de oxígeno a nivel de los quimiorreceptores carotídeos y aórticos.

Crisis convulsivas con concentraciones de oxígeno del 100 % (FiO_2) durante más de 6 horas, en particular con administración hiperbárica.

En buceo el oxígeno 100 % a partir de los 6 m de profundidad puede producir convulsiones. En cambio, en una cámara hiperbárica es posible aplicar tratamientos a 3 ATA y oxígeno 100 % sin riesgo de observar convulsiones.

Las cámaras Clase B monoplaza requieren el uso de ventilación con aire y un monitoreo detallado para prevenir convulsiones. Las cámaras Clase A multiplaza poseen medidas de seguridad que facilitan el tratamiento en estas situaciones. **(Kindwall, 2008)**

En recién nacidos y bebés prematuros, la administración de oxígeno puede causar displasia broncopulmonar, hemorragias subependimales e intraventriculares y enterocolitis necrotizante.

Los síntomas del SNC pueden ocurrir cuando se administra a más de 2 ATA y durante más de 2 h. A mayores presiones los síntomas pueden aparecer más precozmente, “efecto Paul Bert”. **(Bert, 1878)**

Náuseas y mareos. Pérdida temporal de la visión.

Trastornos cardíacos: Disminución de la frecuencia cardíaca y del gasto cardíaco en algún grado cuando se administra oxígeno al 100 %, en períodos cortos (< 6 h) en condiciones normobáricas. Pueden existir efectos negativos en el corazón con tratamientos de oxígeno a largo plazo.

Trastornos de la sangre y del sistema linfático: Anemia hemolítica con tratamientos con oxígeno a largo plazo.

Trastornos renales y urinarios: Efectos negativos en los riñones con tratamientos con oxígeno a largo plazo.

Trastornos hepatobiliares: Efectos negativos en el hígado con tratamientos con oxígeno a largo plazo.

Trastornos musculoesqueléticos y del tejido conjuntivo: Dolor muscular reversible y contracción muscular.

Crisis de claustrofobia en pacientes sometidos a oxigenoterapia hiperbárica en cámaras.

Trastornos que dependen de la Presión, PaO₂ y el confinamiento. **(Pisarello, 1988)**

Presencia de cavidades pulmonares, cavernas, abscesos, quistes aéreos, posoperatorio con falla de reexpansión, neumotorax no drenado, antecedentes de neumotórax espontáneo, obstrucción respiratoria severa al flujo aéreo (asma agudo, broncoenfisema), neumonía bilateral extendida, traqueobronquitis.

Antecedentes de epilepsia, no se considera contraindicación.

Marcapasos actualmente todos son compatibles. Se pueden utilizar hasta los 40000 pies de altura y 4 ATA de profundidad.

Hipertermia predispone a la toxicidad por O₂, en caso de urgencia administrar anticonvulsivos.

Contraindicaciones

Oxigenoterapia Normobárica

No existen contraindicaciones absolutas a la oxigenoterapia normobárica cuando su uso es necesario.

Oxigenoterapia Hiperbárica

Bradiarritmia no tratada (el O₂ aumenta el tono vagal), contraindica uso de OHB.

Claustrofobia, por confinamiento en un espacio cerrado.

Entre las contraindicaciones absolutas o estrictas para la oxigenoterapia hiperbárica se encuentran dos situaciones, una, los neumotórax no tratados, no drenados. La otra se presenta en pacientes que realizaron cirugía ótica (implante coclear).

Complicaciones

Barotrauma

Lesión o trauma cuyo agente causal es la presión, por ejemplo cuando existen condiciones como: cavidad con contenido gaseoso, paredes rígidas o semirrígidas, obturación por cerumen, cambios en presión ambiental, la cavidad mantiene la presión de superficie, no compensa a la presión de tratamiento.

Los barotraumas se clasifican en aquellos de oído externo, de oído medio, de oído interno o vértigo alternobárico, de senos paranasales, pulmonar. **(Francis, 2003)**

Embolia gaseosa

Obstrucción de la irrigación sanguínea ocasionada por burbujas de aire en un vaso sanguíneo o el corazón. Provocada por traumatismos, cirugías o síndrome por descompresión en buzos. **(Eckenhoff & Hughes, 1984)**

Barotrauma Dental

Por diferencia de presiones entre el exterior y el interior de la pieza dentaria. En el interior tiene la presión de la superficie 1 ATA y en el exterior 2-2,8 ATA puede causar explosión o implosión, puede suceder en coronas filtradas, endodoncias sin terminar con provisorios.

Toxicidad Pulmonar por Oxígeno

La aplicación de concentraciones altas de oxígeno suplementario, a menudo necesario para revertir estados agudos de hipoxemia, puede producir alteraciones fisiológicas y celulares, y daño pulmones.

La patogénesis de este daño pulmonar parece ser producida por la aparición de una gran cantidad de radicales libres de oxígeno en el seno de una hiperoxia: anión superóxido, peróxido de hidrógeno, y radical hidroxilo afectarían las defensas celulares enzimáticas: superoxidodismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y no enzimáticas: tocoferol acetato.

Los síntomas clínicos de hiperoxia son traqueobronquitis aguda, atelectasias de absorción, daño alveolar agudo Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo (SDRA), displasia broncopulmonar.

En los sujetos normales respirar oxígeno 100% genera en las primeras seis horas traqueítis, acompañado de una reducción del transporte mucociliar de la tráquea.

Después de 6 a 24 h de exposición se reduce la capacidad vital relacionada con la aparición de atelectasias de reabsorción. Si se prolonga la exposición más de 24 h se produce una reducción en la distensibilidad pulmonar, cambio en la presión alveoloarterial y disminución en la capacidad de difusión.

Las Fases del daño endotelial implican radicales libres y alteración del metabolismo celular.

Con PaO_2 entre 0,4 y 1,7 ATA se produce un síndrome hiperóxico pulmonar, efecto Lorraine Smith Crónico.

La exposición a $\text{PaO}_2 > 0,5$ ATA producen irritación traqueal y bronquial.

La toxicidad del oxígeno tiene lugar cuando los pulmones toman una PaO_2 mayor de lo normal por un determinado tiempo, “efecto Lorrain Smith”. **(Lorrain Smith, 1899)**

El O_2 gaseoso puede ser tóxico a presiones parciales elevadas, produciendo convulsiones y otros problemas de salud. La toxicidad generalmente comienza a aparecer con $\text{PaO}_2 > 45$ kPa o 2,5 veces la PaO_2 a nivel del mar (21 kPa; igual a alrededor del 50 % de la composición del oxígeno a presión normal). Esto no resulta un problema excepto para pacientes con ventilación mecánica, debido a que el gas administrado a través de las máscaras de oxígeno se compone típicamente de solo 30 %-50 % de O_2 por volumen (sobre 30 kPa a presión normal), aunque estas cifras varían sensiblemente dependiendo del tipo de máscara.

La respiración de O_2 puro en aplicaciones espaciales, como trajes aeroespaciales o naves del Programa Apolo, no causa daños debido a las bajas presiones totales utilizadas. En el caso de los trajes, la presión

parcial del O₂ en el gas respiratorio se encuentra, en general, sobre 30 kPa (1,4 veces lo normal), debe ser entre 1,2 y 1,4, no mayor, y la presión parcial resultante en la sangre arterial del astronauta solo está marginalmente por encima de lo normal al nivel del mar.

La toxicidad del oxígeno para los pulmones y el sistema nervioso central también puede darse en el buceo profundo y en el buceo profesional. La respiración prolongada de una mezcla de aire con una presión parcial de O₂ mayor a 60 kPa puede llegar a producir una fibrosis pulmonar permanente.

La exposición a presiones parciales superiores a 160 kPa (~1,6 atmósferas) podría causar convulsiones, normalmente fatales para los buzos.

La toxicidad aguda puede producirse al respirar una mezcla de aire con más de un 21 % de O₂ a 60 o más metros de profundidad; lo mismo puede ocurrir al respirar un 100 % de O₂ a solo 6 metros.

Los trajes espaciales modernos, que envuelven el cuerpo de sus ocupantes con aire presurizado, usan oxígeno casi puro a una presión de alrededor de un tercio de la común, resultando en una PaO₂ normal. Este intercambio de oxígeno de alta concentración para una baja presión es necesario para mantener la flexibilidad de los trajes espaciales. **(Barratt & Pool, 2008)**

Los buceadores y los tripulantes de submarinos también usan suministro de oxígeno, pero la mayoría usan una presión normal o una mezcla de oxígeno y aire. **(Loveman, 2014)**

El uso de O₂ puro o casi puro en buceo a presiones por encima del nivel del mar se limita generalmente a los descansos, descompresiones y tratamientos de emergencia a relativamente poca profundidad (~6 metros o menos). El buceo a mayor profundidad requiere una mezcla significativa de O₂ con otros gases, como nitrógeno o helio, para ayudar a prevenir el efecto de Paul Bert (toxicidad del oxígeno). **(Edmonds, 2005)**

Los escaladores de montaña y los que viajan en aviones no presurizados a veces tienen un suplemento de O₂. Los pasajeros de aviones comerciales (presurizados) tienen un suministro de O₂ para emergencias, puesto automáticamente a su disposición en caso de despresurización de la cabina. La descompresión repentina no solo puede provocar aeroembolia y acumulación de nitrógeno en los tejidos sino también microtrombos vasculares. **(Philip et al., 1971)**

Toxicidad en el Sistema Nervioso Central (SNC)

Trabajos publicados por Paul Bert son referencia para el estudio de los efectos fisiopatológicos del oxígeno en diferentes presiones atmosféricas. Los pilotos de globos aerostáticos ya estaban utilizando este gas como una mezcla respirable en altura. Precisamente fue Bert quien descubrió las consecuencias de respirar oxígeno en exceso, por lo que se conoce como efecto Paul Bert a las convulsiones de tipo epilépticas que provocan una sobredosis de oxígeno en el sistema nervioso central (SNC). **(Bert, 1878)**

Se cree que el oxígeno provoca cambios metabólicos en las células del SNC que se traducen en manifestaciones neurológicas como alteraciones visuales y auditivas, convulsiones epilépticas, náuseas o irritabilidad. Los síntomas aparecen sin previo aviso.

Las consecuencias de un cuadro de este tipo pueden ser graves por ahogamiento, sobrepresión pulmonar o enfermedad por descompresión. **(Richardson et al., 2008)**

La forma de prevenirlo es apartar al individuo de la fuente de hiperoxia en la fase previa y que no llegue a la fase de convulsiones, de ahí la importancia de reconocer los síntomas.

Tras un episodio de este tipo no quedan secuelas. Si existirá cansancio, dolores musculares y quizá dolor de cabeza

Lorrain-Smith demostró en 1899 que el oxígeno puro, a presión atmosférica alta, provoca lesiones pulmonares y acumulaciones de fluidos que dificultan la respiración, si se administraba durante 24 a 48 horas consecutivas. Se conoce como efecto Lorrain-Smith. **(Desola et al., 1998)**

Interacción medicamentosa

La toxicidad del oxígeno se puede ver aumentada por: corticoesteroides, citostáticos (bleomicina), y simpaticomiméticos.

Utilización de rayos X, o en casos de hipertiroidismo o carencia de vitaminas C y E o déficit de glutatión.

Existen informes de interacción con amiodarona. La recaída de daños pulmonares inducida por bleomicina o actinomicina puede resultar fatal.

El oxígeno también puede agravar las depresiones respiratorias inducidas por el alcohol.

Entre los medicamentos de los que se sabe que producen efectos adversos se encuentran: adriamicina, menadión, promazina, clorpromazina, thioridazina y cloroquina.

Los efectos serán particularmente pronunciados en los tejidos con elevados niveles de oxígeno, especialmente los pulmones.

Doxorrubisina (adriamicina) 87 % de mortalidad en ratas, por cardiotoxicidad. Se recomienda suspender tres a seis días antes de OHB.

Bleomicina antibiótico aislado del streptomyces verticillius.

La bleomicina se inactiva por la bleomicina hidrolasa, la hidrolasa tiene poca concentración en pulmones y piel. En neumonitis: fibrosis pulmonar que aparece con aplicación simultánea o excepcionalmente retardada.

Disulfiran (antabuse NR), sensibilizante del alcohol, inhibe la oxidación del acetaldehído, toxicidad pulmonar y SNC.

Acetato de mafenide (sulfomilon NR) es una droga antibacteriana, inhibidor de la anhidrasa carbónica, produce vasodilatación por aumento de CO₂, compite con la acción vasoconstrictora del O₂ hiperbárico.

(Subbotina, 2006)

Precauciones especiales para el manejo y el almacenamiento

Los botellones deben almacenarse en un local aireado o ventilado, protegido de las inclemencias del tiempo, limpio, sin materiales inflamables, reservado al almacenamiento de gases de uso médico y que pueda cerrarse con llave.

Deben protegerse del riesgo de golpes o de caídas, así como de las fuentes de calor o de ignición, de las temperaturas iguales o superiores a 50 °C. Los botellones de capacidad superior a 5 litros deben mantenerse en posición vertical con las válvulas cerradas.

Período de validez. Cinco años.

Naturaleza y contenido del recipiente

El Oxígeno Gaseoso Medicinal se presenta en botellas de gas bajo presión de acero o de aluminio. Las válvulas de las botellas de gas son de latón, de acero o de aluminio. El cuerpo de la botella es de color blanco y la ojiva es de color blanco o verde. **(Elgadban, 2017)**

Normas de seguridad. Construcción. Uso terapéutico e industrial de cámaras hiperbáricas

En Argentina rigen las siguientes normas en formación académica e indicaciones:

Formación académica de Posgrado: SAMHAS

Fabricación, importación y comercialización de Gases Medicinales: Resolución (MS) N° 1130/00 ANMAT

Normas de construcción: *American Society of Mechanical Engineers* (ASME).

Normas para uso humano: *Pressure Vessel for Human Occupancy* (PVHO).

Normas prevención de incendio: *Nacional Fire Protection Association* (NFPA). **(Campos, 2019)**

Normas para recipientes o equipos sometidos a presión de uso terapéutico: Compresores de aire, autoclaves, esterilizadores, calderas, cámaras hiperbáricas. Productos Médicos ANMAT. Disposición N° 3801/2004

Unifican registro de productores y productos, creado por la disposición SSRyC N° 4801/87 y el Registro de Productores y productos creado por disposición N° 607/93, en un único registro de productores y productos de tecnología médica. Disposición N° 2319/2002 Reglamento Técnico Relativo a la Autorización de Funcionamiento de Empresa Fabricante y/o Importadora de Productos Médicos. Disposición N° 2318/2002. Reglamento Técnico Mercosur de Registro de Productos Médicos.

Para asegurar la calidad del servicio se debe priorizar una cultura de la seguridad cuyas premisas son: reportar, tener los principios y fundamentos de la especialidad, aprendizaje continuo, cumplir normas, trabajo en equipo eficiente, anticipar lo inesperado. **(Arrien, 2012)**

3.4-Investigación aplicada: OHB en cirugía bucomaxilofacial, traumatología, y osteología.

Descripción topográfica del objeto de estudio.

El aparato masticatorio es parte del aparato digestivo, representa un sistema de órganos con la función de tratamiento mecánico y químico de los alimentos.

Representa un sistema de acción y reciprocidad de órganos que participan en la digestión, respiración, formación de la voz y del habla.

Los maxilares, la articulación temporomandibular y los dientes conforman los órganos de tejido duro, estructuras pasivas o estáticas del sistema dentobucomaxilofacial.

En el tercio inferior de la región facial, la mandíbula se articula a la base de cráneo por la articulación temporomandibular (ATM). La ATM junto a la oclusión dentaria determina la posición músculo-ligamentosa de la mandíbula respecto a la base de cráneo.

Los músculos comprenden las estructuras activas o dinámicas del sistema **(Kurliandski, 1980)**

Desarrollo embrionario mandibular

En el humano, el embrión se desarrolla por un mecanismo denominado viviparismo placentario, después de la fecundación, en una estructura especializada dentro del vientre de la hembra, en donde recibe el alimento y el oxígeno necesarios para formar sus órganos, crecer y madurar hasta el momento del nacimiento.

El embrión se constituye por la movilización de células en una estructura de tres capas: ectodermo, mesodermo y endodermo.

Existen en total seis arcos branquiales o viscerales, el quinto y sexto son rudimentarios. La porción proximal del primer arco denominado mandibular se transforma en el proceso maxilar.

Los arcos viscerales primero (mandibular) y segundo (hioideo) experimentan nuevos cambios de desarrollo. A medida que el corazón retrocede en dirección caudal, ambos arcos se alargan y fusionan con los opuestos en la línea media.

La mandíbula se desarrolla como hueso par a partir de varios puntos de osificación que aparecen en la mitad del segundo mes de la vida fetal. Al principio el esbozo de la mandíbula tiene el aspecto de un canal que envuelve exteriormente la parte distal del cartílago del arco mandibular (cartílago de Meckel). En la mandíbula fetal se distinguen el cuerpo o rama horizontal, y las ramas verticales mandibulares.

El borde superior del cuerpo del hueso es el proceso alveolar, contiene los gérmenes dentales. Para el momento del nacimiento ambas mitades de la mandíbula se unen mediante un cartílago fibroso.

Mecanismos de osificación comparados: mandíbula y huesos largos.

La osificación se produce por diferenciación de células progenitoras o mesenquimáticas en osteoblastos, que sintetizan y secretan matriz orgánica, que luego calcifica.

Los huesos del cráneo se desarrollan en el feto reemplazando el cartílago por osificación endocondral o por osificación intramembranosa en el mesénquima, dentro de una membrana mesenquimática.

Los huesos endocondrales son los de la base del cráneo, etmoides, cornete nasal inferior, cuerpo y alas del esfenoides, occipital.

Los huesos intramembranosos son los parietales, frontales, temporales, apófisis pterigoides del esfenoides, cartílago de la cápsula nasal.

El maxilar inferior es desarrollado a partir osificación mixta: endocondral en el cartílago del arco mandibular condilar, apófisis coronoides, (cartílago de Meckel centro de osificación), cartílagos mentonianos y gónion. Entre ellos se desarrollan los procesos alveolares y el cuerpo de la mandíbula que son de origen intramembranoso.

En la mandíbula y extremidades existe un crecimiento longitudinal mixto (endocondral e intramembranoso) en base a los cartílagos de crecimiento endocondral que cesa al llegar al pico de masa ósea y otro crecimiento intramembranoso derivado del periostio.

La osificación del maxilar inferior es un tipo especial de osificación endoconjuntiva precedida por el cartílago de Meckel que es resorbido conforme avanza la osificación, desempeñando el papel inductor de la misma (osificación yuxtacondral).

En cambio, los huesos planos son precedidos de un esbozo o modelo de membrana conectiva cuyas células pronto se ordenan a lo largo de las fibras colágenas y se transforman en osteoblastos, iniciándose así la osificación intramembranosa típica. Esto ocurre también (durante la osificación primaria) en la zona periférica de la diáfisis de los huesos largos a partir de la capa profunda del pericondrio que envuelve al esbozo cartilaginoso que lo precede. En cuanto se depositan las primeras laminillas óseas, el pericondrio se convierte en periostio y de ellas parten los vasos osificantes que realizarán la osificación endocondral subsiguiente. **(Di Fiore, 2012)**

Crecimiento longitudinal de los huesos largos

Tras la formación de centro primario de osificación embrionario la diáfisis se expande en dirección a la epífisis el espacio medular primitivo formado por la fusión de lagunas de cartílago por osificación endocondral.

La zona en que la diáfisis pasa a ser epífisis se denomina metáfisis y corresponde a la zona de eliminación del cartílago y depósito óseo.

Los huesos largos poseen centros secundarios de osificación endocondral en cada extremo del hueso como en la mandíbula. En el caso de las extremidades estos centros se desarrollan en la zona llamada epífisis.

Crecimiento del espesor de los huesos largos

La diáfisis de los huesos largos crece en diámetro por osificación intramembranosa subperióstica.

El esqueleto formado por tejido óseo maduro (laminar), está formado por unidades más pequeñas, las trabéculas y los sistemas haversianos (trabéculas enrolladas), que se adaptan en forma ideal a las necesidades mecánicas impuestas desde el exterior.

3.5-Traumatología comparada. Clasificación de fracturas en mandíbula y huesos largos.

- a) Por su etiología: espontáneas, por traumatismos comunes, fracturas balísticas.
- b) Por su localización: fracturas del maxilar superior, fracturas mandibulares, fracturas combinadas maxilo-mandibulares.
- c) Por su extensión: parcial, acción del agente traumático limitado a su punto de aplicación. Completa, disyunción intermaxilar (en maxilar superior LeFort) o fractura vertical; fracturas transversales (altas, medianas y bajas) y fracturas asociadas.

Fracturas del Maxilar Inferior

La mandíbula está constituida por dos porciones: la horizontal o cuerpo, y la vertical o rama ascendente. La porción horizontal, dentada e intrabucal, se halla recubierta por la mucosa y los tegumentos, relacionándose con los elementos integrantes de la región glososuprahioidea. La porción vertical, desdentada, incluye el ángulo, la rama ascendente y la articulación. Forma parte de las regiones maseterina y cigomática, encontrándose en contacto por detrás con la glándula parótida y por dentro con la fosa ptérigomaxilar.

Las fracturas de la rama horizontal se abren en la boca o en el exterior, interesando o no las piezas dentarias, que se aprovechan como puntos de apoyo para la colocación de los aparatos de reducción y contención. Las fracturas de la rama ascendente son por lo común cerradas, y plantean serios problemas para su tratamiento integral. El tono muscular, la dirección del trazo y la articulación dentaria provocan la desviación secundaria de los fragmentos, carácter diferencial con los traumatismos del maxilar superior. Arquitectónicamente el cuerpo de la mandíbula se compone de dos porciones: alveolar y basal. A partir de la porción basal o basilar depende la regeneración ósea y la consolidación de la fractura, por su riqueza en endostio, periostio y abundante aporte arterial. El cuerpo mandibular, a nivel de los molares, se encuentra reforzado en sus dos tablas por las líneas oblicuas interna y externa, que aumentan la resistencia a la acción de los traumatismos, junto con otras líneas de refuerzo como la basal, alveolar, coronoidea y condilar.

a) Por su etiología, predisponentes topográficos

Fracturas típicas. Según su amplitud, suelen ser parciales, totales e incompletas.

Considerando el número de trazos, las fracturas del maxilar inferior pueden ser: simples, dobles y conminutas.

Fracturas atípicas. Causadas por traumatismos de gran violencia o por armas de fuego y granadas. Son plurifragmentarias o con pérdida de sustancia. Comprenden las fracturas múltiples, balísticas y asociadas, por patologías o accidentes del trabajo.

b) Clasificación según localización anatómica mandibular (clínica)

b.1 *Fracturas de la rama horizontal*

Las fracturas del cuerpo o rama horizontal mandibular se dividen en dos clases, con o sin piezas dentarias en los fragmentos.

Sinfisiaria o de la línea media, Fracturas laterales, Fracturas a nivel del tercer molar. Fracturas retrodentarias.

1º grupo: fracturas del cuerpo mandibular en los límites del arco dental con piezas dentarias en los fragmentos.

2º grupo: fracturas del cuerpo mandibular con presencia de fragmentos desdentados.

Se desplazan bruscamente hacia arriba y al rotar alrededor del eje adquieren una posición casi horizontal.

3º grupo: fracturas por detrás del arco dental. Las fracturas del tercer grupo se dividen en fracturas de la rama por encima del ángulo de la mandíbula y por arriba de la inserción de los músculos masticatorios.

b.2 Fracturas de la rama ascendente

-ángulo: directas o indirectas asociadas a una fractura del cuerpo o a una del cuello condíleo del lado opuesto

-rama propiamente dicha: en la parte media de la rama. Las adherencias del masetero y pterigoideo interno con el hueso impiden desplazamientos.

-apófisis coronoides: son muy raras y de trazo transversal. Tracción hacia arriba por el temporal, se separa en más de un centímetro de la rama.

b.3 Fracturas del cóndilo

-Subcondileanas bajas. El trazo nace en el fondo de la escotadura sigmoidea, atraviesa la parte inferior del cuello del cóndilo.

-Subcondileanas altas. El cóndilo bascula hacia adelante, arriba y adentro, traccionado por el pterigoideo externo. La rama ascendente es llevada hacia arriba y atrás por la acción de los elevadores con los suprahioides. El maxilar está desviado hacia el lado lesionado y solamente hay oclusión a nivel del tercer molar. Las fracturas bilaterales producen una retropulsión de la mandíbula.

b.4 Fracturas intraarticulares. La trayectoria del golpe, de abajo arriba, incrusta el cuello dentro de la cabeza, que se aplasta y lesiona la articulación (menisco, cápsula, ligamentos). Frecuentemente se diagnostica una fractura del conducto auditivo externo por la otorragia concomitante.

Clasificación biomecánica mandibular de las fracturas de ángulo y cuerpo

En el maxilar inferior la acción de los músculos masticadores (maseteros, temporales y pterigoideos) y depresores (genihioideos, genioglosos, milohioideos y digástricos) determina que los trazos de fractura sean favorables si las acciones musculares los aproximan o desfavorables si tienden a separarlos.

Vertical: Favorable: fractura de la superficie externa atrás y adentro. Desfavorable: Fractura desde atrás adelante y adentro.

Horizontal: Favorable: Fractura hacia abajo y adelante. Desfavorable: Fractura hacia abajo y atrás.

Estadísticamente según su localización las fracturas mandibulares en orden de frecuencia de mayor a menor serían: cuerpo (29 %), cóndilo (26 %), ángulo (25 %), sínfisis (17 %), rama (4 %) y coronoides (1 %), otros estudios han registrado mayor porcentaje en las fracturas de cóndilo.

Fracturas en miembros inferiores humanos y posteriores del modelo experimental

Tibia

La tibia es un hueso largo, situado en la parte interna de la pierna. Se articula hacia arriba con el fémur y hacia abajo con el astrágalo. Describe longitudinalmente una S itálica alargada, se encuentra destinada a soportar la carga del peso y presenta extensas áreas desprovistas de inserciones musculares. La irrigación de la tibia es más precaria en la diáfisis debido a que este sector posee médula ósea adiposa con un precario aporte sanguíneo que trae como consecuencia retardo en la consolidación, esclerosis de lesiones perforantes, pseudoartrosis, e infecciones anaerobias, todas ellas complicaciones frecuentes en las fracturas diafisiarias. Es un hueso tubular. Tiene un cuerpo y dos extremidades, una superior y otra inferior. El cuerpo es triangular,

tiene tres bordes: anterior, externo e interno y tres caras: medial, lateral y posterior. La extremidad superior es ancha, voluminosa. Sus porciones laterales se denominan cóndilo medial y cóndilo lateral. La tibia está formada por dos tuberosidades una externa y otra interna, las dos tuberosidades están separadas hacia delante por una superficie triangular cuyo vértice inferior termina en una eminencia llamada tuberosidad anterior de la tibia. **(Rouvière & Delmas, 1994)** En esta zona la médula ósea es hematopoyética por lo tanto es una región de mayor actividad celular, por este motivo se la eligió como la zona de toma de muestra de las biopsias para histomorfometría ósea. La tibia se forma a partir de cuatro centros de osificación. Tiene extensas áreas desprovistas de inserciones musculares, lo que determina una pobreza vascular; sobre todo en la mitad distal del hueso. **(Cosentino, 1992)** El rasgo de fractura del tercio medio o distal, con frecuencia compromete la arteria nutricia del hueso, agravando aún más el déficit vascular. La metáfisis inferior presenta una vascularización aún más pobre, a ese nivel la arteria nutricia está terminando en su distribución, y a ella no alcanza la vascularización epifisiaria distal. En la cara anterointerna está recubierta sólo por el tegumento cutáneo. El rasgo de fractura oblicuo o helicoidal, con suma frecuencia desgarrar la piel. La acción de los músculos de la pierna es muy poderosa. En caso de fracturas de rasgo oblicuo o helicoidal (inestables), los músculos ejercen una acción contracturante intensa; ello determina que estas fracturas sean de muy difícil reducción y extremadamente inestables. La membrana interósea, fuerte septum fibroso, fija a la tibia y el peroné desde sus extremos superior e inferior, le confiere una fuerte fijación a los fragmentos de fractura, limitándose su desplazamiento axial y lateral. Sobre esta concepción anátomo-funcional se sustenta la seguridad de la estabilidad recíproca entre los fragmentos de fractura entre sí y con el peroné. La firme solidaridad conferida a los extremos óseos por la membrana interósea, cuando queda intacta después de la fractura, es lo que le confiere la mayor confiabilidad al procedimiento terapéutico preconizado por Sarmiento. **(Sarmiento, 1974)** Se considera como fractura de la diáfisis de la tibia, aquella que ocurre entre dos líneas imaginarias: la superior coincidente con el plano diáfiso-metafisiario proximal, y la inferior con el plano diáfiso-metafisiario distal. Las fracturas que ocurren por encima de este límite superior, corresponden a fracturas de la metáfisis superior de la tibia, o de los platillos tibiales; cuando ocurren por debajo del límite inferior, corresponden a fracturas de la metáfisis distal o del pión tibial; más hacia abajo son fracturas epifisiarias (tobillos).

Peroné

El peroné es un hueso largo, delgado, situado en la parte externa de la pierna, se articula por arriba con la tibia y por abajo con la tibia y el astrágalo. Presenta un cuerpo y dos extremidades una superior y otra inferior. **(Jerosch, 2006)**

Clasificación de Fracturas Huesos Largos

Según su localización

Las fracturas diafisiarias son las que ocurren en el segmento proximal, medio o distal de la diáfisis donde predomina el hueso cortical sobre el esponjoso. Importancia en la extrapolación como modelo experimental de fracturas de maxilar inferior.

Las fracturas paraarticulares pueden ser metafisiarias o epifisiarias, en ellas predomina el hueso esponjoso sobre el cortical. Podría tener interés científico como modelo experimental de fracturas de maxilar superior.

Según el trazo de fractura

Oblicuo: cuando se desvía del eje longitudinal.

Transverso: perpendicular al eje del hueso.

Helicoidal (espiral): trazo que circunvala el eje longitudinal.

Longitudinales: paralelo al eje longitudinal del hueso.

Conminutas: con estallido.

Monofocal o multifragmentaria.

Según la comunicación con el exterior

Cerradas: fracturas con integridad de las partes blandas vecinas, musculares, ligamentosas, cutáneas.

Abiertas: fracturas en las que los extremos óseos han penetrado la piel, con lesión variable de los tejidos blandos periféricos. El foco de la fractura entra en contacto con el exterior

Expuestas: fracturas en que los fragmentos óseos salen al exterior dañando el tejido blando. **(Silberman & Varaona, 2010)**

Clasificación alfanumérica de Maurice Muller AO

Clasifica las características morfológicas del trazo, dificultad del tratamiento y el pronóstico en una escala A-B-C, y 1-2-3, donde los huesos largos se dividen en tres segmentos de proximal a distal. Las de tipo A indican fracturas sencillas y de mejor pronóstico, y C las de mayor dificultad y peor pronóstico. Simples. Multifragmentarias en cuña. Multifragmentarias complejas. **(Muller et al., 1991)**

Clasificación de Gustilo-Anderson

Tiene en cuenta el grado de la lesión, daño de los tejidos blandos y el grado de compromiso óseo el presente estudio estaría encuadrado entre las fracturas de tipo I y II con una laceración producto de la incisión mayor a 1 cm. de longitud, lecho de la herida limpio, afectando tejidos blandos incluyendo músculo, piel, sin lesionar estructuras neurovasculares, fractura transversa simple, con mínima conminución, no acompañado de aplastamiento. **(Gustilo et al., 1984)**

El aspecto clínico de una fractura de la pierna se caracteriza por impotencia funcional, deformidad, el miembro puede estar rotado internamente y se debe observar cualquier lesión en la piel a fin de establecer si se trata de fractura abierta o expuesta.

El dolor suele ser intenso al realizar movimientos, existe crepitación ósea, edema, equimosis. El examen semiológico se completa buscando posibles lesiones neurológicas y vasculares como isquemia, trombosis arterial o venosa, hemorragia, hematoma, síndrome compartimental, infecciones. **(Prein et al., 1998)**

Reducción, estabilización y consolidación de fracturas

La estabilización y movilización temprana de las fracturas fue promovida en el mundo por la “Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen” (AO). Los estudios realizados por Muller, Allgower, y

Willenegger promovían por sus resultados la reducción cruenta (abierta) y la osteosíntesis precoz. Los principios que rigen la osteosíntesis son: reducción anatómica de la fractura, fijación estable, preservación de la vascularización del hueso y tejidos blandos, movilización temprana.

El hueso tiene como una de sus funciones el soporte y transmisión de fuerzas o cargas. Estas pueden ser: de compresión, torsión en una cortical y tensión en la otra, y fuerzas de torsión. El hueso cortical es muy resistente a la compresión por lo cual las fracturas resultantes de esa fuerza se producen en zonas donde el hueso esponjoso representa un mayor porcentaje respecto al total (metáfisis, cuerpos vertebrales, calcáneo, maxilar superior). **(Muller et al., 1991)**

Consolidación directa sin callo óseo: mediante estabilización absoluta y la compresión del foco de fractura. La cantidad de callo es mínima o inexistente, no hay reabsorción ósea en el foco de fractura por no haber movimiento, la proliferación de nuevos osteones a partir del del sistema haversiano unirá los extremos de la fractura. En el espacio se forma hueso maduro.

Consolidación indirecta con callo óseo: no existe estabilidad absoluta y compresión. Se produce una osificación endocondral con formación de hueso de granulación entre extremos que progresará a hueso maduro.

Osteosíntesis. Principios comunes interdisciplinarios.

Los principios de la osteosíntesis se basan en 2 pilares formados por el concepto de “carga soportada” (load bearing) y “carga compartida” (load sharing).

En la carga soportada, el objetivo del material de osteosíntesis es soportar todas las fuerzas funcionales, permaneciendo el foco totalmente inmovilizado y permitiendo así la cicatrización mediante osificación primaria.

Esta corriente académica promueve el uso de sistemas de osteosíntesis muy rígidos (tornillos bicorticales), dando lugar a una “fijación rígida”.

En el concepto de carga compartida el material de osteosíntesis comparte con los bordes de la fractura la carga mecánica funcional, existiendo una cantidad de fuerza transmitida a través del foco de fractura, dando lugar a la “fijación funcionalmente estable” o “semirígida”. Esta fijación no es completamente rígida, pero su teoría mantiene que la inmovilización absoluta de los fragmentos óseos y la osificación primaria son innecesarias para la consolidación de la fractura. **(Delgado Martinez, 2009)**

Michelet en 1973 introdujo la idea del tratamiento de las fracturas mandibulares mediante el uso de miniplacas fijadas con tornillos monocorticales, una técnica también utilizada en veterinaria. **(Rudy et al., 1981)**

Champy realizó estudios para validar esta técnica, estableciendo unas “líneas ideales de osteosíntesis” en las cuales se fijan las miniplacas para producir una “fijación estable”. **(Koury & Champy, 1987)**

Se procuró estandarizar procedimientos, conceptos y elementos terapéuticos en investigación básica de trauma. Las propiedades fisicoquímicas y de biocompatibilidad que poseen los materiales utilizados hasta la

actualidad, tanto en extremidades inferiores como en el maxilar inferior permitieron realizar experiencias que aportarían datos válidos extrapolables a disciplinas afines como cirugía bucomaxilofacial, traumatología y osteología. Diversos cursos de epistemología y metodología de la investigación suministraron las herramientas necesarias para llevar a cabo esta empresa. **(Carli, 2008)**

A modo de descripción somera se pueden mencionar recursos utilizados en trauma de maxilar inferior, miembros inferiores humanos y posteriores del modelo animal: miniplacas, placas de compresión (*dynamic compression plating* o DCP), sistemas de tipo *locking* o bloqueados, placas reabsorbibles, placas de reconstrucción AO, fijación o *bloqueo intermaxilar* (BIM), placas 3D y *lag screws*, implante *distractor osteogénico alveolar* (DOA).

Procedimientos interdisciplinarios: reducción de la fractura a su posición anatómica, restaurar la relación normal, fijar la estructura hasta la curación, controlar las posibles complicaciones. Luego de la reducción se observa si la fractura es estable o inestable, abierta o cerrada. **(Gay Escoda & Berini Aytés, 2004)**

Primero se evalúa la clasificación de fractura, datos clínicos como edad, daño de las partes blandas, mecanismo de la fractura, magnitud de la energía, exposición de la fractura, desviaciones de los fragmentos. Todo esto permite configurar el pronóstico y la terapéutica requerida.

3.6- Fisiopatología de la consolidación de fracturas. Isquemias traumáticas agudas (ITA).

Las fracturas óseas curan mediante el proceso biológico denominado consolidación o unión ósea. La reparación del hueso puede considerarse como regeneración tisular por su similitud en microarquitectura y resistencia mecánica, es un concepto más amplio de la cicatrización. Las fracturas de huesos largos se reparan de dos formas diferentes, una por el desarrollo de un callo perióstico y endóstico, en la inmovilización no rígida; y otra por reparación haversiana directa, en la inmovilización rígida sin callo. El proceso de reparación de las fracturas es similar al proceso de cicatrización de cualquier lesión del organismo. El tejido óseo posee características propias de cicatrización que lo diferencian de cualquier otro tejido. En las fracturas, el mecanismo de curación permite la evolución tisular hasta la restitución de las propiedades mecánicas y biológicas del tejido lesionado. **(McKibbin, 1978)**

Consolidación ósea es la restauración de la continuidad del tejido fracturado. La consolidación de las fracturas depende de factores locales, vasculares y mecánicos. La consolidación debe considerarse iniciada en el momento de la producción de la fractura, al liberarse los factores que promueven la consolidación, quimiotácticos responsables de la migración celular, factores mitogénicos y factores inductores de la diferenciación celular a tejido óseo, que forman el grupo de factores de crecimiento. Los callos endóstico y perióstico otorgan estabilización que restablece la continuidad del trazo de fractura entre los fragmentos.

En la década de los sesenta del siglo XX, se produjo un cambio conceptual importante en la consolidación de las fracturas. Se observó que en las osteotomías donde la fijación era lo bastante rígida, se podía conseguir el paso de túneles osteoclásticos de remodelación de un extremo al otro de la osteotomía, seguidos

por un frente de osteoblastos formadores de hueso por aposición directa. A este proceso, por contraposición a la consolidación con formación del callo perióstico (secundaria), se lo denominó consolidación primaria.

El callo perióstico es voluminoso, de rápida formación, depende del periostio, callo externo. El endostio, posee capacidad de formar tejido óseo, origina el denominado callo medular, una metaplasia ósea del tejido de interposición que se forma en el canal medular. Algunos autores reconocen la existencia de un tercer tipo de reparación, el callo cortical, que representa la posibilidad de adaptarse a nuevas situaciones mecánicas por medio de la remodelación; la remodelación osteónica del tejido cortical. El proceso habitual y continuo de remodelación cortical por el que las osteonas son renovadas, se conoce como la remodelación progresiva cortical (creeping substitution). Este tipo de consolidación requiere de tres condiciones: reducción exacta, fijación estable y suficiente aporte vascular. El callo medular o endóstico sólo se diferencia del callo externo en su localización y la cantidad de cartílago que se forma, menor que en el callo perióstico. Su aparición es tardía respecto al callo perióstico y está controlado por factores diferentes.

El esquema de **McKibbin (1978)** define cuatro entidades distintas de la formación del callo óseo en las fracturas de los huesos diafisarios:

Principales:

- 1) Callo puente externo deriva de tejidos blandos y periostio, predominante en inmovilización incompleta, es de formación rápida estimulado por movimientos controlados del foco de fractura, lo inhibe la inmovilización absoluta.
- 2) Callo cortical o unión primaria cortical de hueso laminar compacto maduro entre los fragmentos en inmovilización rígida, lo inhibe la movilidad.

Complementarios:

- 3) Callo reactivo de los extremos fracturarios deriva del periostio, es el más inmediato de afuera hacia adentro, inmediato por despegamiento del periostio, aparece en ambas inmovilizaciones rígidas y no rígidas, es incapaz de puentear un defecto óseo.
- 4) Callo medular o endóstico es lento, es un complemento que refuerza al callo externo o al callo cortical. Se presenta en inmovilización rígida o no rígida.

Así como la inestabilidad aumenta la cantidad de callo perióstico, el callo medular no está afectado por esta. No se forma a través de un estadio previo de fibrocartílago y su función principal es la de rellenar fisuras o grietas (gaps) preparando el terreno para el paso de osteonas. Otra de sus características es que su actividad no es evanescente como la del callo perióstico, sino que puede durar meses hasta que consigue su objetivo, e incluso años. Respecto a los estímulos para su formación se puede decir que precisa de la presencia de ambos extremos fracturarios, pues no se forma en los muñones de amputación. **Chao & Aro (1991)** la clasificación más extensa de los tipos de consolidación, basada en la presencia o no de contacto entre los extremos fracturarios y en el tejido que forma su unión. Defienden la existencia de una unión osteónica y otra no osteónica, dependiendo de la reconstrucción o no de las osteonas en el tejido que actúa de puente de

unión entre las corticales del foco. Ambos procesos definen situaciones diferentes en la consolidación, la reconstrucción o no de la cortical, no son excluyentes, pudiéndose producir la consolidación osteónica después de una unión no osteónica. La manera en que espontáneamente dos extremos fracturarios se unen es mediante el llamado callo perióstico. Se caracteriza por ser el tejido que forma la unión inicialmente fibrosa o fibrocartilago, siendo posteriormente reemplazado por hueso neoformado. **(Tabla 1)**

	Velocidad	Puenteo gaps	Tolerancia movimiento	Rigidez
Callo inicial	4	1	4	4
Callo externo	3	3	3	0
Callo medular	2	4	2	3
Cortical primaria	1	0	0	4

Tabla 1. Clasificación de tipos de consolidación ósea. **(Chao & Aro, 1991)**

Respuesta vascular al trauma

Producida la fractura en un segmento óseo, los vasos sanguíneos que atraviesan dicho hueso en el área de la fractura se seccionan, causando hemorragias y formando un coágulo y un hematoma como consecuencia de la rotura de los vasos de la médula ósea y el periostio.

Debido a la interrupción de la nutrición por difusión, tenemos como resultado una zona de hueso necrosado, cerca del sitio de la fractura. Los macrófagos y granulocitos neutrófilos eliminan el tejido necrosado y los osteoclastos recientemente formados eliminan los fragmentos óseos.

El coágulo se desplaza hacia la cavidad medular o hacia el tejido blando adyacente, donde se elimina por fibrinólisis y fagocitosis, esta situación determina en forma favorable la reparación.

Rhinelandier demostró que las dos terceras partes del aporte sanguíneo al hueso cortical derivan de vasos que atraviesan la cavidad medular, y el endostio y aproximadamente una tercera parte del hueso cortical en la periferia es provisto por vasos desde el periostio. Además de esto, demostró que la circulación eferente desde el hueso se efectúa principalmente a través de las venas periósticas. Poco tiempo después de la fractura de un hueso, los canales vasculares arteriales existentes se abren completamente. Se demostró que la mayoría del aporte sanguíneo que revasculariza el hueso desvitalizado proviene de la circulación medular, y las evidencias indican que la mayor fuente de sangre para unir el callo parece provenir de la cavidad medular. Estos vasos se anastomosan en un estadio posterior con la circulación menor del periostio y contribuyen sustancialmente a la circulación del callo externo. En los casos de unión retardada, parece ser que la circulación perióstica es la principal fuente de sangre para el callo externo. Esto puede muy bien ser la razón de que se haya observado que con frecuencia existe un retardo en la revascularización de la corteza

necrosada en los extremos de la fractura después de un enclavijamiento intramedular, en especial si se siguió un proceso de perforación.

A medida que un callo se forma en un sitio de fractura, el callo externo recibe todo su aporte sanguíneo de los vasos periósticos, y con el tiempo los vasos medulares penetran en el callo unión. **(Rhineland, 1968)**

Toda fractura supone una interrupción de la circulación ósea que lleva a la necrosis aguda y a la hipoxia del hueso y médula ósea. Debido a ello y a circunstancias locales, algunos huesos, como el escafoide, astrágalo, cabeza femoral y humeral, presentan riesgo de necrosis aséptica postraumática. El primer signo de regeneración vascular, o angiogénesis, se observa en el periostio, hecho que se confirma por la demostración de diferentes concentraciones de oxígeno en las regiones del callo. La angiogénesis es la extensión de un sistema vascular preexistente, y no debe ser confundida con la vasculogénesis, o el desarrollo de novo de vasos embrionarios por agregación de fibroblastos. Depende de la estabilidad de los fragmentos óseos y de la presencia de infección o inflamación aséptica. Es esencial para la reparación ósea, pero también se relaciona con la reabsorción de hueso, como ocurre en los aloinjertos y autoinjertos, en los que la velocidad de reabsorción depende de la angiogénesis. Se han identificado al menos 14 factores de crecimiento que estimulan la angiogénesis in vivo. Se cree que el factor que la inicia es el bFGF (FGF2), o factor básico de crecimiento fibroblástico. A partir de él, se inicia una cascada de acontecimientos bioquímicos que amplían su efecto, habiendo sido también relacionado con la formación de hueso. Las células óseas y los condrocitos son, a su vez, capaces de producir factores angiogénicos. Linajes de células osteoblásticas producen in vitro VEGF, o factor de crecimiento de endotelio vascular; la prostaglandina E2 (PGE2), conocida por su capacidad osteogénica, aumenta la secreción de VEGF. El IGF-I, factor de crecimiento insulínico-1, estimula también la secreción de VEGF. **(Rhineland, 1968)**

Consolidación natural de fracturas diafisarias o mandibulares

Cuando la fractura se trata con inmovilización no rígida, por ejemplo con un yeso o una férula, se produce la llamada consolidación natural con callo con las siguientes etapas clasificadas por **Gutierrez Gómez (2008)**:

Fase de lesión

Se define como fractura la solución de continuidad completa o incompleta de tejido óseo.

Fase inflamatoria

Rige su curso el hematoma y los fenómenos propios de la inflamación. La lesión vascular interrumpe el aporte vascular a los osteocitos, se liberan mediadores de la inflamación liberados por plaquetas, vasodilatación y exudado plasmático con edema. Migración a la zona lesionada de leucocitos PMN, macrófagos y linfocitos. El primer resultado directo del trauma es la isquemia por el trauma sobre los vasos sanguíneos. Pasado el primer período, la isquemia inicial se acompaña de edema, síndrome compartimental, hipoxia, y se genera la injuria secundaria que empeora el cuadro, una lesión por reperfusión, que consiste en la interrupción de la circulación con la posterior restauración del flujo sanguíneo, llevando a estasis

microcirculatorio y trombosis. Se liberan radicales libres de oxígeno que continúan la destrucción de tejidos dando como resultado un mayor volumen y extensión de tejido necrótico mucho más allá de la zona de injuria primaria. El tejido necrótico es un medio de cultivo para microorganismos.

Fase de reparación.

Al reducirse la reacción inflamatoria, el tejido necrosado y el exudado plasmático son reabsorbidos, con formación de matriz osteoide por los osteoblastos. Los brotes vasculares periósticos comienzan la reparación. La fosfatasa alcalina ósea (FAO) se eleva, marcando el inicio de la mineralización o calcificación a las 2 o 3 semanas

Fase de callo blando

Consolidación endocondral. Las células indiferenciadas, tejido de granulación, con posterior transformación a tejido fibroso, condroide y osteoide, consiguiendo una unión elástica. El coagulo de fibrina es sustituido por matriz fibrosa de colágeno tipo I y III, proteoglucanos y glucosaminoglucanos. El tejido fibroso se transforma en fibrocartilago, con colágeno tipo II, proteoglucanos específicos y proteínas de unión. Angiogénesis y formación de cartilago. En el periostio hay una movilización y proliferación de fibroblastos. Esta misma movilización se da también en el tejido conectivo vecino.

En la superficie ósea de la cavidad medular, las células proliferantes del endostio avanzan hacia el área de lesión, depositando matriz fibrosa de colágeno. El callo no se origina en la línea de fractura sino a una corta distancia en distal y proximal de la fractura, en el periostio y endostio relativamente no dañados. En pocos días se forma un anillo osteoide alrededor de cada fragmento óseo. Este anillo de callo se agranda, levantando la capa fibrosa del periostio. Mientras el proceso progresa, las células osteogénicas más cercanas a la superficie ósea, van depositando la matriz del colágeno que se calcifica. A medida que las células osteogénicas proliferantes se van alejando de su aporte de oxígeno, se diferencian en condroblastos, antes que en osteoblastos, que a su vez comienzan a formar cartilago. El primer tejido óseo que se forma lo hace en las fuentes de células de estirpe osteoblástica en el periostio y en el endostio, formando unos puentes óseos, el primero externo y el segundo interno. Estudios de la vascularización de callo de fractura muestran el aporte de vasos neoformados que se realiza desde el periostio. El callo óseo externo se va extendiendo hacia el centro de la fractura formando progresivamente un callo de un tejido óseo trabecular de tipo embrionario, mezclado con una variable cantidad de tejido cartilaginoso, lo que constituye el callo primario.

(Gutierrez Gómez, 2008)

Fase de callo duro.

Consolidación intramembranosa a partir de la osificación del callo blando se forma la unión ósea desorganizada, pero capaz de devolver las condiciones mecánicas al hueso. La aposición de tejido óseo sobre la primera capa de tejido óseo trabecular se produce hasta adquirir el aspecto de un tejido óseo compacto denominado callo secundario. Mientras el aporte de oxígeno se restablece, el tejido fibroso del endostio y periostio se calcifica rápidamente, rellenando el sitio de la fractura. El buen aporte sanguíneo

permite la conversión directa de un tejido de tipo fibroso en uno de tipo óseo, sin pasar por la etapa cartilaginosa. El hueso formado de esta manera no es del tipo compacto, sino de naturaleza esponjosa y con trabéculas. Existe un cambio gradual, durante el cual los espacios en el hueso trabecular hacen puentes en el sitio de fractura y se convierten en hueso compacto. La mineralización de la matriz ósea aumenta la concentración de colágeno tipo I, fosfatasa alcalina y proteínas no colágenas. La osteocalcina marcaría la última parte de la mineralización, en esta etapa todavía hueso inmaduro reticular. Esto se da entre las 3 y 5 semanas posteriores a la fractura.

Fase de remodelación.

A las 6 semanas el callo óseo es progresivamente sustituido por hueso maduro o laminar, bien organizado arquitectónicamente. Es un proceso que dura meses, incluso años.

El objetivo de los tratamientos es la consolidación biológica, pero si se ve afectada por inmovilización y mala vascularización puede retrasarse o estar ausente (pseudoartrosis).

El callo formado durante la reparación de una fractura, ya sea interno o externo, es cualitativa y cuantitativamente diferente del hueso original. Desde el punto de vista cualitativo es muy vascularizado, esponjoso y trabeculado, mientras que el hueso original era compacto y relativamente avascular.

Después que el callo está formado en su totalidad, comienza el proceso de remodelación durante el cual, eventualmente, el hueso esponjoso es reemplazado en forma gradual por hueso compacto denso, el excedente se elimina, ya sea interno o externo. **(Gutierrez Gómez, 2008)**

Consolidación de fracturas con inmovilización rígida

Es la fijación rígida de las fracturas mediante osteosíntesis, la unión ósea se consigue directamente entre los fragmentos óseos sin formación de callo óseo externo. Aquí la consolidación se produce en zonas reducidas del foco de fractura, con íntimo contacto (reducción) entre los fragmentos, donde los extremos están perfectamente vascularizados. **(García & Ortega 2005)** La compresión ayudaría a lograr la rigidez absoluta de los fragmentos de la fractura. El aumento de la presión atmosférica en OHB mejoraría las propiedades biomecánicas del hueso y podría activar la remodelación. Si hay una brecha, se verán capilares que penetran, tanto desde el periostio como desde el canal medular, depositando tejido osteoide en los bordes de los fragmentos, uniéndolos de esta manera. Cuando el hueso está bajo compresión, la aposición estrecha de los fragmentos corticales impide la penetración de vasos, tanto desde el endostio como desde el periostio. Al contrario de la inmovilización no rígida, la inmovilización rígida pocas veces da un callo inicial resistente y requiere de la remodelación ósea para devolver las propiedades mecánicas al hueso, generalmente a partir un año después de su implantación.

Consolidación del tejido óseo esponjoso

Las fracturas en hueso esponjoso consolidan de forma diferente a las del hueso cortical. La consolidación es con callo medular con progresión al foco de células indiferenciadas procedentes de la médula ósea intertrabecular que inician una aposición ósea sobre las trabéculas muertas, saltando puentes óseos entre las

trabéculas de ambos fragmentos, siempre que estén próximos. La consolidación ósea del tejido esponjoso es rápida, por su buena vascularización y por el gran caudal de células indiferenciadas que posee la médula ósea, no saltan puentes periósticos entre los fragmentos como ocurre en las fracturas diafisarias, por lo que exige un buen contacto entre las trabéculas de ambos fragmentos, de lo contrario tarda más tiempo en cerrar el espacio con posibilidad de avance de tejido fibroso.

Clasificación de mecanismos de consolidación ósea.

- a) Osteogénesis: Formación de hueso nuevo por los preosteoblastos y osteoblastos que permanecieron vitales, se presenta mejor en fragmentos óseos esponjosos por la revascularización.
- b) Osteoconducción: La curación ósea más lenta y prolongada, es mejor en hueso cortical. Colonización progresiva de vasos sanguíneos y células osteoprogenitoras de la zona adyacente.
- c) Osteoinducción: Es la transformación de las células mesenquimáticas indiferenciadas perivasculares en células osteoformadoras en presencia de sustancias polipeptídicas (BMP o *bone morphogenetic protein*).

(Raspall, 2006)

La curación o consolidación puede presentarse por combinación sincrónica de los tres procesos descriptos.

Factores osteogénicos en consolidación de fracturas

El nuevo tejido óseo se origina en parte de células de estirpe osteoblástica, pero en gran parte de células indiferenciadas. El enfoque terapéutico hace importante determinar las circunstancias que definen la diferenciación de estas células hacia el sentido osteogénico y no fibroso. Se conocen tres tipos de estímulos: eléctricos, químicos y ambientales.

1) Estímulo eléctrico: La deformidad mecánica de un hueso produce potenciales eléctricos. Basset en 1965 comprueba que efectivamente la fuerza de estrés que actúa sobre un hueso origina cargas eléctricas negativas en el lugar donde estas fuerzas son de compresión y positivas donde estas fuerzas son de tracción, comprobando además que la electronegatividad favorece la osteogénesis mientras que la electropositividad favorece la osteoclasia. **(Fukuda & Yasuda, 1957)**

2) Estímulo humoral: Las proteínas morfogenéticas del hueso (BMPs) son capaces de inducir la formación de hueso (en humanos BMP-1 a BMP-7). Son factores de crecimiento que pertenecen a la familia de factores de crecimiento transformantes TGF- β , proteínas capaces de inducir la formación de hueso de nuevo, cartílago y tejido conectivo. **(Urist, 1965)**

3) Estímulo ambiental: Un tejido se modula según el ambiente. Para **McMurray (1942)** y Petersen existen factores en el medio externo para cambiar las características de las células: nutrición, sustrato y condiciones mecánicas del ambiente (compresión). Estudios en cultivos de tejidos han puesto de manifiesto que según el medio ambiente, factores como la oxigenación y las fuerzas mecánicas de tensión e impactación a las que se ve sometida la primera célula fibroblástica dan lugar a la producción de hueso, cartílago y tejido conjuntivo. Con tensión y ambiente rico en oxígeno se produce tejido fibroso; con compresión y ambiente pobre en oxígeno cartílago; con compresión y ambiente rico en oxígeno se produce hueso. La ausencia de tensión, la

presencia de compresión y una buena vascularización, son fundamentales para la formación del callo óseo. **(Pauwels, 2012)**

Bassett propuso una clasificación de tres factores regionales que provocarían el fracaso de la consolidación por defectos de vascularización e inmovilización, o separación de los fragmentos. Estos factores negativos son: localización anatómica, factores dependientes de las características de la lesión, y factores dependientes del tratamiento. Las células involucradas en la reparación ósea se originan en el mesodermo, que luego se diferencia dando el fibroblasto pluripotencial. Demostró que el medio que rodea a estos fibroblastos influye sobre la posterior diferenciación y que las influencias químicas y mecánicas (ejemplo reducción-estabilidad ortopédica, oxígeno y compresión ambiental), podrían afectar el proceso de diferenciación. **(Bassett, 1972)**

3.7-Osteología. Sistema óseo macro-microscópico. Regulación del metabolismo mineral.

Principios generales

El tejido conectivo cumple funciones mecánicas, de transporte, almacenamiento, cicatrización y reparación de tejidos, sistema inmune, linfocitos y anticuerpos. También se presenta en el espacio intersticial formando parte de la piel y mucosas, es conductor de vasos, nervios y conductos excretores glandulares. Contiene fibras de elastina, colágenas, macrófagos, mastocitos, capilares, fibroblastos, osteoblastos. El hueso es tejido conectivo mineralizado con múltiples funciones fisiológicas. Es altamente especializado por sus aptitudes y características, presenta elasticidad, dureza y resistencia con el mínimo peso posible. Otorga inserción y sostén para los músculos. El esqueleto como órgano tiene funciones importantes de protección, rodea el cerebro, medula espinal, parte de los órganos del tórax y abdomen, también posee la función de transducción del sonido en el oído medio. También protege el organismo de la fuerza de gravedad. Almacena minerales calcio, fosfato, factores de crecimiento como el insulínico, transformante beta, y la proteína morfogenética ósea. Su función metabólica hace que la médula adiposa almacene energía en forma de lípidos, interviene en el equilibrio ácido-base. Participa en el metabolismo del fosfato. La rigidez y resistencia está determinada por la tenacidad (resistencia a la formación y progreso de las resquebrajaduras hasta determinar la fractura. Esto depende de:

a-la calidad mecánica del tejido mineralizado (colágeno y proteínas no colágenas)

b-la calidad arquitectónica del diseño estructural óseo (forma, tamaño, y estructura del hueso), tramas trabeculares en relación con las cargas deformantes.

Concepción biomecánica del hueso.

La rigidez del hueso no depende de la masa del material que lo compone, pero sí de factores como la calidad mecánica definida como rigidez intrínseca o módulo de elasticidad. El módulo de elasticidad del tejido óseo es indicador de su rigidez, depende no solamente de su densidad mineral volumétrica, sino también de la calidad de sus elementos amorfos, fibrilares y cristalinos; del entrecruzamiento espacial de la red colágena, de sus cristales. El diseño arquitectónico es la disposición en el espacio en relación con la dirección de las

cargas que debe soportar. La eficiencia del diseño arquitectónico determina la rigidez y la resistencia del hueso como órgano, que se adapta según el sentido y la acción de la carga analizada (anisotropía ósea) y la cantidad de mineral o densidad. Durante el desarrollo embrionario las células mesodérmicas indiferenciadas, se diferencian a mioblastos para desarrollar un tejido productor de fuerza (músculo), este estímulo es transmitido a otra célula que se diferencia a condroblasto, luego reemplazado por osteoblastos y posteriormente evolucionando a osteocito, que generará tejido óseo capaz de absorber o soportar ese estrés. Existe evidencia que si el tejido embrionario mesenquimático osteogénico es comprimido (compresión) en todos sus puntos por igual se diferencia en cartílago hialino y ulteriormente osifica en hueso tramado de tipo endocondral. En cambio si el mismo tejido es deformado por deslizamiento o torsión (tracción) se diferencia hacia tejido conectivo fibroso para formar hueso tramado de tipo membranoso. Si no se aplica estímulo mecánico alguno se diferencia cartílago fibroso sin generar hueso. **(Man, 2011)** Durante la vida el esqueleto presenta remodelación, reemplazo de hueso viejo por nuevo, responsable de la completa regeneración del esqueleto adulto cada diez años. El remodelado es llevado a cabo por osteoclastos y osteoblastos que constituyen una estructura temporaria única conocida como unidad multicelular básica (BMU siglas en inglés). La vida media de una BMU es de seis a nueve meses.

La masa ósea es preservada por un adecuado balance entre el hueso reabsorbido y formado en cada ciclo de remodelado. El bajo remodelado óseo se considera relacionado con baja masa ósea y muscular. Todavía es poco conocida el rol del osteocito en la regulación de la remodelación. Los osteocitos expresan una proteína conocida como esclerostina (SOST) que induce la apoptosis de los osteoblastos. Una teoría establece que la esclerostina inhibiría los osteocitos de superficie (*lining cells*) y cuando se necesita la formación de nuevo hueso se eliminaría esa inhibición producida por la esclerostina. La esclerostina favorecería la osteoclastogénesis por la inhibición selectiva en el hueso de la vía Wnt. Las *lining cells* se desplazan y activan osteoclastos, reabsorben mineral y colágeno, luego otra señalización desactiva el proceso anterior, seguida de una señalización que activa preosteoblastos, con formación ósea osteoide, el primer hueso mineralizado se forma a las dos-tres semanas. Entre la cuarta y sexta semana se completa totalmente la mineralización. El osteoide en su primera etapa es frágil requiere orden y tiempo para ganar resistencia biomecánica. **(Zanchetta, 2012)**

Descripción macroscópica

El tejido óseo esponjoso está compuesto por trabéculas que forman un reticulado esponjoso, sus espacios huecos están ocupados por la médula ósea. Existe médula hematopoyética en epífisis y metáfisis y médula adiposa en diáfisis. El tejido óseo compacto forma una masa compacta sin espacios, en los huesos largos, la diáfisis se compone de tejido óseo compacto, que como un tubo rodea el espacio medular. Las trabéculas son unidades que brindan al hueso estructura arquitectónica y densidad mineral junto a las corticales. La cantidad de trabéculas óseas por unidad de volumen constituye la masa ósea. En extremidades y vertebras de niños predominan las trabéculas reticulares, también están presentes en alvéolos dentarios (posquirúrgico de

exodoncias). En extremidades y vertebras de adultos son más numerosas las trabéculas laminares. En la biología normal y en condiciones patológicas del tejido óseo se distinguen trabéculas laminares y reticulares. El tejido óseo adulto no tiene trabéculas de tipo reticular, siendo todas estructuras laminares. Salvo que esté fracturado o haya tenido una extracción dental reciente. Las trabéculas conforman un tejido vivo donde las varillas de colágeno deben ser mantenidas en esa condición por un intercambio lento pero constante de aminoácidos, para luego recibir la hidroxapatita. Si una trabécula tiene su colágeno sin recambio, muere y debe ser reemplazada. Esta es una ley fundamental del tejido óseo. **(Zanchetta & Talbot, 2001)**

En las corticales, el hueso conforma el sistema de Havers, se trata de una trabécula formando un “rollo”. Dentro existen osteocitos y su espacio periférico (celda), llamado osteoplasto.

La epífisis está compuesta casi exclusivamente por tejido conectivo esponjoso rodeado por una cortical de tejido óseo compacto. En el período de crecimiento, la diáfisis está separada de cada epífisis por un disco de cartílago (disco epifisario), donde se produce el crecimiento longitudinal del hueso. Las superficies articulares están rodeadas por cartílago, el resto de la superficie por una capa de tejido conectivo denso, periostio y una capa interior de tejido conectivo rico en células, el endostio, que recubre el espacio medular y los espacios de sustancia esponjosa de la epífisis. Tanto el periostio como el endostio tienen capacidad osteogénica.

Los osteoblastos forman fibras colágenas desordenadas, posteriormente las fibras colágenas maduras, se hacen homogéneas en su estructura y definen una estructura sobre el tejido mesenquimático, no relacionada con otras trabéculas. Este material se denomina osteoide. La estructura de la trabécula osteoide primaria al poco tiempo se calcifica en su eje central y a partir de este momento se inicia un crecimiento muy semejante al producido en las trabéculas laminares. **(Man, 2011)**

Actualmente existe el concepto de unidad esquelética, muscular y nerviosa implica la existencia de una relación directa entre el músculo y el esqueleto que determina la densidad mineral ósea, geometría ósea, y el riesgo de fracturas. Factores genéticos, nutricionales (calcio, vitamina D, proteínas) hormonales (sexuales, IGF I), pico de masa ósea entre 16-25 años, factores mecánicos (actividad física, peso corporal). Toda injuria o patología que afecta el hueso tiene repercusiones en los órganos con los que interactúa. Por ejemplo si existe baja masa ósea o alteración de la microarquitectura (osteopenia/osteoporosis) se produce también una atrofia o pérdida de masa muscular. Rosenberg fue el precursor de la denominación de sarcopenia. **(Rosenberg, 1997)**

Descripción microscópica

El hueso está conformado por sustancia fundamental (colágeno tipo 1 (90 %), trombospondina, osteopontina, fibronectina, osteocalcina, proteoglicanos), minerales (sales alcalinas de Ca^2 , fosfato, Na^+CO_3^2 , Mg^{2+} , K^+ y flúor (F) y células: osteocitos, osteoblastos y osteoclastos. Factores de crecimiento, citoquinas de la médula ósea, hormonas sistémicas, estímulos mecánicos, genes que actúan en el desarrollo esquelético inducen a la médula ósea para que diferencie células a osteoblastos, osteoclastos y osteocitos.

El osteoclasto es de origen hematopoyético (monocitos), en cambio los osteoblastos, condrocitos, adipocitos y células de revestimiento (*lining cells*) derivan de precursores no hematopoyéticos.

Estas células funcionan durante un período entre las etapas de maduración. La vida media de los osteoclastos puede ser desde un par de horas hasta, como máximo, un par de días, y la de los osteoblastos (OB) un par de días hasta, como máximo, un par de semanas de actividad funcional efectiva.

Los osteoclastos (OC) y osteoblastos (OB) procesan y liberan o expresan factores de crecimiento promotores de osteoblastogénesis en la matriz ósea.

Los osteoblastos intervienen en dos etapas, la de formación de matriz osteoide y posteriormente la mineralización, precipitación de sales de fosfato de calcio. Son responsables de la síntesis, secreción y mineralización de la matriz extracelular orgánica (osteoide) e inorgánica. Para formar el hueso nuevo, sintetizan colágeno soluble, generalmente sobre una superficie calcificada preexistente. Activan el Sistema RANKL-Osteoprotegerina. La rápida fase inicial de mineralización, estaría relacionada con la actividad osteoblástica, es la mineralización primaria, la mineralización secundaria, es independiente, es una fase más lenta diferenciada de la actividad del osteoblasto que inició el proceso. **(Bhaskar, 1983)** La regulación hormonal de la osteoblastogénesis depende de la paratohormona (PTH), vitamina D (calcitriol) y estrógenos. El sistema RANK-RANKL-OPG tiene un efecto estimulatorio sobre la osteoblastogénesis y la formación ósea.

Los osteocitos forman parte de un sistema organizado que otorga la estructura de resistencia del hueso, compuesta por matriz ósea mineralizada con sus vasos y nervios, osteoblastos, osteoclastos y sus precursores, integrado en el esqueleto del vertebrado que lo contiene, sobre el cual intervienen el medio mecánico y endócrinometabólico. Su origen es a partir de los osteoblastos que quedan inmersos en la matriz ósea, pueden degradarla en los procesos de reabsorción. El osteocito responde a fuerzas mecánicas y produce esclerontin. Cumple un rol importante en la homeostasis del calcio. La Paratohormona (PTH) promueve la osteolisis, que es inhibida por la Calcitonina. Son las únicas células intrínsecas del tejido mineralizado, y son el único sensor conocido del mecanismo de control biomecánico. Los osteoblastos y osteoclastos están fuera de ese sistema y actúan como efectores. En su laguna con sus sensores moleculares sensa deformaciones y actúa por medio de sus efectores OB y OC a partir de células indiferenciadas que protegen la superficie externa del hueso llamadas *lining cells*. Está en estudio la influencia de la presión hidrostática a nivel local sobre el comportamiento de los osteocitos. Frost fue quien definió este sistema mecanostato óseo. Con respuesta locales modelatoria, formadora-balance positivo, o remodelado con balance negativo (perdedora). La fractura de cualquier hueso es determinada por un nivel de deformación de 20%. La hipoxia e isquemia son estímulos celulares que pueden desencadenar apoptosis. **(Frost, 1962)** El osteocito aparentemente puede actuar tanto como célula formadora de hueso pero también como célula de resorción de hueso. Durante la mayor parte de su existencia, parecen estar en relativa quietud dentro de su laguna. Tienen un rol activo en el continuo proceso de remodelación, mecanotransducción, activación de la

reabsorción, regulación rápida de la calcemia y mantenimiento de la matriz mineral. Tiene cuarenta a sesenta prolongaciones citoplasmáticas por célula. El osteocito joven se encuentra hacia el frente de mineralización, el maduro en todas direcciones. Liberan esclerostina. La paratohormona y fuerzas mecánicas activan la liberación de esclerostina. **(Ferretti et al., 2014)** Los osteoclastos tienen como función la resorción del hueso, su vida media es de 15 días. Se ubican en las lagunas de Howship, generan enzimas lisosómicas, que degradan hueso y colágeno, mediadas por la PTH. Esta reacción lisosómica es inhibida por Calcitonina. En la resorción ósea reciben el mensaje de activación por estrés mecánico o moléculas como PTH, calcitriol, ácido retinoico, interleucinas 1 y 6, prostaglandinas, estos moduladores también activan a los osteoblastos. Las células osteoclasticas liberan enzimas sobre la superficie ósea, disuelven, reabsorben el mineral y digieren o solubilizan la matriz inorgánica prácticamente al mismo tiempo. En un medio ácido, la cathepsina K degrada el colágeno (matriz orgánica), la TRAP disuelve la matriz inorgánica, la integrina α 3 produce el sellado. Los marcadores bioquímicos que se usan para determinar función del osteoclasto son: Ntelopeptidos, Ctelopeptidos. El sistema de diferenciación y activación de osteoclastos se rige por la relación RANK-RANKL. En el sistema RANK-RANKL-osteoprotegerina, la osteoprotegerina tiene un efecto inhibitorio sobre la osteoclastogénesis y la reabsorción ósea. El colágeno es la proteína más abundante de nuestro cuerpo. El 80-95% de las proteínas de la matriz ósea consiste en fibras de colágeno tipo I. Las profibrillas son sintetizadas por osteoblastos y por osteocitos. **(Bhaskar, 1983)** Enzimas existentes en el espacio extracelular cortan los péptidos en ambos extremos y producen la polimerización. Las unidades de procolágeno pierden péptidos en los extremos C y N terminales. Estos "péptidos de extensión" son atrapados en la matriz ósea o pasan a la circulación general a medida que las fibras se polimerizan. Cuando las fibras maduran y los péptidos de extensión pasan a la circulación, se convierten en marcadores de formación ósea. Por hidrólisis, los restos de piridinolinas y desoxipiridinolinas asociados con péptidos y libre son excretados por orina, con utilidad de marcadores de reabsorción ósea (CTX y NTX).

Mecanismo de calcificación (mineralización).

La matriz ósea está saturada de cristales de carbonatoapatita (hidroxiapatita) que le confieren sus propiedades. Se denomina así al depósito de minerales sobre la matriz ósea de cartílago y hueso. Pocos días después de la formación por los osteoblastos del osteoide, se produce sobre esta capa fosfato de calcio. Esta sustancia precipita, cristaliza, sobre la superficie de las fibras colágeno, a intervalos regulares, las fibras inducen a la formación de cristales en la solución sobresaturada de fosfato de calcio. Solo en el tejido óseo el colágeno y proteoglicanos llevan a la formación de cristales, proceso que no se da en otras zonas.

Los osteoblastos posiblemente son capaces de crear altas concentraciones de fosfato de calcio, que acumulan en las mitocondrias y luego secretan al medio. Otra teoría postula que los osteoblastos liberarían una sustancia osteoide, que inhibiría al pirofosfato, un inhibidor de la mineralización. La formación de hidroxiapatita por mineralización se produce en un 75% en pocos días. La calcificación total en varios meses. El Factor de Crecimiento Fibroblástico FGF23 regula el metabolismo del fosfato, FGF19 y FGF20

regulan el metabolismo de glúcidos y lípidos. La proteína de transmembrana Klotho, es sintetizada por glomérulo renal, requiere unión a FGF23 por un complejo receptor FGFR-Klotho. También existe Cloto soluble no unido a FGF23 sérico. Su función es protectora de la función renal, reduce calcificaciones vasculares, aumenta fosfaturia, reduce calcitriol, reduce PTH. Existen dos mecanismos de mineralización de la matriz ósea. El que ocurre en el cartílago o en el hueso primitivo y el del hueso maduro o laminar. La tasa de acumulación depende de la presencia de inhibidores (pirofosfato). El aumento del contenido mineral de la matriz aumenta su resistencia a la fractura. **(Man, 2011)**

Fisiología ósea

Modelación: formación/reabsorción con masa positiva. Afecta tamaño y forma. Cambia la estructura, los osteoblastos (OB) y osteoclastos (OC) actúan en distintas ubicaciones no acoplados. Se activa como adaptación a sobrecarga, en etapa de crecimiento en la adolescencia y en función de carga, función ósea denominada “Mecanostato de Frost”. La carga activa osteoblastogénesis, la descarga activa osteoclastogénesis. El Mecanostato sensible: detecta la carga esquelética que recibe cada hueso y se distribuye la mineralización de acuerdo a la carga que se recibe aumenta la carga aumenta la mineralización. **(Frost, 1962)**

Remodelación: formación/reabsorción con masa negativa. No cambia estructura, remueve hueso viejo toda la vida, en esta situación los OB y OC actúan acoplados en un mismo lugar. Afecta BMU (siglas en inglés) o UMB (unidad molecular básica). Tiene etapas que completan un ciclo de activación, reabsorción, reversión, formación y finalmente reposo. Este mecanismo de acción también regula la homeostasis del calcio-fósforo y la respuesta frente a una hipocalcemia. La resorción dura 12 días y la formación 120 días. **(Geneser, 1987)**

Crecimiento: formación de hueso longitudinal a expensas de los cartílagos de crecimiento en la infancia y adolescencia. El crecimiento óseo en varones es periostal, en mujeres es endostal. Depende del pico de masa ósea que es la cantidad de tejido óseo cuando termina la maduración esquelética, determinado por factores genéticos, nutricionales, hormonales y mecánicos. Se alcanza entre los 12 y 20 años aproximadamente.

Los osteocitos actúan como mecanosensores y, bajo el efecto de osteoblastos y de osteoclastos, adaptan la producción de hueso a las exigencias mecánicas. Los osteoblastos se generan por efecto de BMP (Bone morphogenetic proteins, proteínas morfogenéticas óseas) a partir de células progenitoras mesenquimatosas. Estas proteínas morfogenéticas óseas promueven la expresión de colágeno tipo 1, osteocalcina, osteopontina y RANKL por acción del factor de transcripción CBFA1 (core binding factor A1). Los osteoblastos son estimulados por factores de crecimiento (TGFp, FGF, PDGF, IGF). Producen fosfatasa alcalina para la mineralización por división de pirofosfato. La concentración plasmática de la enzima aumenta cuando se activan los osteoblastos. A través del ligando de RANKL, los osteoblastos estimulan la producción de osteoclastos a partir de células progenitoras hematopoyéticas. La osteoprotegerina que se fija al RANKL inhibe el desarrollo de osteoclastos. El factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF) no estimula la apoptosis, favorece el desarrollo de osteoclastos. Éstos se inhiben por acción de la calcitonina. Los

osteoclastos reducen la masa ósea a través de proteasas (catepsina K, entre otras) y por secreción de ión hidrógeno (H^+ - ATPasa, anhidrasa carbónica II, canal de Cl). Los huesos del esqueleto contienen más del 99% del calcio del organismo y así representan un importante depósito que funciona como amortiguador ("buffer") del contenido sanguíneo de calcio, el 0,5-1% del calcio de los huesos constituye el denominado calcio intercambiable, de esta manera puede tomar o ceder iones de calcio al plasma sanguíneo. El mecanismo de regulación del calcio sérico es de naturaleza hormonal y es mediado por la hormona paratiroidea y la calcitonina y por la forma activa de la vitamina D (1,25 dihidroxicolecalciferol). **(Ferretti et al., 2014)** La acción de la hormona paratiroidea (PTH) sobre el tejido óseo inicialmente consiste en una estimulación de la apoptosis de los osteocitos, mientras que aumentos continuos de la hormona paratiroidea circulante llevan a la formación de osteoclastos y un aumento de la reabsorción ósea. La calcitonina, secretada por las células C de la glándula tiroides tiene efecto antagónico al de la hormona paratiroidea, puesto que inhibe la osteólisis de los osteocitos y la reabsorción osteoclástica del tejido óseo. Una serie de otras hormonas entre ellas hormona del crecimiento, hormona tiroidea y hormonas sexuales tienen asimismo acciones determinadas sobre el esqueleto.

La vitamina D se considera actualmente una hormona. Esto se debe al descubrimiento de que la vitamina D (colecalfiferol) tras su absorción en el intestino (o formación en la piel por irradiación ultravioleta UVB) es transformada a la forma biológicamente activa (hormonal), 1,25 dihidroxicolecalciferol, por hidroxilaciones sucesivas en el hígado y el riñón. El 1,25 dihidroxicolecalciferol estimula la absorción del calcio en el intestino, pero juega además un importante papel tanto en el depósito de hueso como en la reabsorción. Estimula la calcificación del tejido óseo, en parte aumentando la concentración de calcio y fósforo en el líquido extracelular, pero también en forma independiente. En mayores cantidades, la vitamina D (1,25 dihidroxicolecalciferol) aumenta la reabsorción ósea.

La regulación de la osteogénesis y mineralización del hueso depende del calcio y de las concentraciones de fosfato en plasma, así como del efecto hormonal. La paratohormona aumenta la reconstrucción ósea y la formación de osteoblastos y de osteoclastos, cuando el exceso de parathormona es crónico, prevalece la reabsorción ósea (desmineralización severa). La pérdida de masa ósea y la alteración de la microarquitectura puede ser primaria: por déficit estrogénico, o secundaria: por hipercortisolismo, hipertiroidismo o hiperparatiroidismo, hipogonadismo, fármacos corticoides. **(Zanchetta & Talbot, 2001)**

El calcitriol (1,25 (OH) D_3) a través del receptor de vitamina D (VDR), estimula la producción de proteínas de la matriz ósea, osteocalcina, osteopontina y de RANKL. Así, el calcitriol estimula la generación y la reabsorción ósea por formación de osteoclastos maduros. A partir del 7-dehidrocolesterol, se forma vitamina D_3 en la piel por efecto de los rayos UVB. En el hígado, esta vitamina D_3 se transforma en 25(OH) D_3 y, por intermedio de la enzima hidroxilasa, en los riñones se transforma en calcitriol (1,25(OH) $_2D_3$) por efecto de la paratohormona. La producción de calcitriol se estimula por acción de la somatotropina y se inhibe por efecto

de un exceso de fosfato de Ca^{2+} , de FGF23 y de la hormona Cloto. Los glucocorticoides inhiben la producción de calcitriol, así como de colágeno tipo 1, favoreciendo la reabsorción ósea. (Man, 2011)

Metabolismo mineral óseo

Calcio

Está presente en los huesos como hidroxapatita. Su distribución es 99 % en el esqueleto y 1 % en los fluidos extracelulares y tejidos blandos. La concentración del calcio intracelular es menor que la extracelular. El calcio esquelético o el almacenado en los huesos, los mismos tipos de cristales se presentan en el esmalte y la dentina de los dientes. En el plasma se encuentra en 3 fracciones: 50 % es calcio iónico; 40 % unido a proteínas (90 % ligado a albúmina y el resto a globulinas); 10 % complejo a: citrato, fosfato, lactato.

El calcio ionizado es el que realiza la mayoría de funciones metabólicas. Su concentración está controlada principalmente por la parathormona, la calcitonina y la vitamina D. La suma del calcio iónico y el calcio complejo constituye el calcio ultrafiltrable (atravesando membranas semipermeables). El calcio unido a proteínas puede variar por el pH: el aumento del pH une más el calcio a la albúmina y cuando el pH desciende, en medios ácidos, la albúmina disminuye su unión al calcio. Al descender los niveles de albúmina descienden los niveles de calcio total (0,8 mg por g de albúmina), pero no afecta el calcio iónico.

El calcio sérico tiene variaciones circadianas, alimentarias y etarias. El calcio sérico reduce sus valores durante la noche. El calcio iónico exhibe un ritmo circadiano con pico a las 10 a.m. y nadir a las 6-8 p.m. La reducción del calcio iónico aumenta la permeabilidad al sodio aumentando de este modo la excitabilidad de los tejidos, mientras que su aumento tiene el efecto opuesto. El calcio llega al organismo a partir del aporte dietético, la absorción intestinal de calcio (principalmente yeyunal) está regulada por la vitamina D en su forma activa que es el calcitriol. Cuanto menor es el aporte de la dieta, mayor es la absorción por incremento compensatorio de calcitriol. La absorción intestinal de calcio se aproxima al 20 % de la ingesta (160 mg), y a pesar de que el hueso se está continuamente remodelando, no hay resorción ni formación neta, por lo tanto el riñón debe balancear lo absorbido excretando exactamente la misma cantidad diaria. Su deficiencia afecta pudiendo generar raquitismo, osteopenia u osteoporosis. En el músculo tetania. En condiciones normales el 97-99 % del calcio filtrado es reabsorbido, y solo 100 a 300 mg de calcio son excretados en la orina. Unos $\frac{2}{3}$ de la carga filtrada son reabsorbidos en el túbulo proximal distal, $\frac{1}{4}$ en el asa de Henle, y el 10 % restante en los demás elementos del túbulo distal y colector. La reabsorción de calcio y sodio en los sitios proximales está fuertemente asociada, por lo tanto, los factores que incrementan la excreción de sodio lo hacen paralelamente con la de calcio. El nefrón distal es el árbitro final de la tasa de excreción de calcio. Las causas que aumentan la excreción de calcio urinario son aumento de la carga filtrada (hipercalcemia, aumento del aporte dietético); aumento de la carga de sodio o de su excreción urinaria (aumento del sodio en la dieta, expansión de volumen, diuréticos); acidosis metabólica; actúa inhibiendo la reabsorción de calcio.

El calcio se absorbe a lo largo del tracto gastrointestinal, principalmente en el duodeno. La absorción ocurre por dos métodos un sistema controlado mediante la acción de la vitamina D_3 y un segundo mecanismo de

transporte pasivo, independiente de la vitamina D, ocurre a lo largo de todo el intestino. El equilibrio adecuado de los iones de calcio, sodio, potasio y magnesio mantiene el tono muscular y controla la irritabilidad nerviosa. También regula el balance hidrosalino. **(Ayus et al., 2007)** La parathormona (PTH) es responsable de la regulación de la concentración extracelular de Calcio, se libera en caso de hipocalcemia e hipomagnesemia. Sus efectos tienden a aumentar la concentración de calcio en plasma. Estimula la movilización de fosfato de calcio de los huesos, disminuye la concentración de fosfato y de bicarbonato en plasma al inhibir la reabsorción renal y estimula la producción de calcitriol, que favorece la absorción enteral de calcio y de fosfato. La hipocalcemia puede ser consecuencia de reducida secreción de parathormona (hipoparatiroidismo) o de la disminución del efecto de ésta (pseudohipoparatiroidismo). El déficit de calcitriol provoca hipocalcemia. **(Silbernagl & Lang, 2010)** El efecto más significativo a nivel clínico es una mayor excitabilidad de los músculos y del sistema nervioso con manifestación de espasmos musculares involuntarios (tetania) y parestesias, pueden sobrevenir ataques epilépticos.

La hipercalcemia se manifiesta en caso de hiperparatiroidismo y exceso de vitamina D. Los tumores también pueden provocarla por intermedio de la PTHrp (proteína relacionada con la parathormona) o el factor activante de osteoblastos (OAF). Causa molestias gastrointestinales, poliuria, polidipsia, nefrolitiasis.

Fosfato

El fósforo (P) no existe o no se encuentra en su forma libre en los sistemas biológicos, sino que se presenta como compuestos de fosfato, situación que los diferencia del calcio y el magnesio. Participa de manera determinante en la mineralización de los huesos y dientes de los vertebrados (PO_4 ortofosfato=apatita) y de fosfolípidos en las membranas lipídicas. El 85 % está presente en el esqueleto en forma de cristales y juega un rol estructural, el 15 % restante está en los fluidos extracelulares, sobre todo en forma de fósforo inorgánico, y en los tejidos blandos en forma de ésteres de fosfatos. El fosfato sérico inorgánico también existe en tres fracciones: iónico, unido a proteínas y complejado. Unión a proteínas es 10 %; el 35 % está complejado por calcio, fosfato y magnesio. El 90 % del fosfato orgánico es ultrafiltrable. La concentración sérica posee un ritmo circadiano con un pico a las 20 horas y un nadir a las 1 horas. El riñón juega el rol dominante en la homeostasis sistémica del fosfato y mantiene la concentración sérica. La absorción intestinal de fosfatos, así como la de calcio, depende de un transporte activo que es estimulado por el calcitriol. Se absorbe hasta un 60-80 % del aporte dietario. La presencia de hiperfosfatemia no reduce la absorción. La hipofosfatemia aumenta la absorción. El riñón filtra el 99 % de fosfato y se reabsorbe a nivel del tubulo proximal por un sistema dependiente de pH y sodio, activo y saturable. La excreción está directamente vinculada al aporte dietético. La acción de PTH (fosfatúrica) consiste en disminuir el umbral renal para la reabsorción de fosfato. La parathormona y el calcitriol son decisivos para la regulación del balance del fosfato. En caso de riñones intactos, la parathormona reduce el nivel de fosfato en plasma inhibiendo la reabsorción renal, no obstante favorece simultáneamente la movilización del fosfato de los huesos. El calcitriol aumenta el nivel de fosfato en plasma por estimulación de la absorción enteral y reabsorción renal. Las alteraciones del

metabolismo del fosfato pueden producirse por desequilibrio del balance (relación de la absorción enteral y la eliminación renal) o por redistribución dentro del organismo (espacio intracelular, espacio extracelular, huesos). Las pérdidas renales se manifiestan en caso de hiperparatiroidismo, falta de vitamina D, determinadas alteraciones del transporte del túbulo proximal (síndrome de Fanconi) y, en menor medida, en caso de pérdidas de sal por riñón, expansión del volumen extracelular, terapias diuréticas y exceso de glucocorticoides. El exceso de fosfato puede ser consecuencia de un exceso de aporte por vía oral, exceso de vitamina D o falta de paratohormona (hipoparatiroidismo) o debido a una reducida actividad de ésta (pseudohipoparatiroidismo). Además, la eliminación renal de fosfato se reduce en caso de insuficiencia renal. **(Silbernagl & Lang, 2010)**

Magnesio

El 66 % se encuentra presente en el esqueleto, el resto en los tejidos blandos. En el hueso parece estar localizado en la superficie de los cristales de apatita. Solo una porción mínima del magnesio del hueso es libremente intercambiable con el magnesio extracelular. El magnesio sérico se distribuye de manera análoga al calcio: 30 % unido a proteínas (albúmina, influido por pH) no filtrable por el glomérulo, otro 55 % libre o ionizado, 15 % formando complejos o compuestos. La absorción fraccional intestinal es del orden del 30-50 % independiente de la regulación hormonal. Por día es reabsorbido el 96 % del magnesio (Mg) filtrado a nivel renal y el 4 % es excretado por orina. En su rol fisiológico inhibe la secreción de PTH a altas concentraciones y la estimula en bajas, pero cuando la concentración de Mg es muy baja se inhibe la secreción de PTH. La alcalosis, PTH, Calcitonina reducen la excreción urinaria de magnesio. Alta natriuresis, carga osmótica y acidosis metabólica aumentan la excreción urinaria. Se demostró la importancia del Mg en la mejora de densidad mineral ósea, su déficit promueve la reducción del crecimiento óseo, reduce osteoblastogénesis, promueve osteoclastogénesis, pérdida trabecular por estímulo de la actividad de citoquinas. La hipomagnesemia inhibe la secreción de PTH, el remodelado óseo, y los niveles séricos de 25OHD.

Regulación Endócrina del Metabolismo Mineral

Vitamina D

La reacción fotolítica de la epidermis da como resultado un precursor que es la previtamina D₃. La vitamina D generada en la piel será transportada a los sitios donde se almacena, o a los tejidos donde se metaboliza a derivados activos: hígado, riñón y otros. En el hígado experimenta una modificación, se obtiene el 25OHD₃, indicador de vitamina D del organismo. Este metabolito es transportado rápidamente desde el hígado hacia el riñón, donde experimenta dos transformaciones principales: 1 alfa, 25 (OH)₂ D₃ o calcitriol. La reacción de 25 hidroxilación también se ha descrito para los osteoblastos. Para esta reacción el riñón funciona como una verdadera glándula endocrina controlando la producción de acuerdo a los niveles de calcio y fósforo circulantes. La hipofosfatemia actúa directamente en el riñón estimulando la enzima, mientras que la hipocalcemia lo hace indirectamente y a través del incremento de los niveles de PTH. Además el 1,25

controla su propia síntesis ejerciendo un efecto inhibitorio sobre la 1 hidroxilasa e inhibiendo la síntesis de PTH. La PTH y el calcitriol estimulan la 1-hidroxilación hasta obtener valores normales de calcemia; por encima de la normocalcemia se estimula la 24 hidroxilación y se inhibe la 1 alfa. La vitamina D es un factor esencial en la regulación del calcio y del fosfato extracelular. Desempeña esa función junto con dos hormonas peptídicas: la PTH y la calcitonina. Como consecuencia del déficit de vitamina D se produce disminución de la absorción de calcio y fosfato intestinal, con reducción de los niveles de calcio extracelular originándose una serie de trastornos neuromusculares, y a veces tetania. A nivel óseo se producen trastornos de mineralización, raquitismo en los niños y osteomalacia en los adultos. Su déficit produce retardo en el crecimiento. **(Gómez Alonso et al. 2003)**

Acción fisiológica:

- aumenta absorción de calcio y P, aumenta mineralización, reduce PTH, mejora función muscular.
- aumenta diferenciación a OB, OC y osteocitos, mayores niveles de RANKL VEGF y FGF23, más mineralización.
- actúa como una hormona y es análoga en su mecanismo de acción a las hormonas esteroideas, a través de la formación de complejos hormona-receptor.
- hueso: provee los minerales, calcio y fosfato. Tiene acción directa a nivel de los osteoblastos activando su función, también tiene efecto a nivel de los osteoclastos, solo que no directamente sino favoreciendo la formación de precursores y promoviendo la diferenciación. Contribuye así al proceso de resorción ósea que es importante para el remodelado y también para el suministro de calcio.
- intestino: estimula la absorción de calcio y fosfato.
- riñón: a nivel del túbulo contorneado distal estimula la reabsorción de calcio, bloquea su propia síntesis.
- paratiroides: bloquea la síntesis y secundariamente la secreción de PTH. **(Figura 3)**

Paratohormona

La paratohormona (PTH) es una hormona peptídica secretada por las glándulas paratiroides. Con el sistema de la Vitamina D regula la homeostasis cálcica. A diferencia de este sistema su acción regulatoria es rápida. La PTH mantiene los niveles de calcio en el líquido extracelular, mediante una acción rápida ósea y renal, y otra lenta e indirecta, incremento de la absorción intestinal de calcio. Tiene acción homeostática exclusiva con el calcio, no así con el fósforo que regula la función del calcio del LEC. Su función específica es mantener los niveles de calcio sérico tan constantes como sea posible. La secreción de la PTH está mediada por el calcio iónico. La concentración del mismo en el LEC es censado por el receptor de calcio, receptor de membrana de las células paratiroides. La tasa PTH circulante es inversamente dependiente de la concentración del calcio extracelular. Tanto el incremento como el descenso del magnesio sérico inhiben la secreción de la PTH y promueven la tetania por este mecanismo.

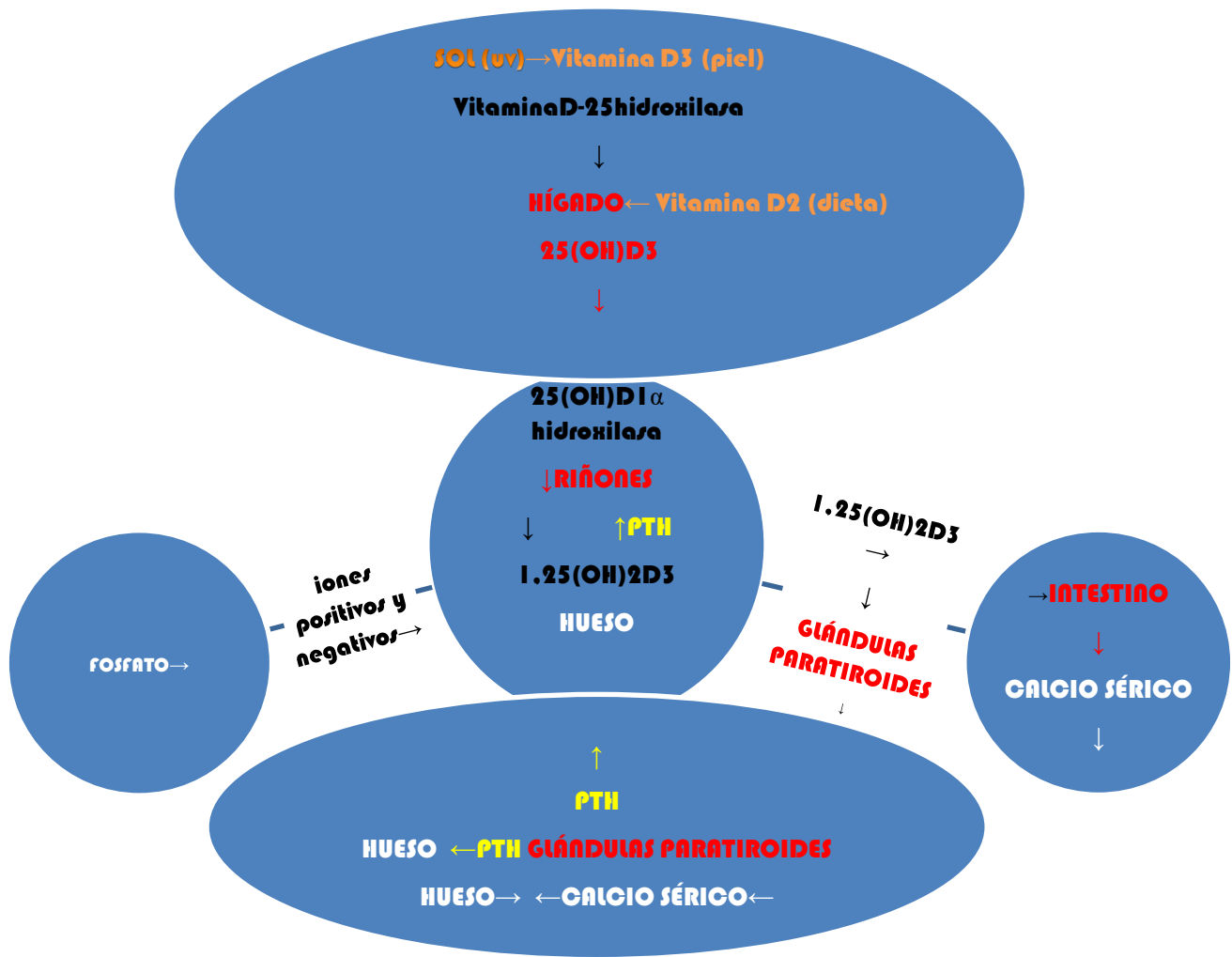


Figura 3. Regulación del metabolismo mineral óseo.

Las catecolaminas de acción beta adrenérgicas se vinculan positivamente con la secreción de PTH. Se postula una acción inhibitoria directa del calcitriol en la secreción de PTH. Factores vinculados positivamente en la secreción de PTH son la calcitonina y el cortisol. Ambas hormonas incrementan la secreción de PTH independientes de la concentración del calcio iónico.

Acción fisiológica:

-el receptor de PTH es común a la PTH y al péptido relacionado con la PTH (PTHrP). Se lo aísla en osteoblastos y células tubulares renales, también en los leucocitos mononucleares y fibroblastos. El incremento de la concentración de PTH disminuye el número de receptores.

-hueso: la expresión ósea de la acción postreceptor de PTH desencadena un incremento de la salida del calcio al LEC a través de la estimulación de la resorción ósea, y también un aumento de la síntesis de osteoide cuando las concentraciones circulantes son bajas e intermitentes. Existen receptores de PTH / PTHrp en el osteoblasto, en lining-cells y en los osteocitos, sin embargo la acción principal de PTH es resortiva, o sea estimula la acción de los osteoclastos. Los osteoclastos no poseen el receptor de PTH. La presencia de PTH en medios de cultivos de osteoblastos-osteoclastos, incrementa el ARNm de las enzimas

líticas de los osteoclastos. La función específica de la PTH a nivel óseo es transferir calcio y fosfato al LEC. Tiene una acción rápida (pool rápido) mediado por los osteocitos y células del endostio que liberan el calcio al LEC. La acción lenta (pool lento) se efectúa a nivel de los osteoclastos, la PTH incrementa indirectamente su número, su maduración y la síntesis de enzimas osteolíticas.

-riñón: aumenta la reabsorción del calcio en el túbulo contorneado proximal. Este fenómeno está ligado íntimamente al transporte de sodio. Disminuye el transporte de fosfato de la luz tubular al intersticio. En el túbulo contorneado distal es donde la PTH tiene su efecto exclusivo. A este nivel la PTH reabsorbe el 70-90% del calcio tubular e incrementa la excreción renal de fosfato (acción fosfática). Activa factores de transcripción de células madre a osteoblastos, promoviendo la osteoblastogénesis.

Calcitonina

La calcitonina (CT) es una hormona peptídica que conjuntamente con la PTH y el calcitriol regula el metabolismo fosfocálcico y óseo. Es secretada por las células "C" parafoliculares de la glándula tiroides. Su secreción está regulada en forma aguda por los niveles de calcemia (hipercalcemia). La CT es un potente inhibidor del osteoclasto y por tanto de la actividad resorptiva. Las células "C" que proceden de la cresta neural. Las células hipofisarias secretan CT, así como también otras células neuroendocrinas. Produciría un tipo de acción paracrina. El receptor de la calcitonina fue aislado por Lin. **(Lin et al., 1991)** Es semejante a los receptores de secretina y de la PTH/PTHrp. Los receptores de CT se presentan en el osteoclasto y en el tubo renal, también se los ha localizado en el Sistema Nervioso Central. El efecto biológico más importante de la calcitonina es inhibir la resorción ósea, se expresa por hipocalcemia, hipofosfatemia, disminución de la fosfatasa alcalina, y de la hidroxiprolina. La CT altera la superficie de los osteoclastos y su actividad. Incrementa la calciuria y la fosfaturia en concentraciones séricas altas. Se comprobó un efecto antiinflamatorio, y de cicatrización en heridas y fracturas, también se ha descrito una acción antihipertensiva (vasodilatación). El máximo estímulo de CT es la concentración del calcio del LEC. La secreción de CT es proporcional al incremento de la calcemia. El efecto inhibitorio inducido por hipocalcemia aún no ha sido demostrado. **(Man, 2011)**

Estrógenos

Proviene del ovario y glándulas adrenales, son antagonistas de la PTH. Su acción sobre el OB aumenta la síntesis de colágeno tipo I, más IGF1, TGF β , BMP6, inhibe apoptosis de OB y osteocito. Activa el sistema LRP5/6/Wnt-Beta-catenina, reduce esclerostina. Su acción sobre el OC reduce citoquinas, IL-1, IL6, TNF α ; reduce sistema RANK-RANKL; aumenta OPG (osteoprotegerina). El intestino y el riñón tienen receptores de estrógenos (E_2) pero no tiene para PTH o Vitamina D, por eso allí su acción es directa. La reducción de niveles séricos de estrógenos (E_2) aumenta la absorción intestinal de calcio, aumentan calciuria, calcemia, balance de Ca negativo, reduce alfa-hidroxilasa y 1,25OHD, por esto existe pérdida de fortaleza ósea (masa, propiedades microarquitectura, macroarquitectura). Los E_2 actúan en receptores alfa y beta, su efecto en las células óseas es genómico y no genómico en OC por aumento de apoptosis; en OB y

osteocitos reduce apoptosis (no genómico); en células del estroma linfocitos T, reduce citoquinas (IL1-IL6 y TNFalfa) por efecto genómico. La falta de E₂ aumenta OC, más osteoclastogénesis menos apoptosis, más osteoblastogénesis más apoptosis, en osteocitos aumentan apoptosis. Los E₂ reducen síntesis de esclerostina, inhibición de SOSTDC1 que reduce BMPs. Aumentan RUNX2 (osteoblastogénesis). **(Cummings et al., 1998)**

Andrógenos

La activación de receptores androgénicos aumenta el crecimiento perióstico y aumentan resorción endocortical, remodelado. Los E₂ aumentan modelación, reducen periostio, aumentan aposición endocortical, aumentan resorción endocortical. El varón tiene mayor pico de masa ósea, más crecimiento longitudinal con aposición perióstica. La mujer cierra cartílago de crecimiento antes por esto y estrógenos tiene mayor aposición endocortical. Los hombres tienen aumentada la cortical. En la adultez las mujeres pierden trabéculas, los hombres las adelgazan. **(Bleil et al., 2012)**

OBJETIVOS

4-OBJETIVOS

General

Reducir el tiempo de la recuperación o cicatrización postoperatoria con menor sintomatología y promover la actividad celular, enzimática y vascular de tejidos blandos y duros con la aplicación de Oxigenoterapia Hiperbárica (OHB) como tratamiento complementario de la terapéutica quirúrgica en isquemias traumáticas agudas (ITA) por fracturas y aplastamiento en la región bucomaxilofacial

Específicos

1. Mejorar la calidad de la formación y consolidación de callo óseo en fracturas con OHB en un tiempo más reducido.
2. Comprobar inducción osteogénica de la OHB.
3. Reducir infecciones anaerobias secundarias al trauma, osteomielitis refractaria a fármacos antibióticos e infecciones de tejidos blandos necróticos con OHB.
4. Reducir el tiempo de recuperación y grado de limitación del movimiento de articulaciones (artrosis) con OHB.
5. Disminuir el requerimiento de amputaciones

HIPÓTESIS

5-HIPÓTESIS

General

La aplicación de Oxigenoterapia Hiperbárica (OHB) como tratamiento complementario de la terapéutica quirúrgica en isquemias traumáticas agudas (ITA) por fracturas y aplastamiento en la región bucomaxilofacial promueve la actividad celular, enzimática y vascular de tejidos blandos y duros durante la cicatrización, procurando un postoperatorio más rápido y con menor sintomatología.

Específicas

1. Las propiedades estructurales y funcionales de la matriz mineralizada del callo óseo son superiores con OHB respecto grupo sin OHB. El tiempo de la consolidación o formación de callo óseo con OHB es más reducido respecto grupo sin OHB.
2. La OHB induce mayor osteogénesis que grupo sin OHB.
3. Existe menor cantidad de complicaciones infecciosas producidas por microorganismos anaerobios con OHB respecto grupo sin OHB.
4. El movimiento de articulaciones se recupera en menor tiempo con OHB respecto grupo sin OHB.
5. La indicación de amputación es inferior con OHB respecto grupo sin OHB.

MATERIALES Y MÉTODOS



6-MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Diseño y Método aplicado en el estudio experimental.

Diseño experimental: a partir de una población de conejos californianos (*Oryctolagus cuniculus* Linnaeus, 1758) alojados en la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (FCAyF) de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP), se seleccionó un lote de animales numerados para participar de la experiencia. Luego aleatoriamente, se obtuvieron tres grupos, cada grupo tuvo, antes del sorteo, las mismas probabilidades de recibir los tratamientos diseñados.

Grupo 1 experimental: OHB Postoperatorio; Grupo 2 experimental: OHB Preoperatorio y OHB Postoperatorio; Grupo 3 Control o testigo: Placebo Aire en Cámara Hiperbárica (sin OHB).

Prospectivo: contemporáneo a partir de una fecha determinada se realizaron los 3 tratamientos al mismo tiempo, simultáneamente.

Longitudinal: se hicieron mediciones en el objeto de estudio durante un período determinado de tiempo preoperatorio y postoperatorio.

Objeto de estudio: Fracturas y lesiones óseas perforantes en huesos largos posteriores de conejos como modelo animal, tratadas con dos esquemas terapéuticos diferentes de OHB, para ser extrapolado a fracturas óseas mandibulares. Los datos obtenidos por extrapolación del modelo animal desarrollado tendrían validez para mejorar la resolución de fracturas mandibulares en humanos. Estos huesos tienen una anatomía, embriología y fisiopatología comparable a la de huesos largos de extremidades inferiores como fémur, tibia y peroné.

Operacionalización de las variables:

Instrumentos de medición

1-Tiempo de recuperación postoperatoria con OHB Postoperatoria, OHB Preoperatoria-Postoperatoria; Control sin OHB.

Observación clínica:

a) Tiempo medido en días transcurridos desde el inicio de cada uno de los tratamientos hasta la recuperación tisular y funcional. Datos numéricos continuos.

b) Número de sesiones de OHB necesarias para producir la recuperación tisular y funcional. Datos numéricos discretos.

2-Infecciones anaerobias con OHB Postoperatoria; OHB Preoperatoria-Postoperatoria; Control sin OHB.

Observación clínica y radiográfica. Cuantificación de casos de complicaciones infecciosas en cada grupo experimental por diagnóstico clínico y radiográfico. Datos numéricos discretos.

3-Consolidación o formación de callo óseo en fractura simple de Peroné y lesión bicortical de Tibia con OHB Postoperatoria; OHB Preoperatoria-Postoperatoria; Control sin OHB.

-Histomorfometría de biopsia ósea: Parámetros estructurales, estáticos de formación y resorción, dinámicos de formación.

-Hemograma completo y análisis de orina completo

-Marcadores de formación y resorción óseos en muestras de sangre y orina:

osteocalcina; fosfatasa alcalina (FAL); fosfatasa alcalina específica ósea (FAO); CTX; NTX; fosfatemia; calcemia; fosfaturia 24 h; calciuria 24 h.

Para completar el estudio del efecto en el medio interno producido por los tratamientos se realizaron determinaciones séricas de 25OHD; PTH; creatinina; albúmina; urea.

-Radiografías preoperatorias basales y postoperatorias una cada semana hasta los 30 días postquirúrgicos (PosQx).

4-Limitación del movimiento en articulaciones OHB Postoperatoria; OHB Preoperatoria-Postoperatoria; Control sin OHB.

Observación clínica de acuerdo a testeos de movimientos articulares utilizados kinesiología y/o fisioterapia.

5-Amputaciones con OHB Postoperatoria; OHB Preoperatoria-Postoperatoria; Control sin OHB.

Observación clínica. Cuantificación de casos en cada grupo experimental. Datos numéricos discretos.

6-Mortalidad con OHB Postoperatoria; OHB Preoperatoria-Postoperatoria; Control sin OHB.

Observación clínica, cuantificación.

Análisis Estadístico: se elaboró una matriz básica de datos para cada grupo analizado (Basal, Control, OHB Preoperatorio y OHB Postoperatorio) vs. las variables cualitativas y cuantitativas relevadas (histomorfométricas óseas, radiográficas, séricas, orina, hemograma, peso y mortalidad). (Macchi, 2001) Esta es una matriz de fila (fecha del muestreo) vs columnas (atributos). Los datos de las muestras tomadas fueron promediados (con sus desvío estándar), comparadas para cada grupo y presentados en forma de tablas y figuras (gráficos de barras y líneas) a modo secuencial. Las variables medidas no siguieron una

distribución normal basadas en la pruebas de contrastes de Shapiro–Wilk y un número bajo de individuos o conejos experimentales ($n < 30$). Se realizó el análisis de los resultados séricos, urinarios, radiológicos, histomorfométricos y observacionales con el fin de determinar diferencias o heterogeneidad entre grupos experimentales OHB, Control y Basal. Las histomorfometrías por biopsia ósea tienen, por su especificidad y precisión valor de diagnóstico definitivo. Por eso no se requirieron grandes cantidades muestrales para arribar a conclusiones válidas. Otros motivos para no incrementar el número de muestras histomorfométricas es el ético y moral, ya que cada muestra debe obtenerse de un ser vivo. En cambio, para el modelo experimental empleado en la presente tesis doctoral, los mecanismos de medición séricos, urinarios, radiológicos y clínicos son compatibles con la sobrevida del animal de laboratorio. Para el análisis estadístico de las variables se utilizó el programa Excel 2007 de Microsoft Office for Windows XP. (Pugachev, 1973; Sokal, 1995; Zar, 1996)

Modelo Experimental

El modelo experimental se diseñó en base a una biopsia bicortical metaepifisiaria proximal de tibia y fractura diafisiaria proximal simple de peroné de cada animal de experimentación en su pata izquierda. (Apéndice A)

Animales de Experimentación

Lote original (población) de 34 conejos de cepa Californiana (*Oryctolagus Cuniculus*) todos machos adultos jóvenes, con un peso entre 3000 y 4000 g. Edad 10 meses para contar con individuos en edad reproductiva (adultos jóvenes) con sus cartílagos de crecimiento cerrados.

En 2012 la experiencia se realizó con una muestra de 24 (veinticuatro) individuos divididos en tres grupos: Grupo 1 experimental: 8 individuos OHB Postoperatoria; Grupo 2 experimental: 8 individuos OHB Preoperatoria y OHB Postoperatoria; Grupo 3 Control: 8 individuos Placebo (sin OHB).

Población y determinación del tamaño de la muestra: Criterios de inclusión y exclusión.

El cálculo del tamaño de la muestra se obtuvo a través de una prueba piloto o ensayo previo a la experiencia. Habiendo finalizado esta etapa se pudo conocer la dificultad de los procedimientos, costo de los mismos y tiempo requerido por día para realizar un estudio prospectivo.

El análisis estadístico buscó demostrar la diferencia entre los grupos experimentales OHB respecto a control procurando cumplir los principios de eficacia y eficiencia.

Universo: población diana o blanco de estudio para el desarrollo de procedimientos científicos en el Bioterio de la Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV) de la Universidad Nacional de La Plata. Los conejos californianos fueron suministrados por el Servicio de Producción Animal de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (FCAyF) de la UNLP (Universidad Nacional de La Plata). Todos los integrantes de la población tuvieron la misma probabilidad de estar representados en la muestra. Los Conejos (*Oryctolagus*

cuniculus) y Liebres pertenecen a la familia leporidae de mamíferos lagomorfos. El lote de conejos californianos o california (cepa representativa de la especie) con perfil sanitario del criador para tener validez microbiológica: libres de hongos, desparasitados de ecto y endoparásitos. Los animales de experimentación tuvieron certificado sanitario escrito e indentificación permanente por tatuaje en la oreja. La Asociación Americana de Criadores de Conejos tiene una lista de 28 cepas y 80 variedades. Entre las razas más representativas para investigación figuran la Californiana y la Neozelandesa. (Tabla 2)

VARIABLES	Conejo 3.5-4.5 kg
Temperatura rectal	39,5 °C
Temperatura corporal	38.5-40 °C
Frecuencia respiratoria/minuto	30-50.5
Capacidad pulmonar total	102.0-120.0
Capacidad vital	80-100
Volumen aire/minuto	0.37-1.14 litros (l)
Consumo Oxígeno	0.47-0.85 ml/g/hora
Frecuencia cardiaca/minuto	120-280
Presión sanguínea diastólica	60–90 mmHg
Presión sanguínea sistólica	90–130 mmHg
Volumen de sangre	57–65 ml/kg
Volumen plasmático	30–44 ml/kg
Volumen sanguíneo total (% peso corporal)	7-8 %
Orina	alcalina
Volumen normal orina	80-110 ml diarios
Vida reproductiva	3-4 años

Tabla 2. Datos biológicos del *Oryctolagus Cuniculus*.

Los animales tuvieron una numeración asignada (tatuajes), seleccionados al azar, según criterios de inclusión, exclusión, eliminación y comparación, ya mencionado. (Figura 4) Se eligió este modelo animal de laboratorio por su facilidad de manipulación, y su característica evolutiva o filogenia cercana a los roedores y primates que permitiría la extrapolación o utilización de los datos obtenidos en humanos. (Pisanó & Barbieri, 1985) Específicamente posibilitó la realización de estudios metabólicos por análisis de sangre y orina, sin afectar la sobrevivencia del animal. También un costo razonablemente manejable en investigación independiente.

Criterios de inclusión

Dramatipo: características genéticas y ambientales de los animales de laboratorio utilizados en el diseño de experimentos, para minimizar las variables no experimentales, optimizando el uso de los animales definidos y estandarizados de donde se obtendrán resultados reproducibles. **(Russel & Burch, 1959)**

Conejos cepa californiana, machos, de tamaño medio entre 3-4 kg, exocriados, de 9 meses de edad, identificados con tatuajes en el pabellón auricular. Se hizo planilla de pesaje regular y evaluación clínica periódica. Respecto a la correlación de la edad de lagomorfos y cronobiología humana, los lagomorfos viven en promedio seis años en óptimas condiciones ambientales domésticas, se podría deducir que al año de vida tendrían un desarrollo equivalente a un humano adulto joven de entre 18 y 25 años. Vida media 6-7 años, algunos casos excepcionales llegan a 15 años de edad. Camada promedio de 7. El destete es a las 45-60 días. Alcanzan la pubertad entre los 3 a 7 meses. Las condiciones ambientales uniformes de cría:

Microambiente

Jaulas metálicas con un área de alojamiento con medidas 35 cm de frente por 40 cm de fondo por 30 cm altura, 0,14 m³. Individuales con piso de malla de alambre para el paso de deposiciones, con separaciones de 26 mm entre alambre y alambre. Rejillas o bandejas plásticas perforadas en la base para evitar úlceras plantares. Cada animal tuvo su cubículo separado del otro para mejorar el bienestar, y evitar lesiones por lidia, castraciones, mordidas, rasguños. Sistema automático de abastecimiento de agua y tolvas. **(Apéndice**

B)

Macroambiente

-Climáticos en el criadero y bioterio temperatura 18 a 20 grados centígrados (°C) ambiente, humedad 50-55 % (en la región metropolitana de La Plata es siempre superior), ventilación 15 a 20 cambios por día.

-Datos climáticos anuales: Humedad relativa 77-79 % (ciudad La Plata observatorio/aeropuerto); 1012,8-1013,8 hPa (ciudad La Plata observatorio/aeropuerto). Relación Temperatura máxima media/Temperatura mínima media en L.P.: 21,5-12 °C. Valores muy similares a los de la ciudad de Mar del Plata (MDQ: 19,1-9,5 °C).

-Fisicoquímicos: iluminación solar natural de 12 h, ruido mínimo, composición del aire regular planeta del Tierra a 760 mmHg.

-Habitaciones: área delimitada para la experiencia apartada del resto de animales de cría.

-Nutricionales: dieta de alimento balanceado preparado comercialmente para pequeños animales en gránulos o pellets 130-150 g por día “ad libitum” suministrado por tolvas. Las necesidades de consumo de alimentos son diferentes en las etapas fisiológicas del animal, durante el crecimiento y engorde, para un animal de 3-4 kg, el requerimiento es de 130 g de alimento balanceado granulado por día. Un adulto joven necesita para mantenimiento de peso corporal 150 g de alimento balanceado granulado por día.

Hidratación por sistema de abastecimiento automático con agua corriente por chupetes.

-Zona con condiciones microbiológicas compatibles con la ausencia de comorbilidades. Desinfección periódica a intervalos regulares con hipoclorito de sodio. Esterilizaciones de jaulas periódicas con soplete, garrafa y llama o autoclave.

-Corral colectivo de recuperación funcional con un área de 8 m². Allí una vez al día, se liberaba a todos los conejos durante varias horas fuera de sus jaulas individuales para mejorar sus movimientos, estado anímico y cicatrización. Esto se realizó antes de la cirugía y luego de ella. Estaba delimitado por alambre de cerco y media sombra en un perímetro de área de trabajo de aproximadamente 1,5 m de alto. **(Apéndice B)**

Criterio de exclusión:

Solo se utilizaron conejos con especificaciones descritas en criterios de inclusión. No existían disponibles cepas endocriadas.

No se utilizaron hembras, para evitar períodos de celo, gestación, lactancia, receptividad sexual y canibalismo, todas variables que puedan afectar los resultados. Tampoco se incluyeron individuos menores de 9 meses. No se aceptaron individuos con peso menor de 2,5-2,7 kg. o mayor de 4,5-5 kg.

Ética en los Procedimientos. Justificación del uso y experimentación con animales

Animal: Todo miembro no humano de grupos de vertebrados (mamíferos, aves, reptiles, anfibios, peces) e invertebrados (caracoles, gusanos, crustáceos).

El manejo ético de los animales de experimentación respetó tres principios:

Reemplazo: método “in vivo”, animales inconscientes en período operatorio por uso de anestesia y analgésicos.

Reducción: número de animales reducidos sin detrimento de la precisión por control de influencias ambientales, publicación de datos aunque sean negativos, métodos estadísticos avanzados con mínima muestra necesaria para la significación estadística

Refinamiento: uso de analgésicos, sedantes, técnicas mínimamente invasivas, personal capacitado a los fines de la tarea a realizar, aplicación de eutanasia anticipada si se presentaba situación que lo requiriera. **(Russell & Burch, 1959)**

Descripción detallada del trabajo experimental definiendo los alcances, responsabilidades y tareas que realizó el personal involucrado en el proyecto con autorización previa (Convenio Operativo) de la Facultad de Odontología de La Plata (FOLP-UNLP) y del Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV) de la UNLP. **(Anexo A)**

Los integrantes del equipo de investigación siguieron los procedimientos basados en las normas de las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP), definida como el conjunto de estándares del sistema organizativo y condiciones bajo las cuales un estudio no clínico es planteado, realizado, reportado y archivado. **(Ridley, 2009)** Consideraciones éticas, legales y de sentido común restringen la investigación en humanos, por esta razón el uso de un modelo animal de experimentación para el estudio fisiopatológico humano ha tenido un importante rol en comprender y definir protocolos adecuados para las diferentes patologías. Estas prácticas

cumplen normas de ética y Bienestar Animal completamente reguladas por Instituciones y Comités de Ética especializados. A continuación se detallan:

- *International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS), United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO)*
- *Council for International Organization of Medical Sciences (CIOMS)*
- Asociación Argentina para la Ciencia y Tecnología de Animales de Laboratorio (AACyTAL)
- *Canadian Association for Laboratory Animal Science (CALAS)-Good Laboratory Practice (GLP) Second Edition de la World Health Organization (WHO).*
- *Guide for the Care and use of Laboratory Animals (NRC/ USA/ 1996).*
- Ley Nacional N° 14346 sobre la protección de animales (1954).
- Disposición N° 6344/96 de la ANMAT sobre requisitos para Bioterios.
- Resolución N° 617/02 Anexo 1 del SENASA sobre habilitación de Bioterios.
- Resolución CS N° 4081 de la Universidad de Buenos Aires sobre el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (2004).

Compromiso para el Cuidado y Uso Ético de los Animales de Laboratorio

El personal participante del trabajo de laboratorio leyó y se comprometió a cumplir y conducir el plan de tesis doctoral y protocolo de investigación de acuerdo con los principios éticos de carácter humanitario (**Feijó, 2005**) y cristiano (**Linzey, 1985**) que se requieren en el uso de animales de experimentación. De igual manera existió compromiso en el respeto de los aspectos relativos al cuidado y uso de animales de laboratorio que se manifiestan en la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la agencia norteamericana *Nacional Research Council (NRC, 1996)*.

Si bien se trató de un trabajo de investigación aplicada en un modelo animal, se tuvieron en cuenta consideraciones éticas para investigación clínica humana. Como referencia:

- *Tri-Council Policy Statement 2 (TCPS 2, 2018). Ethical Conduct for Research Involving Humans. Health Canada Food and Drug Regulations.*
- *International Council for Harmonization (ICH), guías sobre Buenas Prácticas Clínicas. (ICH, 2016)*
- Recomendaciones de la Declaración de Helsinki para investigación médica de la Asamblea Médica Mundial (AMM). El progreso de la medicina se basa en la investigación que, en último término, debe incluir estudios en seres humanos. El propósito principal de la investigación médica es comprender las causas, evolución y efectos de las enfermedades y mejorar las intervenciones preventivas, diagnósticas y terapéuticas (métodos, procedimientos y tratamientos). Debe ser segura, eficaz, efectiva, accesible y de calidad. Debe ser conforme a la moral y principios científicos que justifiquen la investigación médica, debiendo ser basada en experimentos de laboratorio y modelos animales u otros criterios científicos establecidos. Debe ser conducida solo por personal científicamente cualificado o bajo supervisión de un experto en investigación. No puede ser legítimamente llevada adelante a menos que la importancia del

objetivo este en proporción al riesgo inherente del sujeto que recibe el tratamiento. Todo proyecto debe ser precedido por una cuidadosa planificación/evaluación de los riesgos inherentes en comparación a los beneficios procurados para el sujeto u otros. El investigador debe ejercer especial cuidado en desarrollar investigaciones donde se pueda alterar la personalidad del sujeto por medio de fármacos o procedimientos experimentales. La investigación médica debe realizarse de manera que reduzca al mínimo el posible daño al medio ambiente. **(JAMA, 2013).**

Categorización del experimento

El protocolo debe especificar que categoría le corresponde según el grado de agresión que causa a los animales. Existen 5 categorías: A; B; C; D; E.

La tesis pertenece a la Categoría B de experimentación, sobre categorías de experimentos basadas en preocupaciones éticas de la guía *Laboratory Animal Science (AALAS, 1987)*

En esta categoría están comprendidos los experimentos que causan estrés o dolor leve o dolor de corta duración. Ejemplos: Estudios en vertebrados que demandan la canulación o cateterización de vasos sanguíneos o cavidades corporales, bajo anestesia; procedimientos de cirugía menor bajo anestesia, tales como biopsias y laparoscopia, inyección por vía intracardiaca o intratorácica; lapsos cortos de inmovilización que van más allá de la simple observación o examen, pero que causan distrés mínimo; lapsos cortos de privación de agua y/o alimento que exceden los periodos de abstinencia en la naturaleza; experimentos conductuales en animales conscientes que involucran inmovilización estresante de corta duración; estímulos nocivos de los cuales es imposible escapar.

Categoría de Discomfort Moderada según *European Biomedical Research Association (EBRA), Experiments on Animals Act*, legislación para la experimentación animal en los Países Bajos. **(IVD, 2014)**

Se tomó como referencia la clasificación de fracturas expuestas de Gustilo:

Grado I: herida puntual desde el interior al exterior sin complicaciones (infecciones, no recuperación, amputación).

El Grado I de Gustilo: correspondería al trauma provocado y tratado en el presente estudio, pero con una herida desde el exterior hacia el interior.

Grado II: Laceración asociada con fracturas abiertas 10 % de casos con complicaciones.

Grado III: Componente traumático de la herida.

Grado III, A: Suficiente tejido blando para cubrir el hueso, complicaciones menores hasta 10 %.

Grado III, B: Hueso expuesto remanente después del desbridamiento, complicaciones menores hasta 50 %.

Grado III, C: Mayor injuria vascular concomitante a la extremidad, complicaciones mayores al 50 %.

(Gustilo et al., 1984)

Según la clasificación alfanumérica de Maurice Müller AO la lesión ósea diafisaria en peroné corresponde a la A3 y la lesión ósea para tomar la biopsia bicortical metafisiaria-epifisiaria corresponde al número 41 A1

metafisiaria simple, no afecta la articulación. En esta clasificación no se tiene en cuenta la diferencia entre metáfisis y epífisis, se las considera como una zona topográfica única. **(Müller, 1991)**

En peroné se estudió la consolidación con callo óseo, se logró estabilidad parcial, con la tibia como “férula”. Solución de continuidad sin osteosíntesis y osificación funcionalmente estable análoga a la producida con carga compartida.

Se aplicaron medidas de preparación prequirúrgicas para adaptar al animal y eliminar o reducir el dolor, el estrés quirúrgico. Se usaron anestésicos, sedantes, analgésicos, acompañados de cuidados posquirúrgicos. Provisión de alimento, hidratación, alojamiento, higiene, temperatura, iluminación, espacio necesario para otorgar condiciones de vida adecuada.

El objetivo fue validar terapéuticas en OHB, cumpliendo con los fundamentos que rigen la actividad científica: eficacia para demostrar que una diferencia menor sería significativa; eficiencia, para comprobar que la significación sería satisfactoria si se encontraba una diferencia estadística con la menor cantidad de animales posibles.

El protocolo de oxigenoterapia hiperbárica utilizado tuvo como antecedente procedimientos terapéuticos para las siguientes indicaciones:

-Indicación de OHB en pie diabético grado 3 de Wagner, úlcera que afecta tendón, músculo y/o hueso, articulaciones. **(Wagner, 1981)** Tratamiento: 2,5 ATA, 90 min, 1 sesión por día, 5 días correlativos, 2 de descanso, hasta completar 30 sesiones. Total 45 días de terapia.

-Protocolo de Robert Marx 20/10 2,4 ATA, 90 min, 1 sesión por día, 20 días antes de la cirugía y 1 sesión por día 10 días posteriores. Utilizado para tratamiento de osteorradionecrosis mandibular en el Centro Médico White Hall, Universidad de Miami (USA). **(Marx, 1983)**

No existe un modelo animal perfecto extrapolable al hombre, pero existen gran cantidad de modelos experimentales, cuyas respuestas posibilitan evidenciar la importancia biológica del efecto observado.

El tratamiento de OHB y Control se realizó en el Bioterio de la Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV) de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Un Bioterio es un recinto construido y habilitado con requisitos técnicos y equipamientos suficientes para criar, mantener y experimentar con animales. Debido a la estandarización ambiental (macro y microambiente), nutricional, genética, microbiológica y sanitaria.

Se garantiza el bienestar animal permitiendo que el modelo animal se convierta en un instrumento de medida calibrado para obtener datos confiables, válidos y reproducibles, obteniendo a partir de una muestra conclusiones sobre una población homogénea y definida según recomendaciones nacionales e internacionales. El diseño del área de trabajo se planificó para reunir condiciones de flexibilidad, mantenimiento sencillo y posibilidades de expansión para satisfacer necesidades del investigador, colaboradores y animales. Las áreas de trabajo se adaptaron en la medida de lo posible reuniendo las especificaciones de temperatura, humedad, pisos, paredes, cielorrasos, ruidos, cierre de comunicación con otros sectores, eliminación de residuos patogénicos y convencionales, seguridad biológica, reglas de acceso

del personal, barreras relativas (**Clark et al., 1997**) para estabilizar las condiciones ambientales de las áreas restrictas, minimizando la probabilidad que organismos patógenos entraran en contacto con la población animal del área de trabajo y alojamiento.

Los procedimientos y protocolo bien definidos colaboran en mejorar los resultados y el bienestar animal. Se diferenciaron actividades limpias y sucias, con la finalidad de evitar contaminaciones cruzadas. Acceso de personal estrictamente controlado y autorizado. Todos los lugares de trabajo acondicionados para facilitar la limpieza y desinfección. Cámaras de seguridad en los accesos a las instalaciones, cambio de cerraduras.

La unidad edilicia de investigación para realizar el trabajo de campo se recicló, su ubicación estaba cercana al quirófano, al lugar de alojamiento de animales, y al servicio de radiología. Se instalaron barreras sanitarias para proteger a los animales y los participantes de la experiencia. Se respetaron normas de bioseguridad. Los procedimientos de toma de muestras séricas, orina y el suministro de OHB, se realizaron dentro de este ámbito. Las tareas quirúrgicas se realizaron en el Servicio Central de Cirugía FCV-UNLP.

Ensayo preliminar. Prueba piloto quirúrgica.

En febrero de 2011 se realizó un acto quirúrgico en el quirófano del Servicio Central de Cirugía FCV-UNLP donde se desarrolló la técnica anestésica en un conejo neozelandés de aproximadamente 2,5 kg de peso, de 3 a 5 meses de edad, macho. Era necesario registrar: el comportamiento del animal bajo el efecto de fármacos anestésicos que se usarían posteriormente en la prueba piloto; el tiempo de trabajo que se podría lograr con el protocolo escogido; como sería la toma de la muestra sérica basal intraoperatoria utilizando como vía vascular la vena marginal de la oreja. También se contempló el proceso de recuperación de la anestesia y como el individuo recuperaba gradual y correctamente sus funciones motoras y neurológicas normales.

A finales de octubre de 2011 se desarrolló la prueba piloto para poner en práctica la totalidad de las maniobras quirúrgicas que se debían aplicar posteriormente en el plan de tesis diseñado.

En diciembre de 2011 se encargó a la Cátedra de Producción Animal de la FCAyF de la UNLP que fuera generando un lote de treinta conejos machos todos ellos de la misma raza, se decidió que serían todos californianos, se esperaba a que pesaran 3-4 kg, que tuvieran 8-9 meses de edad para extrapolar los resultados a humanos de una edad aproximada de 17-24 años.

Mientras tanto entre los meses de febrero y marzo de 2012 comenzó la preparación del traslado de la cámara hiperbárica de experimentación desde el Centro de Medicina Hiperbárica Mauvesin-Espinosa, en la ciudad de Mar del Plata. **(Figura 19)** Se hicieron numerosos viajes previos para lograr una aceptable familiarización con los detalles del funcionamiento e instalación operativa de la cámara hiperbárica en un nuevo ámbito. En abril ya se contaba con la cámara para comenzar las primeras experiencias con oxígeno y aire sin el uso de animales. Posteriormente, se iniciaron las primeras prácticas con dos conejos del lote de cuatro que participaron en la prueba piloto quirúrgica, era preciso conocer su comportamiento en un ámbito con atención más individualizada, e iniciar las actividades que llevarían a aplicar los protocolos de oxigenoterapia hiperbárica. Fueron desarrollados separaciones o paneles divisorios del diámetro interior de

la cámara para que los animales tengan un compartimiento individual dentro de ella y no tuvieran posibilidad de enfrentarse, todo esto debido al “aviso” que hacía referencia al riesgo de castración si se peleaban entre machos. En marzo de 2012 el Bioterio de la FCV de la UNLP cedió una sala para desarrollar las actividades científicas e instalar la cámara hiperbárica de experimentación. Primero hubo que limpiar, impermeabilizar el techo, pintar el piso, paredes externas e internas, reparar puertas y cerraduras, instalar iluminación externa. Para luego considerar elementos de seguridad como cámaras, pasadores, llave térmica, póliza de seguro para los equipos que quedarían diariamente en el lugar. Cumpliendo con normas generales de bioseguridad, higiene sanitaria y particulares para OHB, se instalaron los botellones de oxígeno, las conexiones y facilidades diversas necesarias para poder trabajar si era necesario quince o dieciséis horas seguidas por día, concretamente hubo que trasladar una cantidad considerable de elementos esenciales para poder trabajar con relativa comodidad durante varios meses. Durante la puesta a punto de la sala en el bioterio, se realizó un monitoreo periódico del lote de conejos que se utilizarían para el estudio principal, se montó un corral para que día por medio los animales estuvieran sueltos y se movieran libremente para evitar hacinamiento, estrés, lesiones plantares o defectos morfológicos de crecimiento y motores, se mejoró al máximo posible el micro y macroambiente siguiendo premisas de las buenas prácticas de laboratorio mejorando de esta manera el estado de ánimo y la calidad de vida de la colonia de individuos. Se utilizaron para la prueba piloto quirúrgica cuatro conejos machos, con un peso entre 2 y 3 kg, exocriados, de 3 a 5 meses de edad, identificados con tatuajes números 600; 549; 569; 572, **(Figura 4)** dos neozelandeses y dos californianos. Esto debido a que se quiso observar si existía algún dato diferencial contemplando genotipo y fenotipo. **(Figura 5)** Anestesia general con morfina-acepromacina-propofol; rasuradora para zona de abordaje quirúrgico en miembro posterior izquierdo y oreja para toma de muestras séricas, iodopovidona como antiséptico para el campo operatorio, trefina para la toma de la biopsia para la histomorfometría ósea; campos estériles e instrumental quirúrgico en general; suturas no reabsorbibles atraumáticas de nylon (amnesia); antibióticos enrofloxacina; analgésicos ketoprofeno. Los dos conejos restantes que no recibieron tratamiento quirúrgico se utilizaron para obtener datos de muestras séricas y compararlas con los que fueron operados.

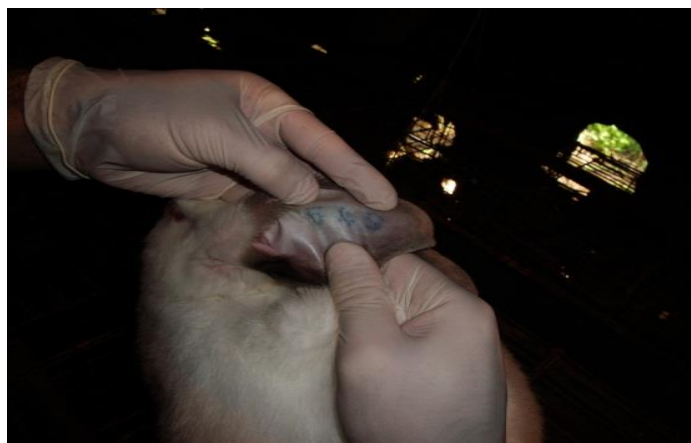


Figura 4. Tatuaje para identificación prueba piloto.

Figura 5. Alojamiento individual prueba piloto.

Las actividades quirúrgicas fueron desarrolladas dentro de un espacio de trabajo dividido en zonas: prequirúrgica, quirófano, área posquirúrgica de recuperación (caniles); área de alojamiento de los animales. Se realizó la selección de dos conejos, uno neozelandés (569) y otro californiano (572) para efectuar dos actos quirúrgicos. Una operatoria quirúrgica en cada uno de ellos el mismo día, octubre 27 de 2011. Marcado previo con clorhidrato de oxitetraciclina 0,5 ml/25-27 mg. **(Figura 6)** Preparación 72 h antes de realizar la técnica quirúrgica, se detalló pronóstico y riesgo quirúrgico, tratando de disminuir al mínimo posible el estrés del animal. Administración de un relajante muscular para sedación (Diazepan 0,5-2 mg/kg EV o IM); se realizaron maniobras a fin de prevenir el sufrimiento y riesgo de muerte por arritmia, hipertensión e hipertermia. Exploración física, ayuno preoperatorio de 3 a 4 h, hidratación mínima imprescindible.



Figura 6. Marcación con oxitetraciclina.



Figura 7. Anestesia general.



Figura 8. Delimitación del campo operatorio

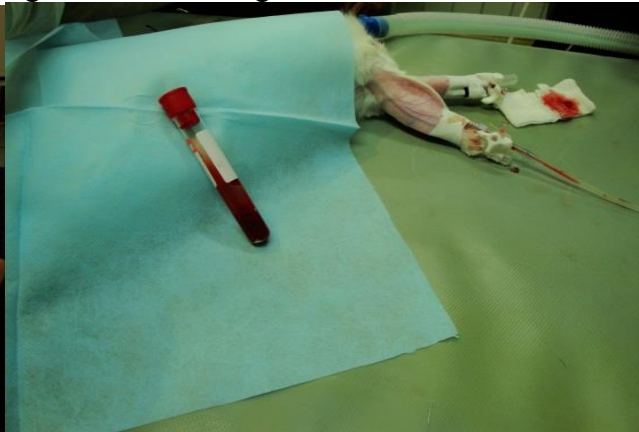


Figura 9. Muestra sérica y vía de abordaje.



Figura 10. Maniobras iniciales incisión.



Figura 11. Divulsión, separación y hemostasia.

Primer acto quirúrgico

Rasurado de la zona de abordaje quirúrgico; antisepsia con iodopovidona; anestesia general (**Figura 7**) morfina 0,2-1mg/kg SC-acetilpromacina 0,025-0,05 mg/kg SC-propofol 2-6 mg/kg EV; delimitación del campo quirúrgico con compresas estériles (**Figura 8**). (**Kohn, 1997**) Se tomó una muestra sérica de 2 ml de la vena marginal de la oreja y arteria central de la oreja para dosar osteocalcina, calcemia y fosfemia (**Figura 9**). La misma vía se utilizó para monitoreo con un catéter de presión arterial 90-70 mmHg y medición de gases. Se evaluó la posibilidad de utilizar la vena cefálica de las extremidades anteriores que sirve para administración de fármacos como antibióticos, analgésicos y anestésicos. El inicio de la cirugía se hizo con el animal en decúbito lateral (**Figura 10**), luego de comprobada la existencia de reflejos palpebrales o reacción al pellizco de oreja y muslo; incisión con bisturí sobre la piel y divulsión de tejido aponeurótico muscular con tijera metzelbaum y periostótomo para lograr la exposición de la superficie ósea de la tibia tomando como referencia reparos anatómicos anteriormente descritos (**Figura 11**). Separados los tejidos con separadores autoestáticos y dinámicos, con un campo operatorio isquémico, se obtuvo una muestra o biopsia ósea bicortical con una aguja trefina (**Figura 12**), el tejido fue fijado en formol al 10 % para posteriormente procesarlo en el laboratorio por histomorfometría; sutura por planos (**Figura 13**); recuperación funcional dentro del quirófano las primeras tres horas; terapia antibiótica postoperatoria con enrofloxacin y analgésica antiinflamatoria con ketoprofeno. Control postquirúrgico (**Figura 14**)



Figura 12. Trefina.



Figura 13. Sutura por planos.



Figura 14. Aspecto postoperatorio de la lesión.



Figura 15. Toma de imágenes radiográficas.



Figura 16. Rx fractura de peroné.

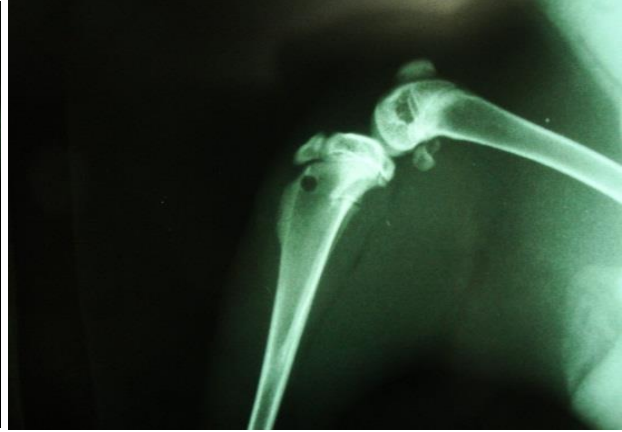


Figura 17. Rx biopsia ósea bicortical de tibia.

Segundo acto quirúrgico

Rasurado de la zona de abordaje quirúrgico; antisepsia con iodopovidona; delimitación del campo quirúrgico con compresas estériles; anestesia general morfina-acepromacina-propofol; inicio de la cirugía, el animal en decúbito lateral. Se comprobó existencia de reflejos palpebrales o reacción a pellizco; toma de muestra sérica de 2 ml de la vena marginal de la oreja para dosar osteocalcina, calcemia y fosfatemia; incisión con bisturí sobre la piel; divulsión de tejido aponeurótico-muscular con tijera metzelbaum y periostótomo para lograr la exposición de la superficie ósea de la tibia. Separados los tejidos con separadores autoestáticos y dinámicos, logrado un campo isquémico, se obtuvo una muestra o biopsia ósea bicortical con una aguja trefina, el tejido fue fijado en formol al 10 % para posteriormente procesarlo por histomorfometría. Marcación previa con oxitetraciclina; con una pinza gubia se fracturó el peroné; sutura por planos; recuperación funcional dentro del quirófano las primeras tres horas; terapia antibiótica postoperatoria (enrofloxacina), y analgésica antiinflamatoria (ketoprofeno). En ambos conejos se hicieron radiografías de tibia y peroné con dos incidencias, cráneo caudal o antero posterior (**Figura 16**) y otra vista lateral o medio lateral (**Figura 17**) junto al dosaje sérico de osteocalcina, calcio y fosfato semanalmente hasta la resolución de ambas lesiones óseas.



Figura 18. Cámara hiperbárica de experimentación. Figura 19. Centro de Medicina Hiperbárica Mar del Plata, Esp. OHB Mauvesin y Espinosa.

En esta etapa se logró comprobar el tiempo de consolidación del callo óseo en la zona de la biopsia ósea en tibia, también donde se realizó la fractura de peroné. Estos datos no incluían todavía el tratamiento de OHB, se tomaron radiografías y se procesó el estudio histomorfométrico. Pudo determinarse el tiempo de recuperación de los tejidos traumatizados de conejos californianos en el postoperatorio sin OHB. Se obtuvo un resultado extrapolable fisiopatológicamente con una lesión similar en el humano, los tiempos eran similares, la cicatrización y formación del callo óseo no era más rápida como describía la bibliografía, se observó que la formación del callo óseo se concretó con tratamiento convencional en 45 a 50 días aproximadamente (conejos 572 y 569). No hubo presencia de infecciones anaerobias secundarias al trauma sin OHB en conejos 572 y 569. En un mismo individuo se hicieron dos lesiones: en tibia una lesión de biopsia bicortical y en peroné una fractura. Estas lesiones eran compatibles con una adecuada recuperación de los animales a mediano y largo plazo, por esto se resolvió que en los tres grupos experimentales de la experiencia definitiva cada animal sería intervenido quirúrgicamente con toma de biopsia en tibia y fractura de peroné. Las muestras de biopsia ósea se mantuvieron en formol 10 %, luego se realizó su estudio histomorfométrico. El grado de limitación del movimiento de articulaciones sin OHB fue reducido o nulo, no se presentaron casos de artritis o artrosis postoperatorias. No se requirió amputar ningún miembro en 572 y 569. No hubo muertes relacionadas con los procedimientos experimentales. Surgió como primera inquietud, que debería realizarse un correcto estudio bioquímico de metabolismo óseo. Contando con mayor cantidad de datos y marcadores séricos de actividad ósea y metabolismo fosfocálcico por la acción de OHB. También había que medir la función renal y hepática durante los tratamientos. Para lograrlo fue necesario obtener un volumen sanguíneo cercano a los 10 ml por toma (**Figura 28**), por este motivo el equipo de trabajo procuró otra vía de extracción de sangre. Se obtuvieron varias muestras de sangre en conejos 600 y 549 de la vena yugular externa. Una toma por semana durante un mes para comprobar que la técnica era compatible con la sobrevivencia del animal, a pesar que en el estudio nunca sería necesario repetir esta frecuencia de toma de muestras en un solo individuo. Cada semana, por sorteo de grupo y rotación, se tomaban muestras séricas de diferentes conejos pertenecientes a cada grupo de 8 individuos.

La premisa fue mejorar la técnica quirúrgica, valorando el principio de reducción (**Russell & Burch, 1959**), el cual establece que la cantidad de individuos utilizados en toda experiencia se debe reducir al mínimo indispensable. Se optó por realizar únicamente dos necropsias previas al inicio del plan de tesis. Finalmente se realizó solo una necropsia antes de la cirugía de los 24 miembros del estudio formal. La necropsia sirvió para practicar las técnicas que se emplearían en el quirófano. El peso de cada animal se estandarizó entre 3 y 4 kg de peso, porque una vez iniciada la experiencia se verían sometidos a una rutina compleja donde podían perder algo de su masa corporal. El lote tendría que ser homogéneo, de conejos californianos, machos de la misma edad, jóvenes adultos. Para medir el porcentaje del suministro de oxígeno en la cámara hiperbárica de experimentación no se podía tomar como referencia el contenido declarado de cada botellón. Los botellones

habitualmente contienen porcentajes de O₂ inexactos cercanos al 100 %, para lograr precisión a las presiones de trabajo tanto con aire como con O₂, se necesitó contar con un oxímetro digital, marca Analytical Industries Inc. (EEUU). Para definir el número máximo de animales que ingresarían por sesión se evaluó el comportamiento animal dentro de la cámara bajo condiciones hiperbáricas y claustrofobia. Originalmente se creyó que el volumen interno de la cámara solo permitía el tratamiento de tres animales en cada oportunidad, luego de las pruebas preliminares se comprobó que entraban más animales y que los compartimientos no eran necesarios ya que no se presentaban riñas. Toda la experiencia se pudo hacer atendiendo en forma simultánea cuatro animales en cada sesión. En esta etapa se estandarizó el tiempo de trabajo por día y la logística del manejo de una cantidad numerosa de animales. Su traslado, administración de algún tratamiento complementario local luego de la OHB y realojamiento en jaulas individuales, rehabilitación funcional en el corral colectivo. En promedio 11-12 h/día de trabajo. Se corrigió la logística en la manipulación de las muestras séricas, para mejorar su conservación, traslado y manejo de tiempos máximos sin deterioro. La técnica de recolección de orina en animales de experimentación se homologó para que pueda ser procesada en un laboratorio bioquímico con tecnología y técnicas para dosaje de ese tipo de muestras. Marcaje con tetraciclinas (oxitetraciclina): administración durante tres días previos a la cirugía del 24/10/12 al 27/10/12, posteriormente desde el día 4 (primer día posterior a la cirugía) hasta el 14 sin administración oxitetraciclina, luego de transcurridos 10 días se reanudó la marcación con oxitetraciclinas por 3 días adicionales. Finalmente se realizó la biopsia ósea. Fueron escogidas las incidencias radiográficas más convenientes para seguir la resolución de las lesiones. Se realizaron radiografías postoperatorias inmediatas al postoperatorio, semanalmente hasta los 45-50 días posteriores a la cirugía en conejos 572 y 569. Igual secuencia para la toma de muestras séricas.

Ensayo preliminar de OHB, áreas de trabajo, estandarización del lote de animales, logística, insumos.

Finalizada la primera prueba piloto donde se perfeccionó la totalidad de las maniobras quirúrgicas que se debían aplicar en el plan de tesis, se encargó a la Cátedra de Producción Animal de la FCAyF de la UNLP que fuera generando un lote de aproximadamente treinta conejos machos californianos, peso 3-4 kg, de 8-9 meses de edad. A partir de esa edad pueden realizar su primer servicio a la hembra, y a su vez, la hembra puede recibir la fecundación del óvulo. La actividad sexual de los gazapos inicia entre el tercero y cuarto mes. Entre los meses de febrero y marzo de 2012 se dio comienzo a la preparación del traslado desde Mar del Plata de la cámara hiperbárica de experimentación, propiedad del Centro de Medicina Hiperbárica (CMH) de esa ciudad (**Figura 18**). En abril de 2012 ya se contaba con la cámara, de esta manera fue posible comenzar con las primeras experiencias con oxígeno y aire sin el uso de animales. Definida esa etapa, con dos conejos del lote de cuatro que participaron en la prueba piloto quirúrgica, se dio inicio a las actividades que llevarían a la aplicación de los protocolos de oxigenoterapia hiperbárica. En marzo de 2012 el Bioterio de la FCV-UNLP cedió una sala para desarrollar las actividades científicas e instalar la cámara hiperbárica

de experimentación. Primero hubo que limpiar, impermeabilizar el techo, pintar el piso, paredes externas e internas, reparar puertas y cerraduras, instalar iluminación externa. Para luego considerar elementos de seguridad como cámaras, pasadores, llave térmica, póliza de seguro para los equipos que quedarían en el lugar. Una vez concretado, considerando normas generales de seguridad e higiene sanitaria e industrial, sumadas a las específicas para ámbitos donde se trabaja con OHB, se instalaron los botellones de oxígeno, las conexiones y facilidades diversas, necesarias para poder trabajar si era necesario quince o dieciséis horas seguidas por día, concretamente hubo que trasladar una cantidad considerable de elementos y herramientas para poder trabajar con relativa comodidad. Mientras tanto, se puso a punto la sala en el bioterio se realizó un monitoreo periódico del lote de conejos que se utilizarían para el estudio principal. El movimiento dentro del corral evitó problemas de hacinamiento, estrés, lesiones plantares o defectos morfológicos de crecimiento y motores. Se mejoró al máximo posible el micro y macroambiente siguiendo premisas de las buenas prácticas de laboratorio.

Tratamientos en Cámara Hiperbárica

Cada sesión de tratamiento de cámara hiperbárica tiene cuatro fases: compresión, isopresión (meseta), descompresión y pospresurización o postratamiento.

1-Compresión: el ingreso de gas al organismo se realiza a través de las vías aéreas hacia el alveolo pulmonar, donde se produce el intercambio gaseoso con la sangre. El gas inhalado pasa por el surfactante pulmonar (tensioactivo biológico) a los capilares alveolares, venas pulmonares, al corazón y a los tejidos, desde el lugar con mayor presión hacia el de menor presión por difusión. El gas disuelto en un líquido se hace más soluble a medida que aumenta la presión ejercida sobre el líquido. La hemoglobina queda saturada con oxígeno en sangre arterial y venosa, el plasma también se satura y luego los tejidos.

2-Isopresión: no hay cambios de presión de gas en el organismo, si existen cambios en la composición gaseosa, el oxígeno disuelto en sangre en solución “reemplaza” a los gases inertes alojados en sangre y tejidos.

3-Descompresión: la presión parcial de los gases se hace menor afuera del organismo que dentro del mismo. Se produce una desaturación del gas disuelto en los tejidos, pasa a la sangre para ser exhalado con la respiración, siguiendo el mismo principio de diferencia de gradiente de mayor presión parcial de gas hacia menor presión parcial. Si la descompresión se hace demasiado rápida, sin dar tiempo a este mecanismo, el gas disuelto en solución puede pasar a la fase gaseosa generando burbujas en sangre y tejidos. Esto puede generar los efectos Paul Bert o Lorraine-Smith, embolia gaseosa, o enfermedad por descompresión. Una descompresión rápida también puede provocar barotraumas en el oído medio. Son más raros los barotraumas de senos paranasales y neumotórax.

4-Postpresurización: saturación de los tejidos más lentos el oxígeno continúa su acción terapéutica por cuatro horas en las primeras sesiones, a partir de la séptima sesión este tiempo se reduce a media hora.

(Subbotina, 2006)

La medición del porcentaje de oxígeno en la cámara hiperbárica de experimentación se hizo con el analizador de oxígeno digital (**Figura 46**).

Terminada la fase de tareas programadas, se procedió al traslado de la cámara a la sala-laboratorio del Bioterio, allí continuaron las tareas hasta el inicio formal del estudio. Las biopsias óseas de la prueba piloto fueron procesadas en el Hospital Italiano de Buenos Aires. (**figuras 20 y 21**)

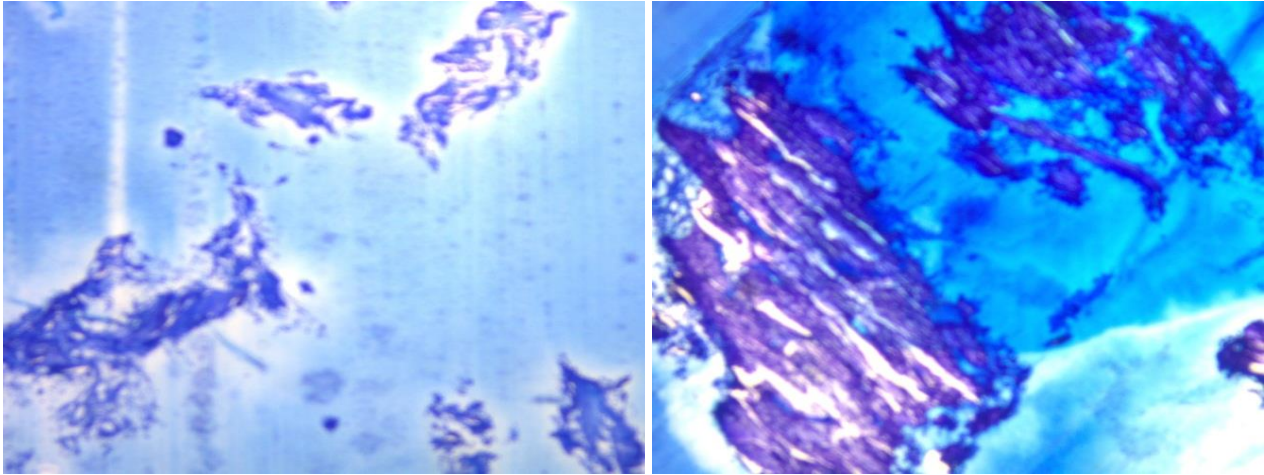


Figura 20. Biopsia ósea basal prueba piloto 569. Figura 21. Biopsia ósea basal prueba piloto 572.

Cuidado y bienestar animal en la prueba piloto

El peso deseado del lote de animales se estandarizó con la medición de peso periódico durante los meses que duró la experiencia. El lote de animales comenzó a prepararse luego del destete, en diciembre de 2011. Esos meses sirvieron para llevar un registro de morbilidad y familiarización con el comportamiento de la especie. Los animales fueron tratados individualmente con el mayor cuidado y respeto, considerando las circunstancias particulares de una investigación. En un corral o espacio relativamente amplio los conejos pudieron moverse con libertad y relacionarse, por motivos de seguridad pasaban la noche en jaulas individuales. Esto junto a unas camas de plástico perforadas en cada jaula ayudó a que no se lesionaran las plantas de las patas. La recuperación funcional luego de la cirugía se realizó fuera de las jaulas. Periódicamente aprovechando que los animales se encontraban sueltos en el corral, se hacía la limpieza y desinfección de las jaulas con soplete, las camas plásticas se desinfectaban con hipoclorito. Las heces eran retiradas periódicamente porque con el correr de los meses se acumulaban debajo de las jaulas, el suministro de agua y comida debía ser continuamente monitoreado.

Métodos de laboratorio para obtener muestras óseas, séricas y de orina

Se realizaron mediciones séricas con una frecuencia semanal, debía comprobarse si a un conejo se le podía extraer cerca de 10 ml de sangre cada siete días durante treinta días. Obtenidas las muestras basales, según el diseño experimental, ningún conejo se vería sometido a una situación de toma de muestras séricas semanal. Dentro de cada grupo se rotaría la frecuencia, eligiendo diferentes individuos cada semana. De esta manera se logró un “techo” de tolerancia para el método de medición, luego habría que sumar el estrés del traslado, el tratamiento de OHB, el pasaje del corral a la jaula individual, etc.

La técnica de recolección de orina tuvo que ser definida y mejorada, para adaptarse a pequeños animales de laboratorio y ser debidamente procesada en un laboratorio bioquímico con aparatología y técnicas para dosar muestras humanas. Se filtró restos de alimentos o heces que afectarían los resultados en el laboratorio. La orina de 24 h, es un estudio complementario de gran utilidad para el diagnóstico clínico. El análisis constaba de observación de la muestra y examen químico.

Hubo que confirmar el volumen de orina normal de un conejo, pH, densidad, marcadores de salud comparados con patologías agudas, crónicas o prevalentes y las que aparecieran por los procedimientos de la experiencia. Las primeras muestras eran no dosables, fueron definidas “turbias o sucias”.

Para esta labor la Cátedra de Producción Animal de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (FCAyF-UNLP) facilitó unos bastidores de madera que enmarcaban una malla de aluminio delimitado a la misma medida de la base de las jaulas. Los usaban en otras experiencias para recolectar heces. Sirvieron perfectamente al propósito con el único agregado de un plástico debajo del tejido. Este reservorio contenía la orina y el tejido retenía las heces.

Materiales para la prueba piloto de OHB. La experiencia preliminar con oxígeno hiperbárico requirió cuatro conejos californianos machos, tatuados, de cinco meses de edad, de 3,5 kg, provistos por la Cátedra de Producción Animal (FCAyF)-UNLP y los conejos 569 y 549, seis en total. Los animales fueron sorteados para obtener tres grupos de dos conejos cada uno que formarían un grupo control, y dos experimentales con OHB, alternando el tratamiento durante los meses previos al inicio de la tesis.

Para esta etapa se utilizaron los siguientes elementos:

- Cámara hiperbárica de experimentación de los especialistas en OHB Mauvesin y Espinosa. **(Figura 19)** Equipamiento complementario de medición y seguridad.
- Material descartable para la toma de muestras séricas agujas y jeringas para insulina y Luer.
- Frascos, bastidores, bolsas plásticas para las muestras de orina.
- Compresor de aire libre de aceite Nardi Herrero.
- Botellones de oxígeno de 1 m³ y de 10,7 m³.
- Jaulas domésticas para conejos transportables de metal.
- Alimento balanceado para conejos.

Se logró el procesamiento histológico de las muestras obtenidas, permitiendo comprobar el estado óseo basal en conejos sin OHB por histomorfometría ósea. El volumen sanguíneo de 10 ml por cada muestra se logró por la vía IV yugular, reemplazando así la IV marginal de la oreja (2-3 ml). También se definió como sería la toma o manipulación del animal durante la extracción de sangre para evitar movimiento, lesiones colaterales (descaderamiento), o la inutilización de la vía vascular. Las técnicas para obtención de muestras séricas, su conservación, traslado y tiempos máximos sin deterioro fueron perfeccionadas y calibradas en el grupo de trabajo. En la cirugía definitiva o principal del plan de tesis se realizó en todos los casos una toma de muestra bicortical en tibia y una fractura de peroné en uno solo de los miembros posteriores. Se eligió el

izquierdo. Fue necesario hacer una necropsia previa al inicio del trabajo de campo con el fin de mejorar la técnica de abordaje quirúrgico. El lote de conejos se homogenizó. Se comprobó la eficacia del oxímetro digital. El tiempo de trabajo por día y la logística del manejo de 24 animales, diez horas diarias. El método de recolección de orina en animales de experimentación optimizado. No hubo muertes relacionadas con los procedimientos experimentales barométricos con OHB o Control. Se mejoraron y estandarizaron las destrezas y capacidades operativas en lo referente al manejo idóneo de una cámara hiperbárica Clase C (de experimentación) para tratamientos con oxígeno y control o placebo (aire). Fueron garantizadas las condiciones edilicias y de seguridad e higiene. Se organizó la rutina del manejo de botellones de oxígeno, su recambio seguro al agotarse el suministro, la logística con el proveedor para que nunca se presentara un corte en los tratamientos cuando estaban programados. Se definió el tiempo adecuado que llevaría la cirugía de todos los animales, si se haría en un día o en dos, porque la gran dificultad del diseño fue que sería prospectivo y contemporáneo. Se definieron los honorarios de los colaboradores, alquiler del quirófano, costo de estudios radiográficos, toma de muestras séricas, etc. La muestra se seleccionó a partir de una población disponible, homogénea, determinada por las condiciones de salud de los individuos. Definición de suministro de instrumental quirúrgico, elementos descartables, antisépticos para campo quirúrgico y en spray para aplicar en la herida, desinfectantes, anestésicos, analgésicos, antibióticos, suturas, compresas, agujas, jeringas, hoja de la rasuradora, etc. El recambio de los botellones de 10,7 m³ fue un procedimiento que requería el acercamiento del camión proveedor al laboratorio, para llevar y dejar cada semana dos botellones. En el alojamiento se pudieron mejorar condiciones de higiene, nutrición, hidratación, haciendo cuidados personalizados. Se programó cantidad de días sucesivos de tratamiento OHB e intervalo sin aplicación de OHB. El esquema terapéutico se definió en cinco días consecutivos de OHB y dos días de descanso sin OHB (5x2). Se hicieron tomas de radiografías basales de tibia, cadera y vértebras lumbares para evaluar la densidad mineral ósea prequirúrgica.

6.2 Secuencia de los procedimientos experimentales y material utilizado.

Trabajo de Laboratorio en FCV y FCAYF (UNLP).

Grupos Experimentales y Control

Se trabajó con dos grupos experimentales y uno control.

-Grupo 1 experimental con OHB Postoperatorio.

-Grupo 2 experimental con OHB Preoperatorio y Postoperatorio (Prepostoperatorio).

-Grupo 3 Control sin OHB (placebo).

Se compararon dos grupos experimentales con el grupo control.

El tamaño de la muestra se basó en una prueba piloto quirúrgica y de OHB, tiempos que llevarían los tratamientos, costos de los instrumentos de medición y honorarios del equipo de colaboradores.

La muestra de $n = 24$ (veinticuatro), permitió la posibilidad de dividirla en tres grupos de 8 (ocho) individuos cada uno para obtener datos estadísticos.

Áreas de trabajo

Las actividades fueron desarrolladas dentro de un esquema de áreas de trabajo divididas en zonas según secuencia de procedimientos:

1-área de alojamiento de los conejos FCAYF (UNLP). Bloque X y Bloque XI. **(Figura 22)**

2-área/sala de Oxigenoterapia Hiperbárica Experimental, Laboratorio Bioterio FCV (UNLP). Tratamientos OHB prequirúrgicos. **(Figura 23)**

3-área prequirúrgica, Quirófano FCV (UNLP) **(Figura 24)**

4-área de quirófanos 1 y 2 FCV (UNLP) **(figuras 25 y 26)**

5-área posquirúrgica, Quirófano FCV (UNLP) **(Figura 27)**

6-área de alojamiento de los animales FCAYF (UNLP)

7-área de Oxigenoterapia Hiperbárica Experimental, Laboratorio Bioterio FCV (UNLP). Tratamientos OHB posquirúrgicos.

8-área de radiología, Servicio Radiología FCV (UNLP) **(Figura 31)**



Figura 22. Área de alojamiento (FCAYF-UNLP).

Figura 23. Área de OHB (FCV-UNLP).



Figura 24. Área prequirúrgica (FCV-UNLP).

Figura 25. Quirófano 2 (FCV-UNLP).



Figura 26. Quirófano 1 (FCV-UNLP).



Figura 27. Área postquirúrgica (FCV-UNLP).

Toma de muestras séricas y de orina basales prequirúrgicas en los tres grupos. Manipulación y toma de muestras séricas y de orina.

Manejo y toma del animal específicos para la especie, para evitar su daño y accidentes del personal de investigación. Rasurado de la zona de toma de muestra sérica y antisepsia. Para la toma de sangre (10 ml) (**Figura 28**) se rotaban los animales elegidos para no repetir la toma de una semana a la otra en el mismo animal. Como eran ocho por grupo cada semana le tocaba a dos o tres individuos. Siempre con material descartable, guantes, tubos eppendorf y de hemograma correctamente sellados con rotulo, frascos para biopsias y recolección de orina adecuados y etiquetados. Conservadora con gel congelado para el traslado muestras hacia el laboratorio bioquímico y formol 10 % para los de estudio anatomopatológico. Traslado directo dentro de los plazos establecidos por los especialistas.

Primer marcaje con tetraciclinas: administración de clorhidrato de oxitetraciclina (overbiotic) SC 1 ml/55 mg, tres días previos a la cirugía de los 24 conejos. (**Figura 30**)



Figura 28. Toma de muestra sérica Luer 10 ml.

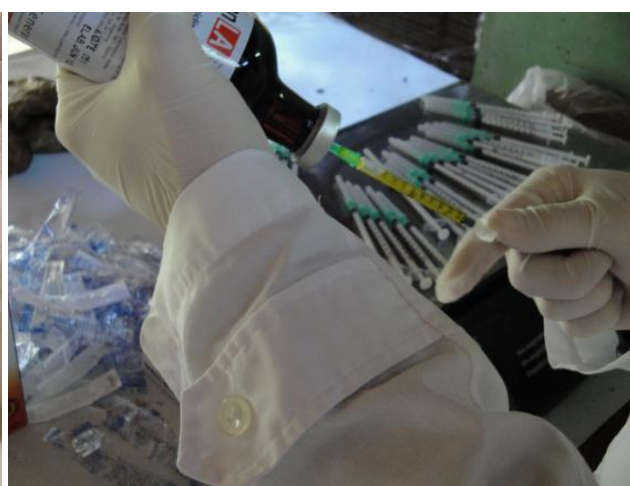


Figura 29. Materiales marcación ósea (oxitetraciclina).

Radiografías (Rx) preoperatorias: Rx cráneo-caudal y mediolateral de tibia y peroné de los 24 animales. Rx de cadera (frente) y vértebras lumbares (lateral). Área de radiología. (**Figura 31**)



Figura 30. Marcación histomorfometría dinámica. Figura 31. Área de radiología (FCV-UNLP).

Manejo preoperatorio: preparación de 72 h antes de realizar la técnica quirúrgica, se detalló pronóstico y riesgo anestésico-quirúrgico de los veinticuatro conejos californianos todos con certificado sanitario de FCV y FCAyF (UNLP). Disminución al mínimo posible el estrés de los animales. Semiología preoperatoria, examen clínico y evaluación previa del animal. Los animales admitidos para la cirugía experimental se evaluaron detalladamente, corroborando sus buenas condiciones generales de salud, peso y edad estandarizadas.

Alojamiento de los animales: cuidados y ubicados en el Estabulario o Recinto de alojamiento, descanso y recuperación de la Cátedra de Producción Animal (FCAyF), bajo condiciones de temperatura entre 13-18 °C y una humedad entre 60-85 %. Régimen alimentario estándar “ad libitum”, con un contenido de 16,5 % de proteína pura, 13,5 % de fibra, 1,2 % de calcio, 0,65 % de fósforo, 10000 UI de vitamina A y 2000 UI de vitamina D₃ por cada kg de comida. Tenor mínimo de proteína bruta 15; tenor mínimo de extracto etéreo 2; tenor máximo de fibra pura 19; tenor máximo de minerales totales 8; tenor máximo de humedad 13; tenor de calcio Mín.: 0,6 Máx.: 1; tenor de fósforo Mín.: 0,4 Máx.: 0,6; energía metabolizable 2300 Kcal/kg (composición centesimal) En bolsas de 25 kg cada una. Nutricentos S.A. (SENASA N° 8944/A/E-N° 12080/A/E). Alimento balanceado para conejo (SENASA. EXP. N° 182360/04-CERT N° 04-319/A). Ración constituida por alfalfa, harina de alfalfa deshidratada, maíz, trigo, afrechillo de trigo, salvado de trigo, cebada, girasol, soja, harina de soja, poroto de soja desactivado. Minerales: carbonato de calcio, cloruro de sodio, carbonato de cobalto, óxido de zinc, yodato de calcio, sulfato de cobre, óxido manganeso, sulfato ferroso. Vitaminas A, D₃; K₃; B₁; B₆; B₁₂; C; biotina; fólico; niacina; pantogénico; colina. Alimento pelleteado suministrado en comedores a libre acceso. Los consumos de alimento dependen de la etapa productiva del animal y pueden variar según la raza, épocas del año y condiciones de alojamiento y manejo. Agua a demanda (“chupetes”). El alojamiento de los animales estaba relativamente cercano al Bioterio, a unos 20 m de la sala de Sala de Oxigenoterapia Hiperbárica Experimental. Se planificó un esquema de provisión y transporte de los animales (carretilla), barreras sanitarias apropiadas, condiciones de ventilación, temperatura y humedad adecuadas para la especie. Aislación del área de alojamiento con separación física

del resto de las áreas de cría y producción con áreas restringidas para los animales de la experiencia. El personal de mantenimiento e ingenieros agrónomos informaban cualquier situación anormal, facilitaron llaves para el uso pleno irrestricto de las instalaciones las 24 h. Los animales en sus respectivas jaulas individuales se alimentaban e hidrataban ad libitum, se realizó desinfección y esterilización periódica de las jaulas. **(Figura 32)** El retiro de restos orgánicos debajo de las jaulas debía hacerse regularmente porque podían alcanzar una altura importante si se dejaban por meses, afectando la higiene y salud de los animales. En el sector de recuperación funcional todos los conejos se podían mover durante varias horas al día. **(Figura 44)**



Figura 32. Vista Bloque XI.



Figura 33. Área prequirúrgica, anestesia.



Figura 34. Área prequirúrgica, rasurado.



Figura 35. Antisepsia del campo operatorio.

Anestesia: se hizo una anestesia combinada de tres fármacos, administrados por vía subcutánea y respiratoria. Anestesia local tópica lidocaína o carticaína; anestesia general, inducción por vía inhalatoria con máscara isoflurano 4-5 %, isoflurano 2-3 % mantenimiento. **(Figura 33)** Administración miorrelejante y analgésico (agente preanestésico) Clorhidrato de Xilacina en solución inyectable intramuscular 1-2 mg/kg equivalentes a 0,05 a 0,1 ml. cada 4 kg de peso. Para prevenir riesgo de muerte por arritmia, hipertensión e hipertermia se aplicó ayuno preoperatorio 3-4 h, agua mínimo imprescindible. La exploración física preanestésica definió como bueno el estado general de los individuos. Mucosas con color rosado normal. TLLC 1, 2 positivo, reflejos, monitoreo de la frecuencia cardíaca, normal, frecuencia y patrón respiratorio dentro de parámetros normales (DPM). El plan anestésico incluyó considerar selección

de drogas y dosis (preanestesia, inducción, mantenimiento y recuperación); manejo de vías respiratoria y circulatoria, temperatura corporal, monitoreo, posibles complicaciones. Equipo de anestesia, fuente de oxígeno, medidor de flujo de gases, máscara, circuito anestésico para estos animales de 4-5 kg de peso con sistemas no recirculantes para reducir la resistencia y trabajo de la respiración. El flujo de gas fue de 200 ml/kg/minuto para evitar recirculación de gases exhalados. Se controló la hipotermia, pérdida de líquidos, y necesidad de oxígeno. Anestesia local tópica lidocaína o carticaína; anestesia general, inducción por vía inhalatoria con máscara Isoflurano 4-5 % (vasodilatador del endotelio) para lograr pérdida de conciencia, Isoflurano 2-3 % mantenimiento. Se usó óxido nitroso en proporción 50:50 con el oxígeno para inducir un efecto de segundo gas y acelerar la inducción. Control de la apnea e hipoxia con apoyo de un analizador de oxígeno para garantizar el suministro. Medición de la concentración alveolar mínima (CAM), ventilación-oxigenación (asistencia en forma manual o con ventilador mecánico). El volumen de ventilación pulmonar fue de 3-5 ml/kg. Las presiones aéreas no superaron los 15 a 20 cm H₂O. A los 10 min post premedicación se monitoreó frecuencia cardíaca, frecuencia y patrón respiratorio, presencia de reflejos por respuesta a pellizco de orejas o patas, color de mucosas, movimientos musculares. Se observó en la cirugía si la mucosa palpebral se secaba, recurriendo a la lubricación con colirios para evitar úlcera de la córnea. Sostén hídrico/metabólico, prevención de la hipotensión, no se midió glucemia. Por cada ml de hemorragia se administraron 3 ml de solución electrolítica balanceada. Si la hemorragia superaba el 15-20 % de la volemia se administraba un volumen igual de sangre. Las venas safena, cefálica y yugular son las mejores para suplemento de líquidos, electrolitos, drogas o sangre en intraoperatorio. El sostén térmico, para evitar hipotermia, implicó mantener la temperatura cálida del quirófano, el animal seco y cubierto, la humidificación de gases inhalados, tiempos operatorios rápidos. Vigilancia intraoperatoria con oxímetro de pulso para medir saturación de O₂, saturación de hemoglobina.

Preparación preoperatoria: rasurado con máquina eléctrica de la zona a intervenir, luego pincelado con una solución al 10 % de iodopovidona, se delimitó la zona con compresas estériles. **(Figura 34)**

Profilaxis antibiótica: Enrofloxacina 5 mg/kg de peso, vía SC.

Intervención quirúrgica: se realizó con el animal en decúbito lateral en una mesa quirúrgica. Todo el instrumental esterilizado. Rasurado de la zona quirúrgica pata izquierda en todos los animales, antisepsia del campo operatorio con iodopovidona. **(Figura 35)** La delimitación del campo se hizo con compresas-paños estériles con bordes libres hacia afuera, el pliegue hacia el animal con pinzas Backaus. El inicio de la cirugía se realizó con el animal en decúbito lateral; el abordaje se inició por incisión con bisturí sobre la piel tomando como referencia punto sobre el borde craneal de la cabeza del peroné, **(Figura 36)** siguiendo este reparo subperióticamente con periostótomo, divulsión de tejidos aponeurótico y muscular con una sola incisión entre el tibial craneal y el extensor digital largo para abordar tibia y peroné (también puede realizarse el abordaje con dos incisiones una entre músculos tibial craneal y extensor digital largo para la tibia y otra entre extensor digital largo y peroneo largo para peroné. La tijera Metzelbaum junto al

periostótomo permitió la exposición de la superficie ósea de la tibia tomando como referencia reparos anatómicos anteriormente descriptos. **(Figura 37)** Posteriormente los tejidos fueron separados con separadores autoestáticos y dinámicos. La hemostasia permitió contar con un campo isquémico con pinzas Halstead (curva) y Pean. Luego tomando como referencia un plano que abarcó metáfisis y zona diafisometafisiaria proximal se hizo el abordaje mediante incisión (bisturí Bard Parker N°3/15) de piel en la cara interna de la extremidad; disección de tejido suprapariosteal, periostio. Posteriormente se procedió a la fractura metafisiaria de peroné proximal y biopsia diafisometafisiaria bicortical sobre tibia proximal. **(Figura 38)** Con la finalidad de hacer una fractura no cruenta del peroné proximal se utilizó la tijera Metzenbaum-Nelson. **(Figura 39)** No fue necesaria la reducción del trazo de fractura. Un procedimiento donde en todos los casos se aplicó una fuerza determinada, medida, delimitada, suficiente y estrictamente regulada para obtener un resultado reproducible, deseado, sin daño colateral. La biopsia ósea bicortical de 5-7 mm se realizó con una aguja trefina o trocar de Bordier, posteriormente el tejido fue fijado en formol al 10 % para ser procesado por histomorfometría ósea. La sutura se hizo por planos con hilo de nylon “amnesia 0,25 o 0,23”/“Ethilon 30”, aguja semicircular atraumática y pinza porta agujas de Mathieu y Mayo. Tijera Iris recta para el corte de cabos. Postoperatorio inmediato: antibióticos (ATB), anestésico tópico y un antiinflamatorio local en aerosol (sulfadiazina-lidocaína-hidrocloruro). Se usó sulfaderm en las semanas siguientes hasta el final de la experiencia. El soporte corporal y recuperación de la anestesia contempló monitoreo de: recuperación de reflejos palpebral, deglución, pulso, color de mucosas, respuesta sensorial, temperatura corporal. Los animales recobraron su actividad consiente en forma satisfactoria, fueron llevados a su alojamiento individual, comenzaron a beber y comer con normalidad dentro de la hora de finalizada la cirugía. Si el animal no comía, podía utilizarse solución dextrosada al 50 % por vía oral para equilibrar la nutrición inmediata. La recuperación funcional se efectuó dentro del quirófano las primeras tres horas. La terapia antibiótica postoperatoria incluyó: enrofloxacina 50 mg/ml (7,5-10/kg), 5 %, y analgésica antiinflamatoria con ketoprofeno IM 1 %-10 %. Durante el control posquirúrgico se observó temperatura corporal; comportamiento; aplicación de analgésicos y ATB; pulso y auscultación torácica; medición de ingesta de líquidos; control de la micción. En las primeras 24-48 h postquirúrgicas, dentro del postoperatorio inmediato, se aplicó el tratamiento del grupo control y de los grupos experimentales con oxigenoterapia hiperbárica.

Recolección de las muestras histológicas basales: intraoperatorio con trefina, muestras bicorticales de tibia, en los 24 conejos. **(figuras 38 y 40)**

Manejo posoperatorio: cada conejo se colocó en su jaula individual después de un período variable de observación dentro del quirófano, no se inmovilizó la extremidad. **(Figura 42)**

Analgesia: Ketoprofeno 2 mg/kg de peso.

Controles postoperatorios: evaluación diaria del consumo individual de agua y alimentos, estado de la herida y movilidad espontánea de la extremidad. **(Figura 43)**

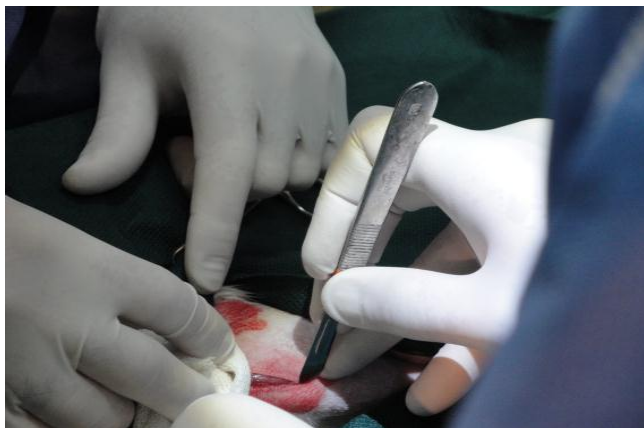


Figura 36. Incisión inicial.

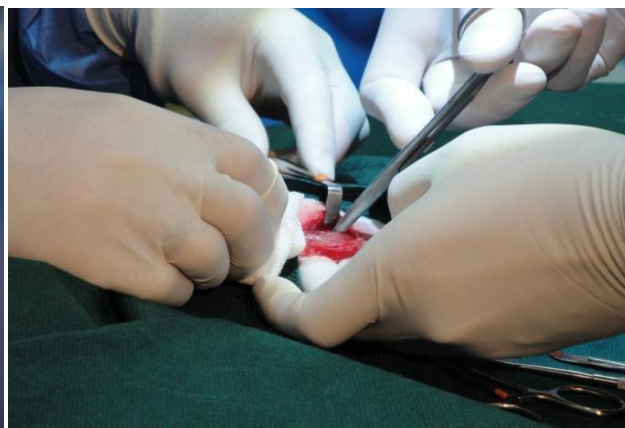


Figura 37. Disección y hemostasia.



Figura 38. Biopsia bicortical en tibia con trefina.

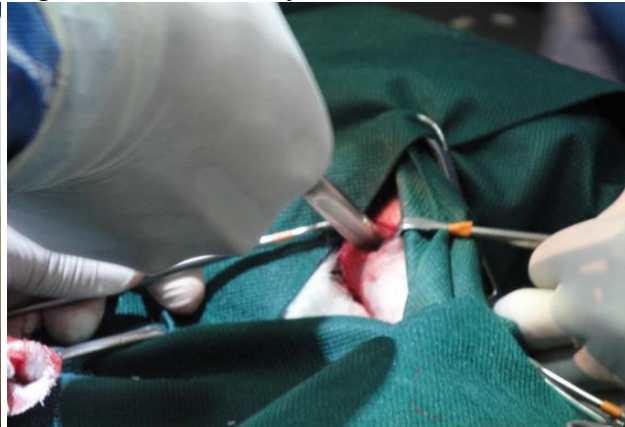


Figura 39. Fractura del peroné.

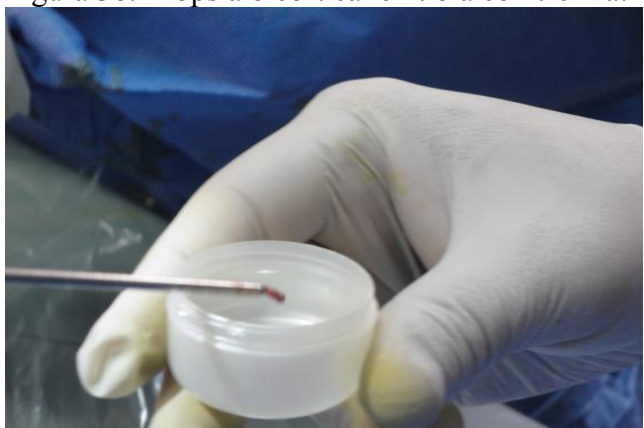


Figura 40. Muestra bicortical de tibia y trefina.



Figura 41. Frascos con 24 biopsias óseas.



Figura 42. Postquirúrgico (PosQx) inmediato.



Figura 43. Revisión de sutura PosQx (24 h PosQx).

Alojamiento posquirúrgico: los animales permanecieron en sus jaulas (**Figura 45**) y en el espacio de recuperación funcional hasta completar un período predeterminado de rehabilitación. (**Figura 44**)



Figura 44. Espacio de recuperación funcional. Figura 45. Jaulas individuales numeradas.

Tratamientos de OHB (esquema terapéutico): cámara hiperbárica de experimentación, oxígeno 100 % en botellones de 10 m³ para Grupos OHB G 1 y G 2. Compresor libre de aceite Nardi Herrero CE ISO9001:2000 para el tratamiento G 3 Control con Aire.

Dosis y frecuencia, hasta el 22/09/2012 se aplicó una frecuencia de 2x1 y 3x2 en el grupo Preoperatorio y en el grupo Control. Luego en la etapa posquirúrgica los tratamientos se realizaron con una secuencia de 5x2 en los tres grupos (G 2 Preoperatorio/ G 1 Postoperatorio/ G 3 Control).

Cinco días de OHB y Aire 1,3 ATA (Control), seguidos de dos días de descanso (sin OHB).

A-Grupo 1 Postoperatorio. OHB (O₂ 100 % 2,4 ATA)

Cirugía 22/09/2012.

23/09/2012 sin tratamiento.

Primera sesión a partir de 24/09/2012 OHB (O₂ 100 %, 2,4 ATA), 1 hora 5x2 días, esquema de 20 sesiones postoperatorias. Los días 20/10/12 y 21/10/12 no se hizo OHB. (**Figura 46**)

B-Grupo 2 Preoperatorio. OHB (O₂ 100 % 2,4 ATA)

Primera sesión prequirúrgica 02/09/2012: O₂ 100 %, 2 ATA, 1 hora 30 minutos 2x1 y 3x2, repitiendo esta secuencia hasta día 21/09/2012 (un día antes de la cirugía).

En total se hicieron 13 sesiones prequirúrgicas con OHB.

La cirugía fue realizada el día 22/09/2012, la jornada posterior 23/09/2012 sin tratamiento, a partir del 24/09/2012: O₂ 100 %, 2,4 ATA, 1 hora 5x2, con este esquema 20 sesiones postoperatorias.

C-Grupo 3 Control. Aire (N₂ 78% O₂ 21 % 1,3 ATA).

Primera sesión prequirúrgica 02/09/2012 Aire 1,3 ATA, 1 hora 30 minutos 2x1 y 3x2, repitiendo esta secuencia hasta día 21/09/2012. En total 13 sesiones prequirúrgicas, cirugía 22/09/2012, 23/09/2012 sin tratamiento, a partir de 24/09/2012 Aire 1,3 ATA, 1 hora 5x2, con este esquema 20 sesiones postquirúrgicas.

(Figura 47) Cada serie de tratamientos fue de cuatro conejos, para un total de veinticuatro, el tiempo empleado solo en la aplicación de OHB y aire control en los tres grupos durante la etapa preoperatoria fue de nueve horas diarias. Sin contar traslados en carretilla, ubicación en corral colectivo, ubicación en jaulas, hidratación, aplicación de antibióticos, sulfaderm, alimentos, cuidados especiales para los que estaban en estado más delicado, etc. Se pasó de una sesión de 90 min. de duración prequirúrgica a una de 60 min. en el postquirúrgico de todos los grupos. En conejos con O₂ hiperbárico en pocos minutos se saturan los pulmones, en menos de veinte minutos todos los tejidos. Los animales no se trasladaron inmediatamente a las jaulas entre tratamientos, para monitoreo de su estado general posterior a la OHB se los ubicó en boxes, aplicación de sulfaderm, agua y una zanahoria para nutrición, motivación e hidratación. En total se realizaron 40 sesiones contando los dos grupos con OHB. Los días 20/10/12 y 21/10/12 no se hizo OHB ni Control. Se utilizaron en total diez botellones de 10,7 m³ de O₂ 100 % (Oxígeno Medicinal *Linde*). El día 22/10/2012 finalizó la experiencia por protocolo en FCV y FCAyF (UNLP). Protocolo aceptado por Comité Académico de FOLP en noviembre de 2011 y por CICUAL el día 14 de diciembre de 2011. Se retiró a todos los animales de las instalaciones de la UNLP.



Figura 46. Tratamiento OHB (O₂ 100 % 2.4 ATA). Figura 47. Tratamiento Control (Aire 1.3 ATA).

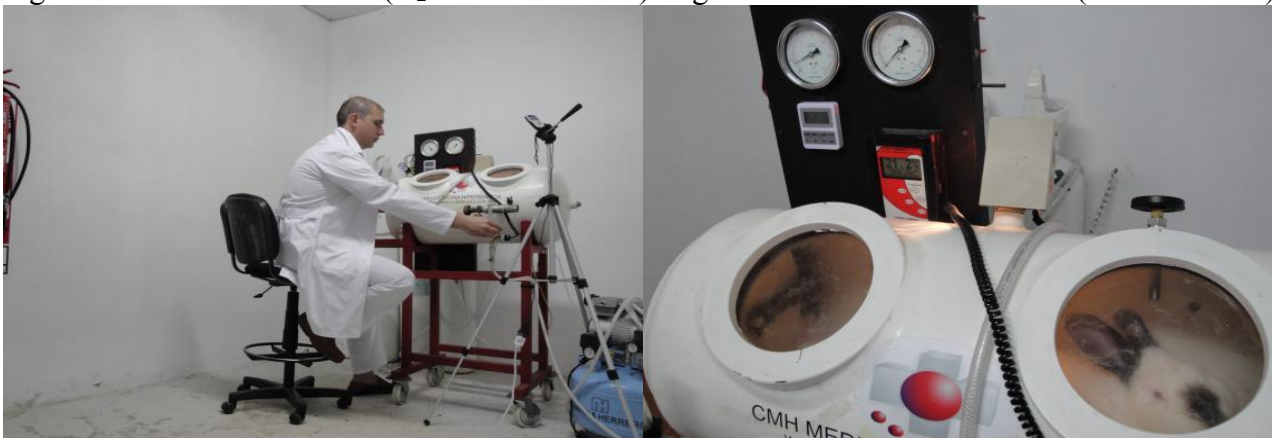


Figura 48. Comando de la cámara OHB.

Figura 49. Tratamientos con seguridad y confort.

Reemplazo de botellones de oxígeno medicinal Linde: antes de vaciar un botellón se conectaba otro para continuar el tratamiento, cuando se agotaban dos, se hacía el pedido al proveedor para que trajera dos

nuevos y así se continuaba con los otros dos llenos. De esta manera siempre se garantizó el suministro del tratamiento, sin interrupciones bruscas. (Anexo A)

Radiografías postoperatorias: en todos los conejos se realizaron radiografías de la tibia y peroné con dos incidencias, cráneo caudal o antero posterior y otra vista lateral o medio lateral cada 7 días aproximadamente. (figuras 54 y 55)



Figura 50. Vista interna de la cámara.



Figura 51. Monitoreo del tiempo-dosis con oxímetro.



Figura 52. Flujímetro.



Figura 53. Congelamiento del regulador O₂ 100%.



Figura 54. Rx craneocaudal.



Figura 55. Rx mediolateral.

Evaluación de movimientos articulares: considerando la clasificación funcional de las articulaciones el trabajo se focalizó en aquellas denominadas diartrosis, articulaciones móviles de gran amplitud de movimientos. Ejemplo: Coxofemoral, tibio-peroneo-astragalina, emulando una cirugía mandibular y la afectación, por proximidad, de la articulación temporomandibular (ATM), donde también se debería indicar

recuperación funcional posquirúrgica. Los movimientos articulares son angulares, circulares, desplazamiento, y movimientos especiales: propios de una articulación, su denominación identifica a la articulación que realiza el movimiento. Movimientos monitoreados en el estudio: flexión, inversión, eversión. Las pruebas para evaluar la función articular fueron flexión de la cadera sin flexionar la rodilla; flexión de la rodilla al frente, rotación de la pata hacia adentro (flexibilidad de rotadores externos); rotación hacia fuera (flexibilidad de rotadores internos); con caderas flexionadas; girar hacia fuera ambas extremidades; flexión pasiva de la rodilla; con las patas extendidas; flexión y estiramiento pasivo.

Recolección de muestras séricas posquirúrgicas: para obtener el volumen sérico requerido se realizó la técnica de muestreo sérico de la vena yugular externa. Por medio de esta vía se logró extraer 10 ml por toma en cada animal, compatible con la vida del animal. Primero se hicieron todas las muestras basales y luego por azar sin repetir la extracción en el mismo animal, cada semana, de a dos o tres animales por grupo control y experimental hasta terminar la experiencia. Las muestras de sangre requirieron conservación inmediata a 1-7 °C, para evitar la hemólisis del suero. La obtención de las muestras se hizo en algunos casos con EDTA o heparina, por ejemplo el calcio se procesó con heparina, seguidamente las muestras se mantuvieron en frío. Se usaron jeringas tipo Luer Slip de 5 ml y 10 ml y de Insulina 40/80 con pico Luer (estériles, atóxicas, libre de piógenos) 0,48-2 ml. Aguja 21 G x 1" (0,80x25 mm) y 21 G x 1 1/2" (0,80x40 mm); 23 G x 1" (0,80x25 mm).

Recolección de muestras de orina posquirúrgicas: fueron utilizadas bandejas de tejido mosquitero en bastidores de madera colocadas debajo de las jaulas con filtro de papel superior para evitar mezcla con materia fecal. Debajo se colocó un plástico engrampado que retenía la orina libre de suciedad. Luego de 24 h se retiraba cortando con una tijera el plástico y se depositaba el contenido en baldes que eran pasados a recipientes de muestras bioquímicas clasificadas con número de animal y fecha para su procesamiento en laboratorio. Las muestras de orina y sangre se recolectaron a intervalos regulares, aproximadamente cada siete días. Se realizó un ayuno o restricción alimentaria de 12 h, para no interferir en los resultados de calcio y fosfato sérico y urinario.

Segunda marcación para estudio histomorfométrico: la primera marcación se hizo 3 días antes de la cirugía de los 24 conejos. Posteriormente durante 7 días los animales no recibieron oxitetraciclina. Transcurrido este tiempo se administró nuevamente oxitetraciclina por 3 días. Las siguientes muestras tendrían datos dinámicos de formación. Se utilizó clorhidrato de oxitetraciclina (overbionic) SC 1 ml/55 mg, mismo fármaco utilizado para la marcación prequirúrgica.

Recolección de las muestras óseas para histomorfometría: para el estudio histomorfométrico fue necesaria la extracción por necropsia de los dos huesos completos (tibia y peroné) hasta sus respectivas articulaciones proximales y distales. Se analizaron las muestras de tejido óseo por histomorfometría basal, a los 15 días de realizada la cirugía, a los treinta días, y a los 45 días postquirúrgicos (PosQx) en Grupos 1 Postoperatorio; 2 Prepostoperatorio y 3 Control. Se utilizó la misma técnica quirúrgica de abordaje lateral en

la pata izquierda de cada conejo descripta para el modelo experimental. Disección, separación. Desarticulación y corte con tijera Philip y Metzelbaum de la articulación tibiofemoral, luego sección de la diáfisis distal de la tibia con pieza de mano rotatoria de velocidad variable *Dremel 300* (ind. mexicana) y disco de carburo de silicio, para obtener un bloque con la metadiáfisis tibial proximal la diáfisis sin la metaepífisis distal. Fijación en formol 10 % durante 24 h, en frascos identificados con la numeración del animal correspondiente. Las muestras no se podían mantener más de 48 h en solución sin procesamiento porque hubieran hecho inviable el estudio histomorfométrico. Durante el período que se desarrolló la experiencia se observó diariamente el estado clínico de los animales. Se realizaron los cuidados higiénicos, nutricionales y de hidratación durante el proceso experimental, registrando y corrigiendo cualquier urgencia o novedad. Luego de un período de 30 días PosQx finalizó el trabajo de campo según el diseño propuesto.

Seguridad para protección de la salud y seguridad de trabajadores: En el protocolo fueron consideradas medidas de bioseguridad básicas, protección para la salud y seguridad para los trabajadores o técnicos, como uso de material descartable, material esterilizado, higiene adecuada luego de la manipulación de los animales. Dicha manipulación se realizó teniendo en cuenta el comportamiento de la especie utilizada.

Los procedimientos requeridos, luego de repetida práctica, fueron considerados como no especiales o no complejos, pero implicaron tiempo, dedicación y esfuerzo, también costos adicionales no previstos al inicio de los preparativos. El cuidado de la seguridad laboral implicó la división de los espacios en áreas:

1-Radiología: Protección con delantales plomados para los especialistas veterinarios y el investigador, rotación de los especialistas en diferentes días de trabajo, para recibir menor dosis de radiación. Alojamiento y transporte adecuado de los animales para estas actividades.

2-Quirófano: Equipo quirúrgico con división de tareas, para operar 24 animales en un día se formó un equipo de trabajo de siete integrantes. Uno encargado del traslado y rasurado de los animales, un anestésista, un especialista en monitoreo de signos vitales y control en zona de observación y recuperación posquirúrgica para de la anestesia general, tres cirujanos, un camarógrafo (registro de imagen y sonido).

El concepto de bioseguridad estricto implicó que el equipo realizó las maniobras quirúrgicas con indumentaria quirúrgica de protocolo (ambo, cofia, anteojos, barbijos, camisolín, botas, guantes estériles), dos mesas quirúrgicas para trabajar en serie, iluminación adecuada, antisepsia y delimitación del campo operatorio, elementos estériles descartables y no descartables como el instrumental de cirugía general y especial, suturas, gasas estériles, equipo de suministro y monitoreo de anestesia.

3-Sala de Oxigenoterapia Hiperbárica Experimental (SOHBE). Bioterio de FCV (UNLP): Primero se necesitó una certificación que avale la capacitación e idoneidad para realizar el tratamiento de OHB.

(Apéndice B)

International ATMO dicta en Brasil y USA, un Curso Avanzado de Seguridad Hiperbárica. Se trató de un curso teórico-práctico con evaluación final dictado por Paul Sheffield, Robert Sheffield y François Burman

en el Centro Europa de Medicina Hiperbárica y Tratamiento de Heridas Refractarias, del Hospital Carlos Chagas de San Pablo, Brasil. **(Apéndice B)**

En segunda instancia se contrató un seguro contra diversos riesgos: robo, destrucción total o parcial, personal, etc. La disponibilidad de llaves para el uso pleno irrestricto de las instalaciones las 24 h mejoró la seguridad en el trabajo. Hubo que mejorar la instalación eléctrica para evitar chispas o falsos contactos, instalación de una llave térmica y una llave independiente para cortar el suministro eléctrico en forma independiente del resto del bioterio. La sala debió acondicionarse con sistema de extinción, apertura adecuada de puertas, para evitar acumulación de gases reptantes. El techo se tuvo que revestir para evitar la caída de agua por condensación, hubo que pintar paredes del exterior e interior. La limpieza de pisos, dispositivos e instrumentos, como la higiene personal dependía de un tanque de 100-120 l de agua que se renovaba diariamente (sin agua corriente). Se hizo una salida de oxígeno hacia el exterior para ventilar durante tratamientos y al terminar con los mismos. Instalación y mantenimiento del compresor de aire.

Los cuatro botellones de 10 m³ de oxígeno medicinal Linde iban ubicados detrás de la cámara para facilitar recambio al agotarse su contenido. Tubos de oxígeno de acero (ind. argentina) de 10000 l de O₂ gaseoso, PT 200 bar (51 l H₂O), Ø 244, altura 145 cm, IRAM. Peso: 72,5 kg. El estado de carga y las condiciones externas debían tener un monitoreo cuidadoso porque se producía congelación del manómetro y llave de paso. **(Figura 53)** Se mantenían parados uno al lado de otro, sujetos a la pared con una cadena para evitar su caída. Se utilizaron mangueras adecuadas para gases respirables y acoples rápidos para facilitar el cambio de tratamiento. También mangueras para oxígeno y mangueras especiales para aire. El instrumental de medición incluyó: manómetros, cronómetro, profundímetros, flujímetros **(Figura 52)**, oxímetro digital, termómetro **(Figura 56)**, válvula de seguridad para liberación de gases en sobrepresión, llave de descompresión rápida, instrumental complementario de la cámara hiperbárica que mejoró la seguridad y precisión en su manipulación. **(figuras 58 y 59)**



Figura 56. Medición de temperatura interna.



Figura 57. Divisiones internas.



Figura 58. Tratamiento placebo en desarrollo. Figura 59. Instrumentos de medición (aire 1,3 ATA).

Para el interior se utilizó iluminación externa. Después de cada tratamiento se realizaba la limpieza con desinfectantes del interior de la cámara. Las micciones y deposiciones de los animales eran frecuentes. Luego de cada sesión se hacía ventilación con aire a presión por aproximadamente 10 min. Jaulas transportables permitieron mantener a los animales en observación, hidratación y alimentación, por una hora aproximadamente, luego de cada tratamiento Control y de OHB.

Esquema resumido de procedimientos en la SOHBE.

Grupo 1 experimental Postoperatorio

Pata Izquierda

- Fractura ósea en extremidad inferior, peroné en zona de fractura diafisaria proximal.
- Biopsia ósea intraoperatoria para histomorfometría en zona ubicada entre la epífisis y metáfisis de la extremidad proximal o superior de la tibia.
- OHB oxígeno 100 % 2,2 ATA 1 sesión por día de 90 min. 30 días.

Secuencia de toma de sangre:

- 1ra. Basal o preoperatorio para observar condiciones preexperimentales normales en el lote de conejos californianos.
 - 2da. Postoperatoria aproximadamente a los 7 días posteriores a la cirugía para observar el callo óseo blando, donde hay formación de tejido fibroso, condroide y osteoide
 - 3ra. A los 15 días callo duro osificación desorganizada devuelve condiciones mecánicas al hueso.
 - 4ta. A los 21 días fase de remodelación sustitución del callo duro por hueso maduro bien organizado arquitectónicamente.
 - 5ta. A los 30 días.
 - 6ta. A los 45 días fase de hueso maduro, tejido óseo compacto, esponjoso y subcondral en articulaciones.
- Por motivos operativos se tomaron muestras de orina en misma secuencia con diferencia de un día o dos. Se realizaron radiografías en cada una de las fases descriptas anteriormente para las tomas de sangre, con un total de seis en cada animal de los grupos experimentales.
- No se realizó segunda ni tercera cirugía en ningún conejo.

Grupo 2 experimental Preoperatorio

Pata Izquierda

-OHB oxígeno 100 % 2,7 ATA 1 sesión por día de 90 min. por 15 días prequirúrgico.

-Fractura ósea en extremidad inferior, peroné en zona de fractura diafisiaria proximal.

-Biopsia ósea intraoperatoria para histomorfometría en zona ubicada entre la epífisis y metáfisis de la extremidad proximal o superior de la tibia.

-OHB oxígeno 100 % 2,7 ATA 1 sesión por día de 90 min. por 15 días posquirúrgico.

-Secuencia de toma de sangre:

1ra. Preoperatorio para observar condiciones basales

2da. Postoperatoria 7 días posteriores a la cirugía para observar el callo óseo blando, donde hay formación de tejido fibroso, condroide y osteoide

3ra. A los 15 días callo duro osificación desorganizada devuelve condiciones mecánicas al hueso.

4ta. A los 21 días fase de remodelación sustitución del callo duro por hueso maduro bien organizado arquitectónicamente.

5ta. A los 30 días.

6ta. A los 45 días fase de hueso maduro, tejido óseo compacto, esponjoso y subcondral en articulaciones.

Por motivos operativos se tomaron muestras de orina en la misma secuencia con diferencia de un día o dos.

Se realizaron radiografías y tomas muestras séricas en cada una de las fases descriptas anteriormente en cada animal de los grupos experimentales.

-No se realizó una segunda cirugía en individuos para a determinar estado histomorfométrico a los 15 días, 30 o 45 días.

Grupo 3 Control

Pata Izquierda

-Fractura ósea en extremidad inferior, peroné en zona de fractura diafisiaria proximal.

-Biopsia ósea intraoperatoria para histomorfometría en zona ubicada entre la epífisis y metáfisis de la extremidad proximal o superior de la tibia.

-Se aplicó Aire (N₂ 78 % O₂ 21 %) 1,3 ATA 1 sesión por día de 90 min. por 30 días. Secuencia de toma de sangre:

1ra. Basal o preoperatorio para observar condiciones preexperimentales normales

2da. Postoperatoria 7 días posteriores a la cirugía para observar el callo óseo blando, donde hay formación de tejido fibroso, condroide y osteoide.

3ra. A los 15 días callo duro osificación desorganizada devuelve condiciones mecánicas al hueso

4ta. A los 21 días fase de remodelación sustitución del callo duro por hueso maduro bien organizado arquitectónicamente.

5ta. A los 30 días.

6ta. A los 45 días fase de hueso maduro, tejido óseo compacto, esponjoso y subcondral en articulaciones. Por motivos operativos se tomaron muestras de orina en la misma secuencia con diferencia de un día o dos. Se realizaron radiografías en cada una de las fases descritas anteriormente para las tomas de sangre, con un total de aproximadamente seis en cada animal de los grupos experimentales.

-No se realizó segunda cirugía para extracción de muestras óseas para histomorfometría.

6.3 Exploración quirúrgica por sistemas. Semiología.

Los métodos semiológicos de maxilar inferior (**Aprile et al., 1956**) y miembros inferiores de humanos sirvieron de referencia para su aplicación en miembros posteriores de pequeños animales de laboratorio.

La exploración comprendió: el examen físico y el examen funcional por sistemas (piel, función muscular, arterial, venosa, linfática, nervioso motor-sensitivo, óseo y articular) mediante observación, palpación, medición, pruebas y diversos métodos complementarios de diagnóstico (imágenes). (**Maroni, 1938**) El examen se realizó con cada conejo de pie, estudiando frente y perfil en distintas posiciones estáticas y dinámicas, la posición o actitud de los componentes entre sí evaluada en tres planos: Sagital. Vertical. Transversal. Los miembros posteriores se implantan de manera simétrica a cada lado de la pelvis, descansando en el suelo por la planta de las patas. Presentan la articulación coxofemoral que articula el muslo con la pelvis, la rodilla (articula muslo y tibia), y la tibiotarsiana (tibia-pata). Se apreció las dimensiones del miembro en relación al homólogo y al cuerpo en general. La posición del miembro es la actitud que presentan sus distintos segmentos entre sí, y la que adopta en conjunto todo el miembro en relación al tronco. La posición de reposo o presentación es la que adopta espontáneamente el individuo. Las modificaciones de esta posición de reposo pueden definir la clase de lesión o localización de la misma. (**Arias, 2001**) Cada segmento del miembro tiene una forma comparable a la de un cilindro. Se proyectó un eje sobre los planos frontal y lateral de ese cilindro. Establecida la proyección de los ejes en los planos frontal y lateral de cada segmento del miembro y a nivel del tronco, se determinaron las actitudes que presentaban los segmentos entre sí y el miembro con el tronco. Se utilizó la posición de exploración o anatómica para la determinación de las actitudes, la medición de la longitud y la exploración metódica de las diferentes regiones de cada miembro.

Biomecánica del aparato locomotor cuadrúpedo.

Fue observada la capacidad de marcha de las dos extremidades posteriores en equilibrio dinámico con las anteriores en relación al centro de gravedad y la distancia lateral en el plano frontal, definida como base de sustentación. El contacto plantar con el suelo activa la flexión de las articulaciones, aquí se evaluó el sincronismo de la movilidad y la estabilidad. Los procesos patológicos que afectan la marcha son dolor, limitación del movimiento, debilidad muscular, control neurológico deficitario. Los miembros posteriores de mayor longitud que los anteriores están más desarrollados en conejos y liebres para la locomoción saltatoria, por avance de sus dos extremidades posteriores hacia arriba y adelante y apoyo de sus extremidades

anteriores repetidas en ciclos lentos o rápidos hasta lograr la carrera. Aparentemente tendrían una motricidad, “bípeda facultativa”, podrían, según la circunstancia (alimentación, defensa, reproducción) desplazarse de manera diferente. Los conejos tienen miembros anteriores cortos y miembros posteriores largos que soportan el peso del cuerpo, están diseñados para correr. Tienen tobillos altos, carpos y tarsos largos. La exploración de la función se hizo por movilidad activa y pasiva, extensión y flexión. Se tuvieron en cuenta las siguientes alteraciones de la normalidad:

a) ataxia: incoordinación de la acción muscular por lesión nerviosa; se caracteriza por incapacidad motora y movimientos anormales.

b) debilidad: incapacidad postural y marchas anormales, por lesión muscular o por debilidad general.

c) decúbito permanente: incapacidad para levantarse y mantenerse en estación por dolor o incoordinación.

d) cojera: trastorno mecánico, funcional o estructural de uno o varios miembros que se expresa con una alteración más o menos evidente de la locomoción. El animal es incapaz de soportar la carga completa sobre las extremidades. La inspección se realizó con el animal en posición normal para la especie. Relación entre cabeza, cuello, cola y extremidades con respecto al cuerpo. La evaluación implicó determinación de aumentos de volumen localizados (higroma, edema), forma de levantarse, si existía correspondencia con la especie, si le era difícil hacerlo o si el animal evitaba el apoyo de algún miembro, si existía cojera y qué extremidades no apoyaba o si tenía dificultad en ese apoyo.

Animal en estación (estático). Se evaluó presencia de anormalidad anatómica por ejemplo aumentos de volumen, atrofia, movimientos espontáneos, deformaciones angulares, presencia de cartílago de crecimiento, si presenta luego de fracturas, luxación o aplomos.

Animal en movimiento (dinámico). Se hizo teniendo al animal en movimiento en distintas condiciones, al aire libre, antes de manejarlo, en suelo nivelado. Trote, salto, de frente, de lado (ambos lados), haciendo giros. Se los dejó sueltos en un espacio adecuado y se observó su movimiento.

El examen ortopédico fue realizado mediante la palpación y la realización de movimientos pasivos valorando grado de movilidad, crepitaciones, reacciones dolorosas, deformación anatómica o desplazamiento (luxación), integridad de las estructuras de soporte de la articulación.

La manipulación de las articulaciones empezaba de forma suave y de forma bilateral para comparar y comprobar el movimiento normal de la articulación (viendo si se producía dolor, crepitación, flexión/extensión correctas).

La observación del estado general incluyó evaluar postura, conducta, actitud, ambulación, masa muscular y peso constante del animal (caquéctico, deshidratación, desnutrición).

Se realizó medición de signos vitales y peso del animal. Temperatura corporal, volumen urinario día, volumen fecal día.

La evaluación del estado de hidratación se realizó por observación de hundimiento de los ojos, protrusión palpebral, mucosas secas o pegajosas, turgencia de la piel por pellizco del tórax dorsal, chequeo de la elasticidad epitelial.

La inspección detallada definió presencia de lesiones dérmicas agudas primarias como mácula, pápula, placa, pústula, vesícula, bulla, nódulo, tumor. Lesiones secundarias por estados crónicos o autotraumatismo: liquenificación, callo, fisura, escoriación, cicatriz. Lesiones combinadas como alopecia, descamación, hiperqueratosis, úlcera, costra, melanotriquia o acromotriquia.

El examen consideró la existencia de asimetría, aumento de volumen localizado fijo o adherido, sésil, fluctuante o móvil, postura de la cabeza y cuello.

El cambio de color de las mucosas aportaba datos sobre el estado local o sistémico. Básicamente la presencia de ictericia, cianosis o palidez podía describir situaciones de anemia, tiempo de llenado capilar, humedad de mucosa bucal y conjuntiva. También en mucosas se debió verificar presencia de saliva, hemorragias, humedad de la conjuntiva provista por las lágrimas. Los parpados del conejo son tres, se desplazan hacia atrás para ver la esclerótica, de esta manera puede comprobarse la existencia de conjuntivitis, muy común en esta especie.

En los oídos se buscó en el pabellón y conducto externo la existencia de eritema, secreción, olor o dolor.

Un signo que podía indicar alguna lesión, es si el animal sacudía la cabeza o se encontraba agresivo. La inspección visual del tímpano se realizó evaluando existencia de cerumen o exudados, estenosis, cambios de coloración, cambios proliferativos, ulceraciones, cuerpos extraños, parásitos, otitis o ruptura de tímpano, especialmente antes y después del tratamiento con OHB, por su incapacidad de aclarar o compensar las presiones. Se debieron evaluar síntomas y signos de complicación como taquicardia, arritmias, excitación psicomotora, polipnea, disnea, tos, convulsiones, secreciones bronquiales, cianosis, ictericia, hipotensión, oliguria, fiebre. Síndromes anémico, edematoso, diarreico, nefrótico o nefrítico, condensación pulmonar, ocupamiento pleural, ascitis. Se observó detalladamente, en cada animal, la alimentación o nutrición, la cantidad de micciones y volumen urinario, deposiciones, hidratación correcta y períodos ordenados de descanso y sueño. El examen neurológico comenzaba por el nivel más alto y pasaba luego a niveles más bajos. Estado mental, marcha, reacciones posturales y finalmente los reflejos. Se compararon ambos lados, si existía simetría. En condiciones normales los conejos eran capaces de levantarse por sí mismos, girar a ambos lados, caminar con la cabeza levantada y con la misma fuerza en todas las extremidades.

Estado del comportamiento y sus trastornos clasificados en:

- a) normal: despierto, alerta y con respuestas normales frente al medio ambiente y los estímulos externos.
 - b) alteraciones: Coma: pérdida del conocimiento, si el animal no respondía a ningún estímulo externo. Semicoma o estupor: si no había respuesta a estímulos externos intensos.
 - c) depresión: si existía respuesta a los estímulos externos de manera lenta y poco intensa.
- Confusión mental o desorientación: si respondía de manera anormal a los estímulos externos.

d) hiperexcitabilidad: si respondía de manera exagerada.

Coordinación del movimiento:

a) sistema vestibular periférico: oído interno y nervio vestibular, regula la posición de la cabeza.

b) sistema vestibular central: regula la posición del cuerpo respecto a la cabeza, manda órdenes para que el movimiento sea armónico.

El examen del funcionamiento espinal observó la presencia de alteraciones en la fuerza que podían presentarse como: paresia y parálisis (plejía).

La inspección neurológica incluyó medición de reflejos: normo, hiperreflexia, hipo o arreflexia; y el estado del tono muscular: presencia o no de atrofia.

La evaluación sensorial se realizó mediante la valoración del dolor (anestesia, hipoestesia o hiperestésias).

Hubo especial atención en detectar la aparición incipiente de signos de alteración mental o estado de alerta que pudieran manifestar lesiones de los nervios craneales. **(Manso Ruiz, 2006)**

6.4 Estudio histomorfométrico óseo.

El estudio de tejido óseo calcificado o no calcificado tuvo por objetivo evaluar la actividad ósea de formación, resorción y reposo. El marcado de cada uno de los conejos se hizo con la administración por vía subcutánea (SC) de clorhidrato de oxitetraciclina 1 ml/55 mg.

Sirvió para estudiar el metabolismo óseo, modelación y remodelación mediante parámetros: estructurales, tamaño y cantidad de hueso; resorción porcentaje de osteoclastos y fibrosis; estáticos de formación ósea, porcentaje de osteoblastos y osteoide; dinámicos de formación ósea, función celular ósea in vivo, trabéculas mineralizadas y velocidad de agregación mineral. **(Malluche & Faugere, 1990)**

No se hizo una primera administración de oxitetraciclina para las muestras basales ya que en esas muestras no sería necesario observar parámetros dinámicos de formación. Las muestras óseas experimentales tuvieron marcaje con oxitetraciclina. Las primeras histomorfometrías experimentales son de quince días posteriores a la cirugía. La primera administración se realizó en todos los animales, 3 días previos a la cirugía (22/09/2012), luego se aguardó 7 días sin administración postoperatoria, posteriormente se administró nuevamente clorhidrato de oxitetraciclina 1 ml/55 mg SC (29/09/2012), otros 3 días previos a la toma de muestras óseas experimentales. Para procesar las muestras óseas se utilizó el método Histomorfométrico Semiautomático del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Italiano de Buenos Aires (HIBA). La histomorfometría ósea es la aplicación de la estereología, estudio de la estructura ósea en tres dimensiones (hueso trabecular) a muestras que contienen dos dimensiones (secciones o cortes óseos) permitiendo obtener información numérica de tres dimensiones a partir de imágenes de dos dimensiones. Para evaluar la tasa dinámica de aposición ósea es necesario administrar tetraciclinas antes de la biopsia. Una toma de biopsia se puede estudiar de dos formas, en corte de material descalcificado o en cortes de material calcificado. Las mediciones se hicieron con el software UTHSCSA. **(Wilcox et al., 2002)**

Estas mediciones realizadas en pixeles fueron convertidas previa calibración directamente en micrones. Las mediciones se hicieron en una grilla milimetrada en el ocular Carl Zeiss del microscopio Axioskop Zeiss. Permitieron la medición en mm por medio del aumento del objetivo.

El procesamiento de las muestras óseas no descalcificadas requirió una serie de pasos generales que son:

1-Obtención de la muestra mediante punción biopsia del hueso a estudiar

2-Fijación: formol al 10 %.

3-Deshidratación: 2 series de alcohol etílico de gradación creciente, 75, 95 y 100 %.

4-Infiltración: en metacrilato (Historesin Plus, Leica) durante 6 a 10 horas a 4 °C en frascos de vidrio y en 4 ml de solución

Solución de infiltración para 4 tacos 25 ml de solución base de Historesin Plus + 150mg de activador.

5-Polimerización o embebido del taco

Solución de embebido: se agrega 33,33 microlitros de Hardener por cada ml de solución de infiltración, se mezcla bien en frío 4 °C. Se coloca 1ml en cada molde, la placa de moldes debe estar en frío a 4 °C. Se saca el material de la solución de infiltración, se escurre bien y se sumerge y saca de la solución de embebido remanente y se coloca en molde en heladera a 4 °C. El tiempo de polimerización es de 2 a 3 h. La placa de moldes está sellada con los cobertores plásticos.

6-Montaje: se saca cobertor plástico y se adhiere el portabloque plástico sobre los tacos. Medio de montaje Historesin mounting medium. Se polimeriza en 5 a 10 minutos.

7-Corte: se utiliza Microtomo Leica con cuchillas Leica de tungsteno TC65. Los cortes se extienden en agua tibia en portaobjetos silinizados. Se secan 2 h a 37 °C. Cortes de 7 μ (micrones).

8-Coloración: para microscopia óptica parámetros estáticos Hematoxilina eosina y Azul de toluidina

9-Inmunofluorescencia: previa administración de tetraciclinas, para parámetros dinámicos. Preparados montados sin colorear.

El análisis histomorfométrico óseo previo doble marcaje con tetraciclina y procesado calcificado fue el patrón de referencia para el estudio.

El método de extracción utilizado fue el trocar de Bordier o trefina, constituido por una vaina, un trocar provisto de un filo dentado en la punta y un expulsor. Armado el elemento que hace de guía, se apoya sobre la tabla externa ósea para obtener una muestra bicortical, luego su fijación se hace en formol 10 %, la inclusión en metacrilato.

El Azul de Toluidina tiñe la trabécula calcificada de azul oscuro y el osteoide azul claro, el Tricrómico de Goldner tiñe de verde trabéculas mineralizadas, rojo el osteoide, las líneas fluorescentes corresponden a las tetraciclinas. **(Milikowski, 2001)**

Las unidades de medida en las fórmulas consideran que el volumen de tejido estudiado es tan infimo (por corte de microtomo y tamaños de las muestras) que se despeja: mm^2 y mm^3 para expresarse en porcentaje (%).

Melsen (Control 26,5 +/- 2,4) es el rango en que se considera normal el volumen óseo, se puede presentar aumentado o disminuido según patología.

Malluche (Control 3,4 +/- 2,1) es el rango en que se considera normal la superficie osteoblástica, se puede presentar aumentado o disminuido según patología.

Esquemáticamente en un preparado de diáfisis de hueso largo, por corte trasversal se podría observar la laminilla ósea, dispuesta paralela, en capas concéntricas, por debajo del periostio, circunscribiendo el conducto medular. Múltiples capas concéntricas, orificios pequeños y redondeados que corresponden al corte trasversal de los conductos de Havers constituyendo cada conjunto así formado un sistema de Havers u osteón. El espacio delimitado por tres o más espacios de Havers ocupado por segmentos de laminillas óseas en varias capas forman el denominado sistema intermediario. Las laminillas óseas presentan en su seno gran número de cavidades lenticulares denominadas osteoplastos o lagunas óseas cuya luz, ocupada al estado fresco por la célula ósea u osteocito, se continúa con delgados conductos óseos que parten de su superficie. Estos conductillos se anastomosan con los canalículos similares próximos y con los de las células vecinas correspondientes al mismo osteón. Los conductos de Havers pueden observarse cortados trasversalmente, oblicua o longitudinalmente. Los conductillos de Havers contienen capilares sinusoides, a veces arteriolas y venillas, filetes nerviosos, y una pequeña cantidad de tejido conectivo. En un preparado por corte longitudinal de diáfisis de tibia se pueden describir en el hueso compacto los conductos de Havers, como tubos cortados paralelamente a su eje y rodeados de laminillas óseas, en las cuales se observan numerosos osteoplastos con sus canalículos óseos. Las líneas de cemento separan los diferentes sistemas de Havers y en general, siguen una dirección paralela a sus conductos. Los tabiques formados por laminillas óseas delimitan amplias cavidades ocupadas al estado fresco por médula ósea. Para el análisis histomorfométrico de las muestras se definió como hueso la matriz ósea mineralizada; como osteoide a la no mineralizada; y como tejido a ambos huesos y a los tejidos blandos concomitantes a la médula ósea. Las medidas son bidimensionales (longitud y anchura), pero se utiliza un concepto tridimensional (superficie, área y volumen). **(Parfitt et al., 1987)**

Según el método histomorfométrico del HIBA se midieron los siguientes parámetros:

1-parámetros estáticos por microscopía óptica, medición de variables estructurales, de resorción y de formación estáticos en dos y tres dimensiones: alto, largo y ancho o profundidad.

*porcentaje de Volumen Óseo es el porcentaje de tejido óseo trabecular, excluido el espacio medular, incluye tejido calcificado y osteoide.

*porcentaje de Volumen Osteoide.

*porcentaje de Superficie Osteoide, porcentaje de superficie trabecular ocupada por osteoide.

*porcentaje de Superficie Osteoblástica, porcentaje de superficie trabecular ocupada por osteoblastos.

*porcentaje de Superficie Osteoclástica Melsen, porcentaje de superficie trabecular ocupada por osteoclastos.

*porcentaje de Superficie Osteoclástica Malluche.

*porcentaje de Superficie Fibrosa.

*porcentaje de Superficie Condroide, porcentaje de superficie trabecular ocupada por condroide.

*espesor Osteoide en micras/día, promedio de espesor osteoide que cubre la superficie de las trabéculas.

-parámetros dinámicos por microscopía de fluorescencia

*porcentaje de Superficie con Doble Marcación en histomorfometría ósea con tetraciclinas, hueso laminar.

*porcentaje de Superficie con Simple Marcación en histomorfometría ósea con tetraciclinas, hueso reticular.

* micras/día de Velocidad de Mineralización, grado de mineralización, grado de acción de nuevas marcas de mineralización en las superficies trabeculares. Se obtiene dividiendo distancia entre dos marcas de tetraciclinas en el intervalo entre ellas se expresa en micras/día (μ /día). El tiempo de mineralización, es el tiempo que transcurre entre la formación de osteoide y su mineralización en micras/día. **(Parfitt et al., 1987)**

Los parámetros histomorfométricos se utilizan para medición de respuesta ósea a una lesión o a la acción de un fármaco antirresortivo, anabólico o dual. Con ellos se pudo obtener información cuantitativa del tejido óseo.

6.5 Diagnóstico por imagen radiográfica.

Se tomaron radiografías (Rx) basales en cada individuo de los 24 integrantes de la experiencia (2 grupos experimentales y 1 control):

-Rx de frente cráneo-caudal basales y experimentales de tibia y peroné.

-Rx de perfil mediolateral basales y experimentales de tibia y peroné.

Ambas técnicas fueron realizadas en la siguiente secuencia posoperatoria: a los 8 días, 13 días, 20 días, y 28 días en los grupos control y experimentales.

Se hizo un estudio de valoración tibial y de peroné en cada animal de experimentación. **(Greenspan, 2006)**

Las imágenes se obtuvieron en el Servicio de Radiología Méd.Vet. M. E. Villanueva FCV (UNLP) con un equipo de Rayos X fijo Siemens Heliophos 4 de 125 kV-240 mA, y una Procesadora automática Agfa Gevaert CP1000. Placas Kodak® y Agfa® 18 x 24.

Interpretación imagenológica. Escala de valoración

Para la valoración radiológica de la consolidación de una fractura y lesión cavitaria bicortical se utilizó un método adaptado de los parámetros de Lane y Sandhu. Estos parámetros contemplan la actividad osteogénica, osteoinducida y osteoconductora en la reparación ósea.

Fueron consideradas 3 variables, adjudicando un valor o puntuación a cada una de ellas, la sumatoria de esa puntuación correspondería a una situación de consolidación de fractura del 100 %.

Esquemáticamente se cuantificaron variables cualitativas para formación ósea de 0 %, 25 %, 50 %, 75 %, 100 % con una puntuación correlativa para cada uno de esos valores de 0, 1, 2, 3, 4 (100 %).

Variables basales de admisión, (tibia-peroné):

- Sin fracturas de Looser.
- Corticales definidas.
- Perfil o línea de continuidad.
- Radiolucides uniforme distal y proximal.

Estas primeras cuatro variables cualitativas marcaban el estado basal del animal, para descartar raquitismo, o cualquier patología que implique osteomalacia u osteopenia.

También se observó la articulación de la rodilla, la continuidad de las superficies articulares, desplazamientos, presencia de edema, derrame articular (hemartrosis) que se caracteriza por radiolucides en “forma de vela”.

Se descartó la presencia de seudofracturas o zonas de Looser o Milkman, esclerosis o soluciones de continuidad perpendiculares al eje del hueso largo que parten desde la cortical. También fueron excluidas imágenes compatibles con otras comorbilidades como Paget, osteodistrofia renal, y displasia fibrosa.

En la zona donde se realizaría la incisión (Rx basales) hubo que asegurar la ausencia de miositis osificante (imagen en “cáscara de huevo”) que afecta músculo, tendones, ligamentos, periostio. Fue contemplada la posibilidad de tener una respuesta excesiva del callo por falta de inmovilización.

Respecto a la anatomía de los bordes de huesos largos, se tuvo en cuenta si era incurvado, curvo o arqueado, estrechamiento por neurofibromatosis, líneas de estrés, arterias nutrientes que pudieran confundirse con microfracturas, líneas oblicuas radiolúcidas desde los centros de crecimiento hacia la superficie. **(Lane & Sandhu, 1987)**

Se midieron tres variables experimentales para definir la evolución de cada lesión en 20-25 días.

- Callo Perióstico (porcentaje de callo óseo en Peroné).
- Callo Periendóstico (porcentaje de callo óseo en Tibia).
- Fibrosis cicatrizal: variable que reunió las posibles complicaciones, pseudoartrosis (tejido duro), fibrosis, edema o inflamación (tejidos blandos).

La formación de hueso luego del trauma fue diferente en cada caso por tratarse de diferentes lesiones, la fractura de Peroné fue una fractura proximal simple, aquí se monitoreó radiográficamente la formación del callo. Su avance hacia el espacio fracturario, puentes periósticos y endósticos, falta de consolidación, pseudoartrosis, esclerosis de bordes y radiolucides. Se consideró que sin fusión no había curación. La fractura fue de tipo transversa. En cambio en la Tibia se realizó una lesión cavitaria por biopsia bicortical, donde se valoró la regeneración ósea contemplando la formación de nuevas trabéculas y restitución del grosor de la cortical y mejora en la densidad o masa ósea. **(Burgener & Korman 1996)**

Durante la secuencia de Rx posoperatorias se registró la existencia o no de alteraciones primarias como pérdida o aumento de la densidad ósea, alteraciones de la trabeculación. El diagnóstico se basó en la

comparación con otra imagen basal o normal para desestimar: destrucción ósea, resorción, reacción perióstica, engrosamiento o pérdida de la cortical, existencia de fracturas, disminución de la densidad ósea. En la imagen se evaluó la existencia de una disminución de la trabécula ósea, tanto en su número como en su grosor, osteopenia. Se observó si la cortical mantenía su morfología regular, su espesor normal en la metáfisis y epífisis. La densidad ósea pudo verse mejor en la Rx de perfil que en la de frente, por menor superposición de planos. (Edeiken & Philip, 1977)

6.6 Laboratorio bioquímico. Marcadores de formación y resorción ósea.

Los marcadores bioquímicos poseen utilidad clínica para la evaluación del ritmo de pérdida de masa ósea; el riesgo de fractura; el monitoreo/control de una terapia o tratamiento. Son de utilidad para dosar velocidad de recambio y evaluación de remodelamiento (salud ósea). Sirven para diagnóstico de patologías y actividad de diversas enfermedades que afectan el metabolismo fosfocálcico. Pueden sufrir alteraciones por variables controlables como ritmo diario, ritmo menstrual, ritmo estacional, ayuno, ejercicio. Las variables no controlables son edad, género, fracturas recientes, inmovilización, enfermedad renal/hepáticas. Para el diagnóstico se tuvieron en cuenta valores de referencia, basales y datos del Grupo 3 Control.

El uso de los marcadores se basa en la medición sérica de subproductos de la actividad de colágeno tipo I en la formación y pérdida de hueso. El principal producto de los osteoblastos es el colágeno tipo I, que es el 95 % de la matriz ósea no mineral extracelular. También derivan de los osteoblastos: osteopontina, osteonectina y osteocalcina que son secretadas en el osteoide para luego mineralizarse. La fosfatasa alcalina ósea específica refleja la actividad celular de los osteoblastos. La concentración de osteocalcina refleja el porcentaje de síntesis de osteocalcina por el osteoblasto, aproximadamente el 50 % de la nueva osteocalcina sintetizada es liberada a la circulación, el remanente es incorporado a la hidroxiapatita.

Marcadores bioquímicos de formación ósea

Las fosfatasas alcalinas (fosfatasa alcalina total y fosfatasa alcalina isoenzima ósea) son un grupo de enzimas capaces de hidrolizar ésteres de fosfato en medio alcalino. Incluyen varias isoformas. Se expresan en numerosos tejidos: hueso, hígado, riñón, placenta, etc. (las más abundantes son las isoformas que se expresan en hueso e hígado). En el hueso participan activamente en la mineralización ósea (inicial) y son reflejo de la actividad osteoblástica. Fosfatasa alcalina, tanto la total como la isoenzima ósea miden actividad de formación ósea. Se modifican con la edad, sexo, status hormonal. En los adultos normales la relación entre la isoenzima ósea y hepática es 1:1. Tienen ritmo circadiano. Método Cinético Optimizado (DGKC y SSCC) por espectrofotómetro a 405 nm longitud de onda. Reactivo A dietanolamina (DEA), reactivo B p-nitrofenil fosfato (p-NFF).

La osteocalcina es la proteína no colágena más abundante de la matriz extracelular. Específica de hueso y dentina. Su síntesis depende de aporte nutricional de vitamina C, D y C. Es un buen marcador de diferenciación osteoblástica y de la etapa final de la mineralización. La osteocalcina o BGP tiene ritmo

circadiano nocturno. Es muy útil en el monitoreo de los tratamientos con antirresortivos o anticatabólicos (estrógenos, calcitonina, denosumab) o bien en la estimulación de la formación ósea. Predice perfil histológico óseo y velocidad de formación de hueso trabecular.

Marcadores bioquímicos de resorción ósea

Para la lectura sérica de resorción ósea se midió C-telopéptidos (betacrosslaps). En orina se dosó N-telopéptidos. Las uniones *cross-linked* se forman durante la maduración de la matriz del colágeno cuando residuos de lisina e hidroxilisina son condensados por acción de lisil oxidasa dando fibras de colágeno estructuralmente rígidas. Durante la resorción ósea, los fragmentos conteniendo uniones *crosslinks* y los *crosslinks* libres son liberados a circulación. De esta manera aparecen en orina como aminoácidos o pequeños péptidos (Telopeptido amino terminal NTX, o Telopéptido carboxilo terminal betacrosslaps). El dosaje de los telopéptidos amino terminal (NTX), se realizó por el método enzimoimmunoensayo. El fragmento carboxilo terminal (CTX), se dosó en orina por enzimoimmunoensayo.

La concentración sérica del propéptido C Terminal de colágeno tipo I y del propéptido N Terminal de colágeno tipo I refleja los cambios de la síntesis de nuevo colágeno que puede representar la resorción ósea.

Determinaciones séricas procesadas en el Hospital de Clínicas San Martín (UBA).

Métodología

Magnesio (Mg): Mediante autoanalizador (Abbott Laboratories, USA).

Los iones de Mg reaccionan con arsenazo. La absorbencia del complejo formado se lee a 572 nm siendo el color proporcional a la concentración en muestra. Asimismo el Ca es quelatado para evitar interferencias.

Límite de detección: 0,152 mg/dl

El CV intraensayo fue de 1,2-2,6 % y el CV interensayo de 0,0-0,6 %.

Fosfatasa alcalina total (FAL): Mediante autoanalizador (Abbott Laboratories, USA).

La fosfatasa alcalina (ALP o monoéster ortofosfórico fosfohidrolasa, EC. 3.1.3.1.) hidroliza al p-nitrofenilfosfato (p-NFF) que es incoloro produciendo fosfato y p-nitrofenol a pH 9,8.

La velocidad con que se produce el anión p-nitrofenolato (amarillo) a 405 nm es proporcional a la actividad enzimática de la muestra.

La dietanolamina (DEA) regula el pH de la reacción y actúa como aceptor del fosfato liberado por la fosfatasa (transfosforilación) observándose como resultado una activación de la reacción. La DEA reúne las mejores condiciones en cuanto a activación y capacidad buffer cuando se emplea p-NFF como sustrato.

p-Nitrofenilfosfato + H₂O. Límite de detección: 5 UI/L. El CV intraensayo fue de 0.7-4.6 % y el CV interensayo de 1.3-3.4 %.

Fosfatasa alcalina ósea (FAO): por colorimetría (Fosfatasa Alcalina optimizada de Wiener SA).

El ensayo comercial empleado fue el mismo que para la determinación de FAL, previa precipitación de la isoforma ósea con lectina de germen de trigo. (Farley, 1995)

Mediante este ensayo la reactividad cruzada con la isoforma fosfatasa alcalina hepática es menor del 5 %. La sensibilidad del ensayo es de 0.7 UI/L.

Los CV intra e interensayo se encuentran entre 4-8 % y 6-8 %, respectivamente.

Telopéptido C terminal del Colágeno Tipo I (CTX): por inmunoensayo (ELISA) de competición proteica (Rat-laps. Osteometer BioTech, Herlev, Dinamarca o Crosslaps, Nordic Bioscience Diagnostics A/S).

El método se basa en la utilización un anticuerpo (AC) policlonal dirigido contra un antígeno peptídico sintético inmovilizado, cuya secuencia aminoacídica es EKSQDGGR, específica para la cadena $\alpha 1$ del colágeno tipo I de rata. La metodología consiste en una preincubación, en la cual el AC se inmoviliza pegándolo sobre un tubo de estreptovidina. Luego, y previo lavado, se coloca la muestra y el primer AC (de conejo policlonal). En la segunda incubación se agrega el segundo AC de cabra anti-conejo conjugado con peroxidasa. La reacción finaliza utilizando como sustrato al cromógeno TMB y deteniendo la reacción con ácido sulfúrico. El color se midió a 450 nm utilizando el lector de placas Microplate reader Metrolab 980. El límite de detección es de 2 ng/ml.

El CV intraensayo se encontró entre 5.6 y 9.2 % y el CV interensayo entre 10.5 y 14.8 %.

Proteína C Reactiva de alta sensibilidad (PCR): Mediante un autoanalizador (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA). Test inmunoturbidimétrico potenciado por partículas. La PCR humana se aglutina con partículas de látex recubiertas con anticuerpos monoclonales anti-PCR. (Price & Newman, 1987) El precipitado se determina por turbidimetría. (Eda et al., 1998). Límite de detección: 0.03mg/L. El CV intraensayo fue de 0.41-0.43 % y el CV interensayo de 2.70-3.45 %.

25OH vitamina D (25OHD): por radioinmunoensayo (125I RIA Kit, DiaSorin, Stillwater, MN, USA). El procedimiento analítico consiste en un ensayo de competición proteica que consta de dos pasos. En el primero se extraen rápidamente la 25OHD y otros metabolitos hidroxilados presentes en el suero mediante acetonitrilo. Luego de esta etapa, la muestra se incuba con el anticuerpo específico y el trazador (125I) 90 min a temperatura ambiente. La separación de las fases libre y unida al anticuerpo se realiza por medio de una incubación con un segundo anticuerpo que forma un complejo precipitante con el primer anticuerpo. Se agrega un buffer para reducir las uniones no específicas y se procede a centrifugar las muestras. La radioactividad se evalúa en el precipitado mediante un contador de rayos gamma. El analizador calcula automáticamente la concentración en cada muestra (en ng/ml o nmol/l). Factores de conversión para la 25OHD: nmol/l x 0,4 = ng/ml ng/ml x 2,5 = mmol/l. Los CV intra e interensayo fueron de 10 y 15 %, respectivamente.

Determinaciones séricas procesadas en el Laboratorio Rozenfeld.

Metodología

Análisis hematológico: (hemograma) recuento de hematíes, hemoglobina, hematocrito, recuento de leucocitos, recuento de plaquetas, fórmula leucocitaria (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfocitos, monocitos), eritrosedimentación.

Índices hematimétricos (hemoglobina y plaquetas), recuento absoluto de leucocitos.

Fosfatasa Alcalina Optimizada (FAL) Método enzimático Cinético 37°C

Osteocalcina: Método ECLIA.

Calcemia: Método Arsénico III 37 °C.

Fosfatúria: Método Ultravioleta 340 mm 37 °C.

Albuminemia: Método Colorimétrico.

Creatinina: Método Cinético 37 °C.

Uremia: Método enzimático Cinético 37 °C.

Paratohormona (PTH): Metodología IRMA, Quimioluminiscencia, ECLIA.

6.7-Análisis de orina 24 h.

El análisis de orina completo, de 24 h, incluyó un examen físico, químico y una observación microscópica del sedimento. El examen químico comprendió pruebas de pH, proteínas, cetonas, sangre, pigmentos biliares, urobilinógeno. El examen físico definió la determinación del color, aspecto y densidad de la orina.

La observación microscópica del sedimento se realizó previa centrifugación del volumen recolectado de orina. La muestra de orina se recolectó en un recipiente limpio y seco. El análisis se realizó dentro de las dos horas de recolectada a temperatura ambiente para evitar el deterioro de los leucocitos, los hematíes y los cilindros. Se conservó en refrigeración. Valores de referencia del examen químico son pH: 4.6-8 (media: 6); proteínas < 0.15 g/24 h; cetonas: 17-42 mg/dl; pigmentos biliares negativos; urobilinógeno 0.2 – 1 mg/dl; densidad: 1.016-1.022 du; leucocitos: 0-5/campo de 40 x; eritrocitos: 0-2/campo de 40 x; células epiteliales cantidad variable; cilindros hasta 2 hialinos / campo de 10 x; cristales cantidad variable. La orina se considera ácida con un pH < 7, estos valores pueden presentarse en acidosis respiratoria, acidosis metabólica, uremia, diarreas severas, déficit de potasio, por administración de fosfatos en tratamiento de litiasis. En la alcalosis respiratoria, alcalosis metabólica y en infecciones urinarias la orina puede ser alcalina (pH > 7). La densidad de la orina con ingesta normal de líquidos puede ser 1,016-1,024 du. La presencia de proteinuria puede ser el indicador más importante de una alteración renal. Luego de actividad física, estado febril, estrés y exposición al frío, puede haber un aumento en la excreción de proteínas (g/l) en la orina. Normalmente en el riñón sano se excreta solo una pequeña cantidad de proteínas de bajo peso molecular. Esto se debe a que la estructura de la membrana glomerular no permite el pasaje de proteínas de alto peso molecular. La cetonuria puede observarse en estado febril agudo, estados tóxicos (con vómitos y diarreas), o caquexia. También en dietas pobres en hidratos de carbono, ayuno prolongado e infecciones en niños y adultos jóvenes. En condiciones normales la bilirrubina conjugada no está presente en la orina. Aparece en la orina debido a patologías hepáticas. El urobilinógeno sirve para conocer el estado de la función hepática. Está aumentado en las anemias hemolíticas y hepatopatías. El sedimento urinario se compone de elementos de distintos orígenes. Pueden ser productos metabólicos del riñón como los cristales, células derivadas del

flujo sanguíneo y del tracto urinario (gr/dm^3). Se considera normal la eliminación de una cantidad de 0 a 1 o 2 eritrocitos por campo de 40 x. Al ser la membrana de los eritrocitos permeable a varios solutos de la orina, los cambios en la forma y tamaño de los mismos depende del gradiente osmótico de la orina. Bajo condiciones anormales los polimorfonucleares son los glóbulos blancos más frecuentemente encontrados en el sedimento urinario. En un sedimento normal se eliminan desde 0 a 5 leucocitos por campo de 40 x. No existen bacterias a nivel renal ni vesical. La orina normal no debe registrar microorganismos.

Fueron utilizados marcadores urinarios de resorción ósea: N-telopéptido (nMECO/mM); calciuria ($\text{mg}/24 \text{ h}$) y fosfaturia ($\text{mg}/24 \text{ h}$). El volumen de orina depende de la ingesta de líquidos, presión arterial, osmolaridad de la sangre, dieta, temperatura corporal, estado mental. El 95 % de la orina es agua y el 5 % restante son electrolitos, solutos derivados del metabolismo celular y sustancias exógenas como fármacos. La dieta e hidratación fueron adecuadas y se mantuvieron constantes, sin variaciones desde Basal hasta el final de la experiencia en los tres grupos. Se midió el Aclaramiento de Creatinina para obtener el índice de filtrado glomerular (IFG) en ml/min . Primero hubo que calcular un equivalente para conejos del índice de masa corporal ($\text{peso}/\text{altura}^2$) y una valoración del Peso en las diferentes etapas (bajo, normal, sobrepeso, obesidad). Se utilizó la Formula de Mosteller, área de superficie corporal (ASC), raíz cuadrada de altura, por peso, sobre volumen del cilindro ($1,72 \text{ m}^2$). (**Mosteller, 1987**)

Justificación de la fórmula Conejo Californiano:

-diámetro del cilindro: 39 cm

-radio cilindro 19,5 cm

-altura 45 cm

- $\pi = 3,14$

-cálculo de volumen: $\pi (3,14) \times (19,5)^2 \times 45 \text{ cm} = 3,14 \times 380,2 \times 45 = 53694 \text{ cm}^3$ o 53,69 kg.

La densidad depende del elemento, en el agua es $1 \text{ cm}^3 = 1 \text{ g}$.

Para cálculos aplicables a humanos y animales de experimentación se utilizó la densidad del agua. Básicamente una relación entre creatinina sérica, creatininuria ($\text{g}/24 \text{ h}$) y volumen de orina/día (ml) del que se obtuvo un valor ml/min en los Grupos experimentales G 1, G 2 y G 3 Control comparados a Basal.

Cr S = valor creatinina sérica

Vol. Cr = valor creatininuria

Vol. U = volumen urinario en mililitros por día dividido por 1440 min (24 h). Se dividió el volumen urinario de 24 h en ml por los 1440 min/ 24 h para obtener ml/min .

Fórmula utilizada para cálculo de aclaramiento de Creatinina y Calcio/Creatinina:

Índice de Filtrado Glomerular: $\frac{\text{Vol. Cr mg} \times \text{Vol U min/día} \times 1,72 \text{ (ASC)}}{\text{Cr S} \times 1440 \times 1,72 \text{ (ASC)}}$

$\text{Cr S} \times 1440 \times 1,72 \text{ (ASC)}$

Ratio Ca/Cr: $\frac{\text{Ca orina 24h} \times \text{Cr plasma}}{\text{Cr Orina24h} \times \text{Ca plasma}} \times 100$

$\frac{\text{Ca orina 24h} \times \text{Cr plasma}}{\text{Cr Orina24h} \times \text{Ca plasma}} \times 100$

6.8- Manejo de tejidos blandos. Complicaciones: infecciones anaerobias y amputaciones.

Se utilizó una adaptación de un índice comparativo conocido como sistema SINBAD, derivado de un estudio multicéntrico realizado en series de casos de pie diabético en Reino Unido, Alemania, Tanzania y Pakistán. La clasificación sirvió para evaluar la presencia de infecciones aerobias o anaerobias y la indicación de amputación del miembro inferior izquierdo (lesiones óseas) tiene seis categorías con indicadores que determinan una puntuación Positivo (1) o Negativo (0). El primero significa patología, el segundo ausencia de patología. Las categorías son área de incisión, profundidad/planos de la incisión, isquemia, neuropatía, infección bacteriana y amputación. Sumando las puntuaciones en cada una de las categorías se obtienen las puntuaciones totales. Mayor puntuación significa una situación desmejorada o negativa. (Ince et al., 2008) Para la evaluación de infecciones en la herida se midieron niveles séricos de leucocitos, pero se sabe que la variación en sus valores no es específica. Sus niveles séricos pueden aumentar por situaciones varias como trauma, inflamación, infecciones o patologías en médula ósea. La primera respuesta a una infección inespecífica es el aumento de macrófagos, neutrófilos y eosinófilos. La respuesta específica o secundaria es la de linfocitos B y T con actividad de inmunoglobulinas, anticuerpos. Se dosó PCR en diferentes periodos de la experiencia. En la clínica se observó y registró la existencia de abscesos, aumento de temperatura focal, dolor intenso, signos focales de infección aguda, fiebre, adinamia. En las radiografías se observó el trabeculado, las dimensiones de la cavidad medular respecto a basal.

Manejo de tejidos blandos. Prevención de complicaciones.

El área de la incisión fue igual en todos los casos, la profundidad de la incisión abarcó los siguientes planos: piel, tejido celular subcutáneo, músculo y hueso. La incisión permitió el acceso y toma de la biopsia bicortical y la fractura de peroné. A continuación se describen las maniobras efectuadas para el manejo de las lesiones en los tejidos blandos, producto de la incisión quirúrgica realizada para acceder al tejido óseo.

Control de variables para evitar complicaciones en tejidos blandos

Manejo del lecho de la herida esquema TIME (acrónimo)

T: tejido necrótico, limpieza, antisépticos, desbridamiento.

I: infección e inflamación

M: márgenes de la herida, se observó que no se presenten enrojecidos, socavados, queloides.

E: exudado o líquido, demasiado macera, si es poco o seco no favorece el crecimiento de células.

Parámetros de Curación

La escara del exudado es buena como protección, así no se expone la herida a la infección y aumento de la demanda de oxígeno y agravamiento de la lesión. Se revisó que no se abrieran los puntos de sutura (dehiscencia). El retiro de puntos de sutura se realizó a los 10-12 días. El manejo de la humedad en la herida no requirió utilización de apósitos, esponjas, alginatos, o vendaje postoperatorio, no hubo edema severo. No se usaron apósitos biológicos con ácido hialurónico o colágeno para promover la epitelización, granulación, angiogénesis, aumento de monocitos séricos. Solo fue utilizado el antiséptico y antibiótico local en aerosol

sulfaderm. Se realizó limpieza diaria con solución fisiológica, controlando la revascularización, nutrición vasomotora e inervación simpática (respuesta vasoconstrictora refleja normal). No se realizó fotopletismografía. **(Poblete, 1994)** La prevención de la infección se llevó a cabo con sulfaderm local, buenas condiciones higiénicas, antibióticos sistémicos y OHB. No hubo infecciones anaeróbicas. No se realizó ninguna técnica de desbridamiento, no fue necesario. En la zona de incisión no debía haber infección, se evitaron posiciones viciosas y se aplicó una rehabilitación funcional inmediata. Criterio acompañado de buena nutrición e hidratación. No hubo casos de descompensación por septicemia o shock séptico. La prevención de amputaciones incluyó el control del dolor con analgésicos y asegurar un buen flujo circulatorio en la herida. **(Johansen et al., 1990)** La herida debía curar en un tiempo comprendido entre 2 a 4 semanas, se denominaría cronificada si la cicatrización demoraba más de 4 semanas. Si demoraba más de 10 semanas se definirían como crónicas. No existieron complicaciones sistémicas, por mala nutrición, enfermedad pulmonar, hepática, renal, infecciones, problemas circulatorios. Se presentaron algunas complicaciones locales como perfusión alterada, reducido tejido necrótico e inflamación leve o moderada. No existieron casos de síndrome compartimental severo en la extremidad posterior operada. **(Naidu & Bergquist, 1977)** Se monitoreó el borde de la herida, su color, forma, extensión. El compromiso de la microcirculación fue variable, pero no medido. No se observó la existencia de necrosis o déficit en la cohesión de los bordes de la incisión.

Diagnóstico de infección en la herida.

La inspección para detectar signos de infección estuvo focalizada en determinar: presencia de color rojo o púrpura, pus, dolor, temperatura al tacto, herida abscedada, fistula. Estos aspectos previnieron la contaminación bacteriana de los planos de la incisión que puede sobrevenir luego de una cirugía.

Clasificación de infección postquirúrgica.

-Limpia: riesgo de infección 1-5 %, no necesita profilaxis antibiótica (ATB). Cirugía electiva con cierre primario sin drenaje. No traumática y no infectada. Sin pérdida de técnica aséptica. Sin incisión de tracto respiratorio, digestivo, genitourinario.

-Limpia contaminada: riesgo de infección 5-15 %, con profilaxis ATB. Cirugía en tracto respiratorio, digestivo, genital. Ruptura, técnica aséptica. Drenaje.

-Contaminada: riesgo de infección 15-40 %, con profilaxis ATB. Herida abierta o traumática. Ruptura técnica aséptica. Incisiones en tejido inflamado sin secreción purulenta.

-Sucia: riesgo de infección > 40 %, con tratamiento terapéutico de ATB, no profilaxis.

Herida traumática con tejidos desvitalizados. Cuerpos extraños, contaminación del medio. Tratamiento tardío. Inflamación e infección aguda con pus durante la cirugía.

-Infección de la herida quirúrgica incisional superficial: en sitio de incisión dentro de 30 días posteriores a la cirugía en piel y tejidos celular subcutáneo con uno o más criterios: drenaje purulento, cultivo positivo de la secreción, signo o síntoma con cultivo positivo.

-Infección de la herida quirúrgica incisional profunda: en sitio de incisión dentro de los 30 días posteriores en fascia y músculo con uno o más criterios: secreción-drenaje debajo de la aponeurosis, dehiscencia, absceso.

-Factores que determinan la infección patógena. Patogenia: huésped y estado sistémico órgano intervenido u operado. Procedimiento quirúrgico, magnitud del trauma o lesión. Implantación de material extraño al huésped. Tipo de microorganismos y su adherencia. Profilaxis antibiótica preoperatoria. Microbiología. Microorganismos provenientes de las zonas periféricas al campo operatorio, adyacente a la herida. Fuentes externas que contribuyen son personal, ambiente, instrumental, técnicas, vestimenta contaminados, pueden implantarse en la herida. La mayoría de los microorganismos en heridas quirúrgicas son gram positivos y gram negativos.

Prevención de la infección: rasurado con máquina eléctrica, lavado de la herida y manos de operadores, antisepsia del campo, profilaxis, vestimenta quirúrgica esterilizada, instalaciones adecuadas.

Maniobras básicas que previenen infecciones en Cirugía: mínimo tejido desvitalizado, necrótico, cuerpos extraños. Cierre por primera intención. Evitar drenajes (si es necesario solo por aspiración con otra incisión y retiro rápido).

Postoperatorio: uso de apósito para cubrir la incisión las primeras 24-48 h, después de las 48 h no hay consenso en incisiones con cierre por primera intención. Lavado de manos y guantes en manipulación quirúrgica. (NOM-EM-002-SSA2, 2003)

6.9 Evaluación de los movimientos articulares.

Para evaluar este punto se utilizó un test para los movimientos de pequeños animales de laboratorio que se ajustó a las necesidades de medición o exploración clínica veterinaria para su posterior extrapolación humana, un sistema simple y eficaz. El test midió acortamientos y desequilibrios musculares o déficit de flexibilidad y amplitud articular de cadera, rodillas y tobillo. Lado derecho versus izquierdo (operado), se trató de una evaluación bilateral. Exploración del dolor e inflamación osteoarticular en la herida y región anexa. (Vidal Fernández & López Longo, 2001)

Flexibilidad es la amplitud de movimiento de una articulación y es específica.

Amplitud es el límite máximo de movimiento articular pasivo o activo. Se hicieron pruebas para registrar los movimientos, si estos eran completos o incompletos, con reducción de la amplitud de movimientos, rango de movimiento. (Ramos Espada et al., 2007)

Descripción de las pruebas

1-Toma del animal y flexión de la cadera sin flexionar la rodilla.

2-Se toma la pata con las manos y se flexiona la rodilla acercándola al pecho.

3-Rotación de la pata hacia adentro (flexibilidad de rotadores externos), rotación hacia fuera (flexibilidad de rotadores internos).

4-Giro hacia fuera de ambas extremidades. Movimientos realizados por el examinador en forma pasiva.

5-Flexión pasiva de la rodilla.

6-Patas extendidas, flexión y estiramiento pasivo.

Función muscular explorada en cada prueba

1-Biceps crural, semitendinoso y semimembranoso.

2-Músculos psoas e iliaco, recto anterior.

3-Rotadores externos de la cadera (piramidal, obturador interno y externo, cuadrado crural, gemino superior e inferior). Rotadores internos de la cadera (tensor fascia lata, glúteo mediano y menor).

4-Aductores mayor, mediano y menor de la cadera.

5-Recto anterior, vastos laterales y crural.

6-Gemelos (gastrocnemio) y sóleo.

A disposición del jurado documentos originales habilitantes para realizar el protocolo experimental CICUAL-FCV (UNLP) y Convenio FOLP-FCV (UNLP). **(Anexo A)**

Por razones de espacio físico y resolución de imagen no fueron incluidas en la actual edición la totalidad de las seriadas radiográficas de 24 conejos cada 7 días.

Disponibles los informes físicos bioquímicos séricos y urinarios originales que documentan los valores expresados; figuras comparativas; archivos estadísticos Microsoft Excell. Todas las interpretaciones científicas derivan de estos datos.

RESULTADOS

7.1 Histomorfometría de biopsia ósea. Parámetros dinámicos y estáticos.

Superficie Trabecular Doble Marcación.

A- Tibia

El día 15 postquirúrgico (PosQx), el Grupo experimental 1 Postoperatorio (G 1) y Grupo 3 Control (G 3 Control) registraron datos histomorfométricos 0 % (G 1: 0 %-G 2: 0 %). El Grupo experimental 2 Preoperatorio (G 2) presentó una respuesta superior a G 1 y G 3 Control. G 1 no registró variaciones en la respuesta histomorfométrica Superficie Trabecular Doble Marcación (STDM) a los 15, 30 o 45 días PosQx (0 % en cada medición). En la lectura del día 30 PosQx, G 2 bajó la respuesta STDB al mismo nivel que G 3 Control (2 %). G 2 y G 3 Control, desde el resultado logrado el día 30 PosQx decrecieron paulatinamente hasta 0 % el día 45 PosQx. La finalización de todos los tratamientos fue 30 días después de la cirugía. **(Figura 60)** El promedio (\bar{x}) de STDM ($>$ hueso laminar maduro) en G 2 (2,97 %) $>$ Basal (Basal \bar{x} : 0,84 %). G 1 sin dato (\bar{x} 0 %). G 3 Control (\bar{x} : 0,669 %) obtuvo menor cantidad de matriz ósea mineralizada que Basal (\bar{x} : 0.84 %).

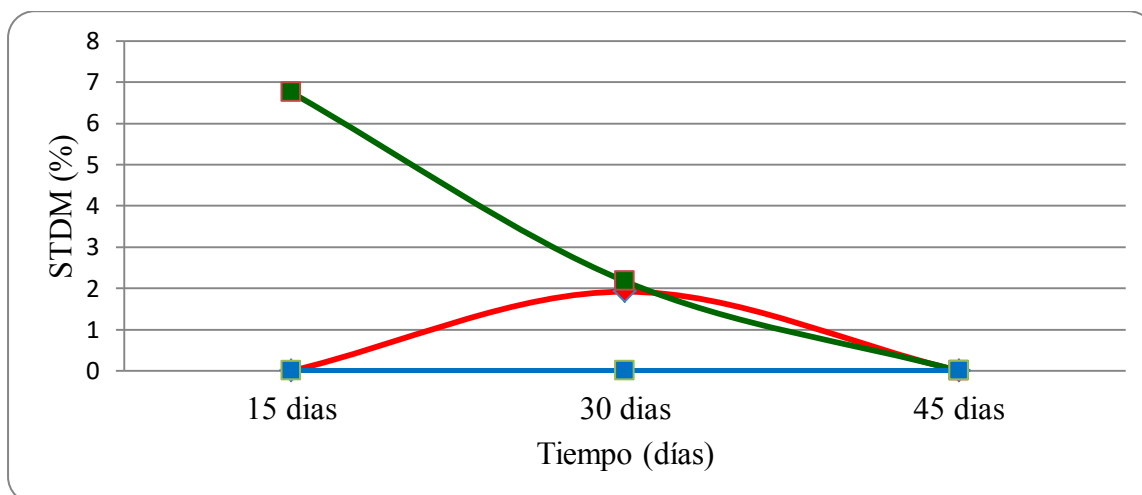


Figura 60. Superficie Trabecular Doble Marcación Tibia G 3 Control, G 2 y G 1.

B- Peroné

La STDM registrada el día 15 PosQx en G 1 (3,22 %) presentó una respuesta $<$ G3 Control (8,06 %). El G 2 tuvo valor 0 % en el mismo período. En la medición del día 30 PosQx G 1 redujo (∇) respuesta a 0 %, pero este grupo desde el día 30 al 45 PosQx incrementó (Δ) su curva de 0 % a 36,26 %. La curva de ascenso vertical marcada, tuvo similitud a una “respuesta inercial”, aparentemente existió un efecto de aceleración o aumento en la formación de hueso maduro calcificado o laminar al terminar el tratamiento OHB. G 1, habiendo tenido hasta el día 30 PosQx, una respuesta STDM inferior a G 2 y G 3, desde el día 30 al 45 PosQx aceleró el efecto positivo en la formación ósea, una “descompresión rápida del compartimento hueso-fractura-herida” que favoreció el resultado (“formación ósea por descompresión oxigénica”). G 2 en la

lectura realizada el día 30 PosQx, produjo la mayor variación de STDM (8,82 %), alcanzó una curva más alta que Control en el día 15 PosQx. G 2 Δ su respuesta en forma constante desde el día 15 al 30 PosQx, en la medición del día 30 PosQx llegó a una lectura histomorfométrica aproximadamente (\sim) 35 % > Control. G 1 cero (0 %) para la misma fecha. G 3 Control redujo STDM el día 30 PosQx (5,42 %) y se mantuvo aproximadamente en el mismo valor hasta el día 45 PosQx (6,21 %). Su tendencia fue reducir STDM después del día 15 PosQx, G 2 culminó con STDM 0 % en la lectura del día 45 PosQx. **(Figura 61)**

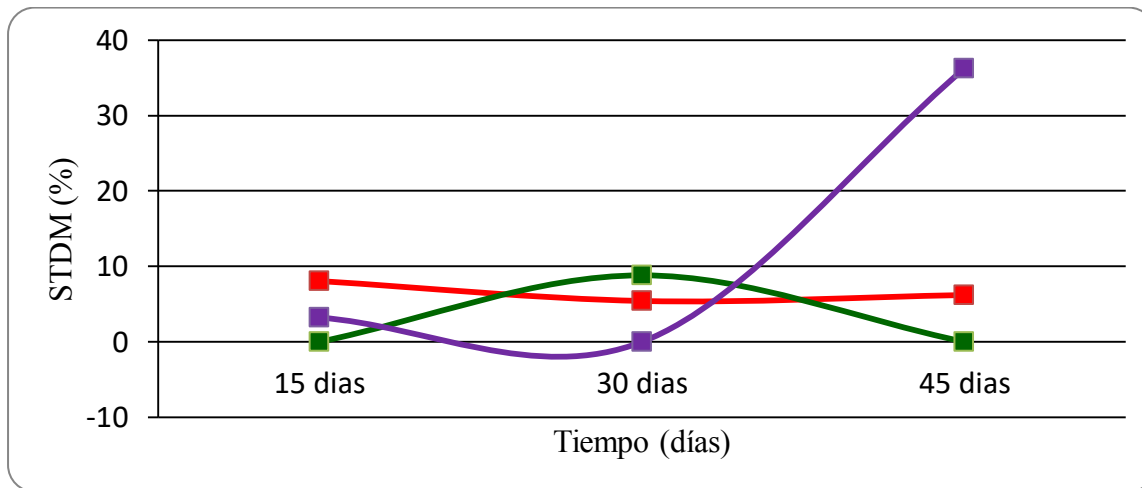


Figura 61. Superficie Trabecular Doble Marcación Peroné G 3 Control, G 2 y G 1.

Superficie Trabecular Basal y STDM G 1 Postoperatorio, G 2 Preoperatorio y G 3 Control.

A- Tibia

Para poder realizar un análisis comparado a Basal se utilizaron datos histomorfométricos basales de Superficie Trabecular Basal contrastada a STDM en Grupos OHB experimentales (G 1, G 2) y G 3 Control. G 1 cero STDM ($/x$: 0 %), G 2 ($/x$: 2,97 %) > Basal ($/x$: 0,77 %). G 3 Control ($/x$: 0,77 %) alcanzó una lectura de STDM idéntica (\equiv) a Superficie Trabecular Basal ($/x$: 0,77 %). **(Figura 62)**

B- Peroné

STDM Grupos OHB G 1 ($/x$: 13,16 %) y G 2 ($/x$: 4,41 %) > a Superficie Trabecular (ST) Basal ($/x$: 0,77 %). STDM G 1 > a STDM G 2 y G 3 Control.

STDM G 3 Control ($/x$: 6,26 %) > a ST Basal. **(Figura 63)**

En Peroné G 1 alcanzó un promedio STDM ($/x$: 13,16 %) > G 2 ($/x$: 4,41 %) y G 3 Control ($/x$: 6,26 %). **(Figura 62)**

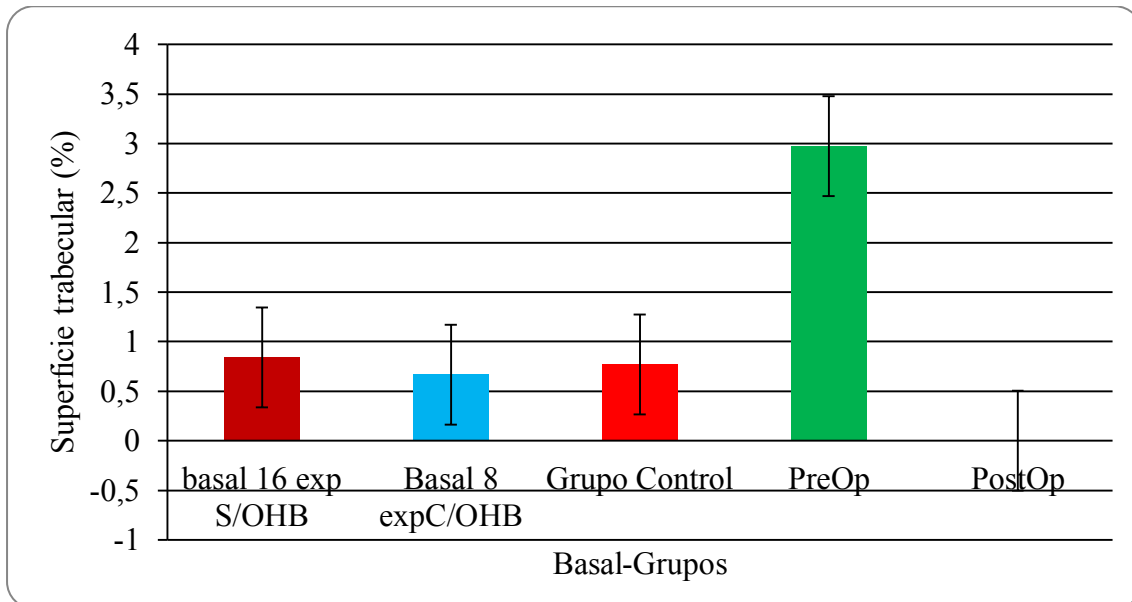


Figura 62. Superficie Trabecular Doble Marcación Tibia Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

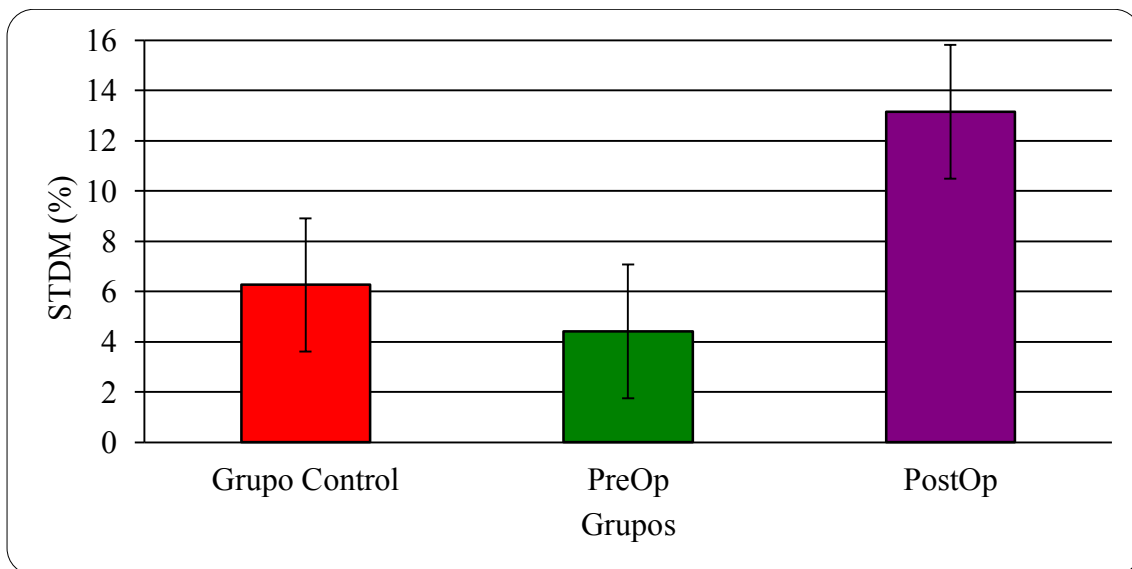


Figura 63. Superficie Trabecular Doble Marcación Peroné (/x) G 3 Control, G 2 y G 1.

Superficie Trabecular Doble Marcación comparada Tibia-Peroné.

Se cotejaron los resultados de Tibia y Peroné en procura de obtener datos adicionales.

G 1 Tibia (0 %) < Peroné (13,16 %).

G 2 Tibia (2,97 %) < Peroné (4,4 %).

G 3 Control Tibia (0,77 %) < Peroné (6,26 %).

Básicamente, hubo una mejor respuesta o resultados de hueso laminar maduro en una lesión por fractura (peroné) que en una lesión perforante (tibia). **(Figura 64)**

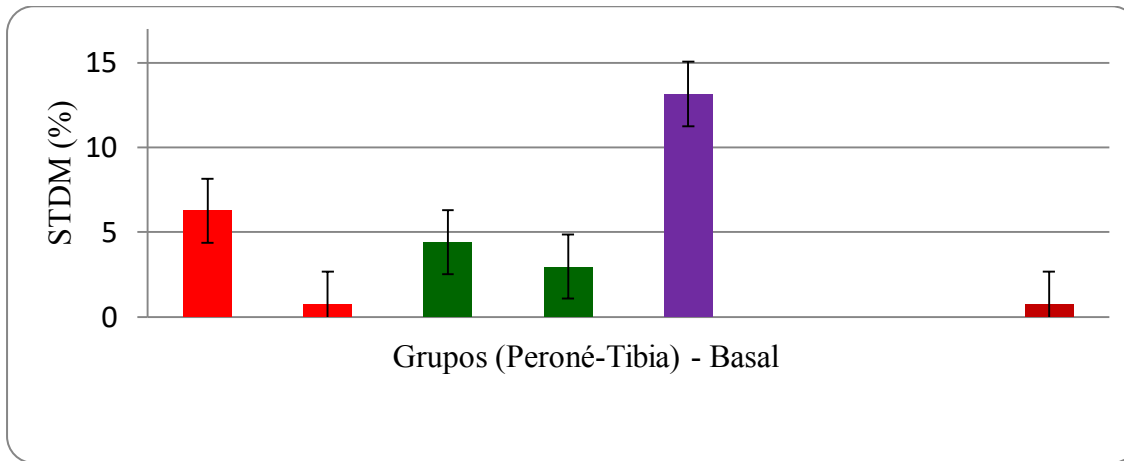


Figura 64. STDM Tibia-Peroné G 3 Control, G 2 y G1. Superficie Trabecular (ST) Basal.

Superficie Trabecular Simple Marcación (STSM).

A- Tibia

La medición de STSM del día 15 PosQx G 3 Control (20,49 %) > a G 1 (14 %). La respuesta de G 2 fue ~ 50 % < G 3 Control (10,03 %). En la lectura del día 30 PosQx G 3 Control bajó a 13,08 %, posteriormente Δ su resultado hasta un valor de 17,265 % al llegar al día 45 PosQx. En todas las mediciones (días: 15, 30, y 45 PosQx) alcanzó resultados superiores a Grupos OHB G 1 y G 2. G 1 alcanzó el día 30 PosQx, una baja en su respuesta de 14 % hasta 10 % (~ 30 % < G 3 Control). G 2 desde el día 15 (10,03 %) al 30 PosQx (7,45 %) declinó ~ 25 %, un resultado que representaría una medición ~ 40 % < G 3 Control. En la medición histomorfométrica del día 45 PosQx llegó a 7,6 % (~ 55 % < Control). G 1 desde el día 30 al 45 PosQx declinó hasta cero (0 %). **(Figura 65)** En Tibia el /x de STSM en G 1 y G 2 (G 1/x : 8,03 % \approx G2 /x: 8,36 %) fue ~ 50 % < G 3 Control (/x: 16,24 %). **(Figura 66)**

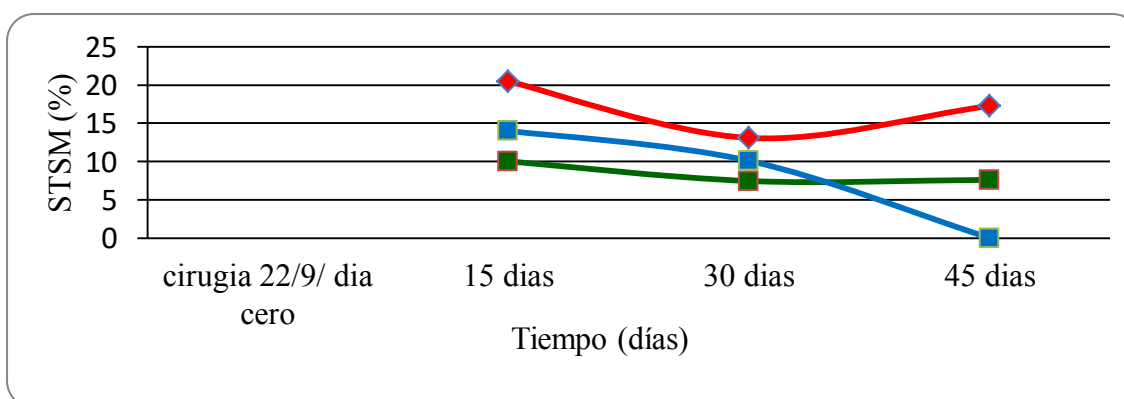


Figura 65. Superficie Trabecular Simple Marcación Tibia G 3 Control, G 2 y G 1.

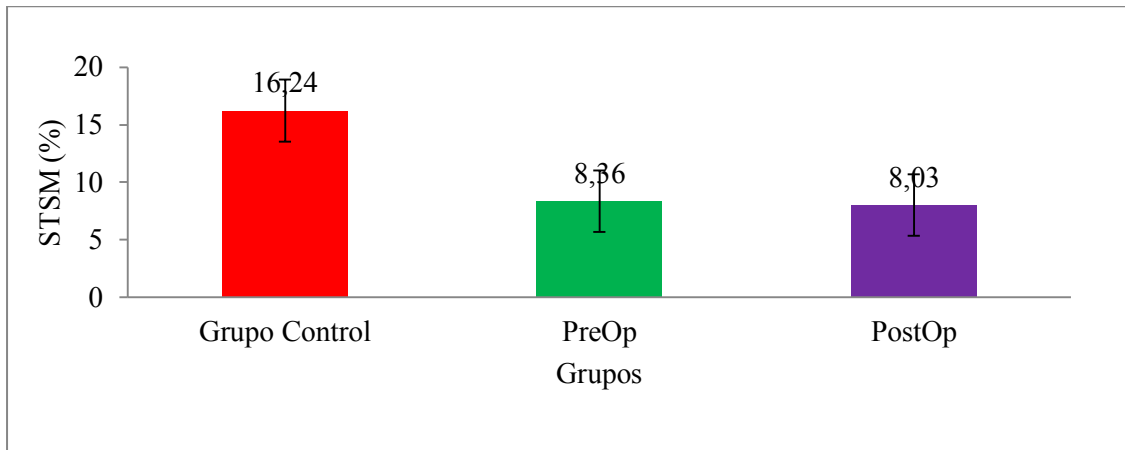


Figura 66. Superficie Trabecular Simple Marcación Tibia G 3 Control, G 2 y G 1.

B- Peroné

En la lectura de STSM del día 15 PosQx, G 3 Control presentó un resultado más alto que G1 y G 2. G 2 10 % < G 3 Control; G 1 marcó una baja 33 % < G 3 Control. G 3 Control presentó > hueso reticular (no mineralizado). En los resultados del día 30 PosQx G 2 presentó menos hueso reticular (resultado positivo), la respuesta más baja para el parámetro STSM (7,46 %). En la lectura histomorfométrica del día 30 PosQx G 1 (33,14 %) tuvo STSM ~ 70 % > Control (10,85 %). Desde el día 30 al 45 PosQx la curva de G 1 descendió desde 33,14 % hasta cero (0 %), terminó más bajo que G 2 (5,58 %). G 2 también describió una curva descendente pero no muy marcada, de 7,46 % (día 30 PosQx) a 5,58 % (día 45 PosQx). La curva de G 3 Control en ese mismo período (días 30-45 PosQx), se comportó de manera opuesta, Δ (25,31 %) finalizando en un resultado mayor que G 1 y G 2. (Figura 67)

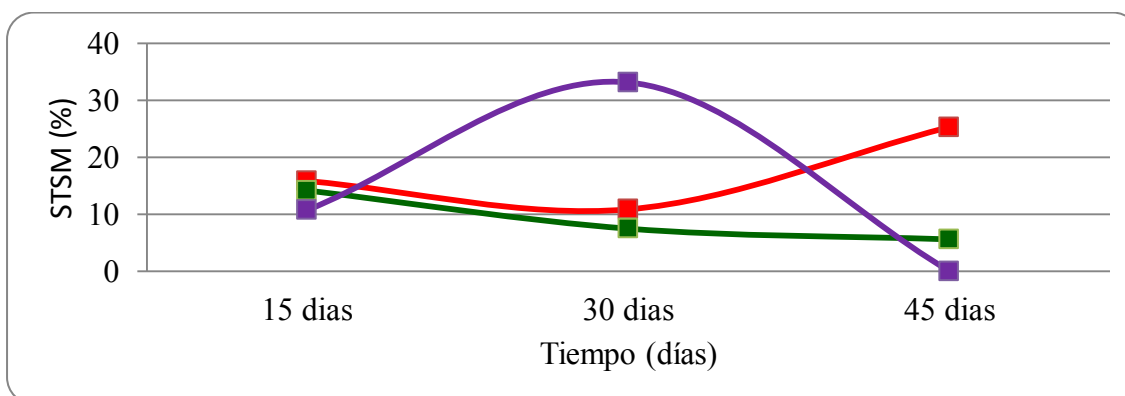


Figura 67. Superficie Trabecular Simple Marcación Peroné G 3 Control, G 2 y G 1.

En Peroné el \bar{x} : STSM de G 1 (\bar{x} : 14,62 %) y G 2 (\bar{x} : 9,07 %) fue < G 3 Control (\bar{x} : 17,63 %). (Figura 68)

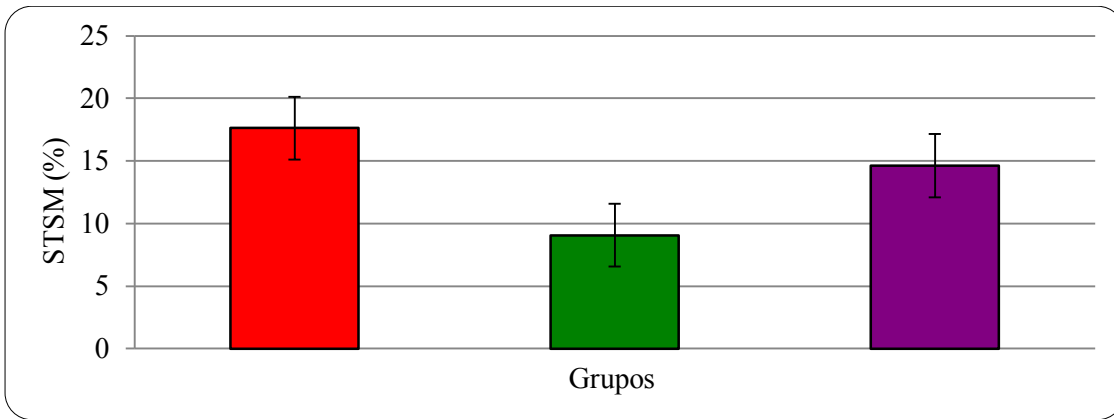


Figura 68. Superficie Trabecular Simple Marcación Peroné G 3 Control, G 2 y G 1.

Velocidad de Mineralización.

A- Tibia

G 1 fue el Grupo OHB con Velocidad de Mineralización (VM) más reducida, presentó un efecto negativo en las lecturas histomorfométricas de los días 15, 30 y 45 PosQx, todas en el mismo nivel cero (0 μ /día). G 3 Control \approx G 1 para el día 15 PosQx. En la medición del día 15 PosQx VM en G 2 (2,25 μ /día) > G1 y G3.

Posteriormente, el día 30 PosQx G 2 redujo VM a 1 μ /día (Control: 1,5 μ /día). Su lectura bajó la velocidad a cero (0 μ /día) en su evolución hasta el día 45 PosQx. La curva de VM en G 3 Control por microscopia de fluorescencia indicó que se Δ desde el día 15 al 30 PosQx (0 μ /día a 1,5 μ /día). Luego bajó a 0 μ /día el día 45 PosQx. El pico de respuesta en este grupo se produjo el día 30 PosQx. La histomorfometría VM del día 30 PosQx marcó que G 2 (1 μ /día) < G 3 Control (1,5 μ /día). Pero G 2 logró una ventaja por haber tenido un pico (cenit) superior para el día 15 PosQx (2,25 μ /día). De esta manera G 2 presentó el efecto positivo más rápido (en μ /día) desde el día 15 al 25 PosQx comparado a G 1 y G 3 Control. **(Figura 69)**

La observación del promedio comparado de los tres grupos, no aportó más datos útiles a la interpretación. G 1: 0 μ /día. G 2: 1,66 μ /día > G 3 Control: 1,47 μ /día. El análisis de los resultados en función de tiempo-respuesta logró marcar variaciones de relevancia en diferentes momentos programados de la experiencia.

(Figura 70)

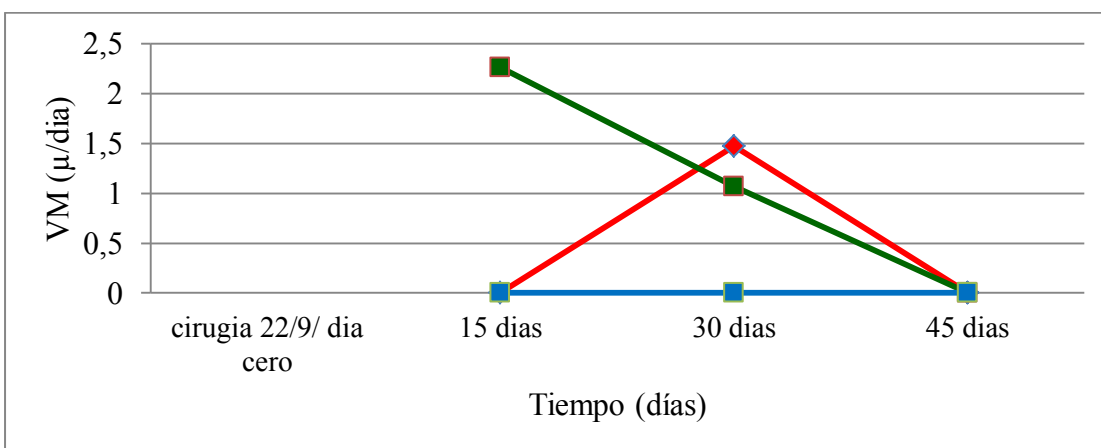


Figura 69. Velocidad de Mineralización (VM) Tibia Control, G 2 y G 1 (días 15, 30, 45 PosQx).

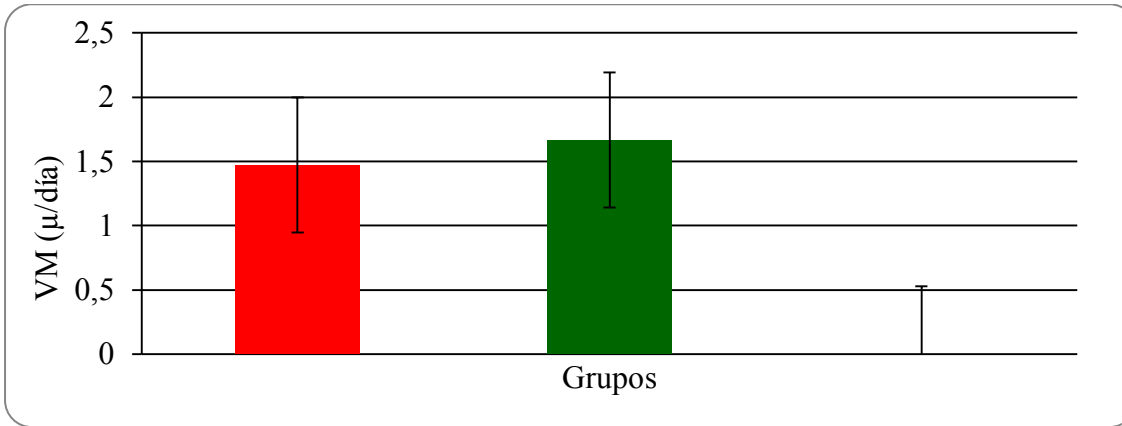


Figura 70. VM promedio Tibia G 3 Control, G 2 y G 1.

B- Peroné

En la medición del día 15 PosQx el estudio dinámico histomorfométrico de microscopia por fluorescencia indicó que VM en G 1 (1,26 μ/día) ≈ G 3 Control (1,10 μ/día), luego se convirtió en el tratamiento más lento y negativo, bajó a 0 μ/día al llegar al día 30 PosQx, y se mantuvo hasta el día 45 PosQx en el mismo nivel.

La curva de G 2 desde 0 μ/día el día 15 PosQx se Δ a 1,28 μ/día en la lectura del día 30 PosQx, más tarde bajó nuevamente a 0 μ/día el día 45 PosQx.

G 3 Control desde el día 15 al 45 PosQx aumentó en forma constante, duplicó la respuesta del día 15 PosQx en el resultado del día 30 PosQx (2,06 μ/día). Mantuvo el mismo valor hasta el día 45 PosQx. En toda la secuencia de mediciones obtuvo resultados más altos que G 1 y G 2. En promedio su efecto duplicó a los Grupos experimentales OHB. G 1 tuvo mayor VM desde el día cero hasta el día 15 PosQx. G 2 adquirió mayor VM desde aproximadamente el día 22-23 hasta el 37-38 PosQx.

El día 30 PosQx existió diferencia de ~ 35 % entre G 2 (1,28 μ/día) y G 3 Control (2,06 μ/día). **(Figura 71)**

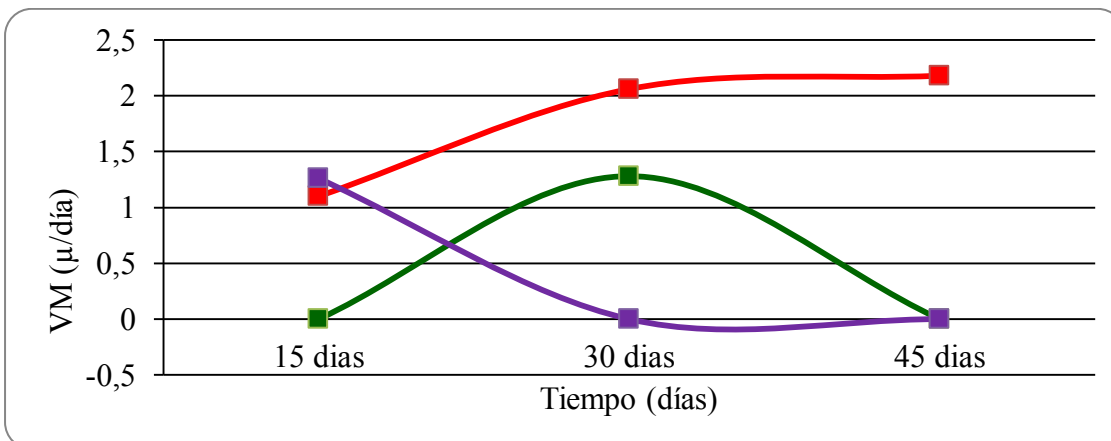


Figura 71. VM Peroné G 3 Control, G 2 y G 1.

El gráfico de Velocidad de Mineralización promedio en Peroné con tratamientos G 1 y G 2 presentó valores similares (G 1/x: 0,42 μ/día; G 2/x: 0,43 μ/día), una respuesta ~ 75 % < G 3 Control (1,92 μ/día). Se

consideró como “más veloz” a la formación de mayor cantidad de hueso mineralizado en menor tiempo postrauma. (Figura 72)

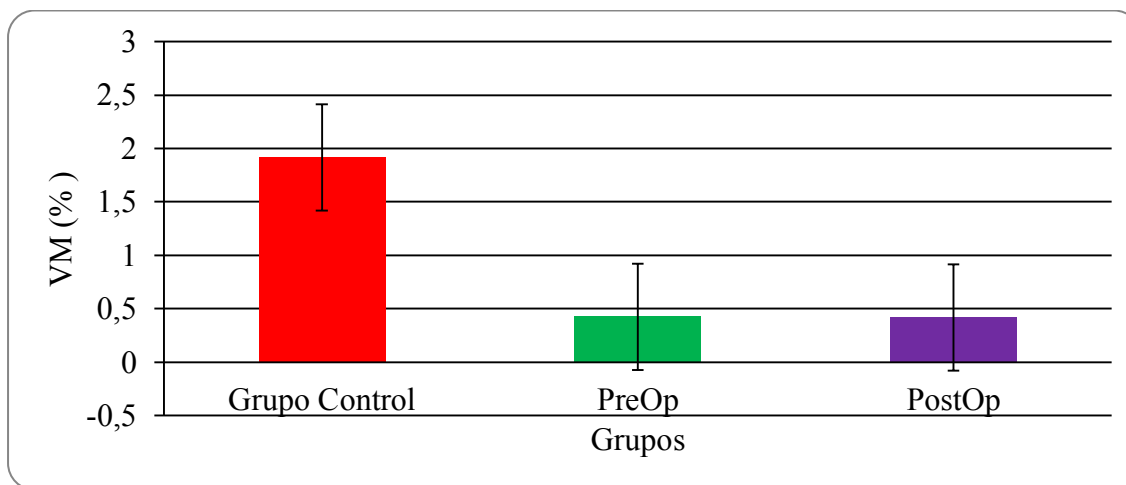


Figura 72. VM promedio Peroné G 3 Control, G 2 y G 1.

Síntesis:

A- Tibia

G 1 \approx G 3 Control, 0 μ /día día 15 PosQx. G 1 midió 0 μ /día hasta el día 45 PosQx. G 2, en la lectura realizada transcurridos 15 días PosQx, fue el tratamiento más rápido en μ /día, más eficaz en VM. Cuando terminaron los tratamientos G 2 y G 3 Control, bajaron rápidamente a 0 μ /día el día 45 PosQx. Considerando el parámetro dinámico STDM que complementó a VM, no existió diferencia entre los datos de G 2 y G 3 Control. Esto permitió inferir que para una lesión diafisaria (tibia) o de mandíbula, G 2 demostró ser el tratamiento de primera elección hasta 30 días PosQx, con un efecto más positivo en menor tiempo. G 2 \approx G 3 Control en la relación VM-STDM según la medición de 30 días PosQx. En lesiones óseas como la producida experimentalmente en Tibia resultó no ser recomendable el uso de dos protocolos simultáneos (OHB y aire 1,3 ATA-AHB), como en el caso de Peroné, donde podría estudiarse su efectividad.

B- Peroné

G 1 de acuerdo con la lectura hecha el día 15 PosQx fue más rápido en μ /día que G 3 Control. En la siguiente lectura histomorfométrica VM del día 30 PosQx, G 3 Control Δ \sim 100 % respecto su valor de 15 días PosQx. G 1 bajó \sim 100 % a valor 0 μ /día donde se mantuvo hasta el día 45 PosQx. G 2 desde 0 μ /día el día 15 PosQx Δ su resultado el día 30 PosQx hasta mismo valor registrado por G 1 y G 3 Control el día 15 PosQx. G3 Control tuvo una respuesta positiva, para una lesión por fractura simple de Peroné. Conforme a los datos obtenidos, surgió evidencia para una posible variante de la terapéutica aplicada, la utilización de dos tratamientos combinados, G 3 Control por 45 días PosQx y OHB G 2 Preoperatorio. Permitiría el uso de efectos positivos de ambos protocolos. Si solo se aplicara uno de los tratamientos de OHB, el más

positivo sería el tratamiento correspondiente a G 1 Postoperatorio, el día 15 PosQx logró mayor Velocidad de Mineralización. Adicionalmente, este grupo obtuvo luego de finalizado el tratamiento, desde el día 30 al 45 PosQx, un aumento acentuado del parámetro dinámico STDM. La curva STDM desde el día 15 al 30 PosQx bajó su respuesta a cero 0 %. Sin embargo, luego de terminar el tratamiento, desde el día 30 al 45 PosQx, se Δ hasta un valor de 36,26 %, describiendo una “ \sqrt ”. G1 reflejó un patrón de resultados inverso en los datos del estudio dinámico histomorfométrico STSM de Tibia y Peroné (“ Λ ”). Como detalle adicional, habría existido misma tendencia de resultados en el parámetro histomorfométrico Velocidad de Mineralización y Radiografías.

Volumen Óseo Experimental y Basal

G 2 luego de diez días de tratamiento prequirúrgico (PreQx) registró Volumen Óseo (VO) (20,03 %) \approx Basal (22,76 %). Carente de variación estimable. **(Figura 73)**

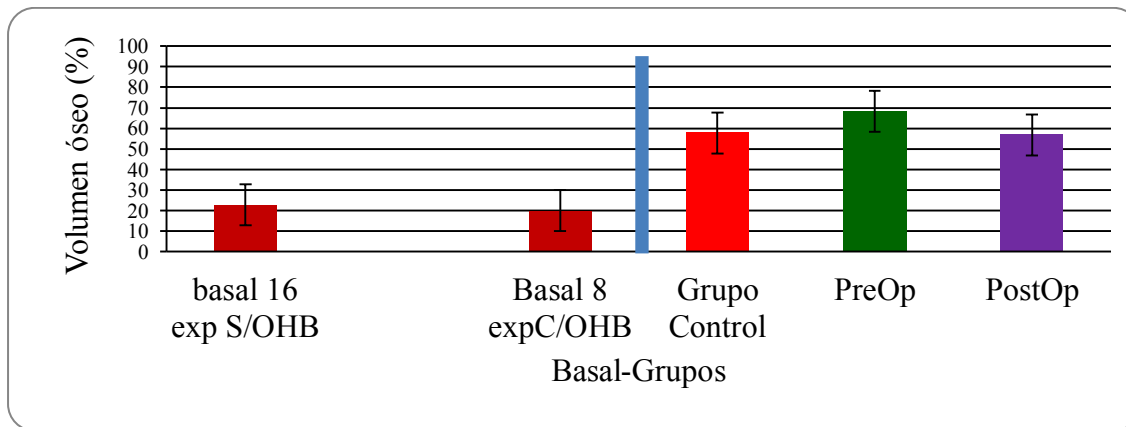


Figura 73. Volumen Trabecular Basal-Volumen Óseo (VO) G 3 Control, G 2 y G 1.

Volumen Trabecular

El promedio de Volumen Trabecular (VT) de G 1 (26,7 %) fue superior a G 3 Control (19,3 %) y G 2 (20 %). G 2 \sim 25 % < G 1. G 2 y G 3 resultaron similares a valores promedio basales (22,76 %). **(Figura 74)**

Los resultados de Grupos experimentales OHB han sido compatibles con actividad de remodelado.

Volumen Óseo

A-Tibia

El parámetro Volumen Óseo (VO) correspondiente al día 15 PosQx en G 1 se Δ (46,22 %) \sim 100 % en relación a Basal (22,76 %). La lectura histomorfométrica del día 30 PosQx indicó que solo G 1 mantuvo su respuesta constante, \sim 100 % > Basal (43,87 %). Posteriormente entre el día 30 y 45 PosQx Δ su resultado, duplicando su valor promedio hasta 30 días PosQx (80,54 %). La curva de VO G 2 el día 15 PosQx registró un aumento desde Basal (66,6 %). La medición más alta hasta el día 15 PosQx la registró G 3 Control (89,3 %). Para el día 30 PosQx G 2 (43,32 %) y G 3 Control (37,95 %) bajaron su respuesta, desde el día 30 al 45

PosQx, cuando terminó la aplicación de los tratamientos OHB, la respuesta histomorfométrica en el parámetro Volumen Óseo se Δ en G 1 (80,54 %) y G 2 OHB (96,55 %). G 3 Control mostró un resultado superior del obtenido el día 30 PosQx.

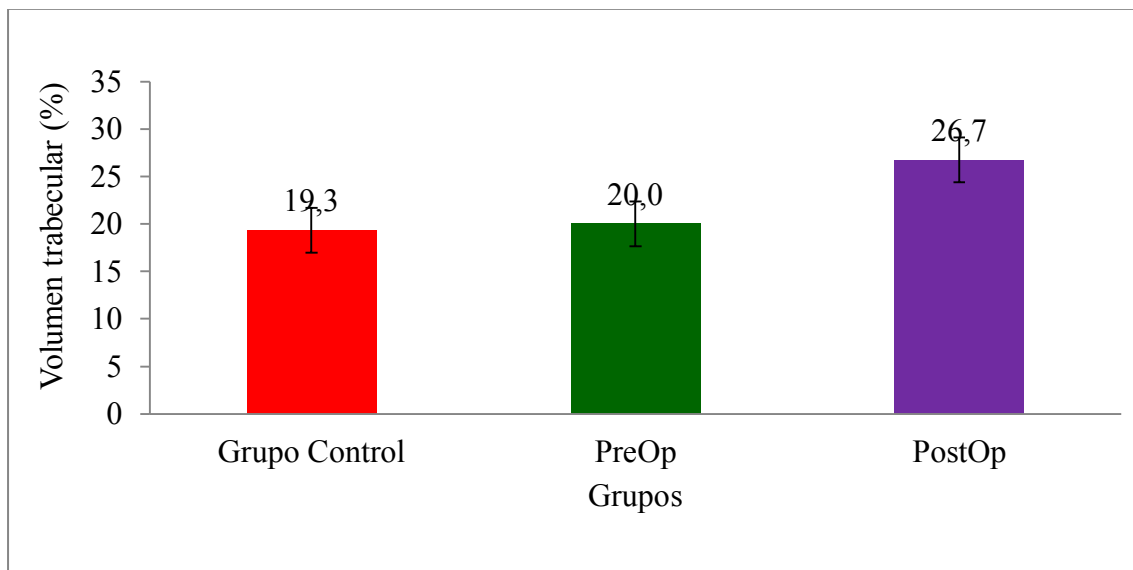


Figura 74 Volumen Trabecular G 3 Control, G 2 y G 1

El efecto observado, se asoció a un mecanismo residual, “inercial” o “descompresivo oxigénico compartimental” del aire hiperbárico. La curva de los Grupos OHB incrementó inicialmente su posición en el gráfico, para luego sostener por 30 días PosQx ese resultado. Posteriormente, terminados los tratamientos, hasta el día 45 PosQx, G 1 y G 2, desarrollaron un ascenso de sus respectivas curvas. G 3 Control (89,3 %) patrón inverso, hasta el día 15 PosQx alcanzó un pico superior que los Grupos OHB, seguido por resultados ~ 50 % menores hasta el día 45 PosQx. (Figura 75)

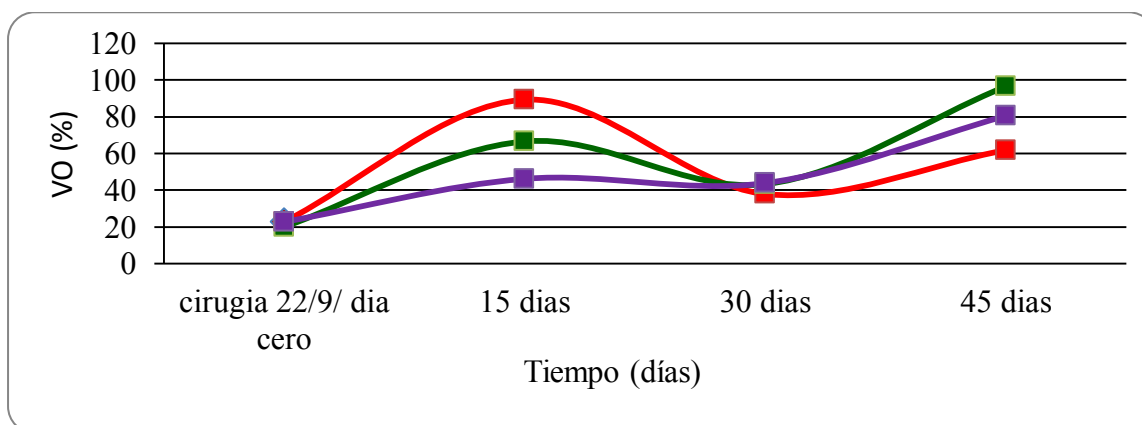


Figura 75. Volumen Óseo (VO) Tibia G 3 Control, G 2 y G 1.

B- Peroné

La histomorfometría VO del día 15 PosQx en G 1 y G 2 presentó un resultado inferior a G 3 Control. Para el día 30 PosQx G 1 (40,35 %) bajó, G 2 (36,51 %) también bajó su respuesta, ~ 45 % más bajo que el día 15

PosQx. G 3 Control (78,03 %) tuvo el valor más alto, posteriormente bajó ~ 15 % en la lectura del día 30 PosQx (67,91 %). El VO del día 45 PosQx (15 días posteriores al término de los tratamientos OHB) en G 1 y G 2 presentó un “rebote o efecto residual” en su curva, ambos incrementaron su respuesta favorable. Por este “efecto rebote” de los Grupos OHB, VO G 2 pasó de 36 % a 56 % y G 1 de 40 % a 59 %. G 3 Control (48,18 %) redujo su medición histomorfométrica VO de esa fecha. **(Figura 76)**

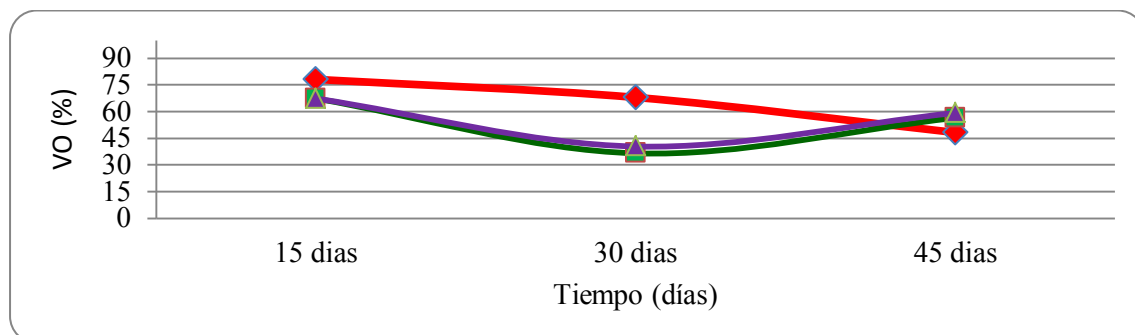


Figura 76. Volumen Óseo Peroné G 3 Control, G 2 y G 1.

Volumen Trabecular Basal-Volumen Óseo experimental. Tratamientos Comparados.

A-Tibia

Terminados los tres tratamientos (día 45 PosQx) el promedio VO G 1 (56,88 %) \approx G 3 Control (57,78 %).

VO G 2 (68,82 %) > G 3 Control (57,78 %).

VO G 1 (56,88 %) > Basal (22,79 %).

VO G 2 (68,82 %) > Basal (22,79 %).

B- Peroné

VO G 1 (55,61 %) \sim 15 % < G 3 Control (62,04 %), a su vez G 1 (55,61 %) > G 2 (53,39 %).

Volumen Óseo Peroné- Tibia.

VO G 1 en Peroné (55 %) \approx G 1 Tibia (56 %).

VO G 1 en Tibia (56 %) \approx Control (57 %).

VO G 2 en Peroné (53 %) < Tibia (68 %).

VO G 2 en Tibia (68,82 %) > Control (57,78 %).

VO G 1 y G 2 en Peroné < G 3 Control.

VO G 3 Control en Peroné (62,04 %) > G 3 en Tibia (57,78 %). **(Figura 77)**

Superficie Osteoclástica Melsen y Malluche.

A-Tibia

El promedio de Superficie Osteoclástica Melsen (/x: 0,86 %) en G 3 Control fue superior a G 2 (/x: 0,41 %). G 1 cero (/x: 0 %) según este parámetro. Resultado compatible con reducción del remodelamiento (anticatabólico). Por parámetro histomorfométrico Superficie Osteoclástica Malluche, G 1 midió cero (/x: 0 %).

G 2 (/x: 1,53 %) \approx G 3 Control (/x: 1,43 %). **(figuras 78 y 79)**

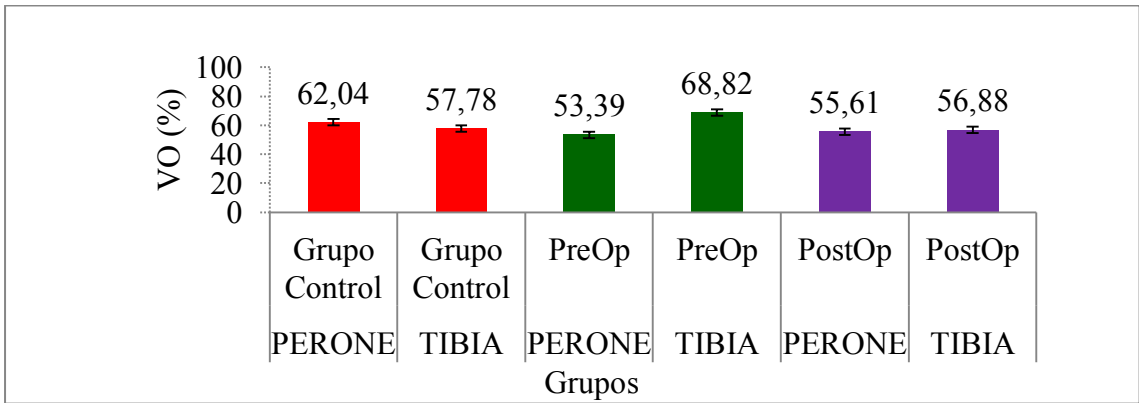


Figura 77. Volumen Óseo Peroné-Tibia G 3 Control, G 2 y G 1.

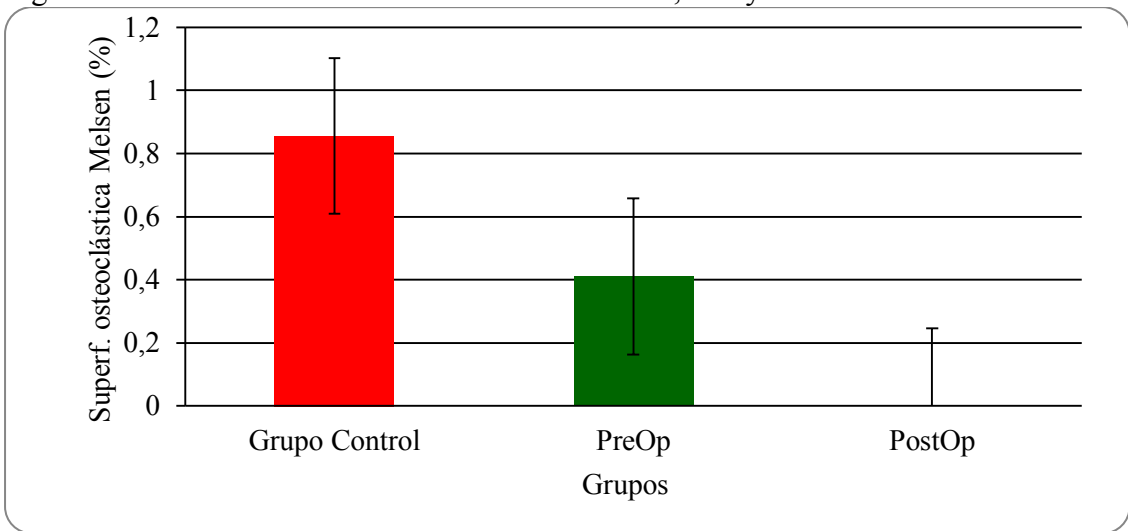


Figura 78. Superficie Osteoclástica Melsen Tibia G 3 Control, G 2 y G 1.

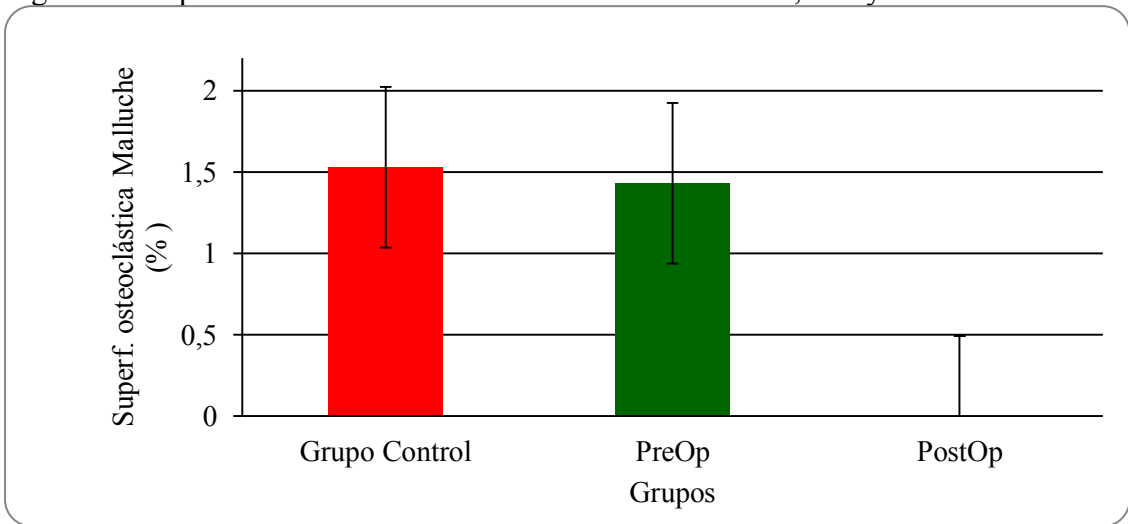


Figura 79. Superficie Osteoclástica Malluche Tibia G 3 Control, G 2 y G 1.

B- Peroné

Según parámetro histomorfométrico Superficie Osteoclástica Melsen G 1 (7,25 %) midió valores superiores a G 3 Control (5,63 %). Aquí, en la lesión por fractura de Peroné, G 1 registró datos compatibles con un fármaco anabólico. G 2 tuvo un resultado cercano a cero (0,16 %). (Figura 80)

El promedio de Superficie Osteoclástica Malluche determinó que G 1 (7,45 %) también registró valores más altos que G 3 Control (2,84 %) y G 2 (1,19 %). **(Figura 81)**

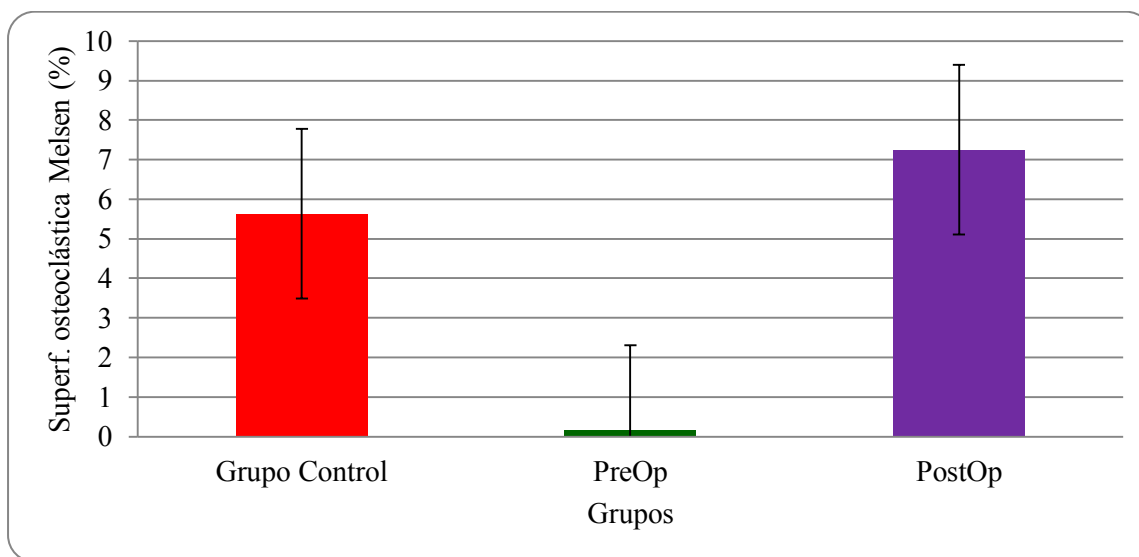


Figura 80. Superficie Osteoclástica Melsen Peroné G 3 Control, G 2 y G 1.

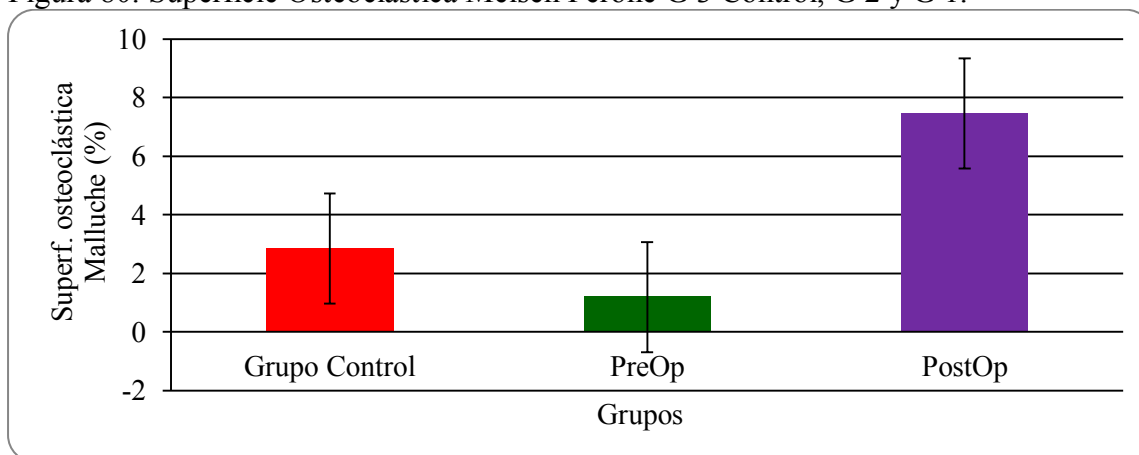


Figura 81. Superficie Osteoclástica Malluche Peroné G 3 Control, G 2 y G 1.

Superficie Osteoblástica (SO).

A-Tibia

SO G 1 (\bar{x} : 5,35 %) < G 2 (\bar{x} : 8,95 %), ambos Grupos OHB con mediciones superiores a G 3 Control (\bar{x} : 3,38 %). En la lesión tibial G 1 y G 2 OHB han inducido mayor formación ósea primaria que G 3 Control.

B-Peroné

SO G 1 (\bar{x} : 8,39 %) \approx G 2 (\bar{x} : 8,41 %), han alcanzado un promedio similar de SO. G 3 Control (\bar{x} : 12,11 %) > G 1 y G 2. **(Figura 82)**

Superficie Osteoblástica comparada Peroné-Tibia.

El promedio comparado de ambas lesiones óseas indicó:

G 1 Peroné (\bar{x} : 8,39 %) > Tibia (\bar{x} : 5,35 %).

G 2 Peroné (\bar{x} : 8,41 %) \approx Tibia (\bar{x} : 8,95 %).

G 3 Control Peroné (\bar{x} : 12,11 %) > Tibia (\bar{x} : 3,38 %).

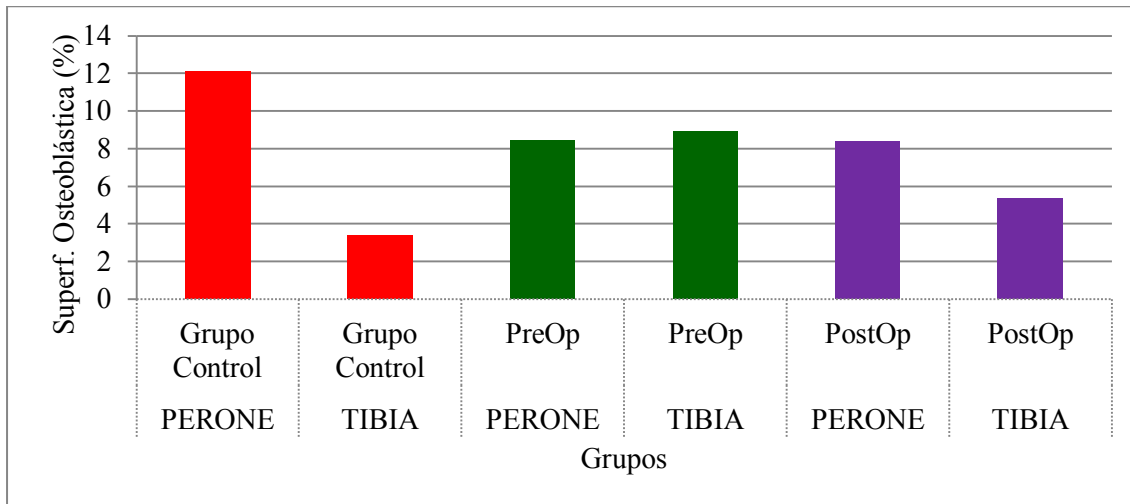


Figura 82. Superficie Osteoblástica Peroné-Tibia G 3 Control, G 2 y G 1.

Volumen Osteoide (VOde).

A-Tibia

VOde G 1 (/x: 0,02 %) < G 3 Control (/x: 0,54 %). VOde G1 y G3 < G2 (/x: 2,17 %).

B-Peroné

El promedio de VOde en G 1 (0,42 %) > G 2 (0,18 %).

VOde G 2 (/x: 0,18 %) ≈ G 3 Control (/x: 0,15 %).

Volumen Osteoide (VOde) comparado Peroné-Tibia.

G 1 Peroné (0,42 %) > Tibia (0,02 %).

G 2 Peroné (0,18 %) < Tibia (2 %).

G 3 Control Peroné (0,15 %) < Tibia (0,54 %). **(Figura 83)**

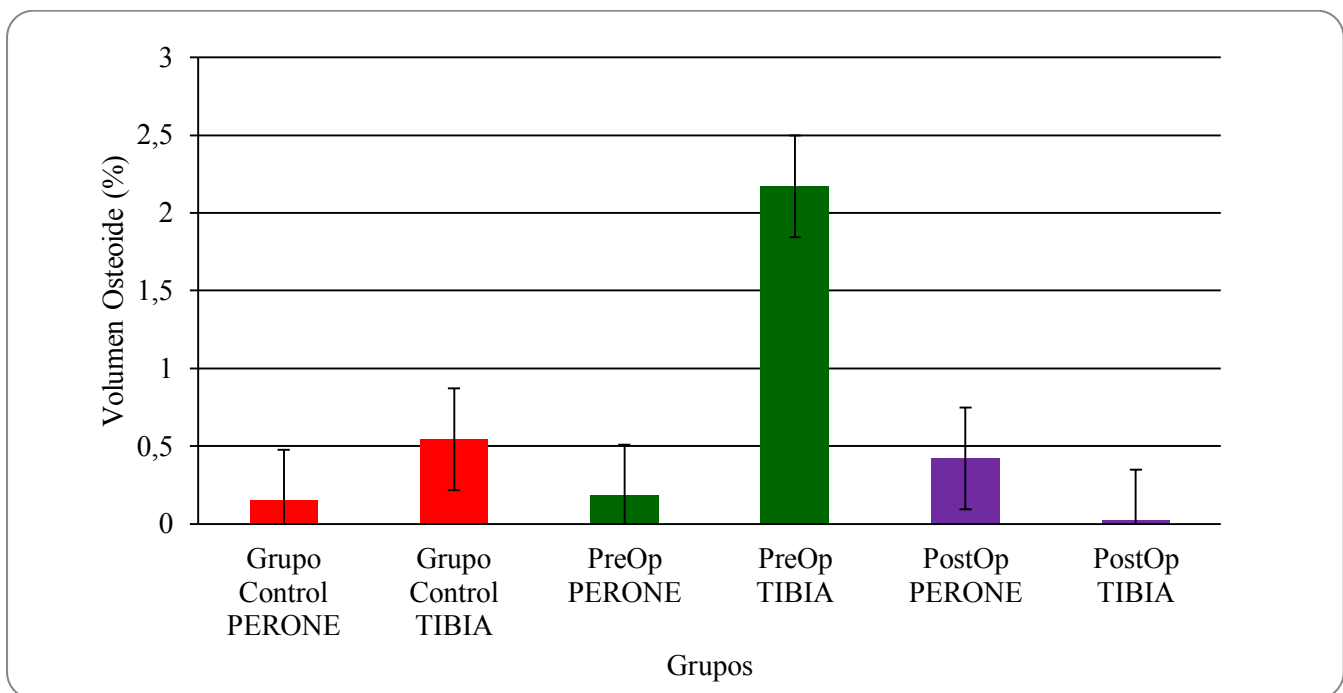


Figura 83. Volumen Osteoide Peroné-Tibia G 3 Control, G 2 y G 1.

Espesor Osteoide.

A-Tibia

Espesor Osteoide en G 2 (13,26 μ) fue mayor que en G 1 (1,13 μ) y G 3 Control (3,30 μ).

B-Peroné

Espesor Osteoide en G 1 (13,38 μ) fue mayor que en G 2 (1,52 μ) y G 3 Control (5,79 μ).

Por los resultados obtenidos quedó en evidencia un “comportamiento terapéutico” opuesto de OHB en lesiones óseas de características diferentes. **(Figura 84)**

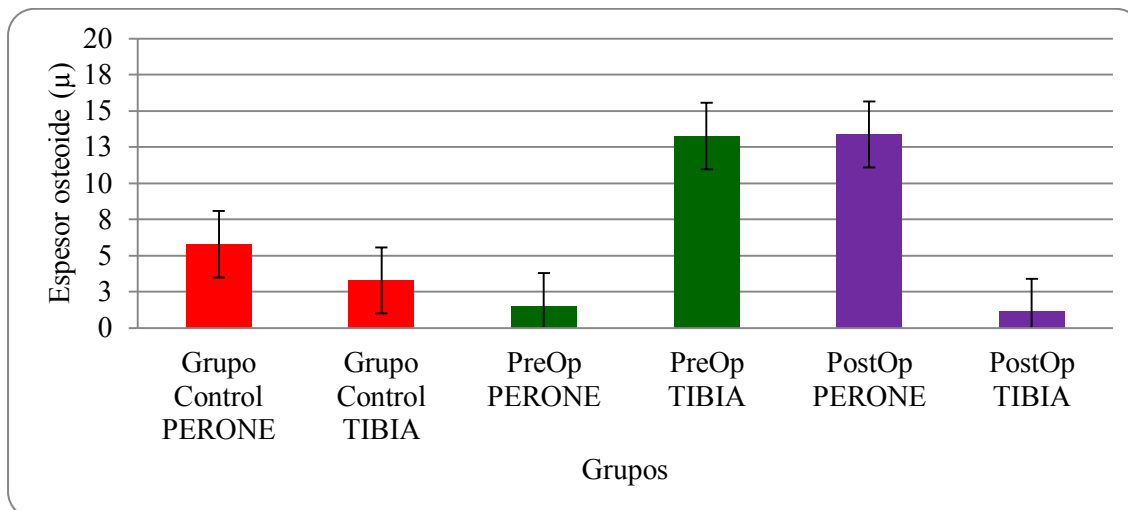


Figura 84. Espesor Osteoide Peroné-Tibia G 3 Control, G 2 y G 1.

Espesor Osteoide Comparado Peroné-Tibia.

G 1 Peroné (13 μ) > Tibia (1,1 μ).

G 2 Peroné (1,5 μ) < Tibia (13 μ).

G 3 Control Peroné (5,79 μ) > Tibia (3,3 μ). **(Figura 84)**

Volumen Condroide.

G 2 en Tibia fue el único grupo que presentó mayor existencia de tejido condroide (14,8 %). En Peroné también se pudo medir una respuesta pero baja (0.18 %). Los tratamientos G 1 y G 3 Control midieron cero tejido condroide en Tibia y Peroné. **(Figura 85)**

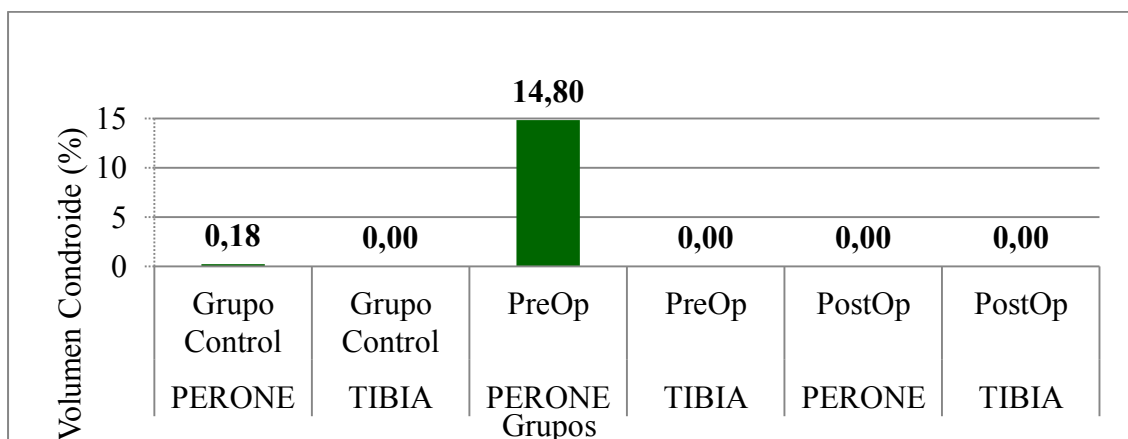


Figura 85. Volumen Condroide Peroné-Tibia G 3 Control, G 2 y G 1.

Resultados e Imágenes de Histomorfometrías Óseas Basales

Parámetros	CONEJO (C)			
Histomorfométricos	9	919	931	2
MICROSCOPIA				
ÓPTICA				
TIBIA				
Extensión Ósea mm	30	17	18	8
Área Total mm ²	9396	8266	9054	11221
Área Ósea mm ²	3321	1933	3824	243
Área Osteoide mm	0	0	0	0
Ext. Osteoide mm	0	0	0	0
Vol. Trabecular %	35,34	23,38	42,23	21,90
Sup. Trabecular %	0,90	0,87	0,47	0,32

Tabla 3. Parámetros histomorfométricos basales 9; 919; 931 y 2.

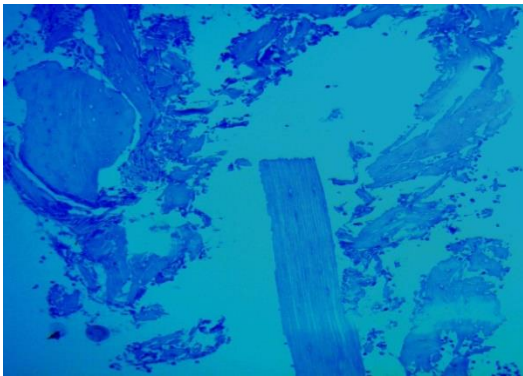


Figura 86. C 9 Hueso (H) laminar y reticular.

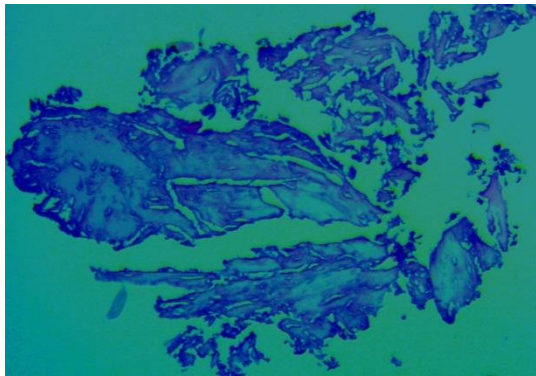


Figura 87. C 919 H reticular (inmaduro) y médula ósea fibrosa.

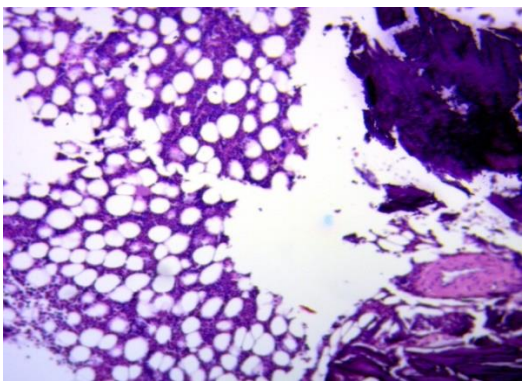


Figura 88. C 931 H reticular.

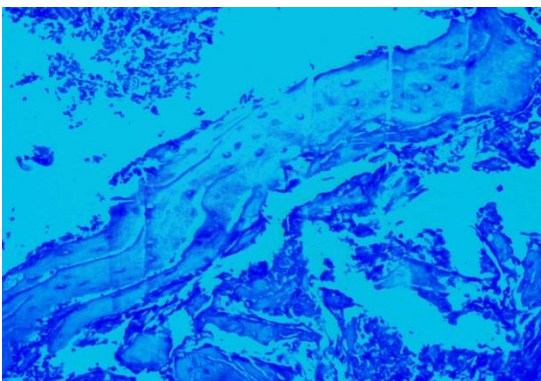


Figura 89. C 2 H laminar, reticular, médula.

Parámetros	CONEJO (C)			
Histomorfométricos	658	1	6	7
MICROSCOPIA				
ÓPTICA				
TIBIA				
Extensión Ósea mm	18	7,7	8	6,9
Area Total mm ²	8136	10481	4662	6363
Area Ósea mm ²	2170	2304	1041	561
Area Osteoide mm	0	0	24	0
Ext. Osteoide mm	0	0	0,9	0
Vol. Trabecular %	26,67	21,98	2,30	8,81
Sup. Trabecular %	0,82	0,33	11,25	1,22

Tabla 4. Parámetros histomorfométricos basales 658; 1; 6 y 7.

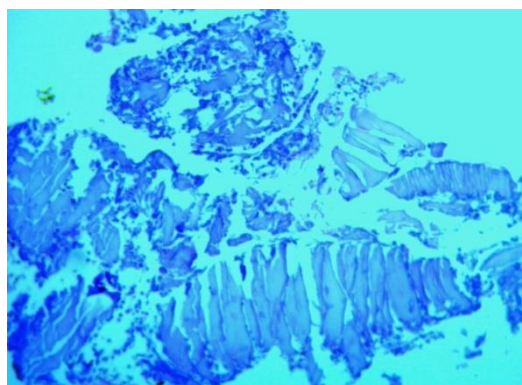


Figura 90. C 658 H laminar (maduro)

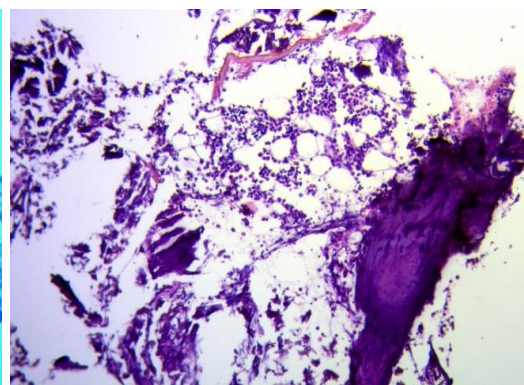


Figura 91. C 1 H laminar.

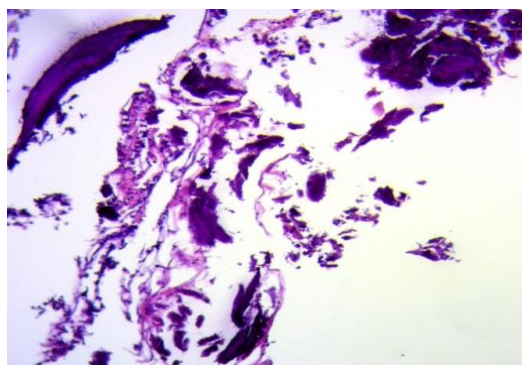


Figura 92. C 6 H laminar, osteoide.

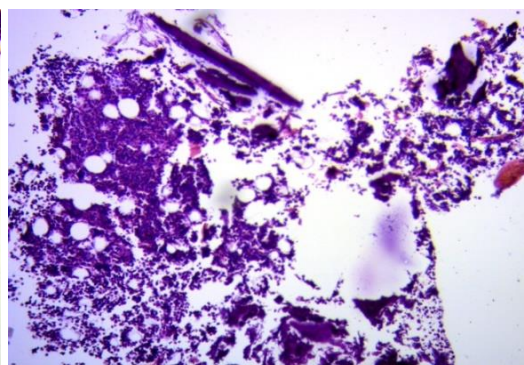


Figura 93. C 7 H laminar, médula ósea.

Parámetros	CONEJO (C)			
Histomorfométricos	13	656	896	914
MICROSCOPIA				
ÓPTICA				
TIBIA				
Extensión Ósea mm	3,3	18,3	4,25	11,5
Area Total mm ²	3110	10650	7442	9942
Area Ósea mm ²	614	2759	475	1299
Area Osteoide mm	0	0	0	0
Ext. Osteoide mm	0	0	0	0
Espesor Osteoide μ	s/d	s/d	s/d	s/d
Vol. Trabecular %	19,74	25,90	6,38	13,06
Sup. Trabecular %	0,53	0,66	0,89	0,88

Tabla 5. Parámetros histomorfométricos basales 13; 656; 896 y 914.

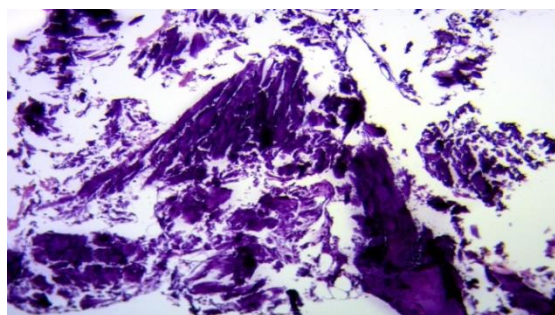


Figura 94. C13 H laminar, médula ósea.

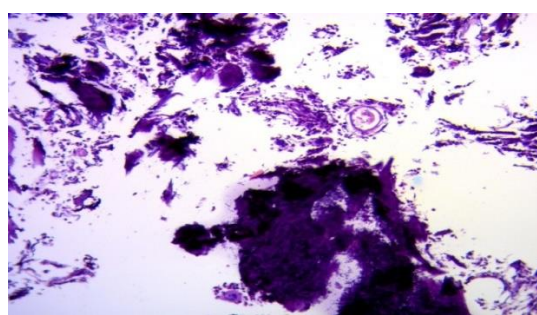


Figura 95. C 656 H laminar, médula ósea.

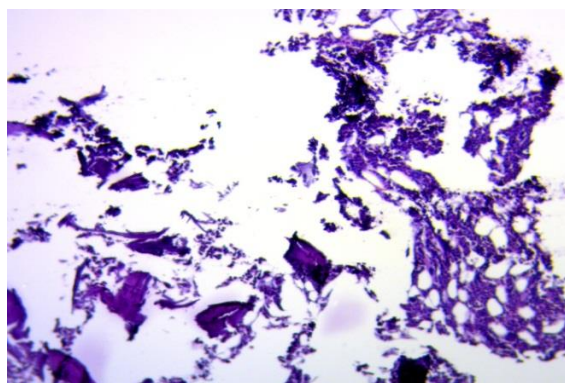


Figura 96. C 896 H laminar y médula ósea.

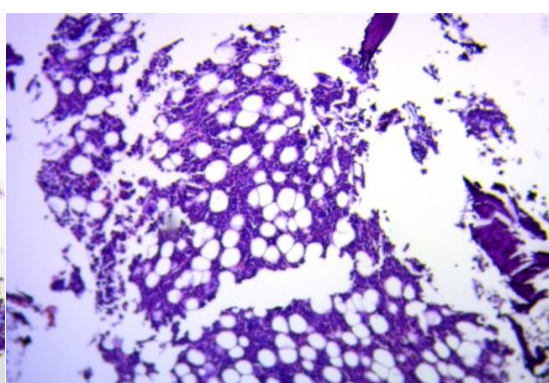


Figura 97. C 914 H laminar y médula ósea.

Parámetros	CONEJO (C)			
Histomorfométricos	963	972	00	8
MICROSCOPIA				
ÓPTICA				
TIBIA				
Extensión Ósea mm	4,4	13,2	5,22	7,6
Area Total mm ²	4451	12554	3604	3510
Area Ósea mm ²	1009	2236	751	1170
Area Osteoide mm	0	0	0	0
Ext. Osteoide mm	0	0	0	0
Espesor Osteoide μ	s/d	s/d	s/d	s/d
Vol. Trabecular %	22,66	17,81	20,83	33,33
Sup. Trabecular %	0,44	0,59	0,69	0,64

Tabla 6. Parámetros histomorfométricos basales 963; 972; 00 y 8.

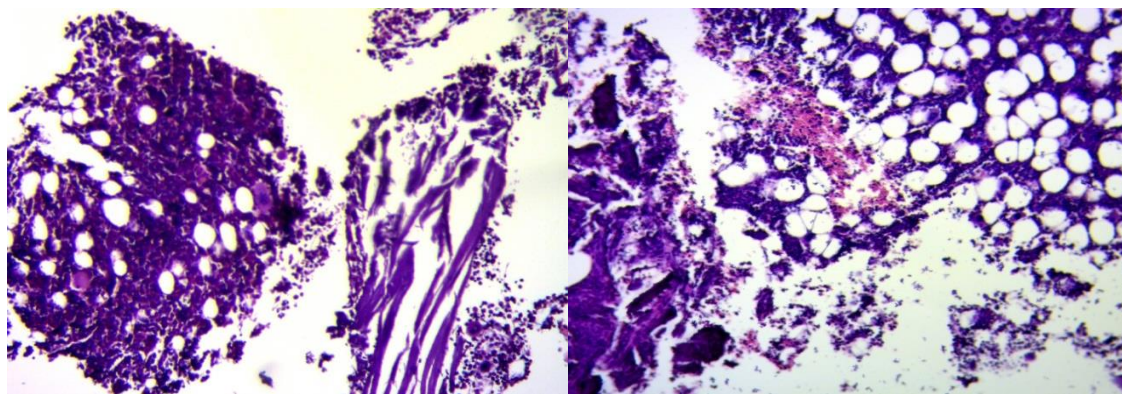


Figura 98. C 963 H laminar y médula ósea. Figura 99. C 7 H laminar, médula, adipocitos.

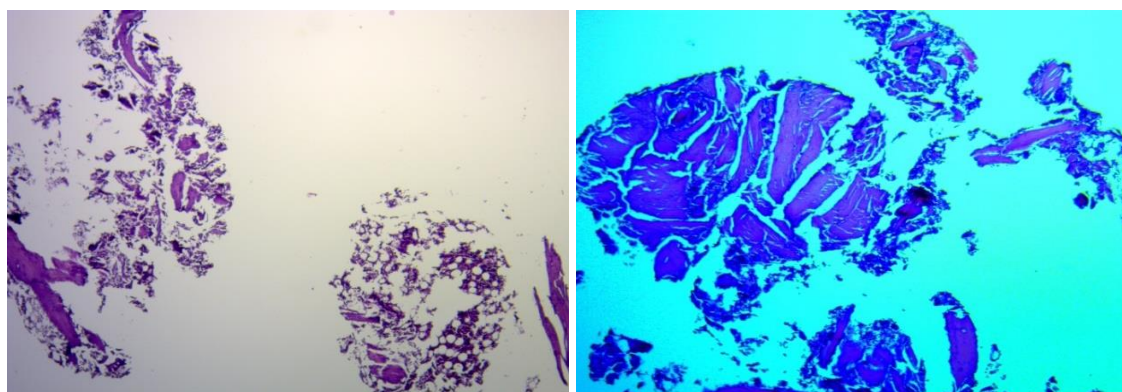


Figura 100. C 00 H laminar y médula.

Figura 101. C 8 H laminar y médula ósea.

Parámetros	CONEJO (C)			
Histomorfométricos	10	891	182	649
MICROSCOPIA				
ÓPTICA				
TIBIA				
Extensión ósea mm	4,2	5,3	4,7	3,8
Area Total mm ²	2813	4108	4091	4035
Area Ósea mm ²	629	478	607	438
Area Osteoide mm	0	0	0	0
Ext. Osteoide mm	0	0	0	0
Espesor Osteoide μ	s/d	s/d	s/d	s/d
Vol. trabecular %	22,36	11,63	14,83	10,85
Sup. Trabecular	0,66	1,1	0,77	0,86

Tabla 7. Parámetros histomorfométricos basales 10; 891; 182 y 649.

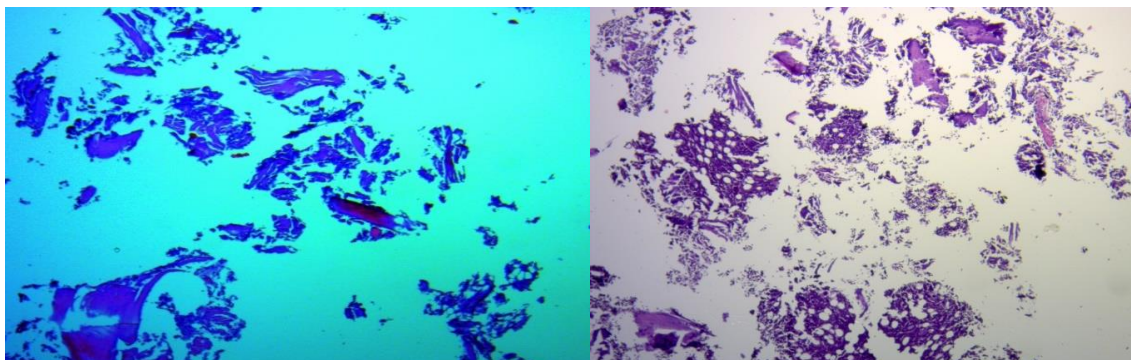


Figura 102. C 10 H laminar y médula ósea.

Figura 103. C 891 H laminar y médula ósea.

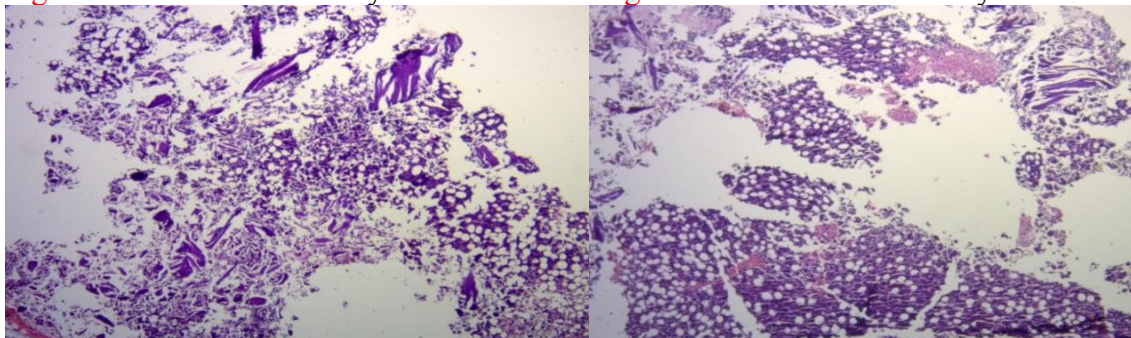


Figura 104. C 182 H laminar, médula ósea.

Figura 105. C 649 H laminar y médula ósea.

Parámetros	CONEJO (C)			
Histomorfométricos	894	920	937	659
MICROSCOPIA				
ÓPTICA				
TIBIA				
Extensión Ósea mm	5,5	4,9	6,9	sin dato (s/d)
Area Total mm ²	3753	3663	3935	s/d
Area Ósea mm ²	797	1111	1124	s/d
Area Osteoide mm	0	0	0	s/d
Ext. Osteoide mm	0	0	0	s/d
Espesor Osteoide μ				
Vol. trabecular	21,23	30,33	28,56	s/d
Sup. Trabecular	0,69	0,44	0,61	s/d

Tabla 8. Parámetros histomorfométricos basales 894; 920; 937 y 659.

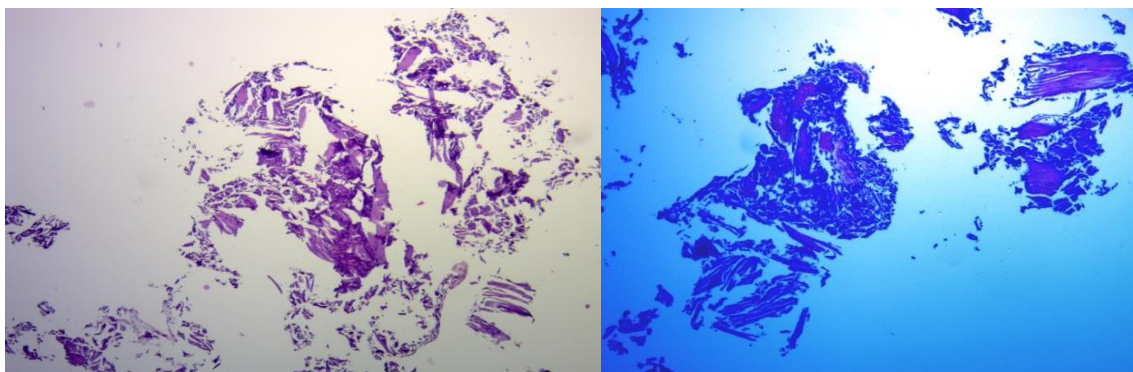


Figura 106. C 894 H laminar y médula ósea.

Figura 107. C 920 H laminar y médula ósea.



Figura 108. C 937 H laminar y médula ósea.

Resultados e imágenes de Histomorfometrías óseas experimentales

GRUPO 1 POSTOPERATORIO

CONEJO 6 Peroné (P día 15 PosQx)

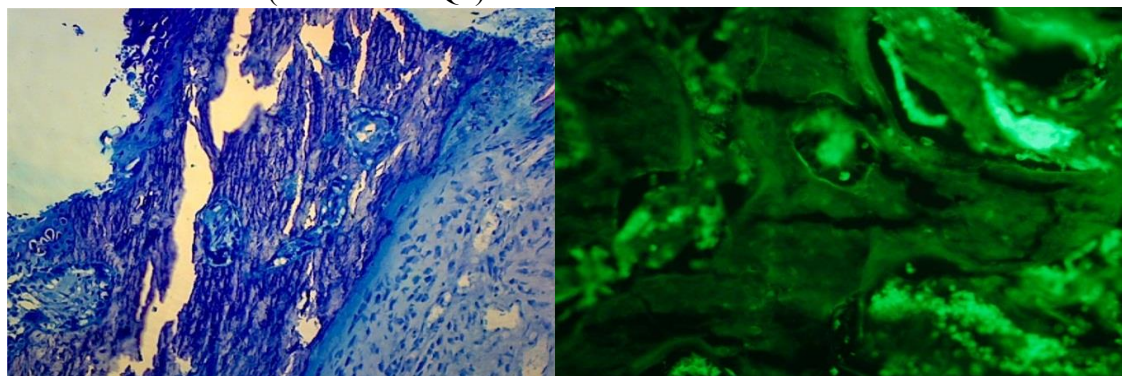


Figura 109. C 6 Peroné (P) estudio estático **Figura 110.** C 6 P estudio dinámico (trabécula)
Microscopía Óptica (MO). Microscopía Inmunofluorescencia (MIF)

N° de biopsia: 6 P	N° de biopsia: 6 T
Material: biopsia de peroné	Material: biopsia de tibia
Inclusión: metacrilato.	Inclusión: metacrilato.
Espesor de cortes: 8 μ	Espesor de cortes: 8 μ

ESTUDIO ESTÁTICO MICROSCOPIA ÓPTICA (Azul toluidina)

Volumen Óseo %	67,29	46,22
Control 26.5 +/- 2.4 Melsen		
Volumen Osteoide %	0,76	0,07
Control 1,7 +/- 0,4 Melsen		
Superficie Osteoide %	33,54	3,97
Control 14.1 +/- 2,6 Melsen		
Superficie Osteoblástica %	15,83	2,65
Control 3,4 +/-2,1 Malluche		
Superficie Osteoclástica %	6,21	0
Control 4,0 +/-0,4 Melsen		
Superficie Osteoclástica %	22,36	0
Control 1,1 +/- 0,35 Malluche		
Superficie Fibrosa %	0	0
Superficie Condroide %	0	0
Espesor Osteoide μ	20,26	11,57
Control 9.7 +/- 2,8 Melsen		

ESTUDIO DINÁMICO FLUORESCENCIA (Tricómico Goldner)

ST Doble Marcación %	3,22	0
Control 3,70		
ST Simple Marcación %	10,73	14
Control 0		
Velocidad Mineralización μ /día	1,26	0
Control Laurence 0,50		

Tabla 9. Resultados histomorfométricos Grupo OHB G 1 Peroné y Tibia (1).

Nº de biopsia: 9 P	Nº de biopsia: 9 T
Material: biopsia de peroné	Material: biopsia de tibia
Inclusión: metacrilato.	Inclusión: metacrilato.
Espesor de cortes: 8 µ	Espesor de cortes: 8 µ

**ESTUDIO ESTÁTICO
MICROSCOPIA ÓPTICA
(Azul toluidina)**

Volumen Óseo %	40,35	43,87
Control 26.5 +/- 2.4 Melsen		
Volumen Osteoide %	0	0
Control 1,7 +/- 0,4 Melsen		
Superficie Osteoide %	0	0
Control 14.1 +/- 2,6 Melsen		
Superficie Osteoblástica %	9,34	7,72
Control 3,4 +/-2,1 Malluche		
Superficie Osteoclástica	0	0
Control 4,0 +/-0,4 Melsen		
Superficie Osteoclástica %	0	0
Control 1,1 +/- 0,35 Malluche		
Superficie Fibrosa %	0	0
Superficie Condroide %	0	0
Espesor Osteoide µ	0	0
Control 9.7 +/- 2,8 Melsen		

**ESTUDIO DINÁMICO FLUORESCENCIA
(Tricómico Goldner)**

ST Doble Marcación %	0	0
Control 3,70		
ST Simple Marcación %	33,14	10,09
Control 0		
Velocidad Mineralización µ /día	0	0
Control Laurence 0,50		

Tabla 10. Resultados histomorfométricos Grupo OHB G 1 Peroné y Tibia (2).

CONEJO 6 Tibia (T día 15 PosQx)

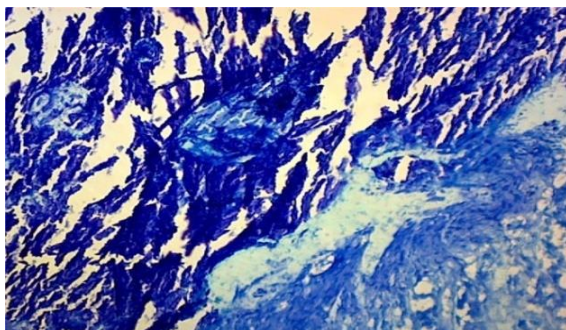


Figura 111. H laminar (MO).

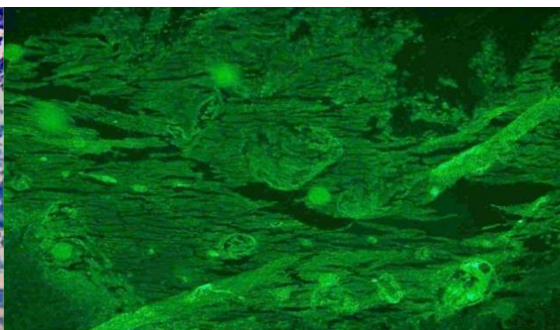


Figura 112. H laminar STDM (MIF).

CONEJO 9 Peroné (P día 30 PosQx)

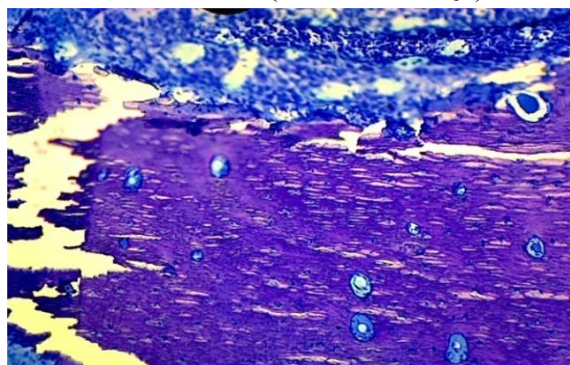


Figura 113. H laminar (MO).

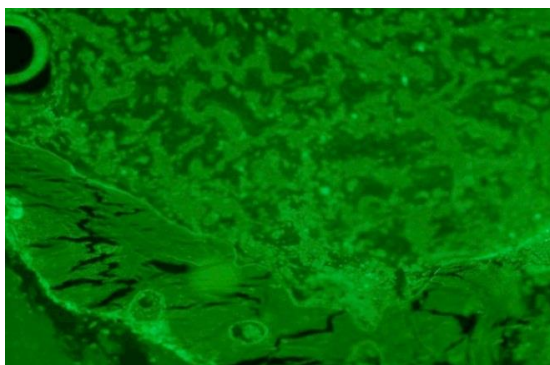


Figura 114. P estudio dinámico (MIF).

CONEJO 9 Tibia (T día 30 PosQx)

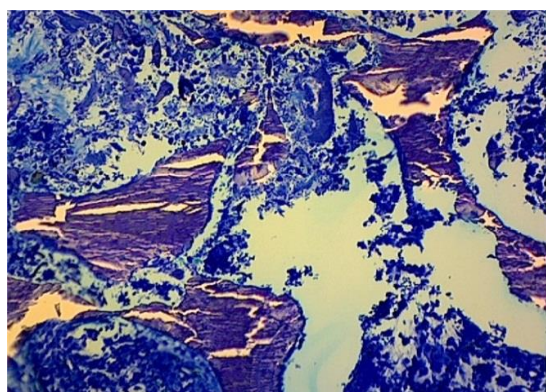


Figura 115. H laminar, estudio estático.

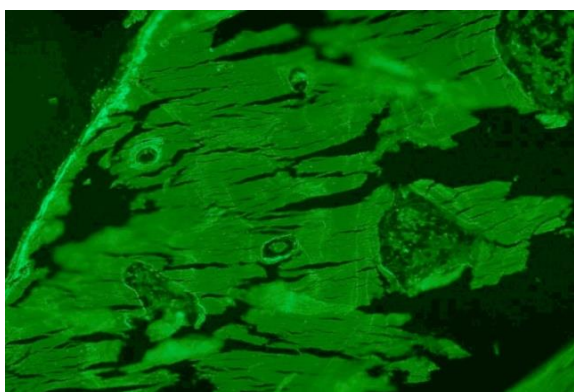


Figura 116. H laminar, estudio dinámico.

Nº de biopsia: 972 P	Nº de biopsia: 972 T
Material: biopsia de peroné	Material: biopsia de tibia
Inclusión: metacrilato.	Inclusión: metacrilato.
Espesor de cortes: 8 µ	Espesor de cortes: 8 µ

ESTUDIO ESTÁTICO MICROSCOPIA ÓPTICA

(Azul toluidina)

Volumen Óseo %	59,20	80,54
Control 26.5 +/- 2.4 Melsen		
Volumen Osteoide %	0,50	0
Control 1,7 +/- 0,4 Melsen		
Superficie Osteoide %	6,60	0
Control 14.1 +/- 2,6 Melsen		
Superficie Osteoblástica %	0	5,69
Control 3,4 +/-2,1 Malluche		
Superficie Osteoclástica %	15,54	0
Control 4,0 +/-0,4 Melsen		
Superficie Osteoclástica %	0	0
Control 1,1 +/- 0,35 Malluche		
Superficie Fibrosa %	0	0
Superficie Condroide %	0	0
Espesor Osteoide µ	22,19	0
Control 9.7 +/-2,8 Melsen		

ESTUDIO DINÁMICO FLUORESCENCIA

(Tricrómico Goldner)

ST Doble Marcación %	36,26	0
Control 3,70		
ST Simple Marcación %	0	0
Control 0		
Velocidad Mineralización μ /día	0	0
Control Laurence 0,50		

Tabla 11. Resultados histomorfométricos Grupo OHB G 1 Peroné y Tibia (3).

CONEJO 972 Peroné (P día 45 PosQx)

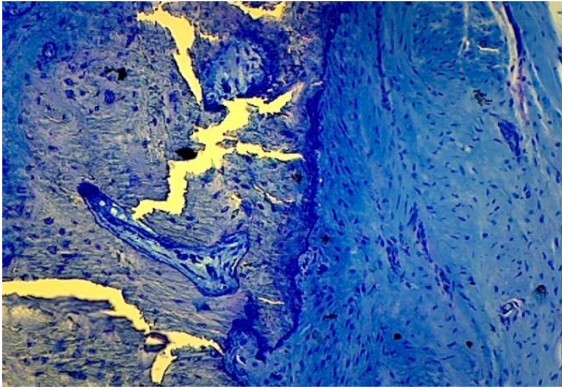


Figura 117. H laminar, estudio estático.

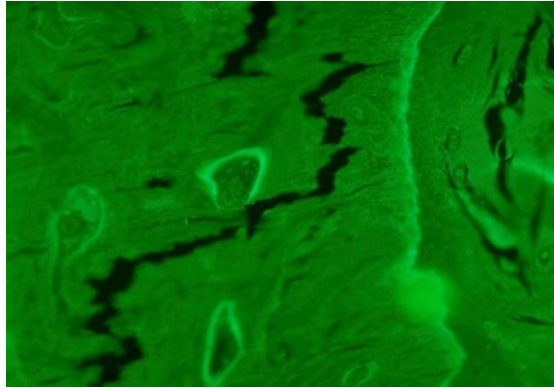


Figura 118. Estudio dinámico (MIF).

CONEJO 972 Tibia (T día 45 PosQx).

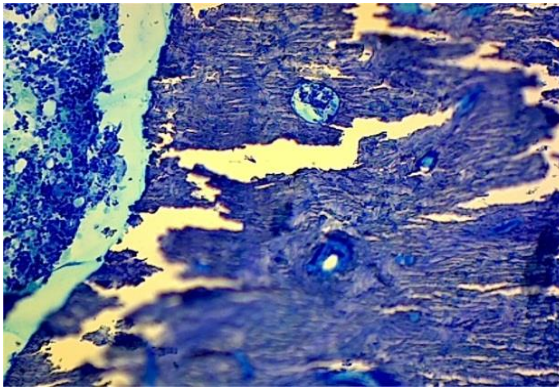


Figura 119. Estudio estático (MO).

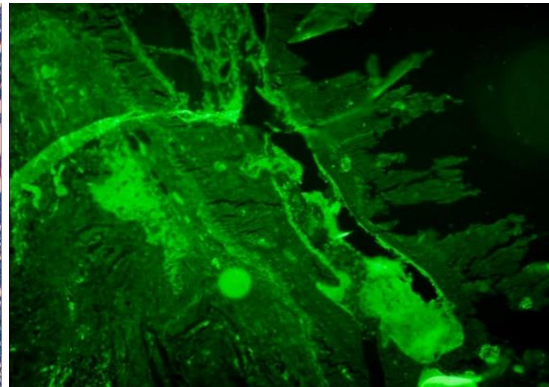


Figura 120. Estudio dinámico (MIF).

GRUPO 2 PREPOSTOPERATORIO

CONEJO 919 Peroné (P día 15 PosQx)

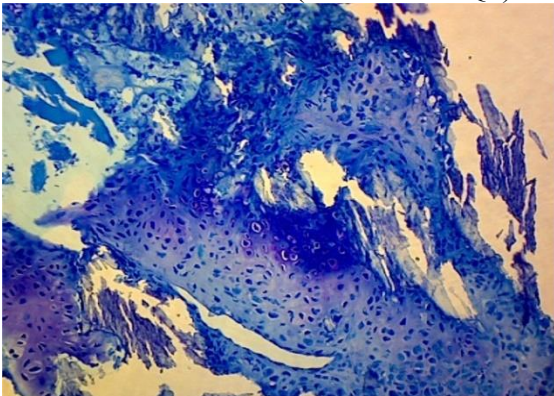


Figura 121. H reticular (azul toluidina).

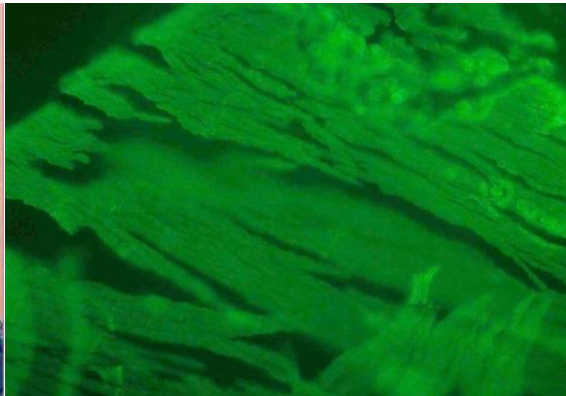


Figura 122. H reticular (MIF).

N° de biopsia: 919 P	N° de biopsia: 919 T
Material: biopsia de peroné	Material: biopsia de tibia
Inclusión: metacrilato.	Inclusión: metacrilato.
Espesor de cortes: 8 μ	Espesor de cortes: 8 μ

ESTUDIO ESTÁTICO MICROSCOPIA ÓPTICA

(Azul toluidina)

Volumen Óseo %	67,28	66,60
Control 26.5 +/- 2.4 Melsen		
Volumen Osteoide %	0	6,25
Control 1,7 +/- 0,4 Melsen		
Superficie Osteoide %	0	37,63
Control 14.1 +/- 2,6 Melsen		
Superficie Osteoblástica %	15,21	20,37
Control 3,4 +/-2,1 Malluche		
Superficie Osteoclástica %	0	0
Control 4,0 +/-0,4 Melsen		
Superficie Osteoclástica %	0	2,44
Control 1,1 +/- 0,35 Malluche		
Superficie Fibrosa %	0	0
Superficie Condroide %	30,22	0
Espesor Osteoide μ	0	19,76
Control 9.7 +/-2,8 Melsen		

ESTUDIO DINÁMICO FLUORESCENCIA

(Tricómico Goldner)

ST Doble Marcación %	0	6,75
Control 3,70		
ST Simple Marcación %	14,16	10,03
Control 0		
Velocidad Mineralización μ/día	0	2,26
Control Laurence 0,50		

Tabla 12. Resultados histomorfométricos Grupo OHB G 2 Peroné y Tibia (1).

N° de biopsia: 931 P	N° de biopsia: 931 T
Material: biopsia de peroné	Material: biopsia de tibia
Inclusión: metacrilato.	Inclusión: metacrilato.
Espesor de cortes: 8 μ	Espesor de cortes: 8 μ

ESTUDIO ESTÁTICO MICROSCOPIA ÓPTICA

(Azul toluidina)

Volumen Óseo %	36,51	96,55
Control 26.5 +/- 2.4 Melsen		
Volumen Osteoide %	0,32	0,26
Control 1,7 +/- 0,4 Melsen		
Superficie Osteoide %	2	2,15
Control 14.1 +/- 2,6 Melsen		
Superficie Osteoblástica %	4,21	2,76
Control 3,4 +/-2,1 Malluche		

Superficie Osteoclástica %	0	1,23
Control 4,0 +/-0,4 Melsen		
Superficie Osteoclástica %	0,60	0
Control 1,1 +/- 0,35 Malluche		
Superficie Fibrosa %	0	0
Superficie Condroide %	0	0
Espesor Osteoide μ	11,08	11,05
Control 9.7 +/-2,8 Melsen		
ESTUDIO DINÁMICO FLUORESCENCIA		
(Tricómico Goldner)		
ST Doble Marcación %	8,82	0
Control 3,70		
ST Simple Marcación %	7,46	7,60
Control 0		
Velocidad Mineralización μ /día	1,28	0
Control Laurence 0,50		

Tabla 13. Resultados histomorfométricos Grupo OHB G 2 Peroné y Tibia (2).

CONEJO 919 Tibia (T día 15 PosQx)

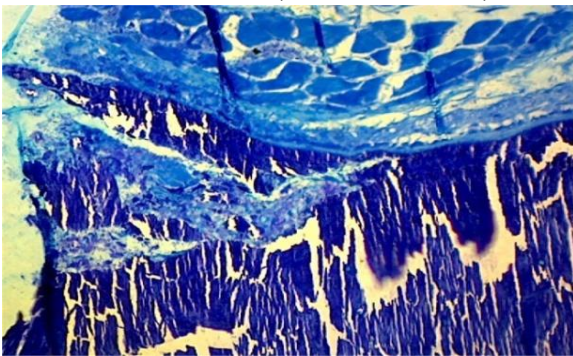


Figura 123. Estudio estático (MO).

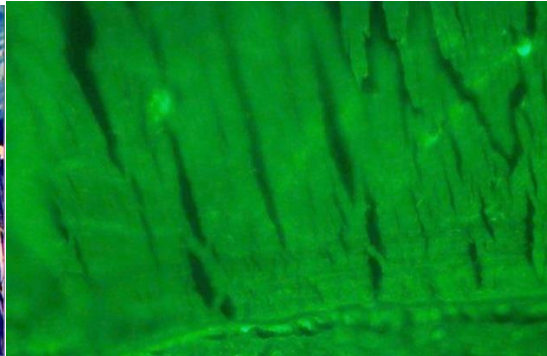


Figura 124. Estudio dinámico (MIF).

CONEJO 931 Peroné (P día 30 PosQx)

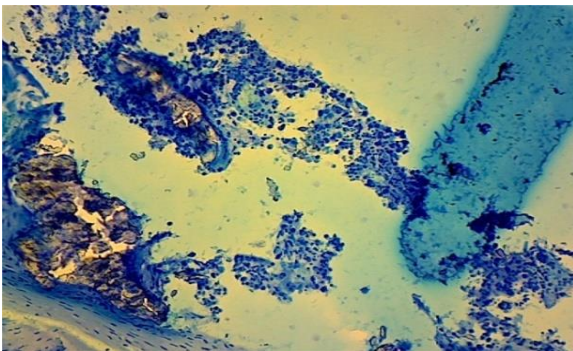


Figura 125. H laminar (MO).

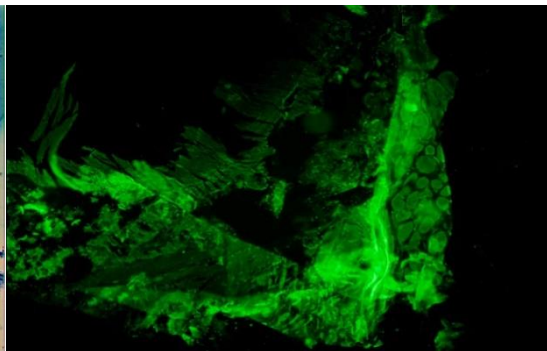


Figura 126. H laminar (MIF).

CONEJO 931 Tibia (T día 30 PosQx)

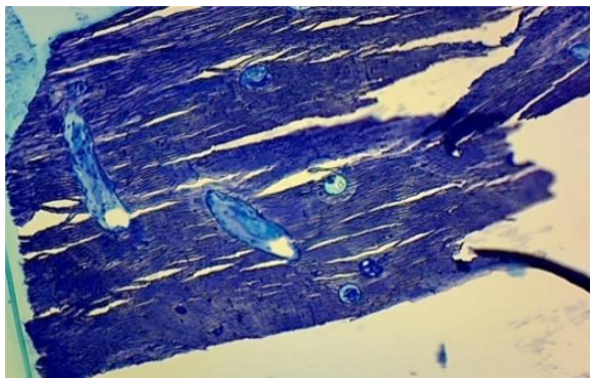


Figura 127. H laminar (MO).

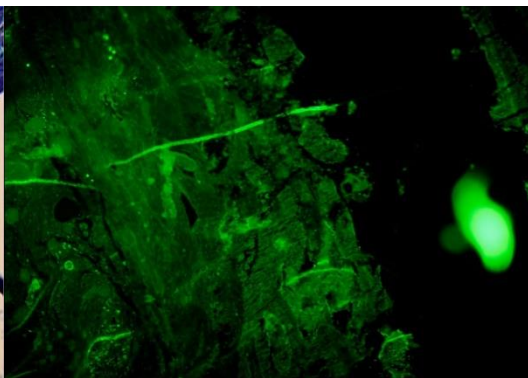


Figura 128. H laminar (MIF).

N° de biopsia: 963 P	N° de biopsia: 963 T
Material: biopsia de peroné	Material: biopsia de tibia
Inclusión: metacrilato.	Inclusión: metacrilato.
Espesor de cortes: 8 μ	Espesor de cortes: 8 μ

ESTUDIO ESTÁTICO MICROSCOPIA ÓPTICA

(Azul toluidina)

Volumen Óseo %	56,42	43,3
Control 26.5 +/- 2.4 Melsen		
Volumen Osteoide %	0,23	0
Control 1,7 +/- 0,4 Melsen		
Superficie Osteoide %	2,56	0
Control 14.1 +/- 2,6 Melsen		
Superficie Osteoblástica %	5,81	3,71
Control 3,4 +/-2,1 Malluche		
Superficie Osteoclástica %	0,47	0
Control 4,0 +/-0,4 Melsen		
Superficie Osteoclástica %	2,97	1,85
Control 1,1 +/- 0,35 Malluche		
Superficie Fibrosa %	0	0
Superficie Condroide %	14,19	0
Espesor Osteoide μ	12,86	0
Control 9.7 +/-2,8 Melsen		

ESTUDIO DINÁMICO FLUORESCENCIA

(Tricómico Goldner)

ST Doble Marcación %	0	2,17
Control 3,70		
ST Simple Marcación %	5,58	7,45
Control 0		
Velocidad Mineralización μ /día	0	1,07
Control Laurence 0,50		

Tabla 14. Resultados histomorfométricos Grupo OHB G 2 Peroné y Tibia. (3)

CONEJO 963 Peroné (P día 45 PosQx)

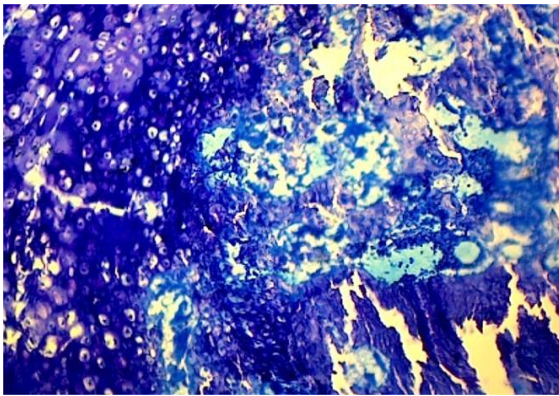


Figura 129 Estudio estático (MO).

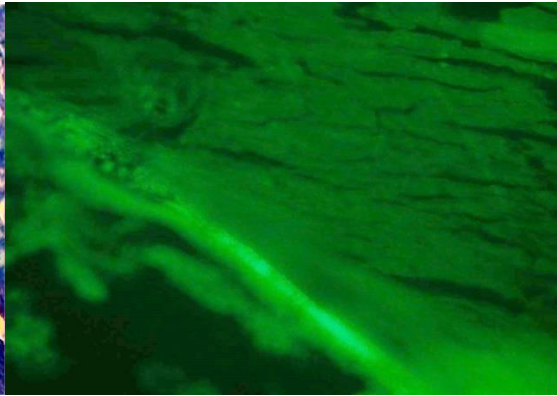


Figura 130. H laminar y reticular (MIF).

CONEJO 963 Tibia (T día 45 PosQx)

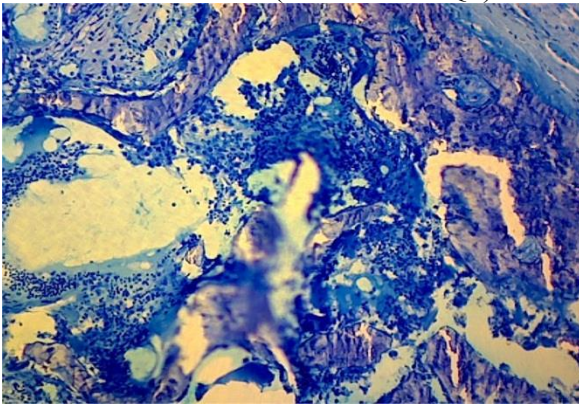


Figura 131. Estudio estático (MO).

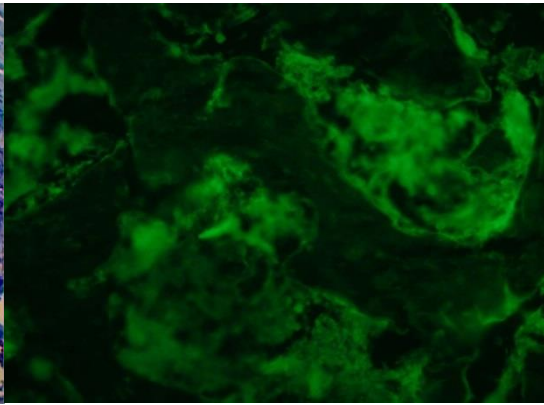


Figura 132. H laminar y reticular (MIF).

GRUPO 3 CONTROL

CONEJO 2 Peroné (P día 15 PosQx)

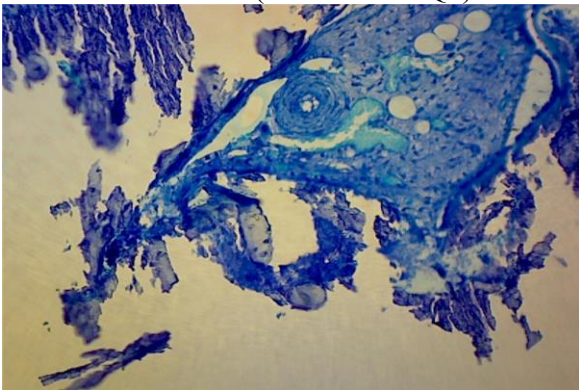


Figura 133. Osteocitos y cond Havers

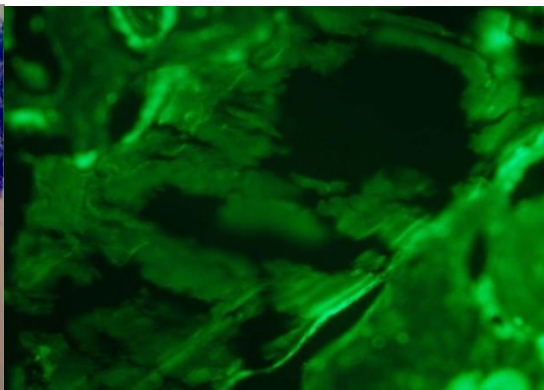


Figura 134. Estudio dinámico (MIF).

	N° de biopsia: 2 P	N° de biopsia: 2 T
	Material: biopsia de peroné	Material: biopsia de tibia
	Inclusión: metacrilato.	Inclusión: metacrilato.
	Espesor de cortes: 8 μ	Espesor de cortes: 8 μ
ESTUDIO ESTÁTICO MICROSCOPIA ÓPTICA		
(Azul toluidina)		
Volumen Óseo %	78,03	89,30
Control 26.5 +/- 2.4 Melsen		
Volumen Osteoide %	0,23	0,07
Control 1,7 +/- 0,4 Melsen		
Superficie Osteoide %	14,38	1,43
Control 14.1 +/- 2,6 Melsen		
Superficie Osteoblástica %	15,59	1,99
Control 3,4 +/-2,1 Malluche		
Superficie Osteoclástica %	0	0
Control 4,0 +/-0,4 Melsen		
Superficie Osteoclástica %	0	1,30
Control 1,1 +/- 0,35 Malluche		
Superficie Fibrosa %	0	0
Superficie Condroide %	0	0
Espesor Osteoide μ	10,54	9,61
Control 9.7 +/-2,8 Melsen		
ESTUDIO DINÁMICO FLUORESCENCIA		
(Tricrómico Goldner)		
ST Doble Marcación %	8,06	0
Control 3,70		
ST Simple Marcación %	15,83	20,49
Control 0		
Velocidad Mineralización μ/día	1,10	0
Control Laurence 0,50		

Tabla 15. Resultados histomorfométricos Grupo G 3 Control Peroné y Tibia (1)

	N° de biopsia: 914 P	N° de biopsia: 914 T
	Material: biopsia de peroné	Material: biopsia de tibia
	Inclusión: metacrilato.	Inclusión: metacrilato.
	Espesor de cortes: 8 μ	Espesor de cortes: 8 μ
ESTUDIO ESTÁTICO MICROSCOPIA ÓPTICA		
(Azul toluidina)		
Volumen Óseo %	62,74	44,35
Control 26.5 +/- 2.4 Melsen		
Volumen Osteoide %	0	0,57
Control 1,7 +/- 0,4 Melsen		
Superficie Osteoide %	0	2,14
Control 14.1 +/- 2,6 Melsen		
Superficie Osteoblástica %	1,13	0
Control 3,4 +/-2,1 Malluche		
Superficie Osteoclástica %	0,45	0
Control 4,0 +/-0,4 Melsen		
Superficie Osteoclástica %	1,19	0
Control 1,1 +/- 0,35 Malluche		

Superficie Fibrosa %	4,62	0
Superficie Condroide %	0	0
Espesor Osteoide μ	0	12,83
Control 9.7 +/-2,8 Melsen		
ESTUDIO DINÁMICO FLUORESCENCIA (Tricómico Goldner)		
ST Doble Marcación %	5,75	0
Control 3,70		
ST Simple Marcación %	16,75	3,11
Control 0		
Velocidad Mineralización μ /día	2,37	0
Control Laurence 0,50		

Tabla 16. Resultados histomorfométricos Grupo G 3 Control Peroné y Tibia (2).

CONEJO 2 Tibia (T día 15 PosQx)

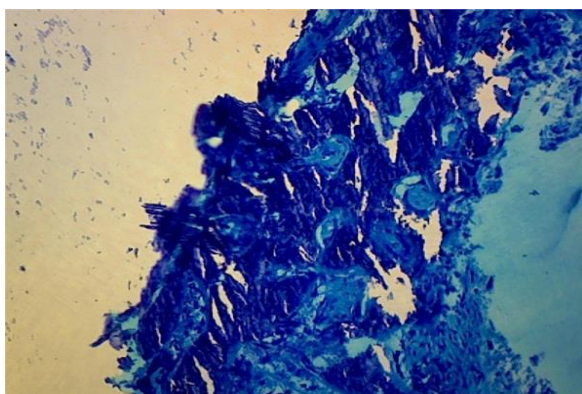


Figura 135. Estudio estático (MO).

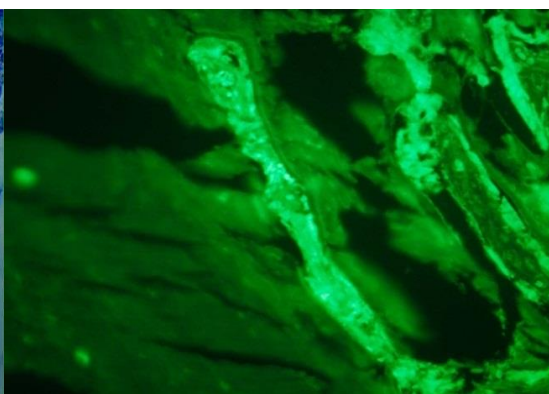


Figura 136. Estudio dinámico (MIF).

CONEJO 914 Peroné (P día 30 PosQx)

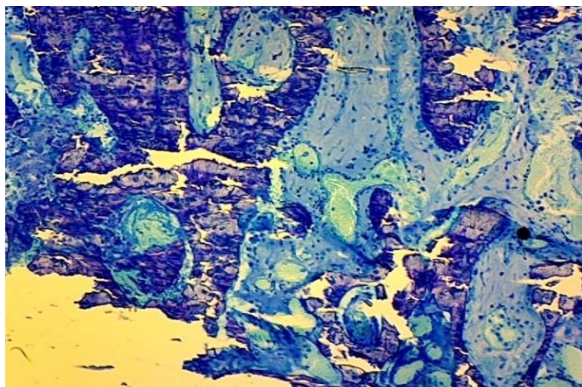


Figura 137. H reticular y laminar (MO).

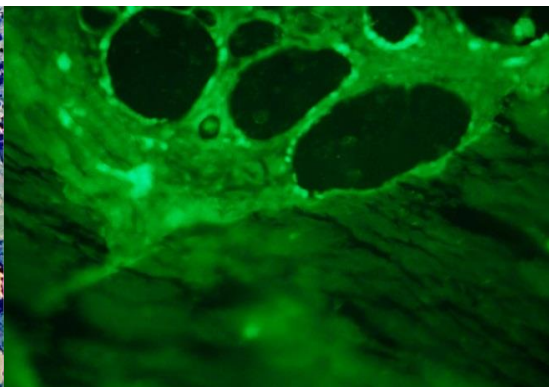


Figura 138. Estudio dinámico (MIF).

CONEJO 914 Tibia (T día 30 PosQx)

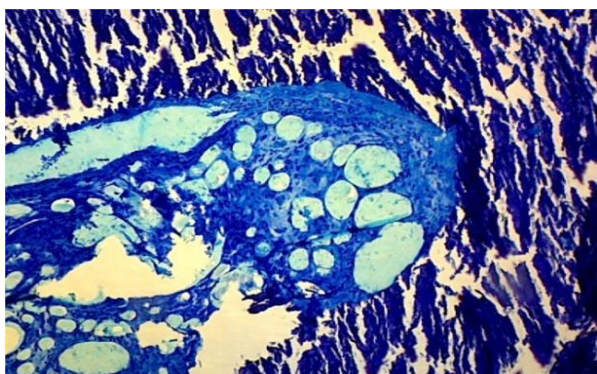


Figura 139. H laminar (MO).

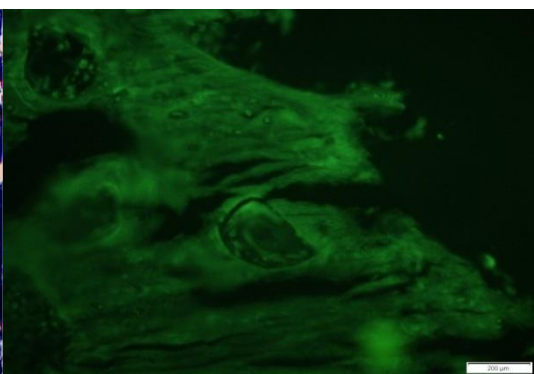


Figura 140. H laminar (MIF).

	N° de biopsia: 8 P	N° de biopsia: 8 T
Material:	biopsia de peroné	biopsia de tibia
Inclusión:	metacrilato.	metacrilato.
Espesor de cortes:	8 μ	8 μ

ESTUDIO ESTÁTICO MICROSCOPIA ÓPTICA
(Azul toluidina)

Volumen Óseo %	49,22	65,20
Control 26.5 +/- 2.4 Melsen		
Volumen Osteoide %	0,14	0
Control 1,7 +/- 0,4 Melsen		
Superficie Osteoide %	11,49	0
Control 14.1 +/- 2,6 Melsen		
Superficie Osteoblástica %	11,49	3,14
Control 3,4 +/-2,1 Malluche		
Superficie Osteoclástica %	1,86	0
Control 4,0 +/-0,4 Melsen		
Superficie Osteoclástica %	4,41	0
Control 1,1 +/- 0,35 Malluche		
Superficie Fibrosa %	0	0
Superficie Condroide %	0	0
Espesor Osteoide μ	22,43	0
Control 9.7 +/-2,8 Melsen		

ESTUDIO DINÁMICO FLUORESCENCIA
(Tricómico Goldner)

S T Doble Marcación %	3,69	0
Control 3,70		
S T Simple Marcación %	27,87	19,26
Control 0		
Velocidad Mineralización μ /día	1,41	0
Control Laurence 0,50		

Tabla 17 Resultados histomorfométricos Grupo G 3 Control Peroné y Tibia. (3)

CONEJO 8 Peroné (P día 45 PosQx)

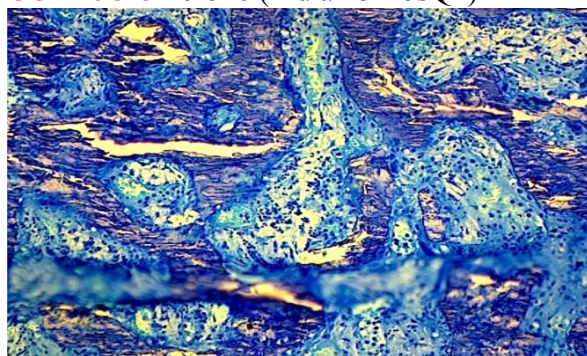


Figura 141. H laminar (MO).

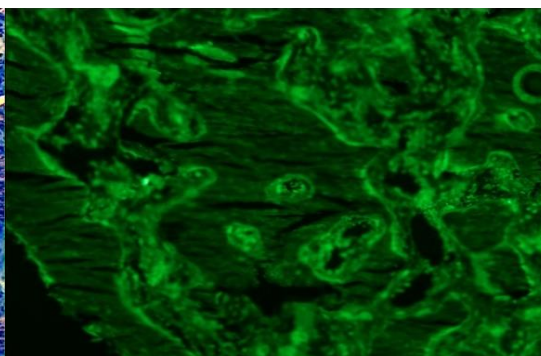


Figura 142. H laminar (MIF).

CONEJO 8 Tibia (T 45 días PosQx)

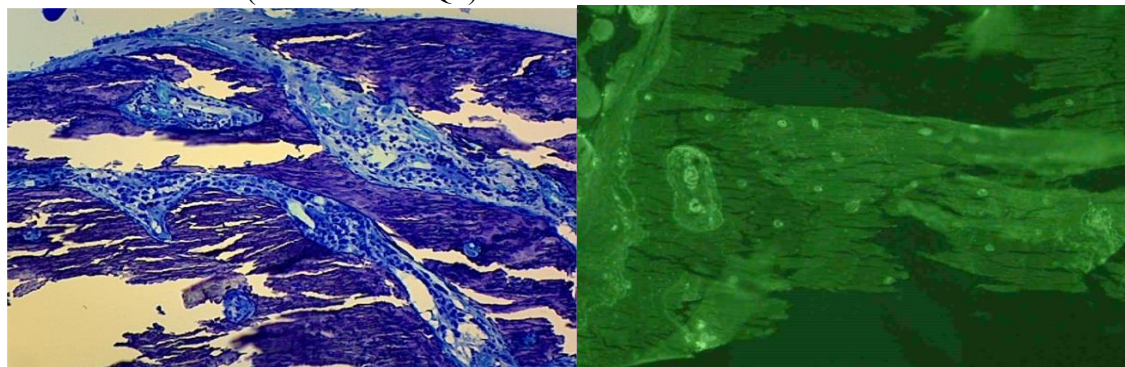


Figura 143. H laminar (MO).

Figura 144. H laminar (MIF).

7.2 Imágenes radiográficas.

Tibia: Callo Periendóstico. Unidades observacionales (UO)

El promedio de G 1 (/x: 0,658 UO) hasta el día 25 PosQx fue superior a G 2 (/x: 0,850 UO). G 2 > G 3 Control (/x: 0,783 UO). Un patrón coincidente a parámetros histomorfométricos Volumen Óseo (VO) y Velocidad de Mineralización (VM) de Tibia. **(Figura 145)**

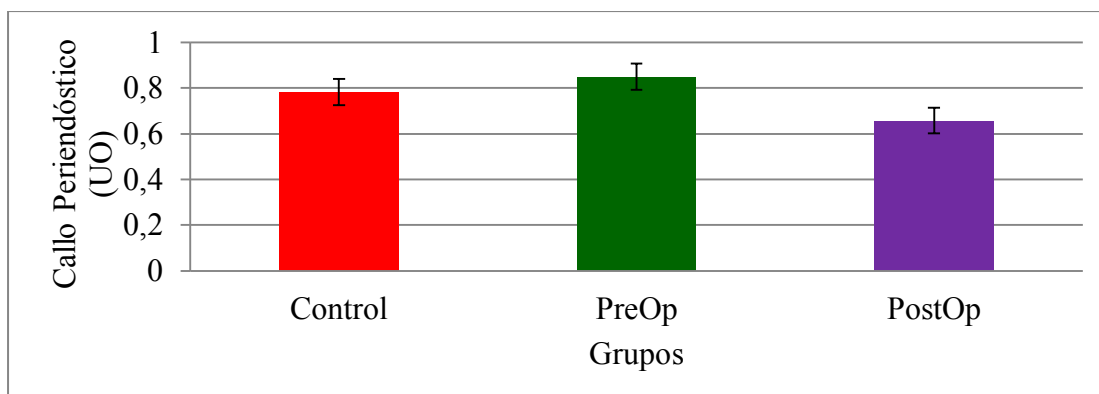


Figura 145. Callo Periendóstico Tibia 20-25 días PosQx G 3 Control, G 2 y G 1.

El dato diferencial del patrón estuvo en que las histomorfometrías VO y VM no mostraron discrepancia entre G 1 y G 3, como la disparidad observada en Callo Periendóstico (CPe) de G 3 Control y G 1 (~ 11 % por método observacional). De todas maneras la variable CPe habría mantenido el mismo desarrollo de G 2 con valores más altos que G 1 y G 3 Control. La secuencia radiográfica PosQx se realizó en el siguiente orden cronológico: 1° 28/09/12, 2° 04/10/12, 3° 12/10/12 y 4° 19/10/12. El día 30 PosQx G 1 tuvo una lectura ~ 50 % < G 2 y G 3 (0,403). G 2 consiguió el promedio registrado más alto en Callo Periendóstico (Callo Medular de Mc Kibbin) hasta el día 30 PosQx.

Día 7 PosQx G 2 (0,895 UO) \approx G 3 Control (0,835 UO).

Día 14 PosQx G 2 (0,716 UO) \equiv G 3 Control (0,716 UO). G 2 (0,716 UO) \approx G 1 (0,748 UO).

Día 28 PosQx G 2 (1,2 UO) > G 3 Control (0,537 UO).

La respuesta positiva más rápida en tibia se logró con G 2. ($G 2 > G 3$ Control).

Día 28 PosQx G 3 Control redujo Callo Periendóstico $\sim 50\%$ respecto al día 21 PosQx (0,537 UO). Nivel $\sim 50\%$ menor a G 2 en la misma fecha. **(Figura 146)**

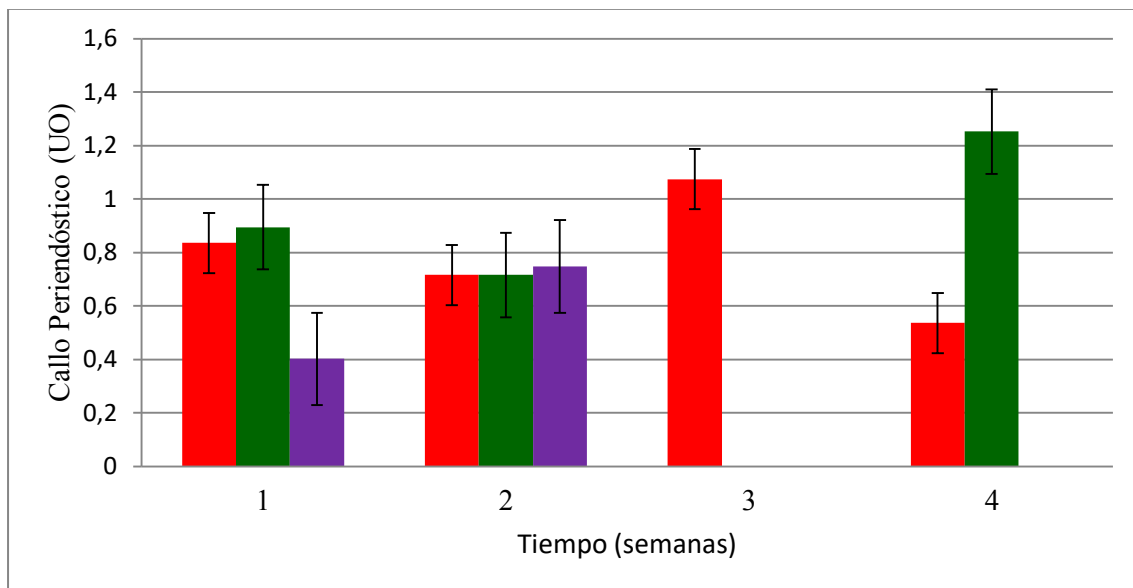


Figura 146. Evolución PosQx Callo periendóstico Tibia (1: 7d; 2: 14d; 3: 21d; 4: 28d).

B- Peroné: Callo Perióstico.

Callo Perióstico (CPo) de Peroné G 1 ($/x: 0,984$ UO) y G 2 ($/x: 0,985$ UO) resultó menor a G 3 Control ($/x: 1,141$ UO). En la medición observacional correspondiente al día 20-25 PosQx G 1 \approx G 2. **(Figura 147)**

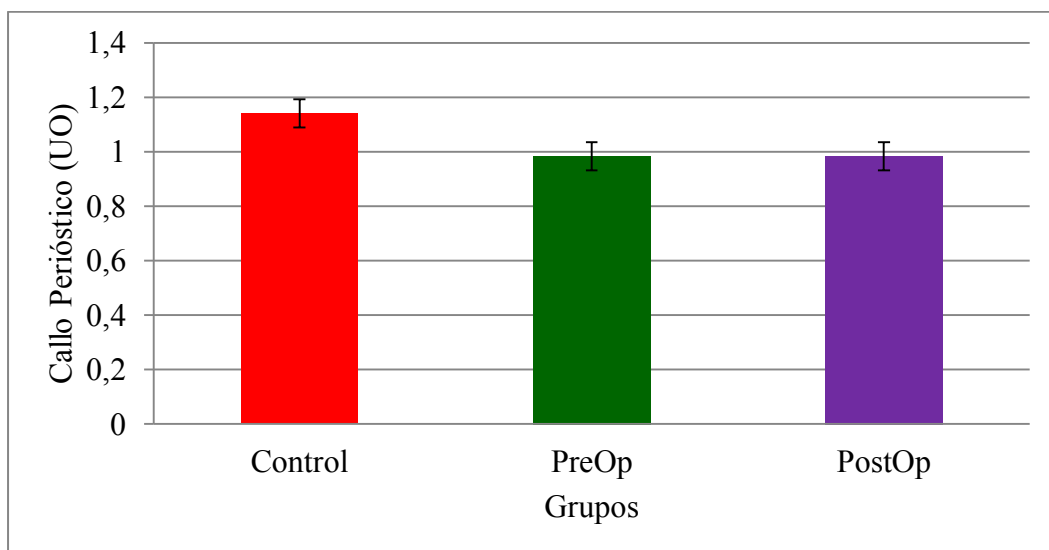


Figura 147. Callo Perióstico Peroné 20-25 días PosQx G 3 Control, G 2 y G 1.

G 3 Control hasta el día 30 PosQx presentó en promedio la respuesta más alta en Callo Perióstico (Callo Puente Externo de Mc Kibbin).

El día 7 PosQx los Grupos OHB, G 1 (0,98 UO) y G 2 (1,07 UO) presentaron valores inferiores a G 3 Control (1,19 UO). Desde el día 7 al 25 PosQx G 1 y G 2 tuvieron resultados más bajos que G 3 Control.

El día 28 PosQx G 2 (1,25 UO) > G 3 Control (0,90 UO).

Resumiendo, aquí, luego del análisis de los datos obtenidos, en la lesión por fractura de peroné, se consideró como resultado positivo más rápido a G 3 Control (G 3 ~ 15 % > G 1 y G 2 OHB). **(Figura 148)**

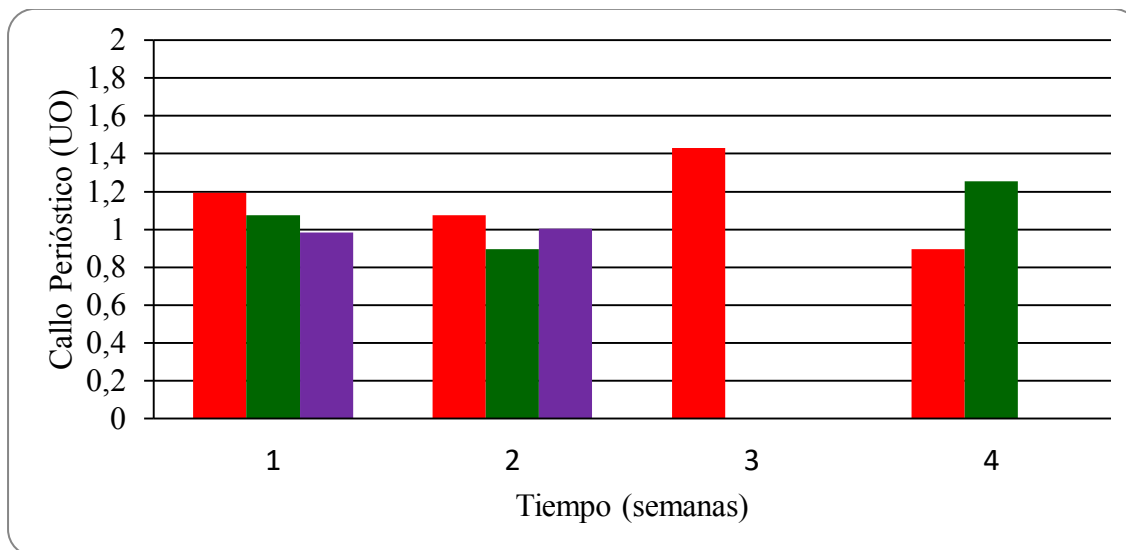


Figura 148. Evolución PosQx Callo perióstico Peroné (1: 7d; 2: 14d; 3: 21d; 4: 28d).

Síntesis de las Variables Radiográficas Observacionales.

Grupos experimentales OHB G 1 (UO 0,793) y G 2 (UO 0,85) lograron un promedio ~ 30 % menor a G 3 Control. G 2 > G 1. G 2 OHB habría tenido un resultado más favorable considerando variables observacionales asociadas a evolución radiográfica positiva de una lesión ósea: CPo, CPe y Fibrosis cicatrizal, esta última variable reunió todas las complicaciones posibles: pseudoartrosis, fibrosis, edema o inflamación de los tejidos blandos periféricos a la fractura. Fibrosis cicatrizal G 1 \equiv G 3. **(Figura 149)**

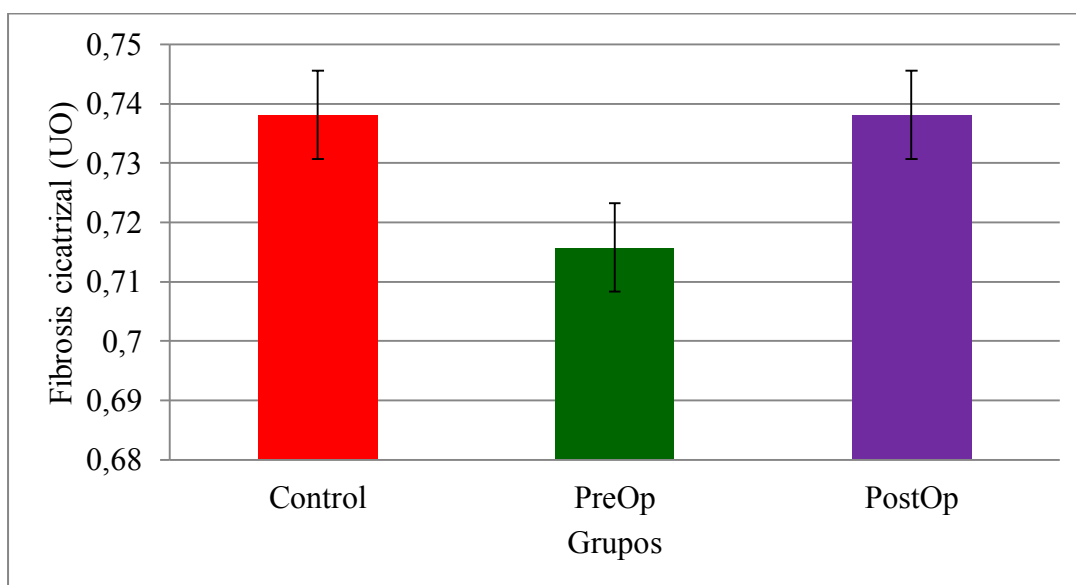


Figura 149. Fibrosis cicatrizal, complicaciones (edema-fibrosis-pseudoartrosis) en tibia y peroné.

Curvas de resultado radiográfico-tiempo.

A-Tibia: Callo Periendóstico.

Por los datos obtenidos en el análisis radiográfico, la respuesta al tratamiento G 1 en Tibia, ha sido en todas las etapas medidas más baja que G 2 y G 3 Control.

El día 7 PosQx G 1 (0,403 UO) < ~ 50 % a G 2 y G 3. G 2 (0,895 UO) \approx G 3 Control (0,835 UO).

El día 15 PosQx G 1 (0,743 UO) \approx G 2 (0,716 UO). G 2 \equiv G 3 Control (0,716 UO).

G 2 recuperó mejor desde el día 21 al 30 PosQx (1,253 UO), llegando a una determinación superior a G 3 Control (0,537 UO). Resultado compatible con un efecto favorable o positivo en lesión de tibia. **(Figura 150)**

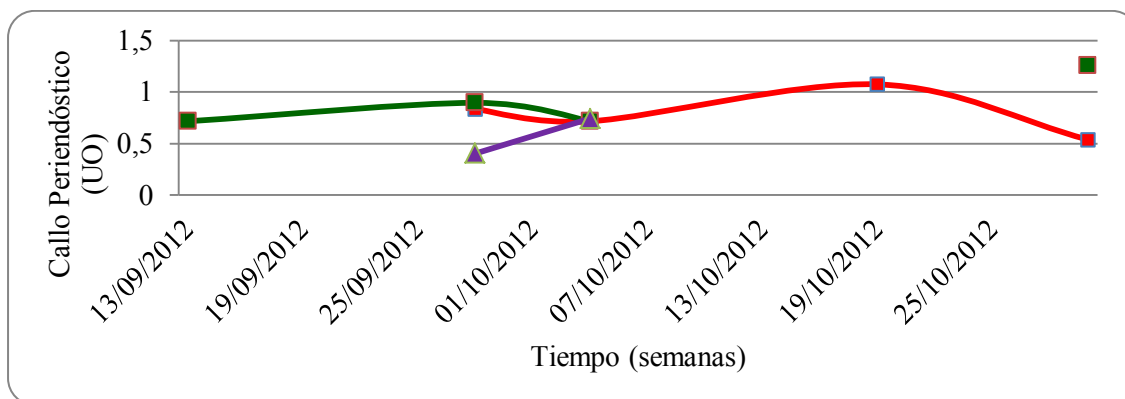


Figura 150. Curva de evolución Callo Periendóstico Tibia.

B-Peroné: Callo Periostico.

Según la variable CPo G 1 (0,985 UO) y G 2 (1,073 UO) habrían alcanzado un resultado no diferente al obtenido la semana siguiente PosQx (inferior a G 3 Control: 1,193 UO). En los resultados del día 15 PosQx G 1 mantuvo el mismo registro (0,985 UO), G 2 bajó (0,895 UO). Posteriormente el día 21 PosQx, G 3 Control marcó un nivel más alto que los Grupos OHB (1,430 UO). Después de este pico, la curva de G 3 Control descendió a niveles basales para el día 28 PosQx (0,895 UO). **(Figura 151)**

G 2 recuperó mejor luego del día 28 PosQx, para llegar una semana después (día 35 PosQx) a un valor de 1,253 UO (> Control). G 2 luego de haber terminado el tratamiento con OHB acentuó el efecto positivo sobre la lesión. G 3 Control \neq G 2. El resultado en Peroné de G 1 ha sido en todas las etapas más bajo que G 2 y G 3 Control, según estas variables radiográficas. Existiría un patrón coincidente entre los resultados de CPo de Peroné y el parámetro histomorfométrico VO.

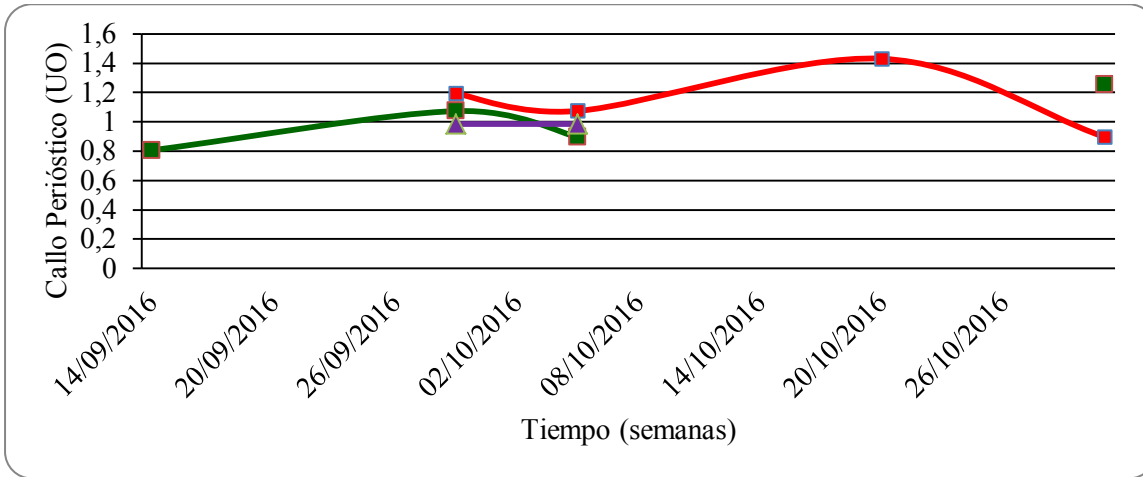


Figura 151. Curva de evolución Callo Perióstico Peroné.

Imágenes Radiográficas (Rx) Basal, Control y Experimental

Secuencia de radiografías en conejos: 891, 182, 7, 972, 894, 937, 963, 896, 931 el día 7, 14, 21 y 28 PosQx.
 Secuencia completa de tres conejos por cada Grupo: G 1, G 2 y G 3 Control desde Basal hasta la finalización de la experiencia. Cráneo-caudal (CC) y Mediolateral (ML) cada 7 días/1 mes.

GRUPO 1 POSTOPERATORIO

CONEJO 972

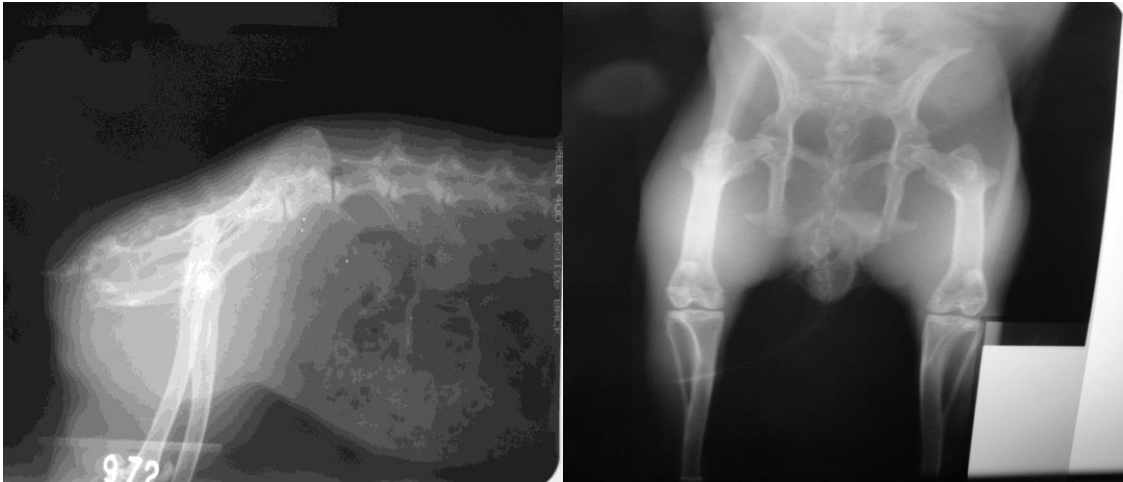


Figura 152. Rx basal, vértebras lumbares. Figura 153. Rx basal, cadera.



Figura 154. Basal, ML y CC.

Figura 155. Rx CC y ML (d 7 PosQx).



Figura 156 Rx ML y CC (14 PosQx).



Figura 157. Rx ML y CC (21 PosQx).



Figura 158. Rx CC y ML (28 PosQx).
CONEJO 894



Figura 159. Rx basal, cadera.

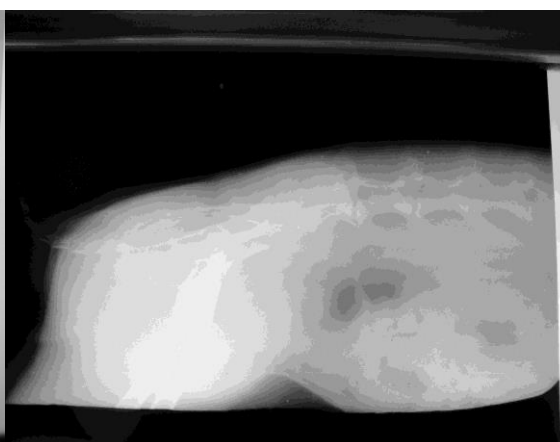


Figura 160. Rx basal, vértebras lumbares.



Figura 161. Rx basales CC y ML.



Figura 162 Rx CC y ML (7 PosQx).

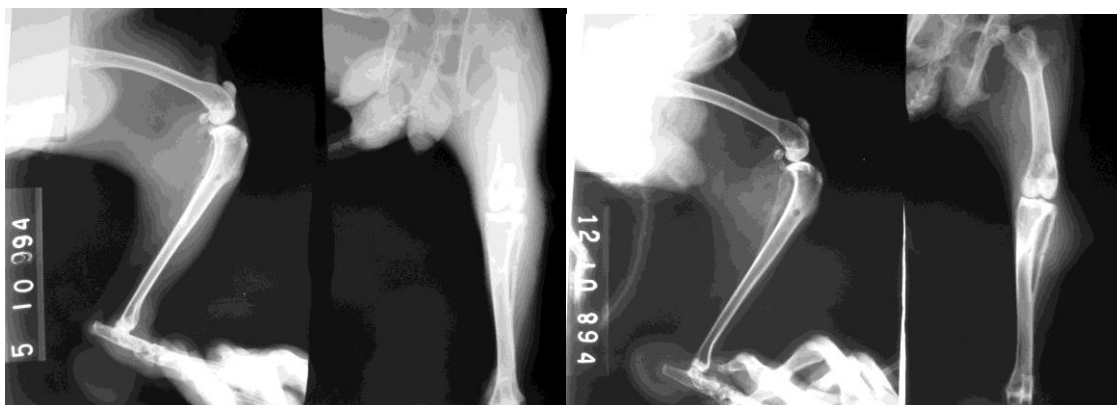


Figura 163. Rx ML y CC (14 PosQx).

Figura 164 Rx ML y CC (21 PosQx).



Figura 165. Rx ML y CC (28 PosQx).
CONEJO 937

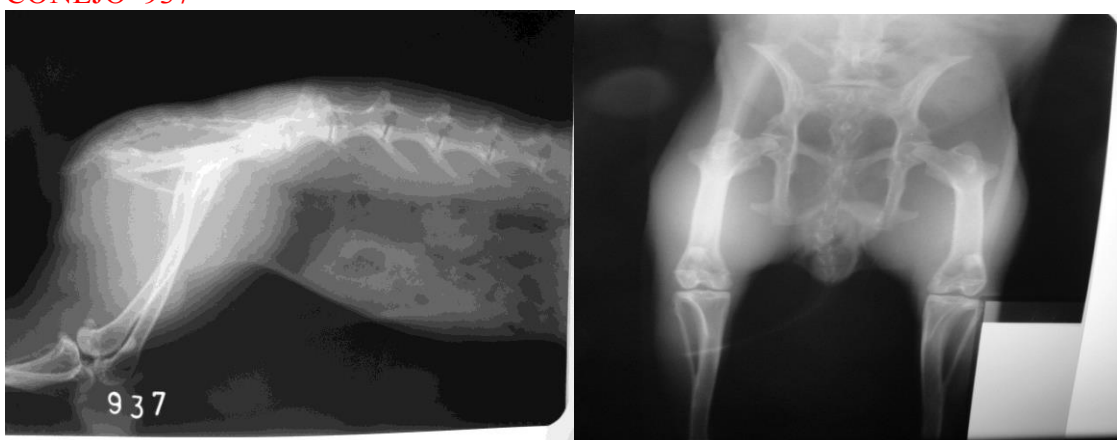


Figura 166. Rx basal, vértebras lumbares. Figura 167. Rx basal, cadera.



Figura 168. Rx basales CC y ML.

Figura 169. Rx CC y ML (7 PosQx).

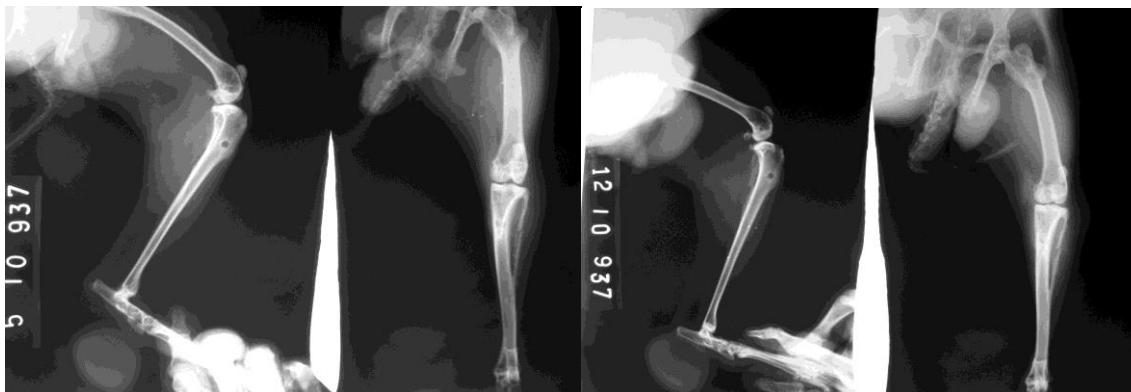


Figura 170. Rx ML y CC (14 PosQx).

Figura 171. Rx ML y CC (21 PosQx).



Figura 172. Rx CC y ML (28 PosQx).

**GRUPO 2 PREPOSTOPERATORIO
CONEJO 963**

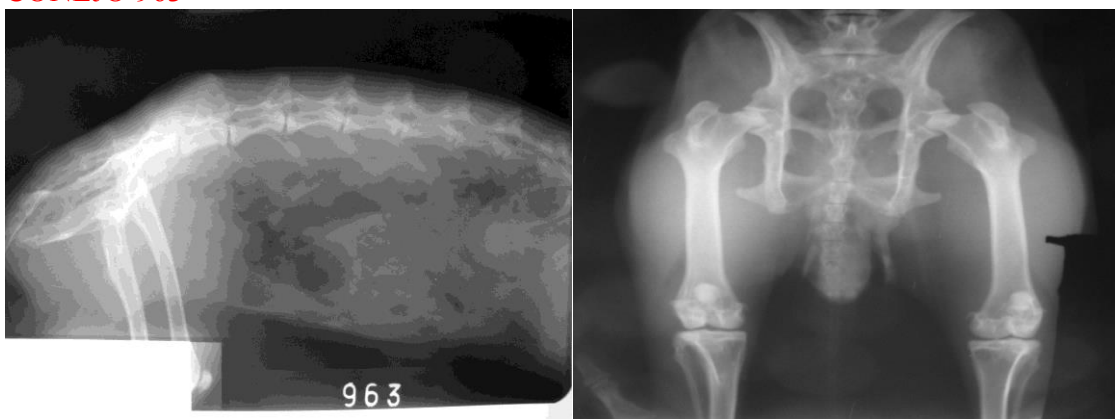


Figura 173. Rx basal, vértebras lumbares. Figura 174. Rx basal, cadera.



Figura 175. Rx basales CC y ML.

Figura 176. Rx CC y ML (7 PosQx).



Figura 177. Rx ML y CC (14 PosQx).



Figura 178. Rx ML y CC (21 PosQx).



Figura 179. Rx CC y ML (28 PosQx).
CONEJO 896



Figura 180. Vértex lumbares.

Figura 181. Rx basal de cadera.



Figura 182. Rx CC y ML Basales.

Figura 183. Rx ML y CC (7 PosQx).



Figura 184. Rx ML y CC (14 PosQx).

Figura 185. Rx ML y CC (21 PosQx).



Figura 186. Rx CC y ML (28 PosQx).
CONEJO 931



Figura 187. Rx basal, cadera.

Figura 188. Rx basal, vértebras lumbares.

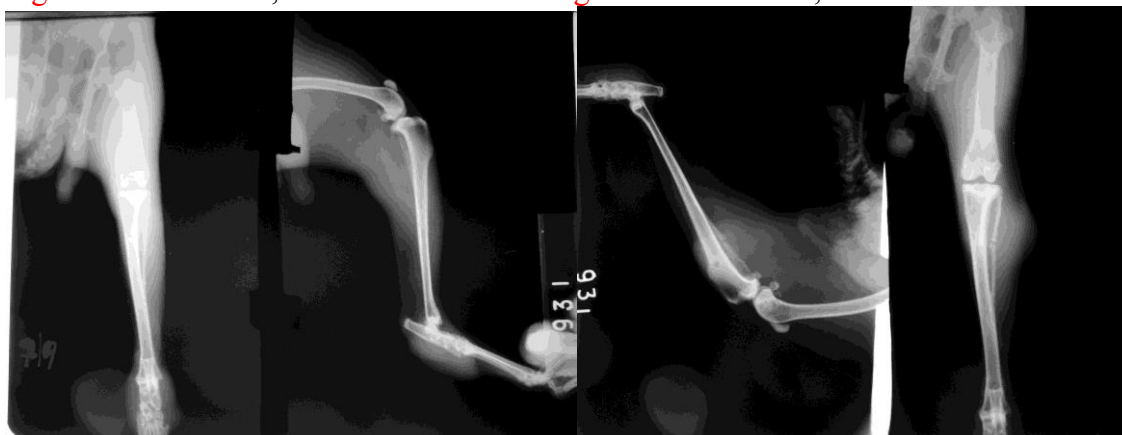


Figura 189. Rx basales CC y ML.

Figura 190. Rx ML y CC (7 PosQx).



Figura 191. Rx CC y ML (14 PosQx).

Figura 192 Rx ML y CC (21 PosQx).



Figura 193. Rx ML y CC (28 PosQx).

GRUPO 3 CONTROL

Basales y secuencia Craneocaudal-Mediolateral cada 7 días/1 mes

CONEJO 891

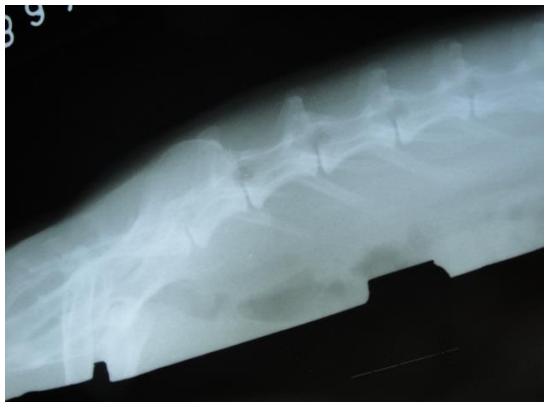


Figura 194. Rx basal, vértebras lumbares.



Figura 195. Rx basal, cadera.



Figura 196. 30/09/12 Rx CC y ML.

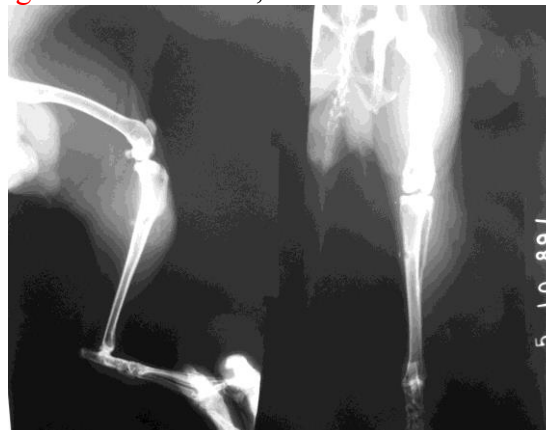


Figura 197. 5/10/12 Rx ML y CC.



Figura 198. 12/10/12 Rx CC y ML.
CONEJO 182



Figura 199. 18/10/12 Rx ML y CC.



Figura 200. Rx basal, vértebras lumbares.



Figura 201. Rx basal, cadera.



Figura 202. Rx basales CC y ML.



Figura 203. Rx ML y CC (7 PosQx).

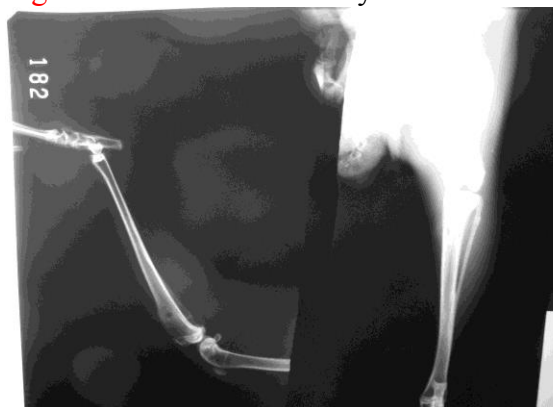


Figura 204. Rx ML y CC (14 PosQx).



Figura 205. Rx ML y CC (21 PosQx).



Figura 206. Rx ML y CC (28 PosQx).
CONEJO 7

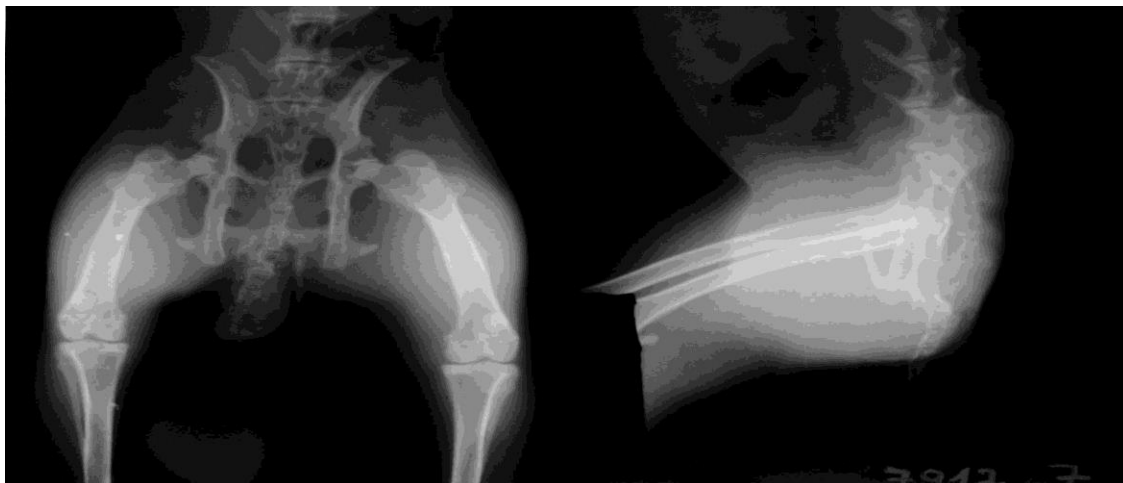


Figura 207. Rx basal, cadera.

Figura 208. Rx basal, vértebras lumbares.



Figura 209. Rx ML y CC.

Figura 210. Rx CC y ML (7 PosQx).



Figura 211. Rx ML y CC (14 PosQx).

Figura 212. Rx ML y CC (21 PosQx).



Figura 213. Rx ML y CC (28 PosQx).

7.3 Determinaciones séricas. Marcadores de formación y resorción.

Los resultados de laboratorio sérico han sido reflejo de los tratamientos aplicados y la respuesta biológica al trauma durante la cicatrización de tejidos duros y blandos. Se descarta incidencia del estado nutricional e hidratación de los animales en los datos obtenidos.

Las determinaciones de Fosfatasa Alcalina optimizada (FAL), no específica, en G 1 y G 2 tuvieron un promedio marcadamente inferior a los resultados basales.

Basal: 59,97 +/- 32,7 UI/l; G 1: 30,07 +/- 21,74 UI/l; G 2: 18,14 +/- 8,47 UI/l; G 3 Control: 23,86 +/- 13,3 UI/l. (Figura 214)

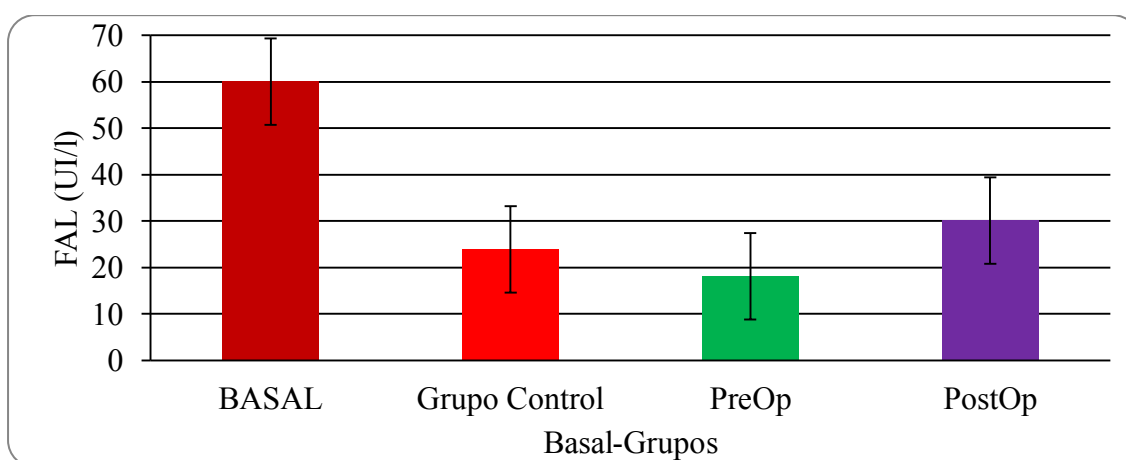


Figura 214. Fosfatasa alcalina optimizada Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

G 1 ~ 50 % < Basal. G 1 > G 3 Control.

G 2 ~ 70 % < Basal. G 2 < G 3 Control.

G 3 Control ~ 60 % < Basal.

La curva FAL-Tiempo G 1 en la lectura sérica del día 7 PosQx logró un valor de 41,67 UI/l, inferior a Basal (/x: 59,97 UI/l). G 2 (25 UI/l) ≈ G 3 Control (24,67 UI/l). El día 15 PosQx G 1 redujo su valor (16,50 UI/l), G 2 también descendió ~ 50 % (12 UI/l), G 3 Control mantuvo su resultado promedio (23 UI/l) más bajo que Basal (/x: 59,97 UI/l). El tratamiento OHB G 2 hasta el día 7 PreQx (todavía sin las lesiones realizadas)

mantuvo niveles de FAL marcadamente bajos (9,33 UI/l) respecto a Basal (/x: 59,97 UI/l). G 3 Control (20,50 UI/l). El día 15 PreQx mantuvo nivel bajo (17,25 UI/l), más cercano a G 3 Control (20 UI/l). Continuó teniendo valores parecidos hasta el día 7 PosQx, las dos líneas de sus respectivas curvas prácticamente superpuestas (G 2: 25 UI/l; G 3: 24,67 UI/l). G 1 y G 2 desde el día 21 al 28 PosQx, superpusieron sus curvas de ascenso (G 1: 26 UI/l; G 2: 25 UI/l), en cambio G 3 Control bajó el día 30 PosQx (G 3: 13 UI/l), y continuó bajando hasta 0 UI/l el día 45 PosQx. Entre el día 30 y 45 PosQx G 2 bajó (18 UI/l). G 1 opuesto, Δ su valor (60,5 UI/l), resultado muy cercano a Basal (/x: 59,97 UI/l). Existió semejanza con parámetros histomorfométricos y radiografías en el efecto observado al terminar la OHB. Se observó un “efecto rebote” que potenció el efecto sistémico OHB. **(Figura 215)**

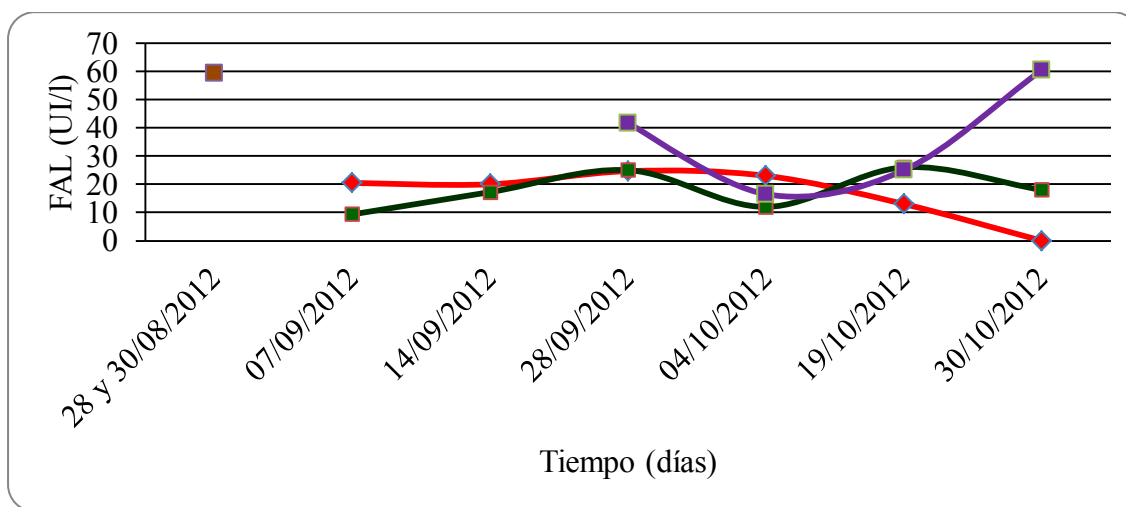


Figura 215. FAL-Tiempo Basal, G 3 Control, G 2 y G 1

Las determinaciones de Fosfatasa Alcalina Ósea específica (FAO) en G 1 y G 2 tuvieron un promedio más alto que valores basales. Basal: 44,52 ug/l +/- 12,42; G 1: /x: 60,76 +/- 4,08 ug/l; G 2: /x: 60,25 +/- 9,13 ug/l; G 3 Control; /x: 60,63 +/- 6,97 ug/l). **(Figura 216)**

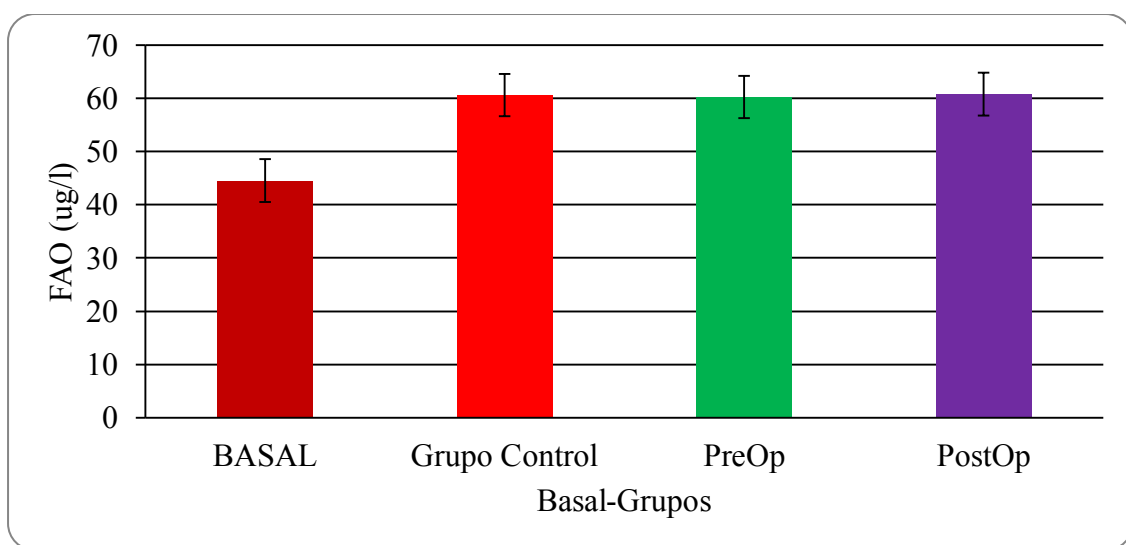


Figura 216. FAO Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

FAO se activaría mayormente en los primeros estadios de mineralización de la matriz ósea. G 2 inició OHB 15 días antes de la cirugía, su curva FAO se Δ a 62,83 ug/l, semejante a G 3 Control (66,67 ug/l). El día 7 PosQx, G 2 \approx G 3 (G 2: 62,33 ug/l; G 3: 62,67 ug/l), G 1 más alto (68,33 ug/l). Posteriormente, el día 15 PosQx G 1 y G 2 alcanzaron un resultado similar (G 1: 59,75 ug/l; G 2: 57,5 ug/l). G 1 y G 2 < G 3 Control (61,67 ug/l). G 1, G 2 y G 3 Control registraron un descenso en sus curvas desde el día 15 al 45 PosQx. En la última determinación (día 45 PosQx) los tres grupos igualaron el resultado promedio (/x: 52 ug/l). (Figura 217)

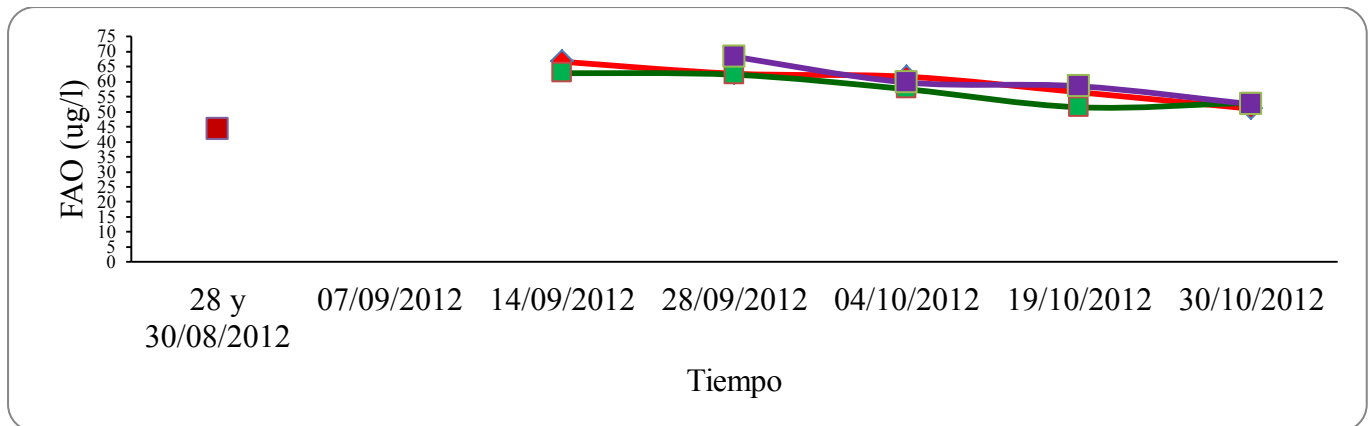


Figura 217. FAO-Tiempo Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

Para obtener datos estadísticos adicionales se estudió semejanza de curvas FAO y Volumen Óseo (VO). En Grupos OHB VO desde Basal se Δ describiendo una curva de saldo positivo, comportamiento análogo a la curva de FAO en G 1 y G 2 OHB. (Figura 218)

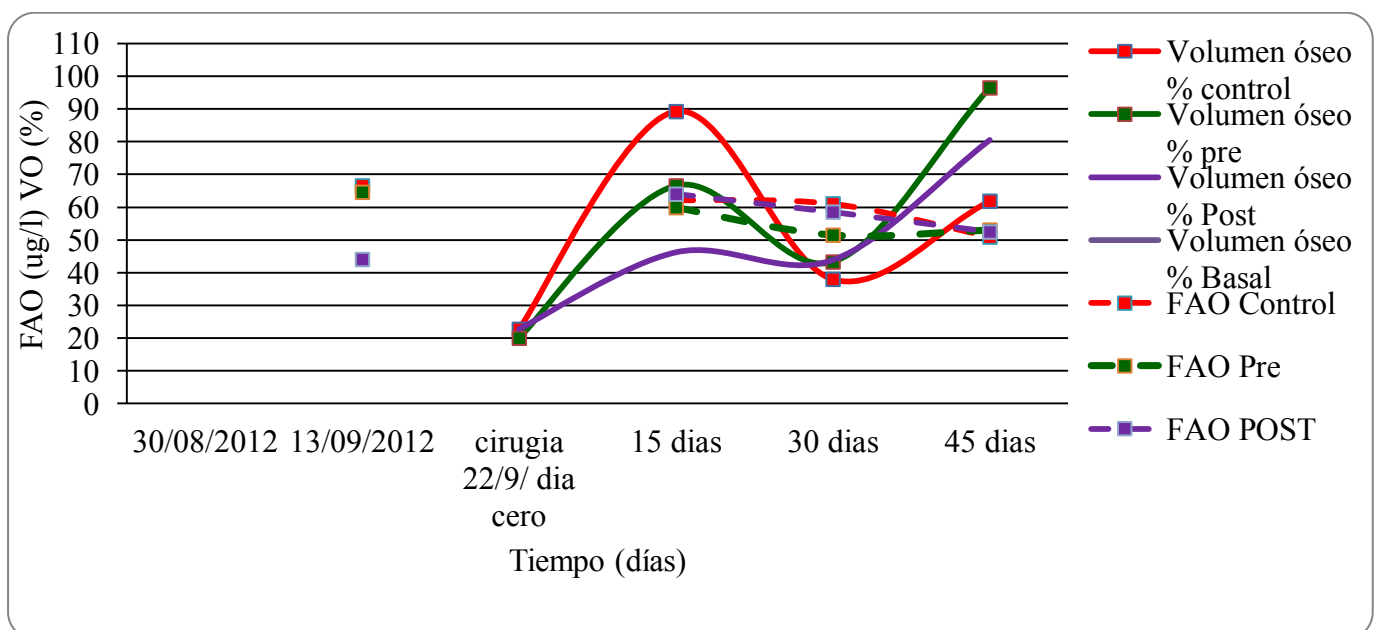


Figura 218. FAO-Volumen Óseo-Tiempo G 3 Control, G 2 y G 1.

La curva de Superficie Trabecular Doble Marcación (STDM) G 1 siguió una trayectoria amesetada desde el día 15 a 45 PosQx. FAO en el día 15 PosQx describió un Δ , seguido de un descenso desde el día 30 al 45 PosQx. G 2 desde el día 15 al 30 PosQx presentó un patrón similar en variables FAO y STDM. Desde el cenit alcanzado el día 15 PosQx definió una baja hasta el día 45 PosQx. Este descenso fue más marcado en la curva de STDM. **(Figura 219)**

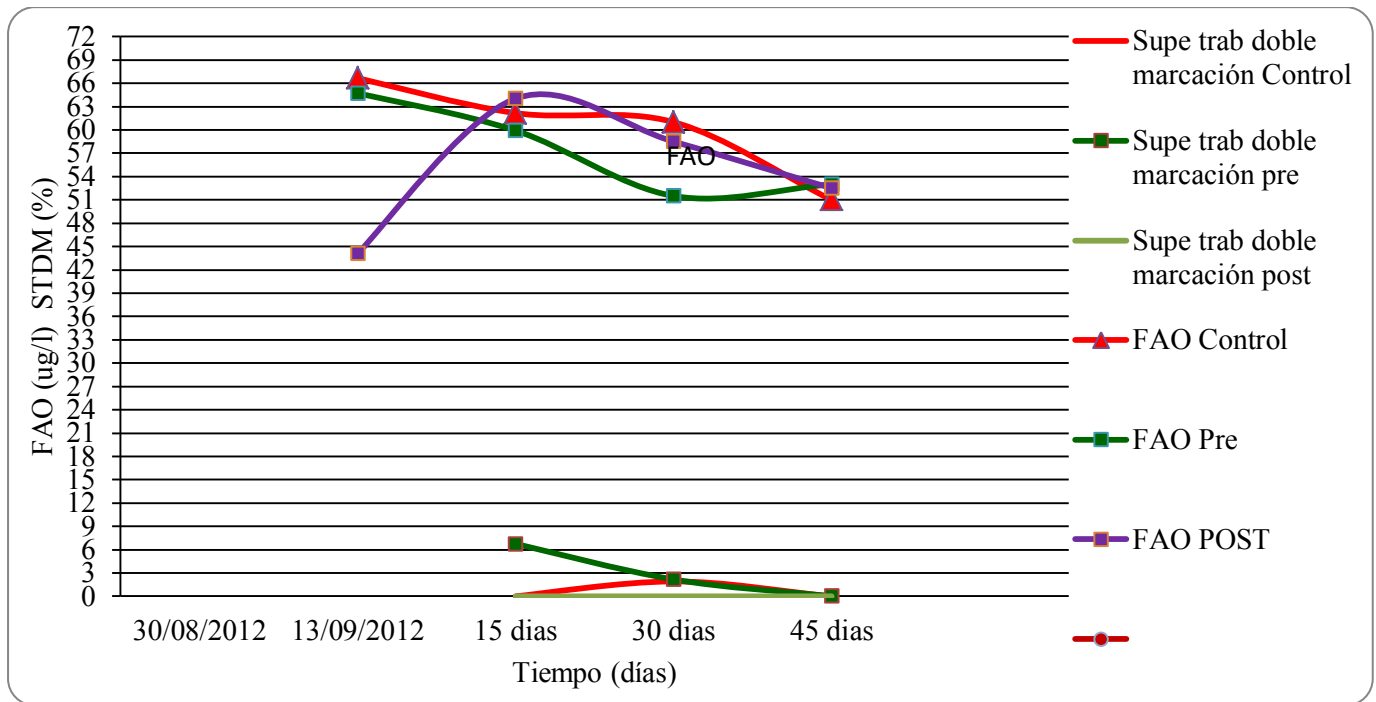


Figura 219. Curvas FAO-STDM-Tiempo G 3 Control, G 2 y G 1.

El promedio de Osteocalcina en grupos OHB fue inferior a resultados basales. Basal /x: 16,54 +/- 9,21 ng/ml; G 1 /x: 7,96 +/- 5,8 ng/ml; G 2 un descenso más definido /x: 4,58 +/- 2,63 ng/ml; G 3 Control (/x: 7,85 +/- 4,22 ng/ml) registró niveles promedio de Osteocalcina \approx G 1 . **(Figura 220)**

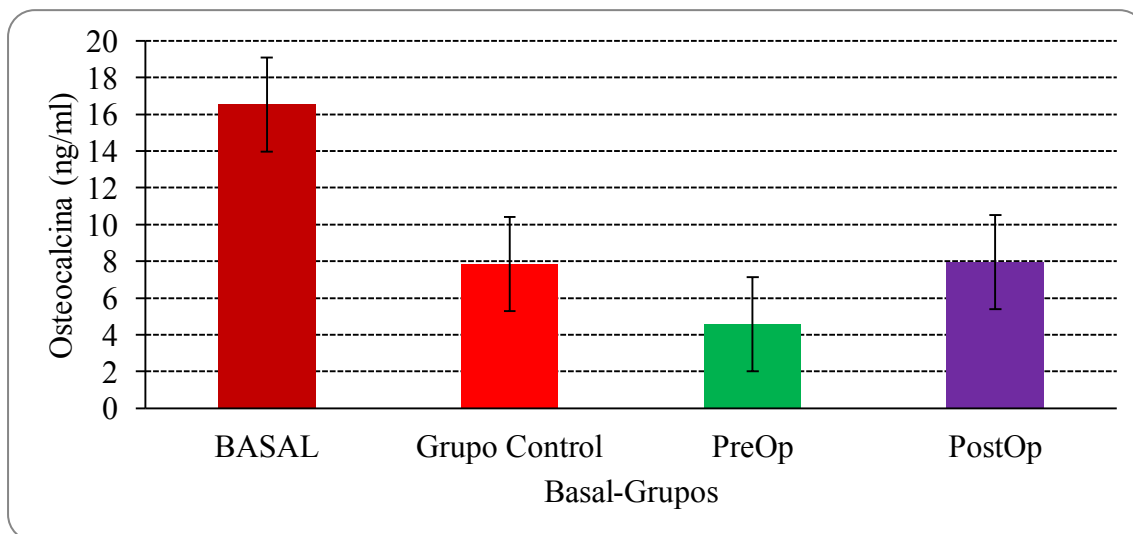


Figura 220. Osteocalcina marcador sérico de formación Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

El día 7 PosQx la curva de Osteocalcina G 1 obtuvo el valor más alto (8,05 ng/ml). Posteriormente el día 14 PosQx redujo su efecto ~ 30 % (5,60 ng/ml). En el siguiente registro del día 30 PosQx G 1 marcó una respuesta más alta (12 ng/ml), comparada a G 2. El día 38 PosQx G 1 (10,10 ng/ml) > G 2 y G 3. Los días 7 y 14 PosQx G 2 (4,20 ng/ml) < Basal (15,9 ng/ml). G 3 Control (9,23 ng/ml) Δ su determinación desde Basal el día 14-15 PosQx, mantuvo nivel constante hasta el día 30 PosQx (7,05 ng/ml), posteriormente el día 38 PosQx bajó su lectura (2,80 ng/ml). Aparentemente debido a un efecto del aire, que no actuó como placebo. Las determinaciones del día 38 PosQx de G 1 ≈ G 2 terminaron en un resultado similar (G 1: 9,30 ng/ml; G 2: 10,10 ng/ml) inferior a Basal (15,9 ng/ml). G 3 Control finalizó con tendencia opuesta para la misma fecha (2,8 ng/ml). Según esta variable sérica se manifestó una respuesta más favorable con Grupos OHB, como efecto “rebote” luego de terminado el suministro de OHB comparado con G 3 Control. También observado en la histología. Osteocalcina, como marcador sérico de formación ósea intervino en el proceso de final de la mineralización, existió una similitud que permitió inferir que la OHB desde el día 20/25 hasta el 38 PosQx potenció el efecto terapéutico, incluso luego de finalizar el suministro de O₂. G 3 Control terminado el tratamiento descendió. Otro dato a tener en cuenta es el patrón similar del efecto de Osteocalcina y FAL en G 1 y G 2. **(Figura 221)**

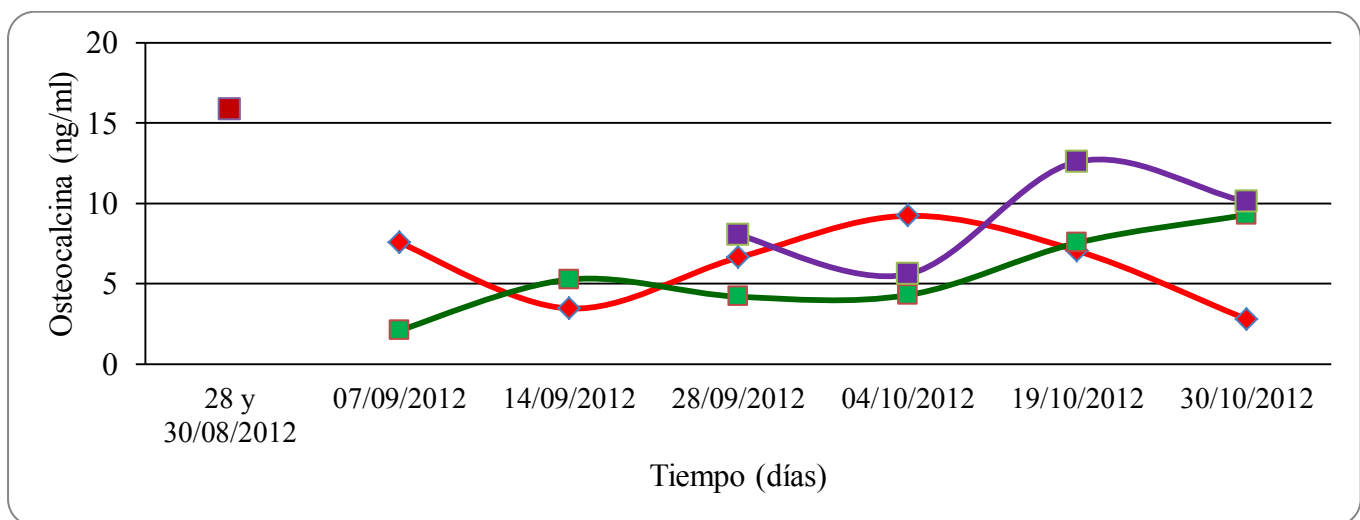


Figura 221. Osteocalcina-Tiempo Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

En Grupos OHB, CTX no presentó variaciones marcadas en relación a datos basales. Basal /x: 9,05 +/- 0,56 ng/l; G 1 /x: 8,96 +/- 0,6 ng/l; G 2 /x: 9,14 +/- 0,61 ng/l; G 3 Control /x: 8,98 +/- 0,51 ng/l. **(Figura 222)**

La curva CTX-Tiempo aportó otro enfoque. Desde el día 15 PosQx, los tres grupos separaron su respuesta. G 1 bajó valores de determinación hasta el día 45 PosQx, terminó ≡ Basal (G 1: 8,73 ng/l; G 2: 8,72 ng/l). G 2 con valor mas alto, seguido por G 3 Control, ambos siguieron una tendencia ascendente, de incremento (Δ). En cambio G 3 Control y G 2 finalizaron con un resultado ~10 % > Basal. **(Figura 223)**

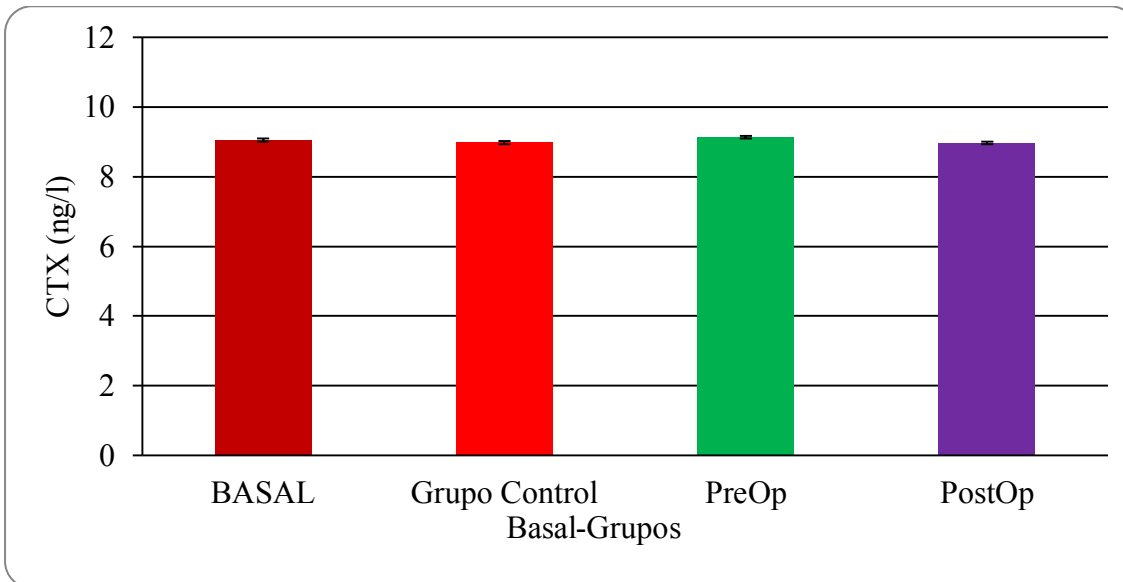


Figura 222. Promedios CTX Basal, G 3, G 2 y G 1.

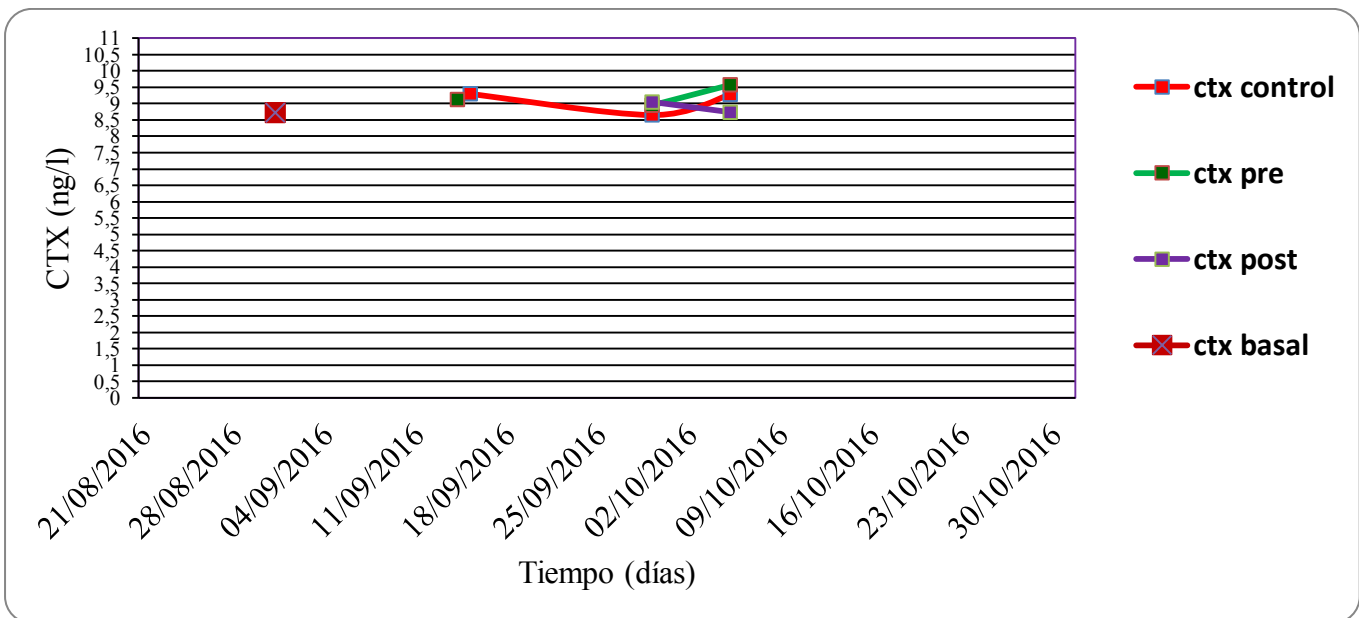


Figura 223. CTX-Tiempo Basal, G 3, G 2 y G 1.

Los Grupos OHB presentaron lecturas N-Telopéptido promedio experimentales superiores a Basal (/x: 57,17 +/- 9,16 nMECO/mM). G 1 /x: 77 +/- 13,8 nMECO/mM; G 2 /x: 80 +/- 22,63 nMECO/mM; G3 Control /x: 97 +/- 0 nMECO/mM. (Figura 224)

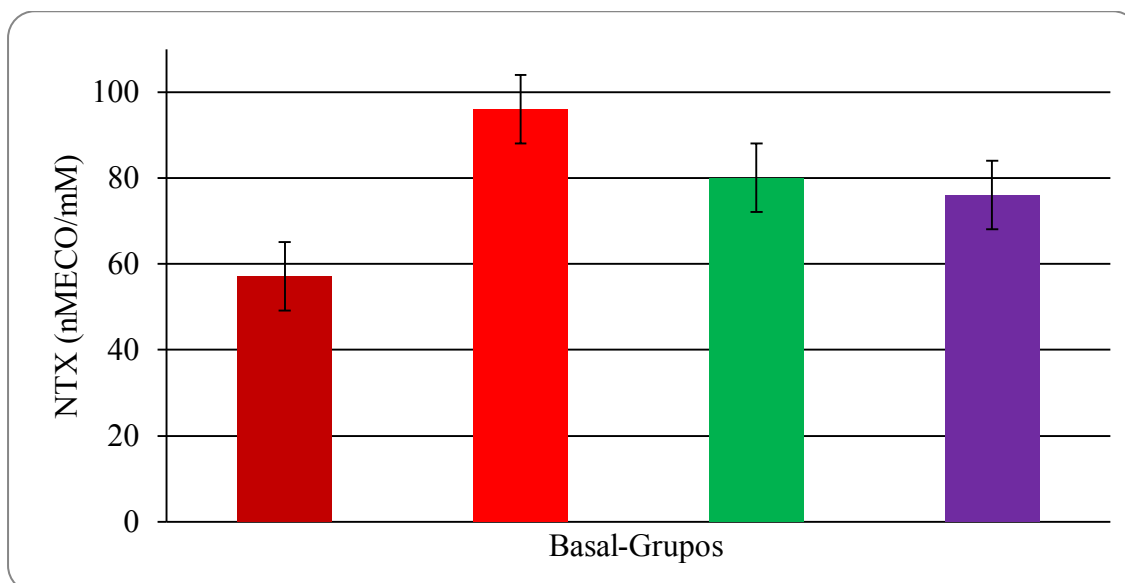


Figura 224. NTX (marcador de resorción ósea) Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

En la **Figura 225** la curva NTX-Tiempo mostró un desarrollo ascendente leve en relación a Basal con G 1 y G 2 OHB. G 1 (1,87 nMECO/mM) \approx G 2 (1,90 nMECO/mM). G 1 y G 2 > Basal (1,76 nMECO/mM). G 3 Control (1,98 nMECO/mM) > G 1 y G 2.

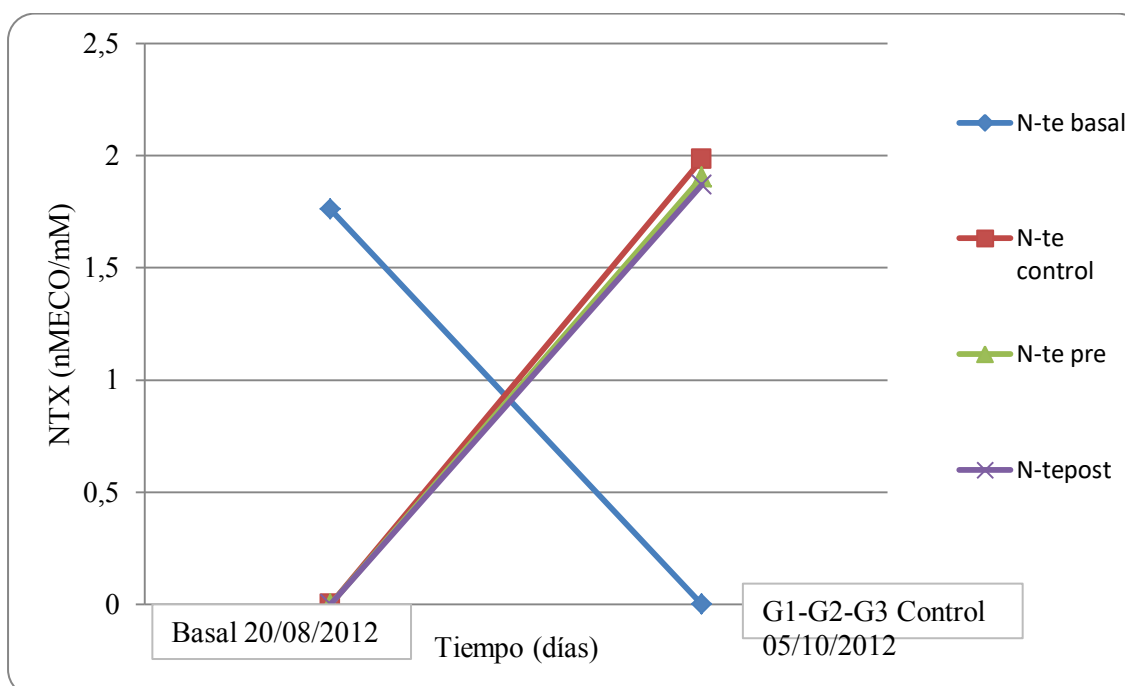


Figura 225. NTX-Tiempo Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

La comparación de las curvas NTX-CTX marcó discrepancia en los datos de ambos marcadores de resorción. Las curvas NTX G 1 y G 2 con evolución más cercana a Basal, ambas inferiores a G 3 Control. En cambio la curva CTX de G 1 finalizó con datos similares a G 3 Control; G 2 con valores más bajos que G3 (misma tendencia que curva NTX). Sirvió para interpretar el efecto de los tratamientos aplicados en el remodelamiento óseo desde el día 7 al 45 PosQx. (**Figura 226**)

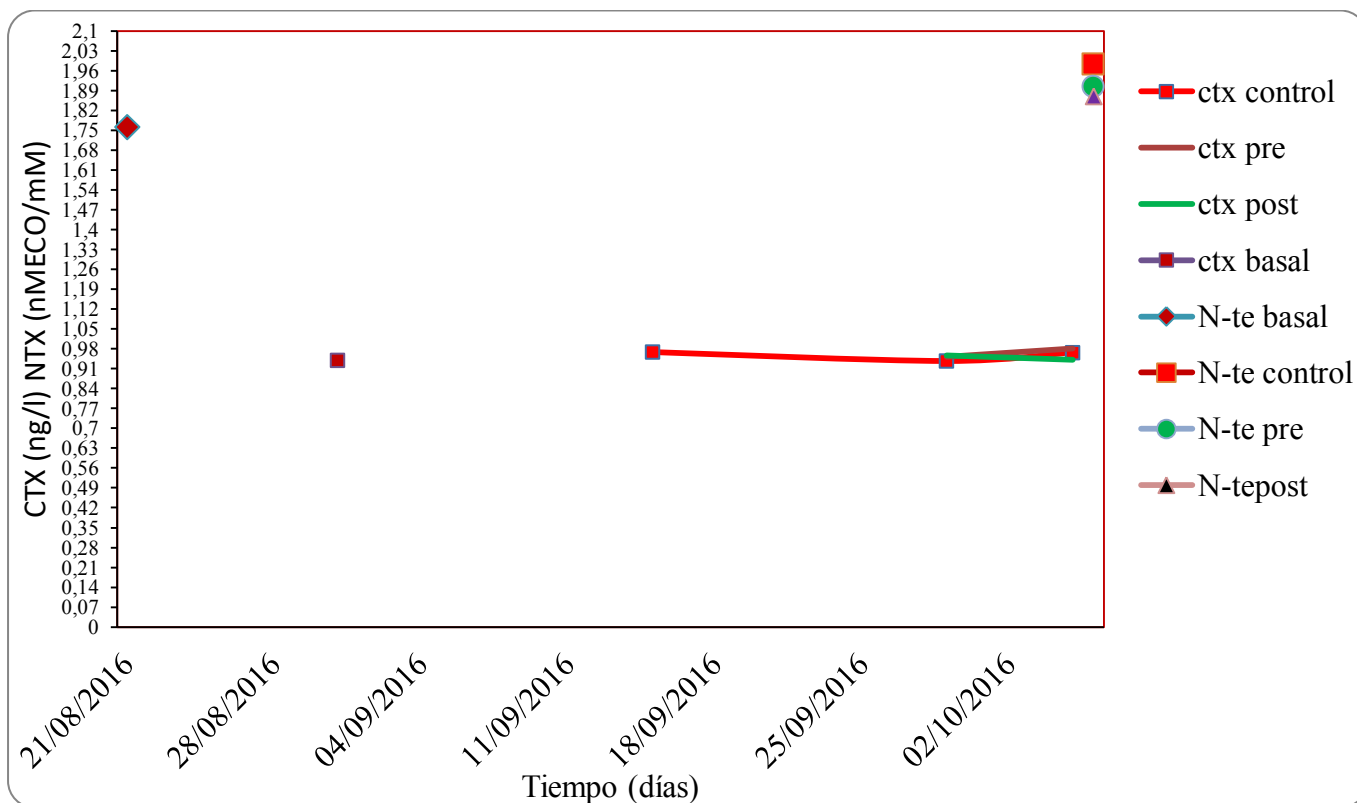


Figura 226. NTX-CTX-Tiempo Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

Las curvas comparadas de CTX y STSM en G 1 desde el día 15 al 30 PosQx presentó un patrón opuesto. En cambio, G 2 y G 3 Control presentaron comportamiento análogo CTX-STSM en las mismas fechas de medición. (Figura 227)

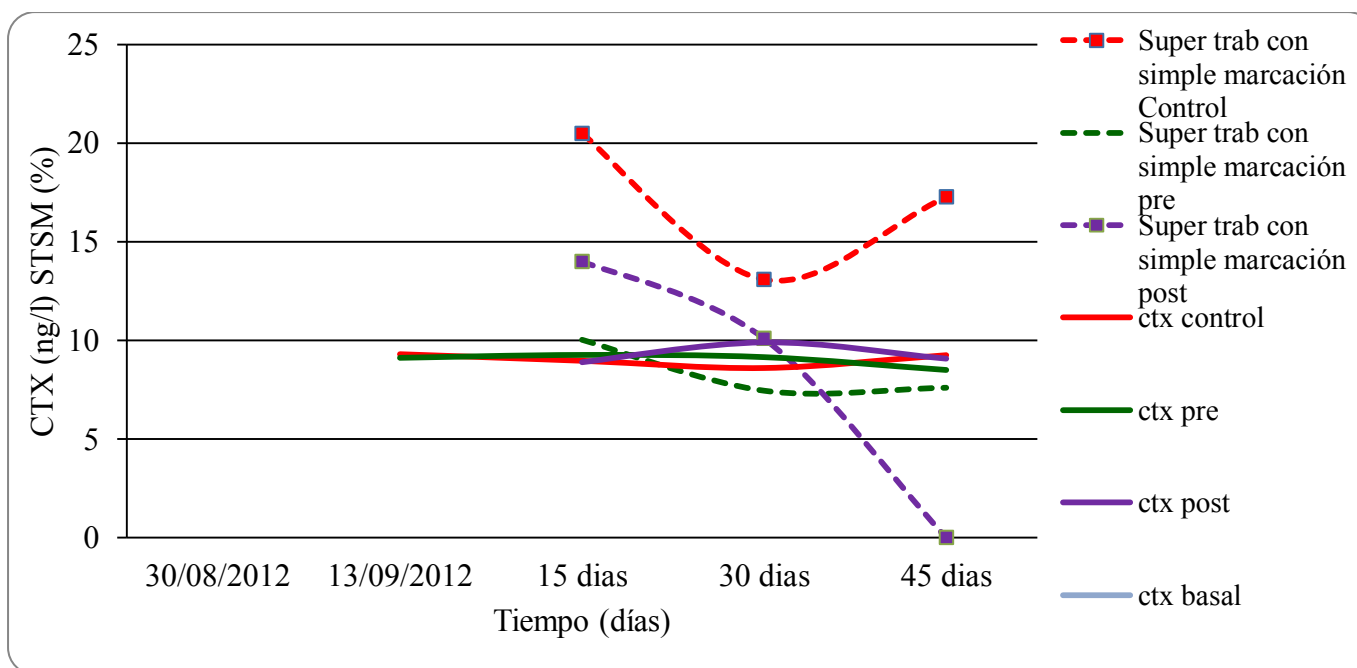


Figura 227. CTX-STSM-Tiempo G 3 Control, G 2 y G 1.

La observación de las curvas de FAO y CTX indicó presencia de datos para interpretar variaciones y distinta evolución. FAO G 1 y G 2 desde el día 7 al 38 PosQx bajó. En cambio CTX G 1 y G 2 se mantuvo regular en valores basales hasta el día 38 PosQx. Una posible deducción es que la regularidad de los resultados en los Grupos OHB podría deberse a reducción del remodelamiento (acción anticatabólica). (figuras 228 y 229)

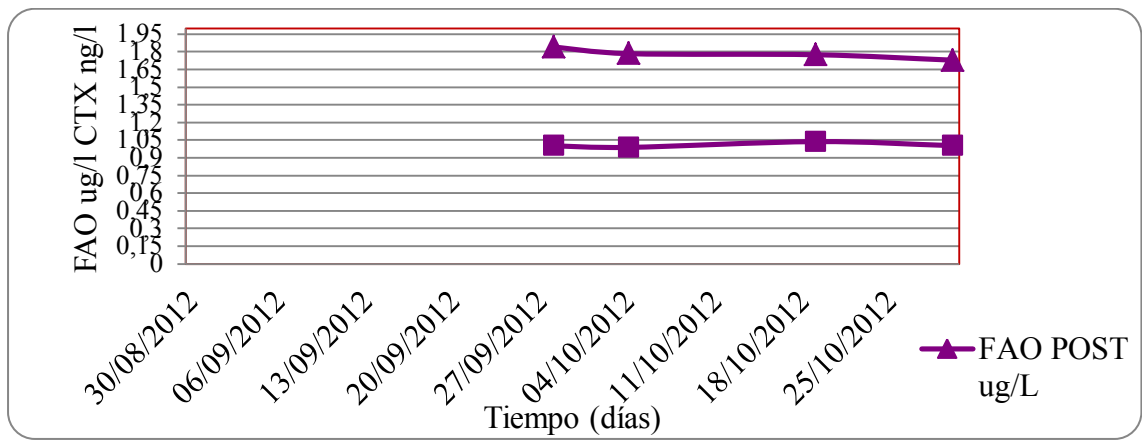


Figura 228. FAO-CTX-Tiempo OHB G 1 Postoperatorio.

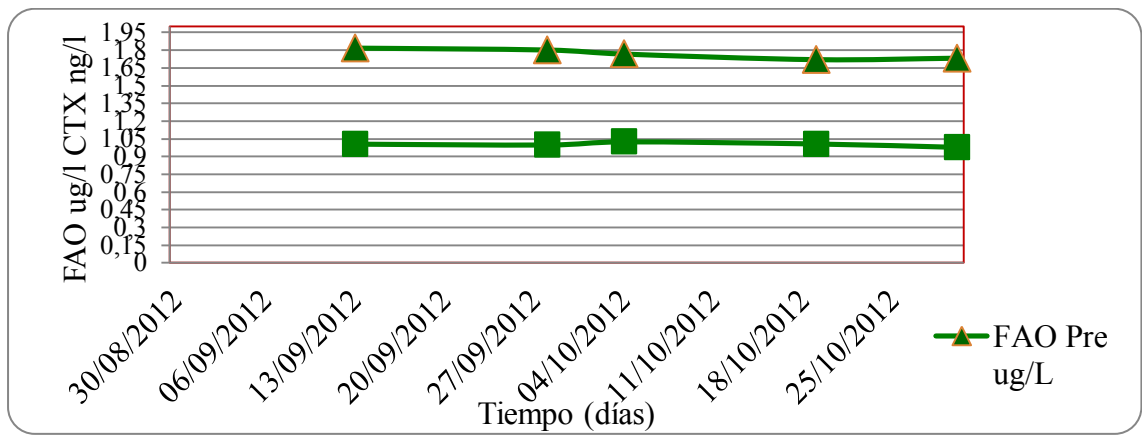


Figura 229. FAO-CTX-Tiempo OHB G 2 Preoperatorio.

El promedio de Calcemia Basal (\bar{x} : 15,67 \pm 1,35 mg/dl) bajó en Grupos OHB, G 1 bajó \sim 6,5 % (\bar{x} : 14,24 \pm 0,84 mg/dl) y G 2 bajó \sim 10 % (\bar{x} : 13,94 \pm 1,5 mg/dl). G 1 y G2 \approx G 3 Control (\bar{x} : 14,39 \pm 2,14 mg/dl). G 3 Control \sim 7 % < Basal. (Figura 230)

La curva de Calcemia-Tiempo ha permitido observar que desde Basal (15 mg/dl), el día 7 PosQx G1 siguió una trayectoria regular, inferior a Basal (14,23 mg/dl), también más baja que G2 y G 3 Control. Desde el día 30 al 45 PosQx G 1 tuvo una variación \sim 10 % (d.30 PosQx: 15,30 mg/dl; d.40 PosQx: 13,7 mg/dl). G 2 bajó sus lecturas séricas luego de 7 días PosQx (12,57 mg/dl). G 3 Control (12,13 mg/dl) bajó menos que G 2.

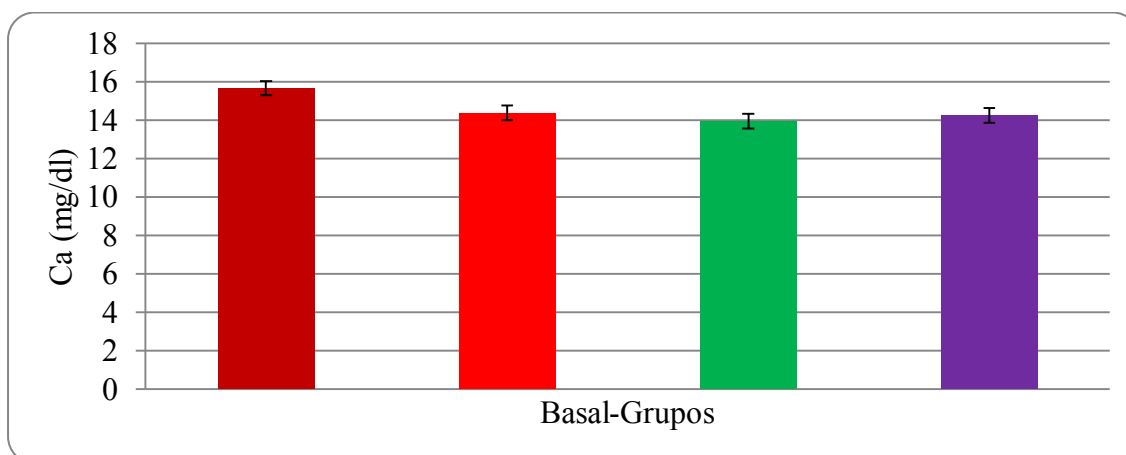


Figura 230. Calcemia (Ca) Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

Luego, desde el nadir, entre los días 15 y 30 PosQx G 2 registró niveles más altos (d.15 PosQx: 14,40 mg/dl; d.30 PosQx: 14,30 mg/dl). G 3 Control (d.15 PosQx: 16,17; d.30 PosQx: 17,45 mg/dl). G 2 mantuvo el resultado hasta el día 38 PosQx (14,80 mg/dl). Desde el día 30 al 45 PosQx G 1 \approx G 3 Control. En ese mismo período G 2 demostró un comportamiento diferente, sin variaciones comparado a G 3 Control.

En síntesis, la calcemia con los tratamientos OHB G 1 y G 2 bajó desde el día 7 al 30 PosQx. En el mismo período la Calcemia se Δ con G 3 Control (calcemia G 1 y G 2 \neq G 3). **(Figura 231)**

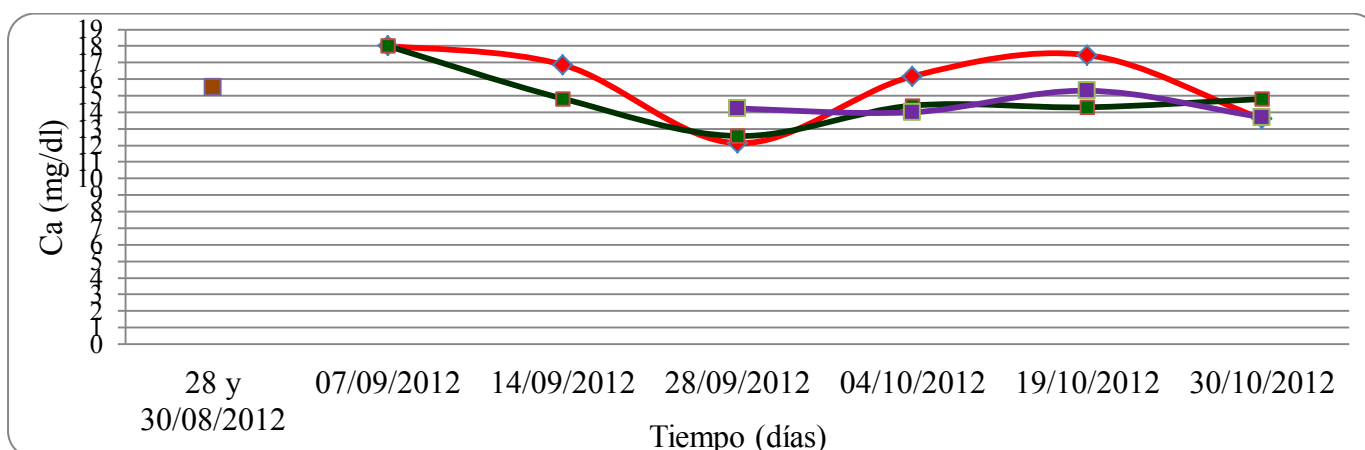


Figura 231. Calcemia-Tiempo Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

El promedio de Fosfatemia Basal (3,85 +/- 1,34 mg/dl) no se Δ con los tratamientos OHB. G 1 /x: 4,03 +/- 0,74 mg/dl; G 2 /x: 3,94 +/- 0,78 mg/dl; G 3 Control (/x: 3,86 +/- 14,96 mg/dl). **(Figura 232)**

La curva Fosfatemia-Tiempo aportó datos adicionales, hasta el día 15 PosQx G 1 alcanzó niveles superiores a Basal (3,85 mg/dl). G 1 > G 3 Control (G 1: 4,41 mg/dl; G 3: 4,08 mg/dl), posteriormente bajó su resultado el día 38 PosQx (2,76 mg/dl). G 1 desde el día 30 al 38 PosQx redujo su respuesta (d.30 PosQx: 3,84 mg/dl). Para el día 38 PosQx la curva de G 1 descendió (2,76 mg/dl) hasta un nivel inferior a Basal.

G 2 midió más alto que Basal desde el día 7 al 30 PosQx (d.7 PosQx: 4,43 mg/dl; d.14 PosQx: 4,02 mg/dl; d.30 PosQx: 4,16 mg/dl), luego el día 38 PosQx G 2 bajó (2,18 mg/dl) como G 1. El día 38 PosQx la determinación de G 3 Control también registró un descenso (2,66 mg/dl). G 3 \approx G 1 y G 2. **(Figura 233)**

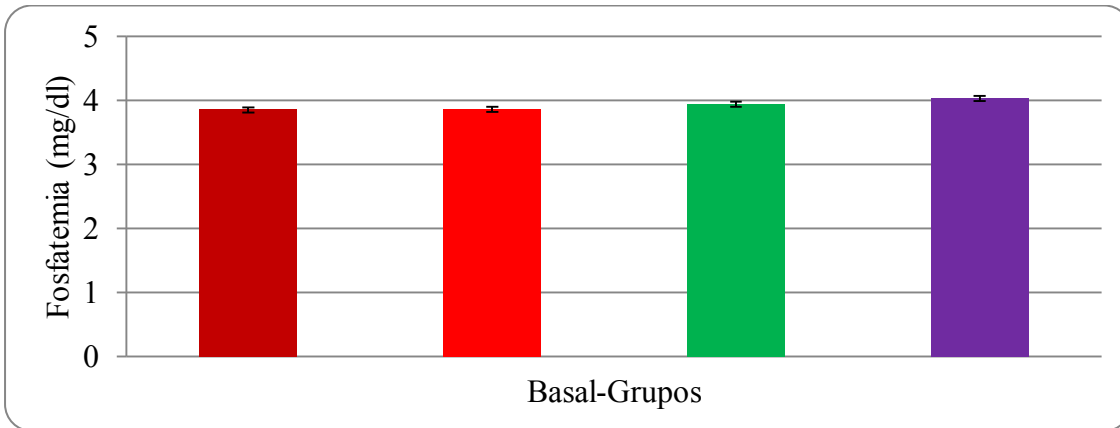


Figura 232. Fosfatemia Basal, G 3 Control, G 2 & G 1.

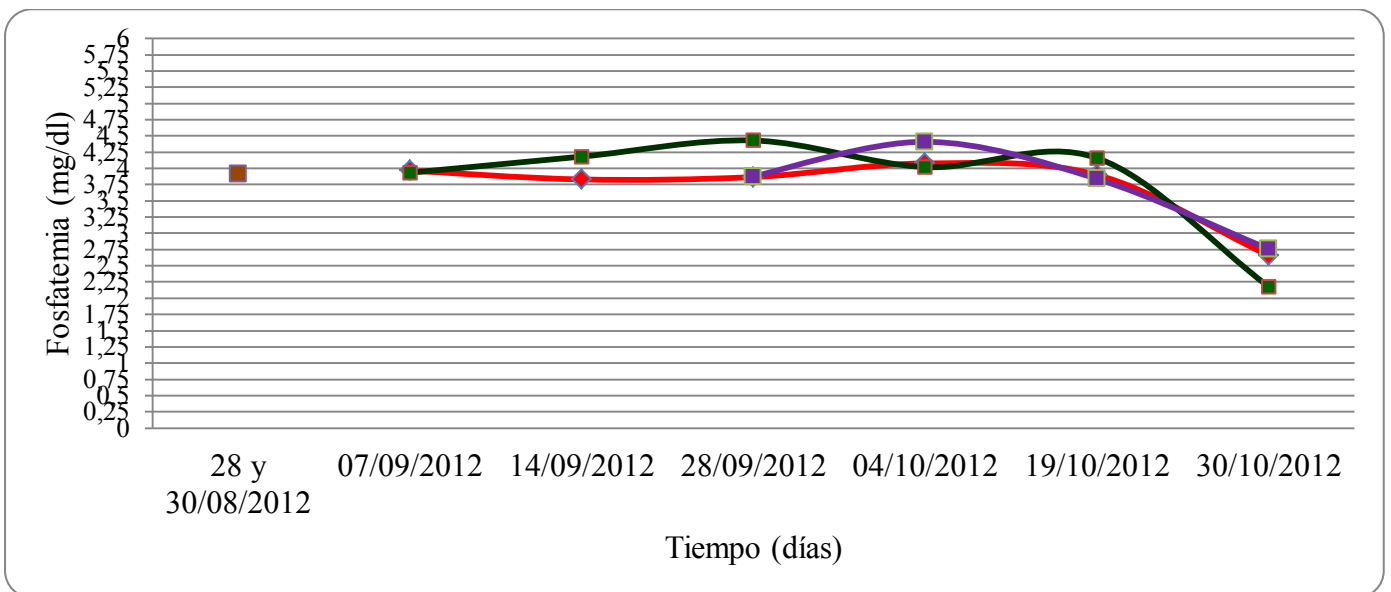


Figura 233. Curva Fosfatemia-Tiempo Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

El promedio de Magnesemia Basal (\bar{x} : 1,95 \pm 0,3 mg/dl) se incrementó en G 1 (\bar{x} : 2,12 \pm 0,33 mg/dl). G 2 (\bar{x} : 1,95 \pm 0,14 mg/dl) \equiv Basal. G 3 Control (\bar{x} : 1,93 \pm 0,24 mg/dl) < Basal. (Figura 234)

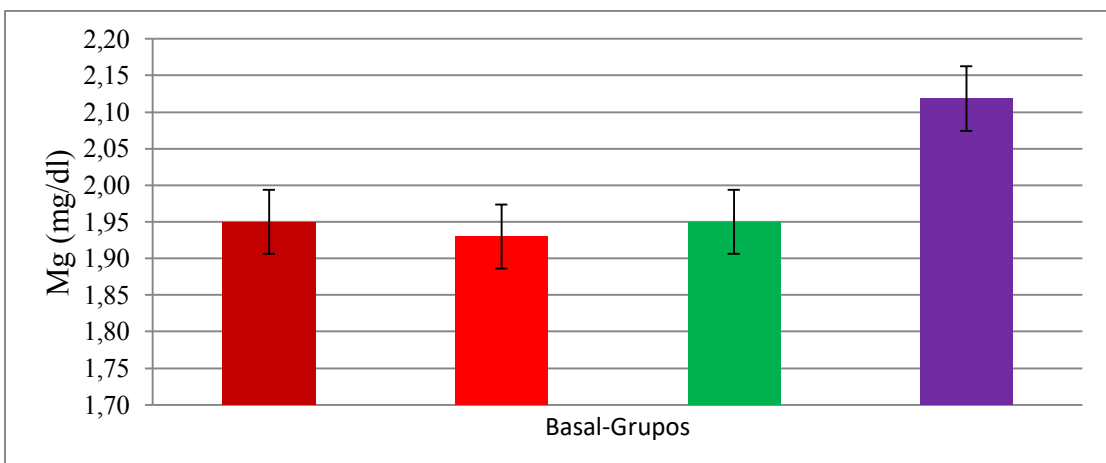


Figura 234. Magnesemia Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

En la **Figura 235** puede observarse como la curva Magnesemia-Tiempo en G 1 generó un Δ el día 7 PosQx (2,20 mg/dl) \approx G 3 Control (2,13 mg/dl). G 2 (2,03 mg/dl) \sim Basal. La curva registró un predominio marcado de G 1, con magnesemia más alta comparado a Basal (G 2 < G 1). G 1 y G 2 alcanzaron su nadir el día 15 PosQx, ambos con similitud en la evolución de su curva. El día 30 PosQx G 1 alcanzó su cenit (2,40 mg/dl), G 2 también logró su pico pero menor que G 1 (2,10 mg/dl), posteriormente desde el día 30 al 45 PosQx G 2 OHB, acercó su resultado a Basal (2 mg/dl). G 3 Control en todas las lecturas logró un nivel similar a Basal (\bar{x} :1,99 mg/dl).

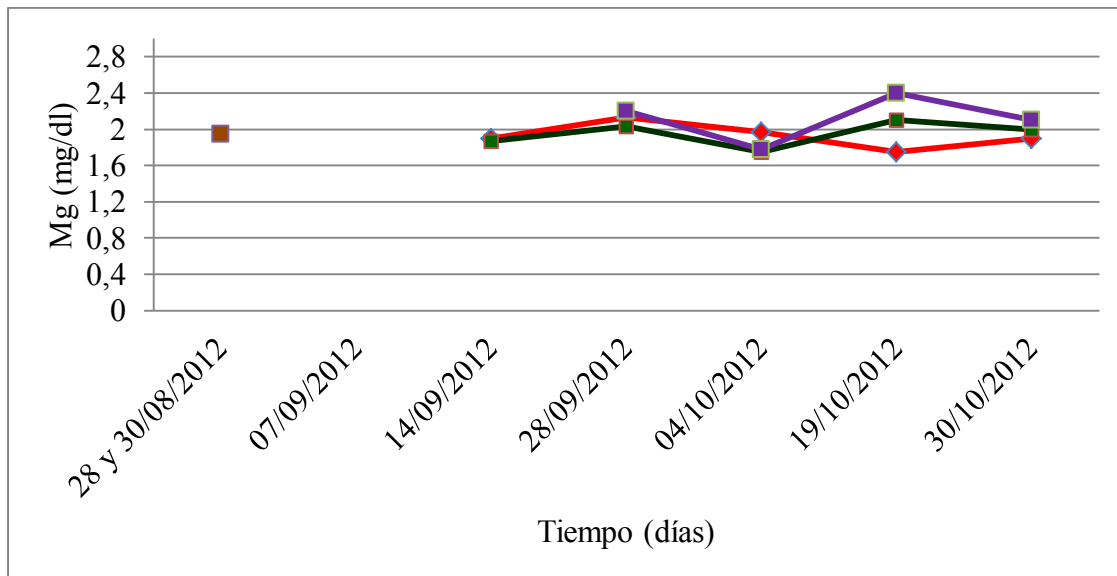


Figura 235. Magnesemia-Tiempo Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

25OHD (25-hidroxivitamina D) registró un promedio Basal: 39,59 +/- 7,01 ng/ml. G 1 \bar{x} : 40,69 +/- 5,81 ng/ml; G 2 \bar{x} : 36,88 +/- 6,92 ng/ml; G 3 Control \bar{x} : 38,38 +/- 6,89 ng/ml. (**Figura 236**)

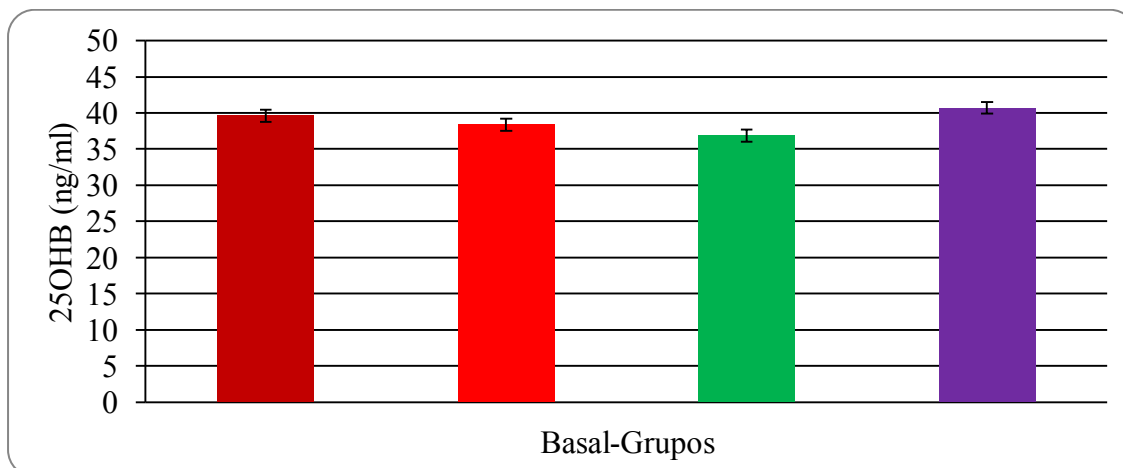


Figura 236. 25OHD Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

El análisis de la curva repuesta 25OHD-Tiempo aportó datos adicionales, G 1 describió la curva más alta (d.30 PosQx: 42,25 ng/ml; d.38 PosQx: 54 ng/ml), mientras que G 2 bajó (d.30 PosQx: 34,5 ng/ml; d.38

PosQx: 28 ng/ml). G 3 Control describió una tendencia parecida de descenso (d.30 PosQx: 37,75 ng/ml; d.40 PosQx: 34,50 ng/ml). El día 15 PosQx los Grupos OHB midieron en un nivel de paridad (G1: 39,33 ng/ml; G 2: 42,50 ng/ml). Posteriormente desde el día 30 al 45 PosQx, las curvas presentaron una trayectoria opuesta. G 3 Control mantuvo una línea amesetada con pico bajo el día 15 PosQx (41,17 ng/ml), valor \approx Basal (\bar{x} : 39,95 ng/ml), después de esa fecha los valores fueron más bajos, especialmente el día 45 PosQx. G 1 Δ de los valores séricos de 25OHD, G 2 los bajó durante 30-40 días PosQx. G 2 $\sim 10\% <$ Basal. La curva marcó discrepancias no reflejadas en el promedio. **(Figura 237)**

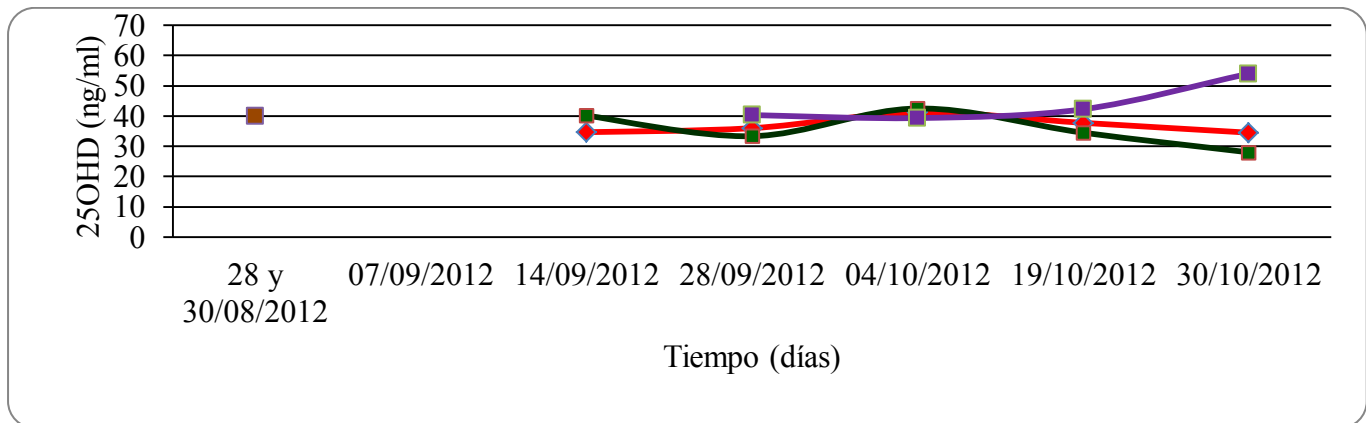


Figura 237. 25OHD-Tiempo Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

Paratohormona (PTH) Basal \bar{x} : 39,73 \pm 2,43 pg/ml. G 1 \bar{x} : 40,19 \pm 2,52 pg/ml; G 2 \bar{x} : 40,31 \pm 4,89 pg/ml; G 3 Control (\bar{x} : 40,65 \pm 2,1 pg/ml). **(Figura 238)**

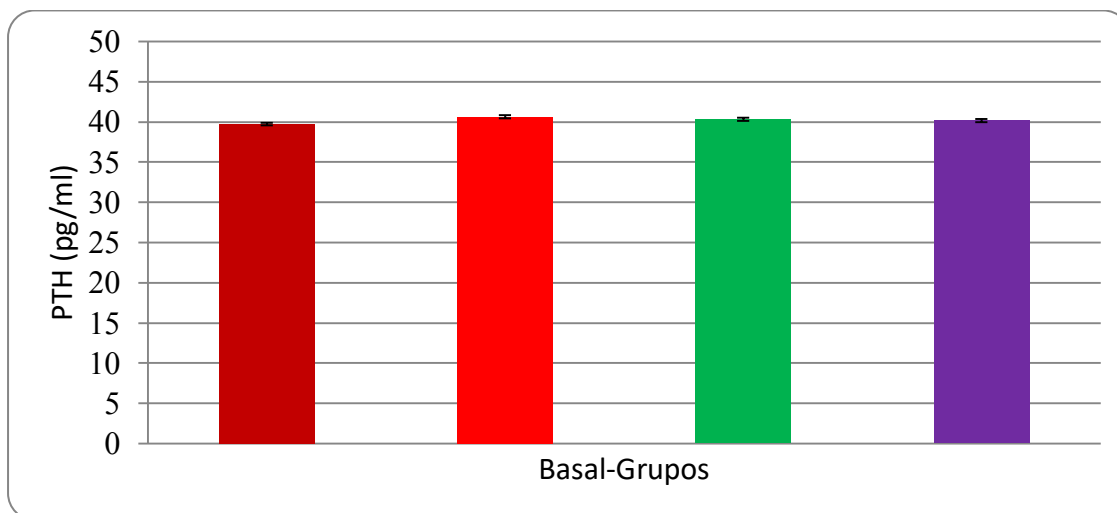


Figura 238. PTH Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

La curva PTH-Tiempo de G 1 y G 2 no observó variaciones comparada a Basal hasta el día 15 PosQx, desde el día 30 PosQx G 1 (45 pg/ml) y G 2 (43,25 pg/ml) incrementaron sus curvas, sostuvieron nivel más alto que datos basales hasta el día 38 PosQx (G 1: 43,5 pg/ml; G 2: 44 pg/ml). **(Figura 239)**

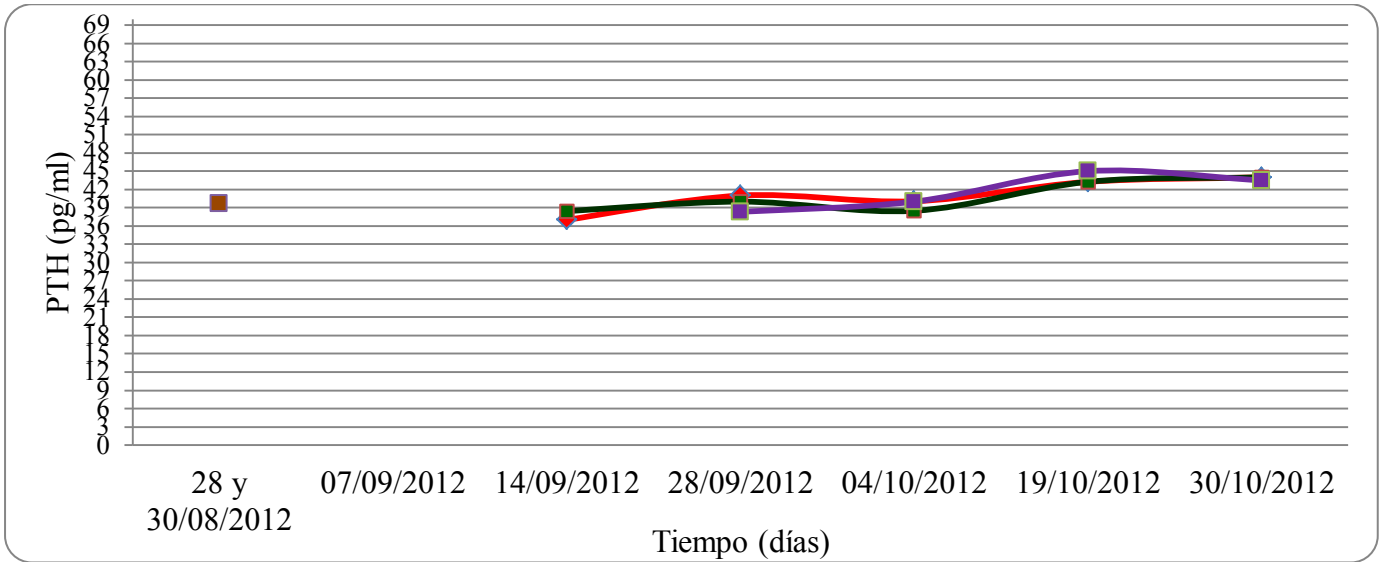


Figura 239. PTH-Tiempo Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

La curva PTH-25OHD en G 1 presentó misma tendencia hasta el día 30 PosQx. Desde el día 30 al 45 PosQx se invirtió la respuesta al tratamiento ($G1 \neq G3$). La suba de 25OHD fue acompañada de PTH más baja. PTH-25OHD-Tiempo G 2 presentó discrepancia desde Basal hasta día 7 PosQx, desde aproximadamente día 14 a 21 PosQx misma trayectoria, luego desde el día 30 al 38 PosQx existió una divergencia cada vez más marcada ($PTH \neq 25OHD$). (figuras 240 y 241)

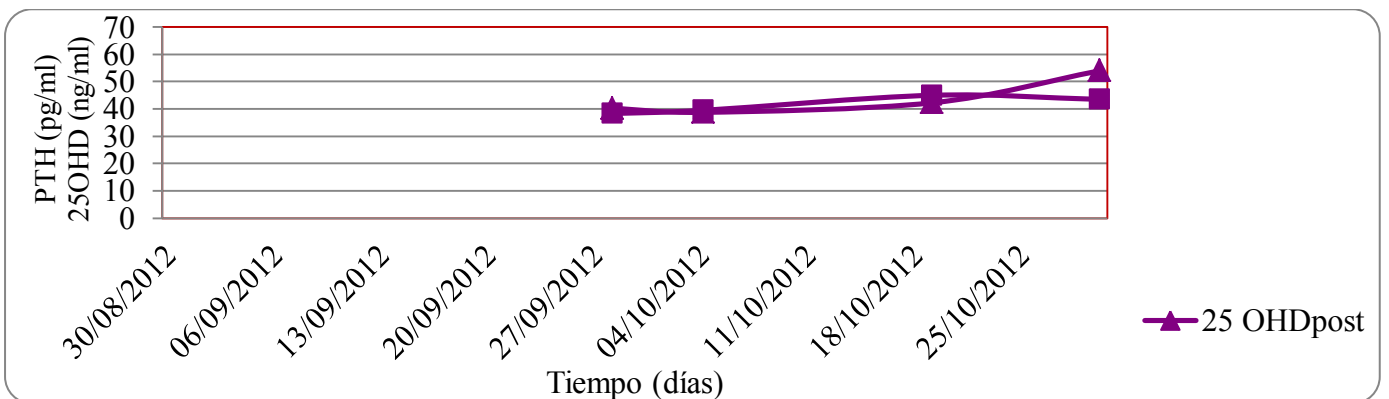


Figura 240. PTH-25OHD-Tiempo G 1 Postoperatorio.

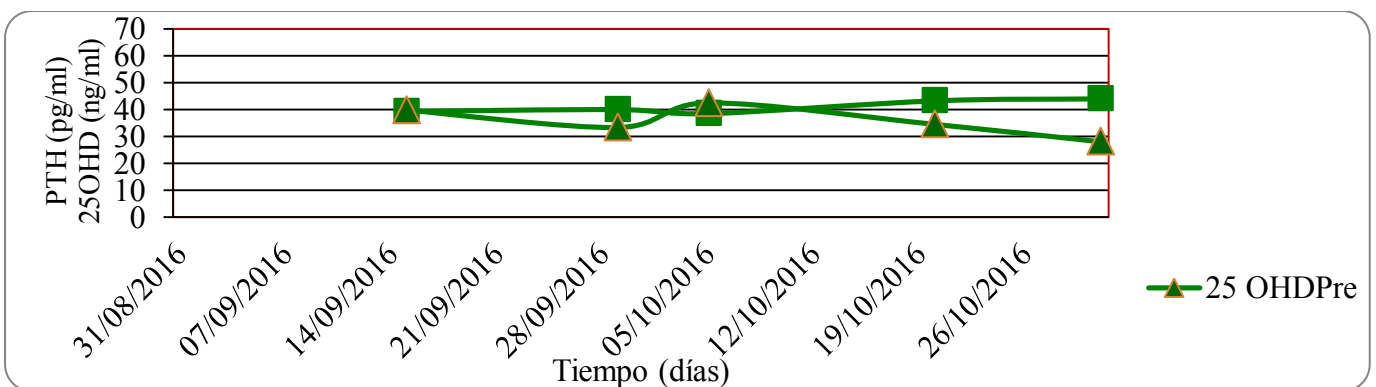


Figura 241. PTH-25OHD-Tiempo G 2 Preoperatorio.

El promedio de Creatinina sérica Basal (0,95 +/- 0,34 mg/dl) se Δ en G 1 (/x:1,05 +/- 0,56 mg/dl), en G 2 bajó (/x: 0,70 +/- 0,11 mg/dl), datos similares a G 3 Control (/x: 0,79 +/- 0,16 mg/dl). **(Figura 242)**

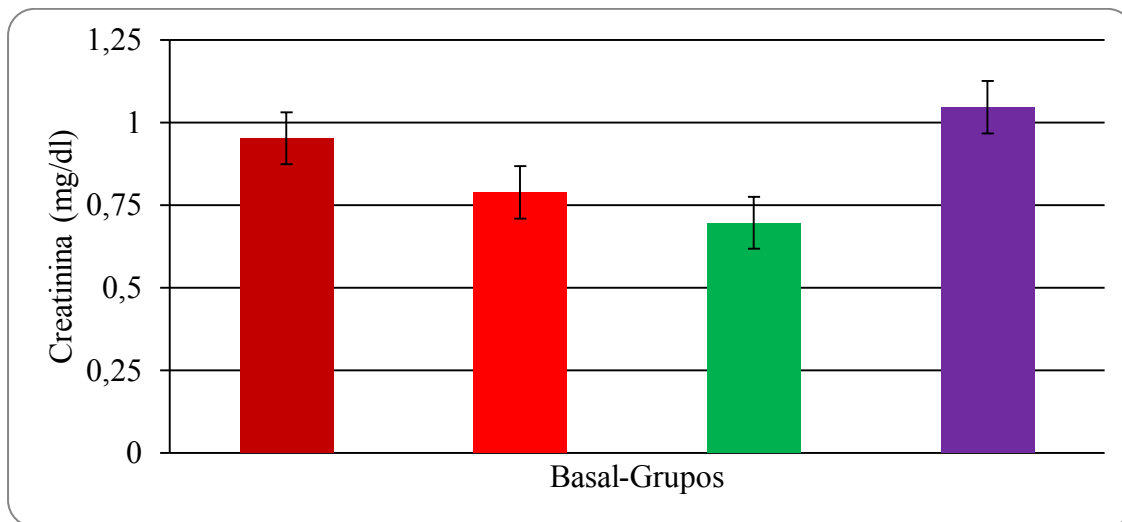


Figura 242. Creatinina sérica Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

El promedio de Albumina Basal (/x: 38,54 +/- 5,06 g/l) bajó en Grupos OHB G 1 (/x: 34,85 +/- 3,02 g/l) y G 2 (/x: 35,11 +/- 4,35 g/l). G 1 y G 2 < G 3 Control (/x: 37,28 +/- 4,14 g/l). **(Figura 243)**

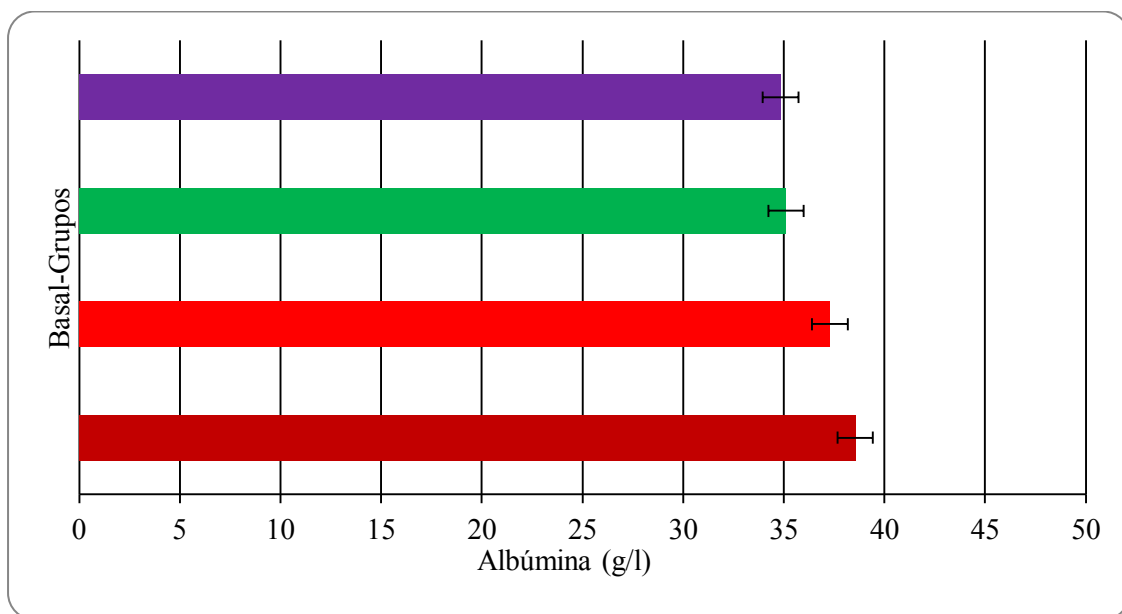


Figura 243. Albumina Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

El promedio de Uremia Basal (/x: 38,85 +/-14,25 mg/dl), tuvo un aumento en los Grupos OHB G 1 (/x: 56,19 +/- 22,24 mg/dl) y G 2 (/x: 47,75 +/- 11,63 mg/dl). G 3 Control (/x: 50,50 +/- 10,45 mg/dl). **(Figura 244)** La utilidad diagnóstica de esta medición para el trabajo ha sido evaluar qué grupo habría producido mayor catabolismo de proteínas, y su relación indirecta con las variables indicadoras de efecto sobre la estructura mineral ósea.

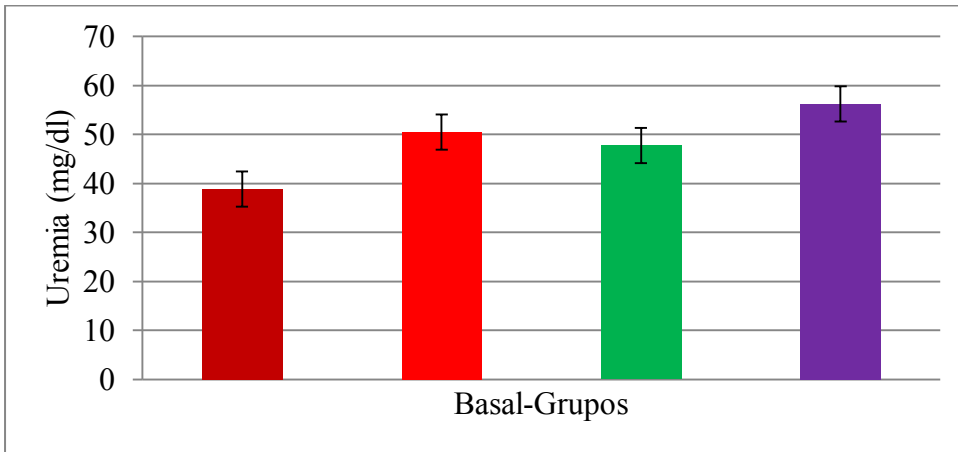


Figura 244. Uremia Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

7.4 Análisis de orina 24 h.

Calciuria Basal (0,44 +/- 0,37 mg/l/24 h); G 1 (0,55 +/- 0,06 mg/l/24 h); G 2 (0,19 +/- 0,07 mg/l/24 h); G 3 Control (1,79 +/- 0,06 mg/L/24 h). G 1 y G 2 OHB < G 3 Control. **(Figura 245)**

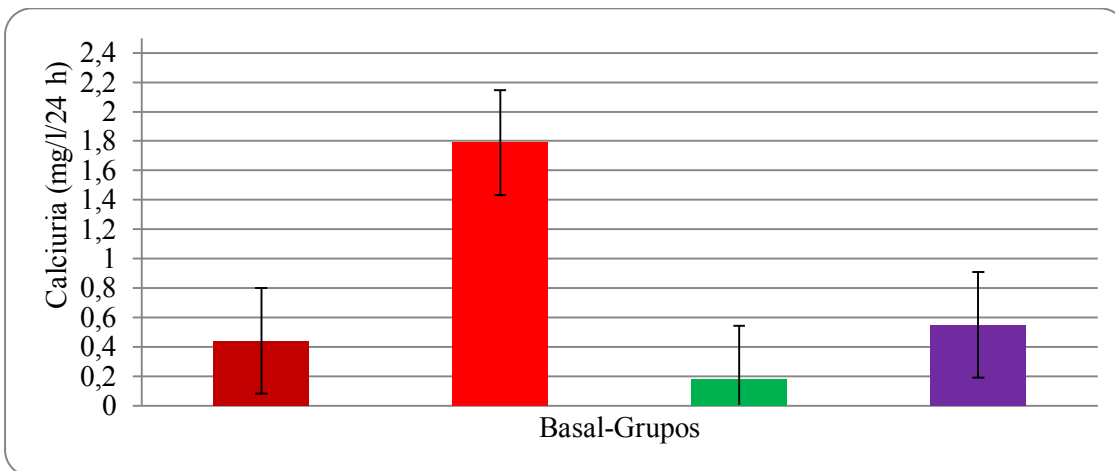


Figura 245. Calciuria Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

Los resultados basales de Calciuria alcanzaron un \bar{x} : 0,39 mg/l/24 h. El día 15 PosQx la lectura de G 1 se Δ (\bar{x} : 0,55 mg/l/24 h). En cambio G 2 descendió (\bar{x} : 0,19 mg/l/24 h). Para la misma fecha de muestra, G 3 Control llegó a un promedio de 1,79 mg/l/24 h. Se descartó incidencia del volumen de orina en la mayor o menor concentración de calcio urinario. **(Figura 246)**

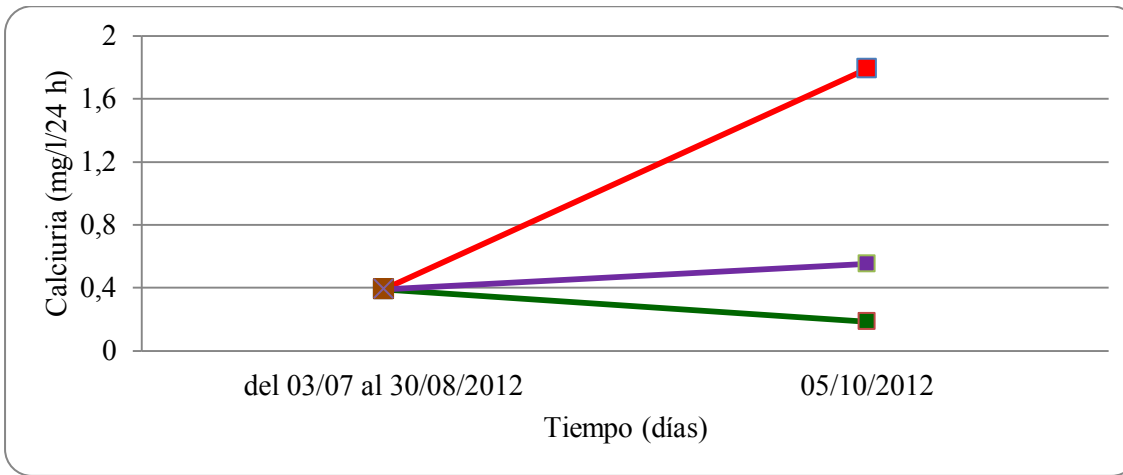


Figura 246. Calciuria-Tiempo Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

Fosfaturia Basal registró un $\bar{x} : 0,20 \pm 0,16$ mg/l/24 h. Los resultados promedio experimentales de fosfaturia G 1 y G 2 observaron mismo patrón de comportamiento de calciuria. G 1 ($0,44 \pm 0,19$ mg/l/24 h) más alto que Basal; G 2 ($0,11 \pm 0,02$ mg/l/24 h) más bajo que Basal. G 3 Control ($1,14 \pm 0,05$ mg/l/24 h) con incremento marcado respecto a Basal. **(Figura 247)**

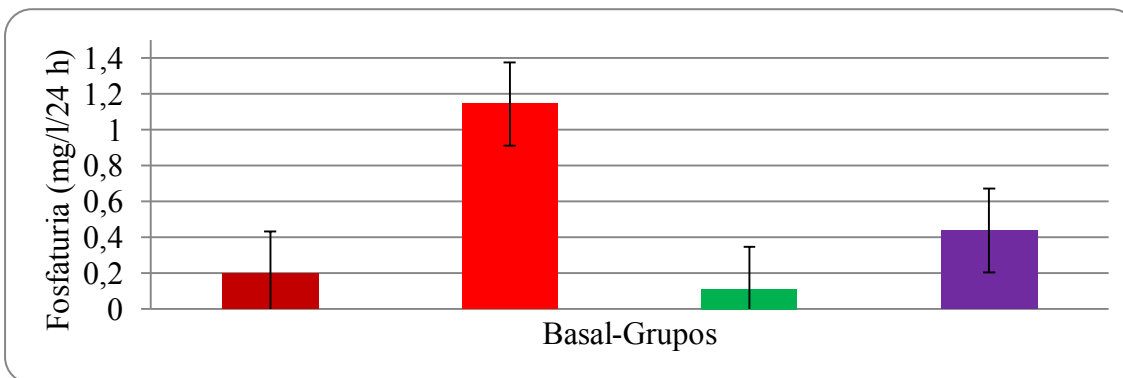


Figura 247. Fosfaturia Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

La lectura Basal de Fosfaturia registró valor promedio de $0,2$ mg/l/24 h. La curva Fosfaturia-Tiempo en G 1 se Δ hasta el día 15 PosQx ($0,36$ mg/l/24 h). G 2, comportamiento opuesto, para la misma fecha descendió ($0,11$ mg/l/24 h). G 3 Control para el día 15 PosQx Δ fosfaturia ($1,14$ mg/l/24 h). **(Figura 248)**

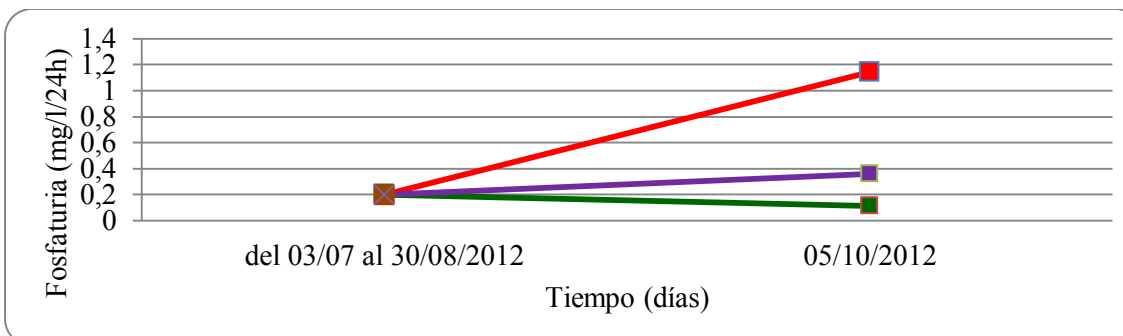


Figura 248. Fosfaturia-Tiempo Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

El Volumen de Orina Basal (/x: 36,08 ml) tuvo un cambio marcado durante el desarrollo de la experiencia, G 1 Δ orina 24 h PosQx (/x: 72,50 ml); G 2 también Δ orina 24 h PreQx (/x: 81,25 ml). En el PosQx G 2 continuó su aumento (/x: 115 ml). G 3 Control Δ orina 24 h (/x: 71,33 ml), menos que G 1 y G 2. **(Figura 249)**

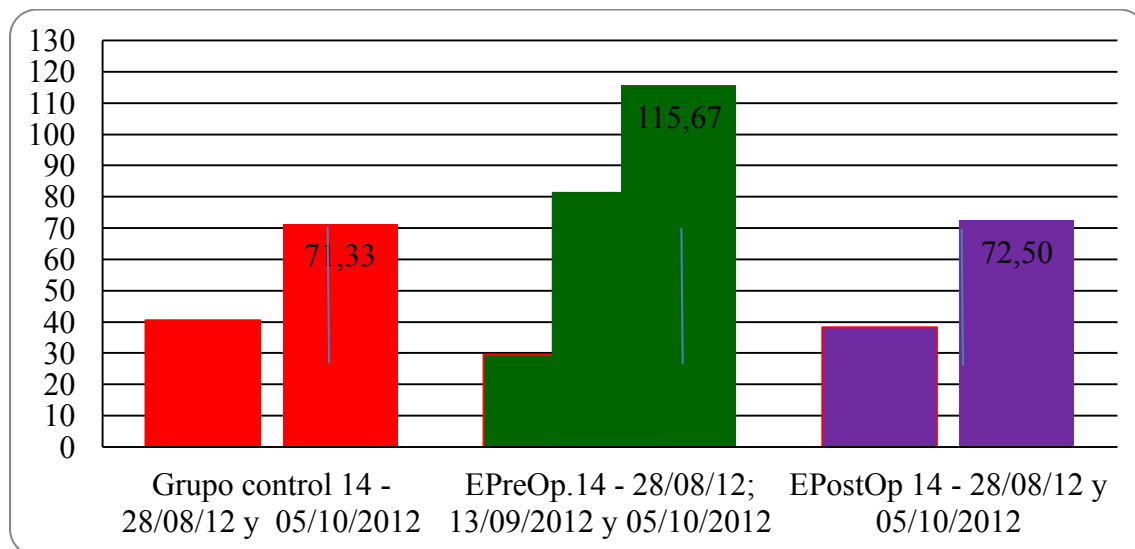


Figura 249. Volumen de orina 24 h-Tiempo Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

Aclaramiento de Creatinina. Índice de Filtrado Glomerular.

Según el cálculo del índice de filtrado glomerular (IFG) G 1 (0,056 ml/min) > Basal (0,020 ml/min). **(Tabla 18)** El índice se Δ menos en G 2 (0,039 ml/min). G 3 Control (0,045 ml/min) > Basal. El aumento pudo deberse a síndrome de isquemia reperusión, sobrecarga de la función renal, pérdida de masa muscular.

TRATAMIENTO	IFG
Basal	0,020 ml/min
G1 OHB	0,056 ml/min
G 2 OHB	0,039 ml/min
G 3 Control	0,045 ml/min.

Tabla 18. IFG Basal, G 1, G 2 y G 3 Control.

El cálculo del Aclaramiento Calcio/Creatinina Basal (0,03 mg/dl) se mantuvo idéntico en G 1 (0,03 mg/dl) y similar, más bajo, en G 2 (0,02 mg/dl). G 3 Control (0,09 mg/dl) > G 1 y G 2 OHB. **(Tabla 19)**

	Basal= 0,03	G 3 Control= 0,09	G 1= 0,03	G 2= 0,02
Calcemia	15,67 mg/dl	14,39 mg/dl	14,24 mg/dl	13,94 mg/dl
Calciuria	0,4 mg/l	1,8 mg/l	0,55 mg/l	0,2 mg/l
Creatinina sérica	0,95 mg/dl	0,79 mg/dl	1,05 mg/dl	0,7 mg/dl
Creatininuria	0,92 g/l	1,06 g/l	1,36 g/l	0,65 g/l
Resultados	0,03 mg/dl	0,09 mg/dl	0,03 mg/dl	0,02 mg/dl

Tabla 19. Aclaramiento Calcio/Creatinina.

La Densidad Basal promedio (1010,05 mg/ml) no presentó variaciones en G 1 y G 2. La misma observación en relación a G 3 Control. G 1 y G 2 se han mantenido en el mismo nivel durante toda la experiencia, inferior a Basal (1005 mg/ml < 1010,05 mg/ml). **(Figura 250)**

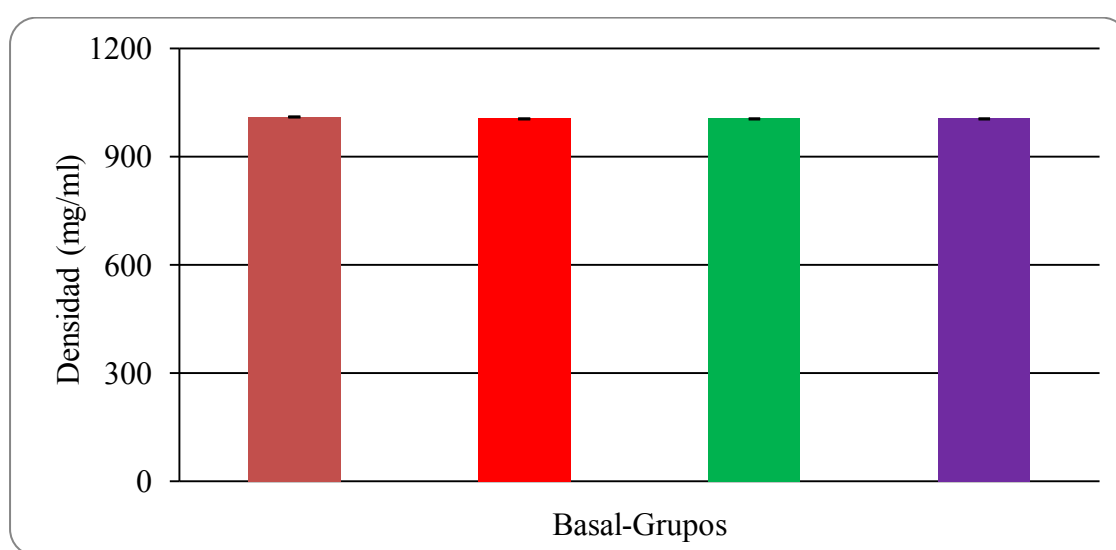


Figura 250. Densidad urinaria Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

La determinación de Creatininuria Basal (\bar{x} : 0,92 +/- 0,43 mg/día) en G 1 se $\Delta \sim 35\%$ (\bar{x} : 1,36 +/- 0,75 mg/día); G 2 (\bar{x} : 0,65 +/- 0,21 mg/día); G 3 Control (\bar{x} : 1,06 +/- 0,01 mg/día) alcanzó un promedio superior a Basal no tan marcado como G 1. **(Figura 251)**

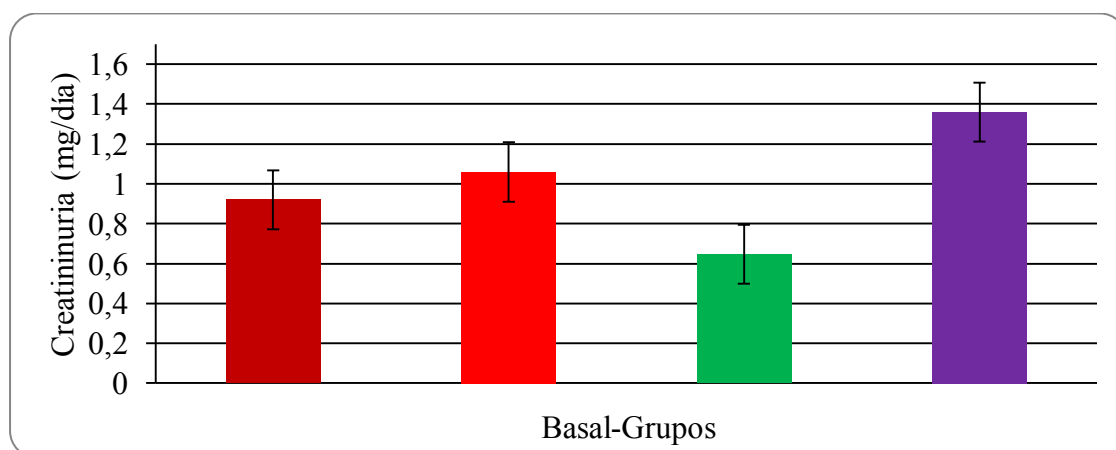


Figura 251. Creatininuria Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

El promedio Basal de concentración de Proteínas Cuantitativas (/x: 0 mg/dl) sufrió una suba en los Grupos OHB, ambos con un nivel parecido (/x G 1: 1,72 mg/dl; /x G 2: 1,76 mg/dl). G 3 Control (/x: 1,36 mg/dl). **(Figura 252)**

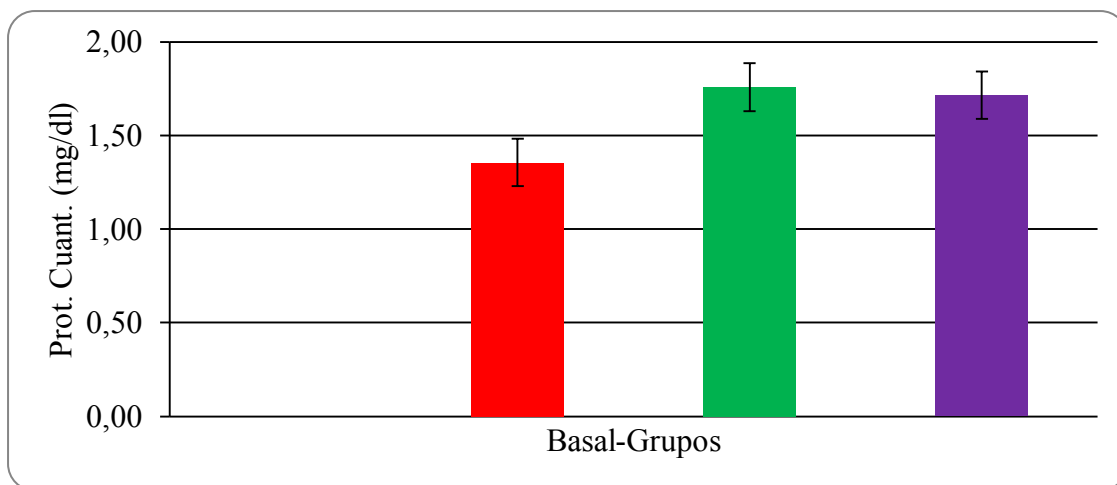


Figura 252. Proteínas Cuantitativas en orina Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

El promedio de Albuminuria experimental tuvo evolución semejante a la concentración de Proteínas Cuantitativas en orina de 24 h. Los Grupos OHB G 1 (/x: 90,33 +/- 25 ug/dl) y G 2 (/x: 115,67 +/- 36 ug/dl) registraron valores altos comparados a Basal (/x: 36,31 +/- 16 ug/dl). Ambos con niveles superiores a G 3 Control (/x: 71,33 +/- 6,51 ug/dl). Por estos resultados habría existido mayor exigencia renal en Grupos OHB que en Control. Mismo incremento en Proteínas Cuantitativas. **(Figura 253)**

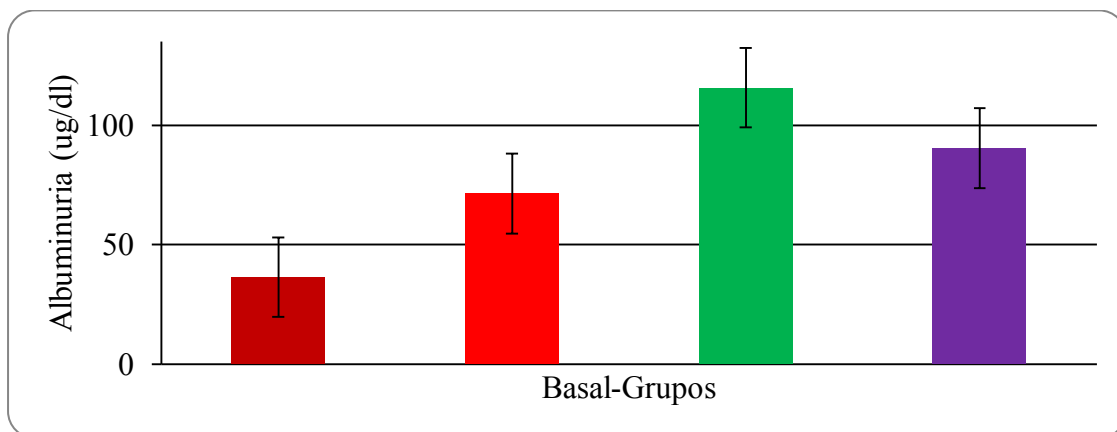


Figura 253. Albumina orina 24 h Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

7.5 Manejo de la herida. Complicaciones.

El área de la incisión para Grupos G 1, G 2 y G 3 se estandarizó en 2 cm², la profundidad de abordaje respetó los planos: piel, tejido celular subcutáneo, músculo y hueso. En todos los individuos de la misma manera. El criterio de medición se basó en diagnóstico (Dx) clínico: Positivo (presencia de variables) y Negativo (ausencia de variables). En Grupo 1 Postoperatorio (659; 972; 10; 6; 656; 9; 894; 937) no hubo

casos de isquemia (negativo), pulsos intactos palpables, sensación protectora intacta, Dx clínico negativo de neuropatía, ausencia de infección bacteriana de la herida, no se indicaron amputaciones en este grupo (G 1 /x: 2 U). **(Tabla 20)** En Grupo 2 Preoperatorio (649; 658; 919; 13; 963; 931; 896; 1) de acuerdo a las variables observadas no hubo isquemia (negativo), pulsos intactos palpables, sensación protectora intacta, Dx clínico negativo de neuropatía, ausencia de infección bacteriana de la herida, ningún individuo con indicación de amputación en toda la experiencia (G 2 /x: 2 U). **(Tabla 21)** Durante toda la experiencia no hubo indicación de amputación en conejos de Grupo 3 Control (914; 182; 2; 00; 8; 891; 7). El conejo 920 (4 U) presentó a partir del día 35 PosQx una lesión isquémica en la herida, neuropatía y complicación de las lesiones óseas con fractura múltiple o conminuta, sin infección anaerobia. Una situación excepcional, de causa desconocida, aparentemente un accidente. El resto de los individuos de G 3 Control sin resultados negativos en relación a las variables de esta sección (G 3/x: 2,25 U). **(Tabla 22)**

VARIABLES	Medición observacional.	G 1 Postoperatorio Conejos							
		659	972	10	6	65	9	89	93
Área	Incisión 2 cm ² (1)	1	1	1	1	1	1	1	1
Profundidad	Planos de la incisión (1)	1	1	1	1	1	1	1	1
Isquemia	Pulsos palpables (0)	0	0	0	0	0	0	0	0
	Pulsos ausentes (1)	0	0	0	0	0	0	0	0
Neuropatía	Sensación protectora intacta (0)	0	0	0	0	0	0	0	0
	Déficit sensación protectora (1)	0	0	0	0	0	0	0	0
Infección bacteriana	Negativo (0)	0	0	0	0	0	0	0	0
	Positivo (1)	0	0	0	0	0	0	0	0
Amputación	No indicada (0)	0	0	0	0	0	0	0	0
	Indicada (1)	0	0	0	0	0	0	0	0
Puntuación total Unidades (U)		2	2	2	2	2	2	2	2

Tabla 20. G 1 Postoperatorio. Positivo (1) o Negativo (0).

VARIABLES	Medición observacional.	G 2 Preoperatorio Conejos							
		64	658	919	13	963	931	896	1
Área	Incisión 2 cm ²	1	1	1	1	1	1	1	1
Profundidad	Planos de la incisión	1	1	1	1	1	1	1	1
Isquemia	Pulsos palpables	0	0	0	0	0	0	0	0
	Pulsos ausentes	0	0	0	0	0	0	0	0
Neuropatía	Sensación protectora intacta	0	0	0	0	0	0	0	0
	Déficit sensación protectora	0	0	0	0	0	0	0	0
Infección bacteriana	Negativo	0	0	0	0	0	0	0	0
	Positivo	0	0	0	0	0	0	0	0
Amputación	No indicada	0	0	0	0	0	0	0	0
	Indicada	0	0	0	0	0	0	0	0
Puntuación total U		2	2	2	2	2	2	2	2

Tabla 21. G 2 Preoperatorio. Positivo (1) o Negativo (0).

VARIABLES	Medición observacional.	G 3 Control Conejos							
		914	920	182	2	00	8	891	7
Área	Incisión 2 cm ²	1	1	1	1	1	1	1	1
Profundidad	Planos de la incisión	1	1	1	1	1	1	1	1
Isquemia	Pulsos palpables	0	0	0	0	0	0	0	0
	Pulsos ausentes	0	1	0	0	0	0	0	0
Neuropatía	Sensación protectora intacta	0	0	0	0	0	0	0	0
	Déficit sensación protectora	0	1	0	0	0	0	0	0
Infección bacteriana	Negativo	0	0	0	0	0	0	0	0
	Positivo	0	0	0	0	0	0	0	0
Amputación	No indicada	0	0	0	0	0	0	0	0
	Indicada	0	0	0	0	0	0	0	0
Puntuación total U		2	4	2	2	2	2	2	2

Tabla 22. G 3 Control. Positivo (1) o Negativo (0).

7.6 Determinaciones séricas indicadoras de respuesta inmune. PCR.

El promedio de PCR Basal (/x: 0,01 mg/dl), no presentó variaciones en los Grupos OHB G 1 (/x: 0,01 mg/dl) y G 2 (/x: 0,01 mg/dl). G 1 y G 2 ≡ G 3 (/x: 0,01 mg/dl). **(Figura 254)**

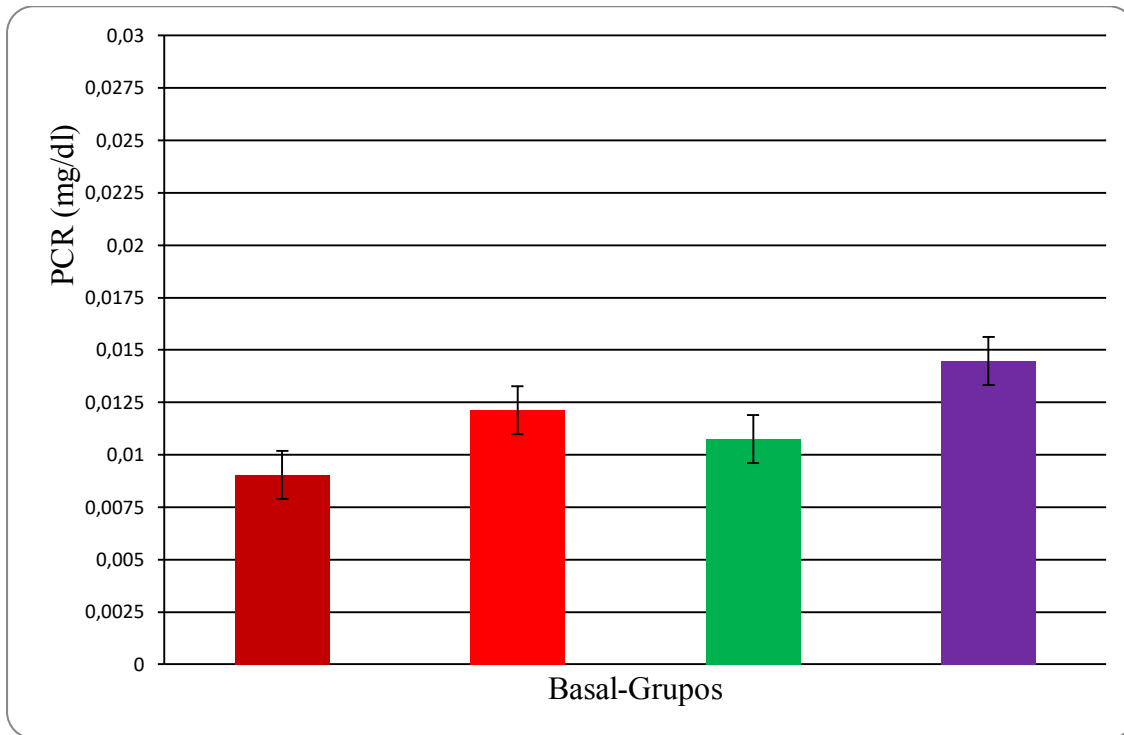


Figura 254. PCR Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

El promedio Basal de Neutrófilos segmentados (\bar{x} : 39,92 \pm 12,94 %), presentó un Δ con los tratamientos de Grupos OHB G 1 (\bar{x} : 62,86 \pm 11,01 %) y G 2 (\bar{x} : 66 \pm 6,98 %); G 3 Control (\bar{x} : 58 \pm 11,92 %). **(Figura 255)**

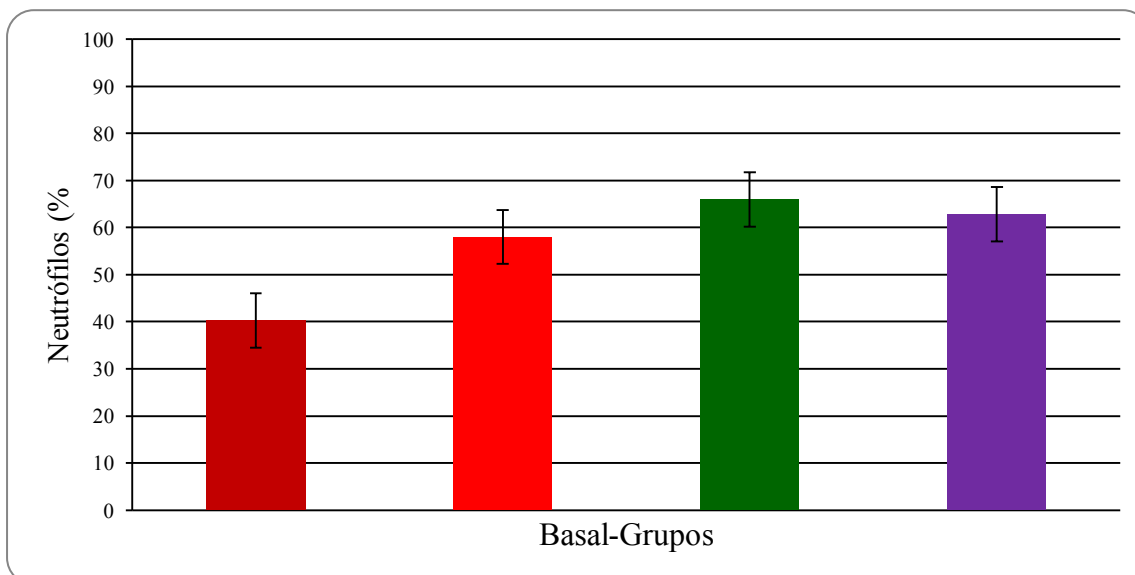


Figura 255. Neutrófilos segmentados Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

El promedio Basal de Eosinófilos (\bar{x} : 4,07 \pm 0,91 %) presentó mismo patrón que el promedio de neutrófilos en G 1 (\bar{x} : 4,57 \pm 0,53 %) y G 2 (\bar{x} : 6 \pm 1,41 %), existió un aumento desde Basal; G 3 Control (\bar{x} : 3,75 \pm 1,89 %). **(Figura 256)**

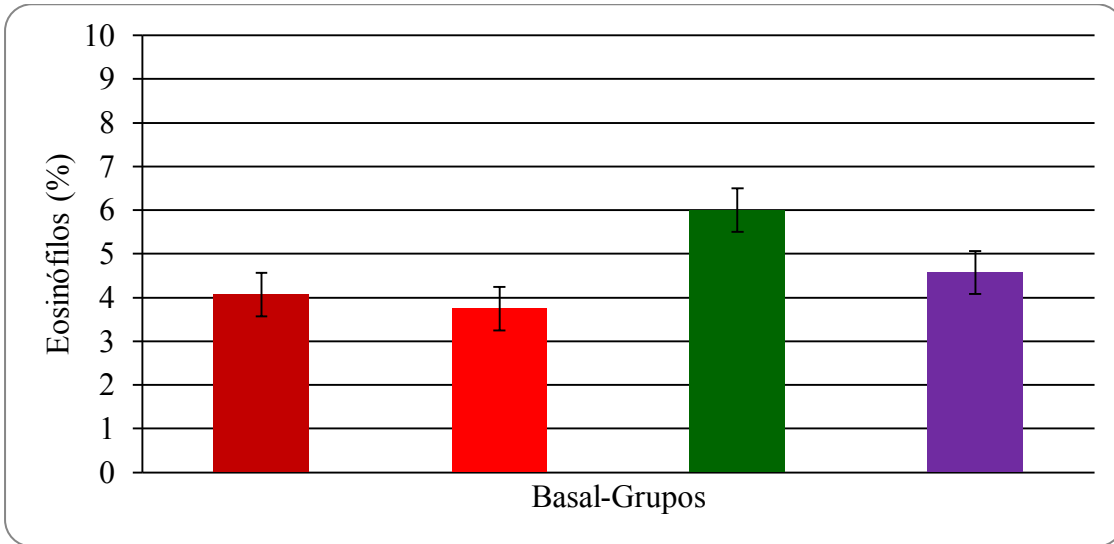


Figura 256. Eosinófilos Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

El promedio Basal de Monocitos (\bar{x} : 3,44 \pm 0,92 %) presentó mismo patrón que el promedio de neutrófilos y eosinófilos en G 1 (\bar{x} : 4,43 \pm 0,79 %) y G 2 (\bar{x} : 5 \pm 0 %); G 3 Control (\bar{x} : 3,5 \pm 1,91 %). **(Figura 257)**

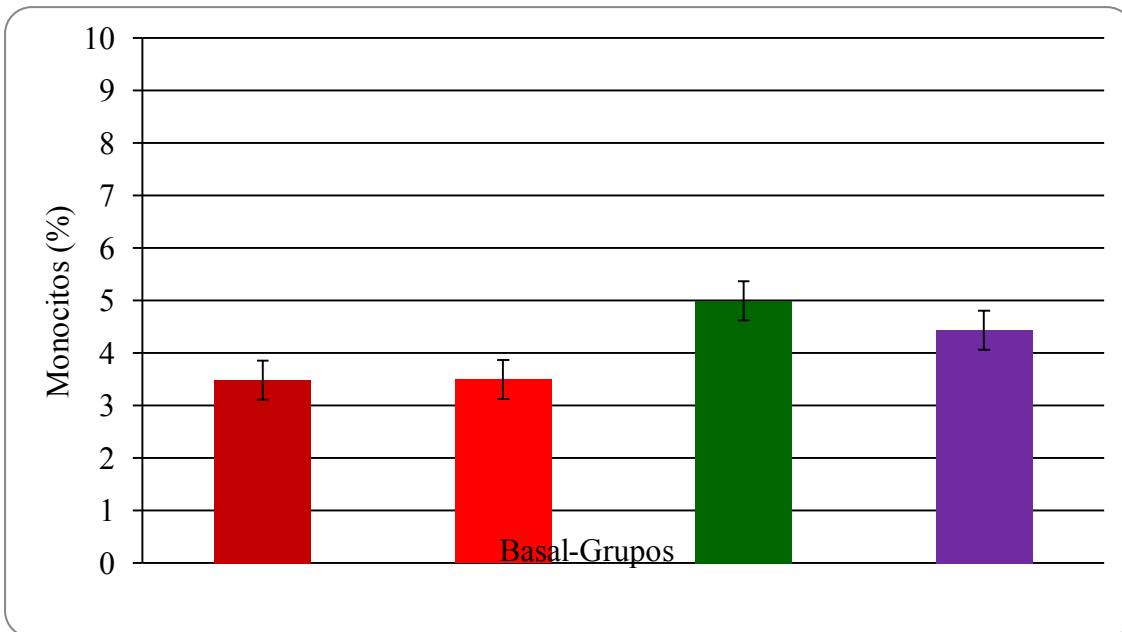


Figura 257. Monocitos Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

El promedio Basal de Linfocitos (\bar{x} : 53,2 \pm 12,46 %) presentó patrón opuesto al promedio de neutrófilos, eosinófilos y monocitos en G 1 (\bar{x} : 28,14 \pm 10,70 %) y G 2 (\bar{x} : 23 \pm 5,72 %); G 3 Control (\bar{x} : 34,75 \pm 9,03 %). **(Figura 258)**

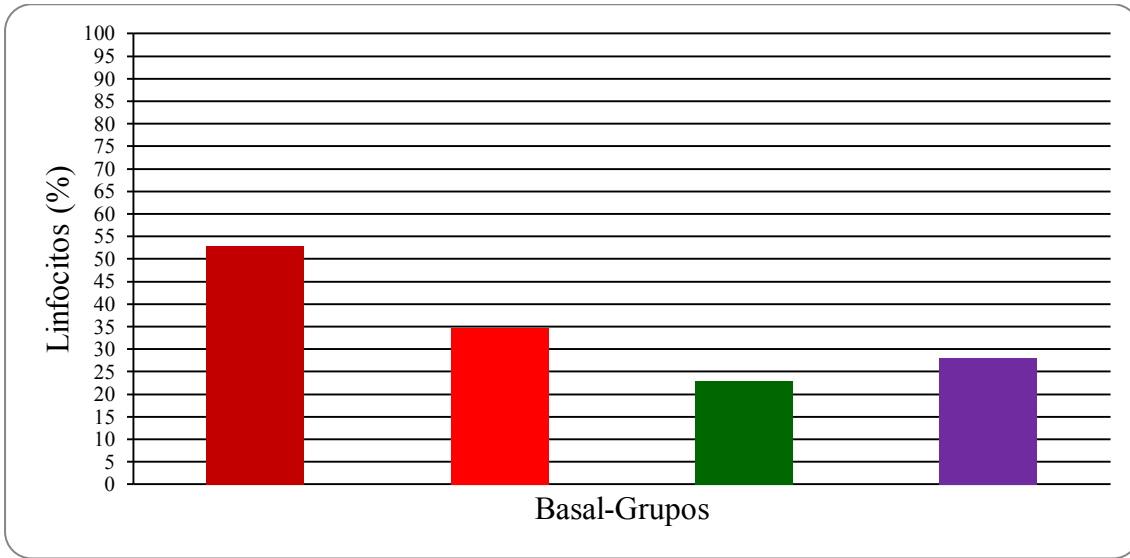


Figura 258. Linfocitos Basal, G 3 Control, G 2 y G 1.

El promedio de Neutrófilos segmentados del Recuento Absoluto de Leucocitos (RAL) en Grupos OHB G 1 y G 2 fue inferior a G 3 Control. G 1 /x: 7058 +/- 2077 mm³; G 2 /x: 8085 +/- 2109 mm³; G3 Control /x: 8193 +/- 3963 mm³. **(Figura 259)**

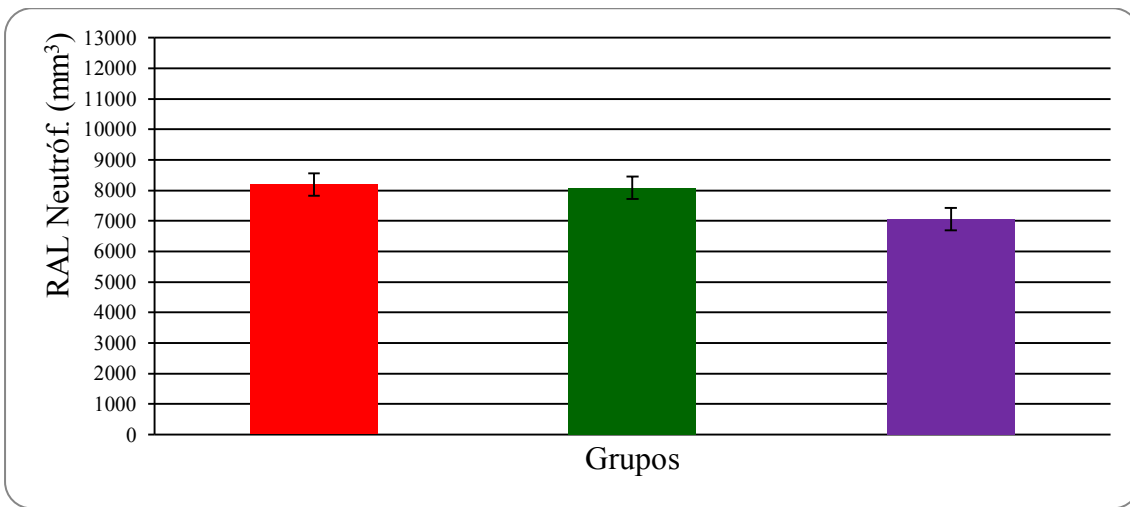


Figura 259. RAL, Neutrófilos segmentados G 3 Control, G 2 y G 1.

El promedio de Eosinófilos RAL presentó tendencia semejante al porcentaje promedio de Neutrófilos, Eosinófilos y Monocitos. G 1 /x: 502,64 +/- 69,25 mm³; G 2 /x: 715,5 +/- 123 mm³; G 3 Control /x: 462,65 +/- 214 mm³. **(Figura 260)**

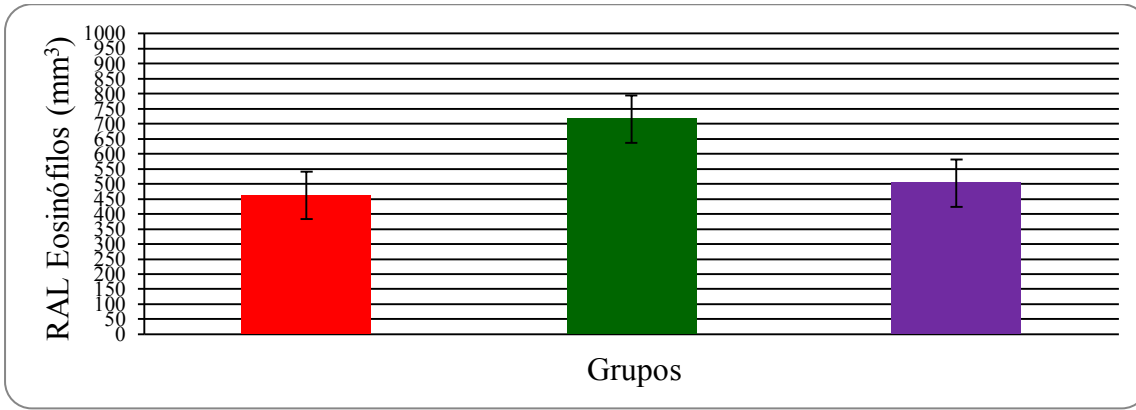


Figura 260. RAL, Eosinófilos G 3 Control, G 2 y G 1.

El promedio de Linfocitos RAL tuvo simetría con los datos de Neutrófilos RAL y porcentaje de Linfocitos. G 1 /x: 3004 +/- 901 mm³; G 2 /x: 2717 +/- 396 mm³; G 3 Control /x: 4663 +/- 1518 mm³. **(Figura 261)** Basófilos, valor cero (0 mm³) en Grupos OHB y Control.

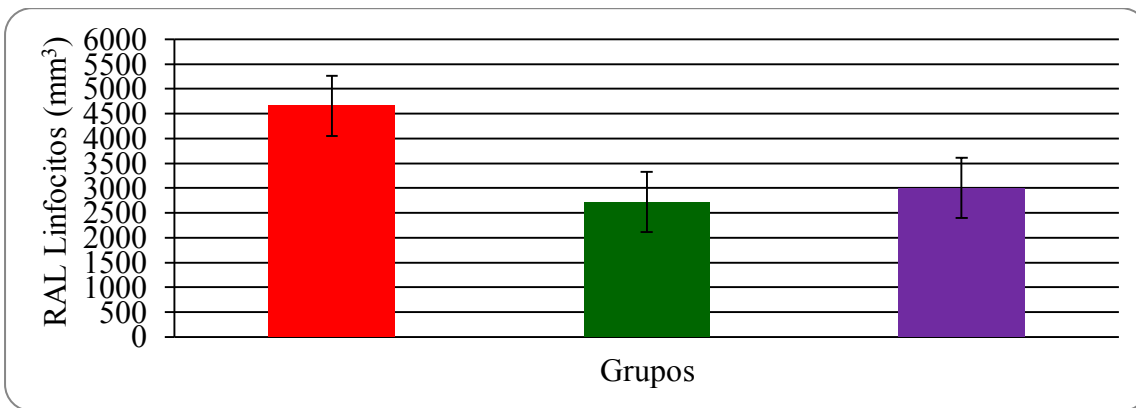


Figura 261. RAL, Linfocitos G 3 Control, G 2 y G 1.

El promedio de Monocitos RAL registró mismo patrón de evolución que Eosinófilos RAL y el porcentaje promedio de Neutrófilos, Eosinófilos y Monocitos. G 1 /x: 484,64 +/- 92,9 mm³. G 2 /x: 606,25 +/- 97,6 mm³. G 3 Control /x: 455,75 +/- 274,3 mm³. **(Figura 262)**

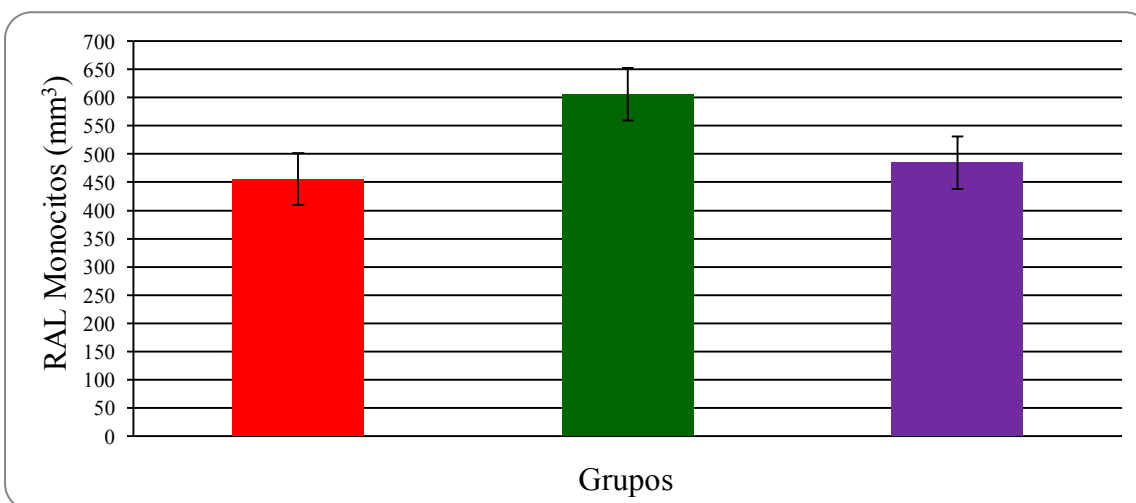


Figura 262. RAL, Monocitos G 3 Control, G 2 y G 1.

7.7 Resultados complementarios del hemograma completo.

VARIABLES	Prom. Basal	(\pm dS)	Prom. Control	(\pm dS)	Prom. PostOp	(\pm dS)	Prom. PrepostOp	(\pm dS)
-Recuento de Hematíes	6585104	(755966)	6597500	(793783)	6230000	(71185)	5865000	(1101469)
-Hemoglobina	13,59	(1,2)	12,05	(2,08)	9,95	(1,34)	9,78	(1,8)
-Hemoglobina Corpuscular Media	20,2	(1,2)	18,25	(1,71)	16,01	(1,37)	17,05	(3,94)
-Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media	30,78	(1,12)	30,13	(2,05)	28,81	(0,89)	28,7	(1,59)
-Hematocrito	44,07	(1,2)	40	(2,08)	34,5	(1,34)	9,78	(34)
-Volumen Corpuscular Medio	65,69	(3,15)	60,75	(3,69)	55,43	(3,51)	59,25	(12,23)
-Recuento de Leucocitos	10240	(3197)	13775	(4491)	11050	(1656)	12125	(1971)
-Plaquetas	219983	(133554)	420500	(182070)	388857	(77555)	336250	(237282)
-Porcentaje de Plaquetas	0,16	(0,01)	0,3	(0,1)	0,25	(0,07)	0,22	(0,14)
-Volumen Plaquetario Medio	7,39	(0,67)	7,5	(2,05)	6,36	(0,81)	6,7	(0,01)

Tabla 23. Datos complementarios del hemograma.

7.8 Indicadores de resolución del trauma. Movimientos articulares.

A-Tablas de Resolución del Trauma

Para evaluar el callo óseo se compararon resultados de volumen óseo. El análisis de grado de osteogénesis en G 1 y G 2 (también G 3 Control) tomó como referencia los resultados radiográficos e histomorfométricos de STDm, VM, VO, Superficie Osteoblástica y Osteoide.

La **tabla 24** muestra una síntesis de variables observadas y cuantificadas clínicamente, G 1 y G 2 no presentaron infecciones anaerobias PosQx. La recuperación de articulaciones y su función (RAF) no presentó novedades en los 8 conejos de cada Grupo OHB, G 3 Control presentó 1 caso de afección articular (excepcional) sin relación con el tratamiento placebo. No se presentó la necesidad de amputar los miembros posteriores lesionados. La mortalidad en G1 (4 conejos californianos) fue menor que en G 2 (6 conejos californianos) y G 3 Control (6 conejos californianos).

TRATAMIENTOS	FAA	RAF	A	MT
G1	0	8	0	4
G2	0	8	0	6
G3 Control	0	7	0	6

Tabla 24. FAA: frecuencia aparición anaerobiosis; RAF: recuperación de articulaciones y función; A: amputaciones; MT: mortalidad.

Las **tablas 25 y 26** se realizaron con la intención de simplificar conceptos sobre los resultados obtenidos, en ellas se ve reflejado el tiempo de mineralización (T), la formación del callo óseo (CO) y osteogénesis (OG) en Tibia y Peroné. En Tibia G 2 obtuvo mejores resultados en T, CO y OG que G 1 y G 3 Control.

En Peroné G 3 presentó mejor efecto en T y CO pero con propiedades estructurales óseas inferiores a G 1. Por este motivo y la evolución positiva de las variables estructurales al finalizar el tratamiento OHB G 1 habría conseguido datos más favorables que G 3 Control.

TRATAMIENTOS	T Tibia	CO Tibia	OG Tibia
G1	3°	2°	3°
G2	1°	1°	1°
G3	2°	3°	2°

Tabla 25. Tibia Tiempo (T), Callo óseo (CO); Osteogénesis (OG) G 1, G 2 y G 3 Control.

TRATAMIENTOS	T Peroné	CO Peroné	OG Peroné
G1 Postoperatorio	2° (igual a G2)	2°	1°
G2 Preoperatorio	2° (igual a G1)	3°	2°
G3 Control	1°	1°	3°

Tabla 26. Peroné Tiempo (T), Callo óseo (CO); Osteogénesis (OG) G 1, G 2 y G 3 Control.

B-Recuperación de los Movimientos Articulares.

Las variables observadas denominadas Prueba o Test de cadera, rodilla y tobillo contemplaron 6 (seis) movimientos, flexión de cadera con rodilla en extensión, prueba de Thomas, rotadores de cadera, interno y externo, aductores de la cadera, cuádriceps, elongación de flexores. Grupo 1 Postoperatorio (659; 972; 10; 6; 656; 9; 894; 937) conservó los movimientos en todos sus integrantes, mediante las pruebas: de cadera, rodilla y tobillo, flexión de cadera con rodilla en extensión, prueba de Thomas, rotadores de cadera interno/externo, abductores de la cadera, cuádriceps y elongación de flexores. Todos estos movimientos fueron conservados en toda la experiencia. **(Tabla 27)** Grupo 2 Preoperatorio (649; 658; 919; 13; 963; 931; 896; 1) conservaron los movimientos de referencia. **(Tabla 28)** Grupo 3 Control (914; 182; 2; 00; 8;

891; 7) conservó todos los movimientos descriptos durante toda la experiencia. Ningún conejo presentó déficit en las pruebas. **(Tabla 29)** Los movimientos tomados como referencia para el test de movimiento de las articulaciones son diseños para humanos modificados o adaptados para conejos. Los conejos poseen diferente actitud postural y locomoción. El conejo 920 presentó a partir del día 35 postquirúrgico, déficit o ausencia de los seis movimientos contemplados en la prueba de las articulaciones de cadera, rodilla y tobillo.

TEST DE CADERA, RODILLA Y TOBILLO	Grupo 1 Postoperatorio Conejos							
	659	972	10	6	656	9	894	937
Flexión de cadera con rodilla en extensión	0	0	0	0	0	0	0	0
Prueba de Thomas	0	0	0	0	0	0	0	0
Psoas iliaco y recto anterior	0	0	0	0	0	0	0	0
Rotadores de cadera interno y externo	0	0	0	0	0	0	0	0
Aductores de la cadera	0	0	0	0	0	0	0	0
Cuádriceps	0	0	0	0	0	0	0	0
Tobillo elongación de flexores plantares	0	0	0	0	0	0	0	0
Puntuación Total	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 27. G 1 OHB Recuperación funcional articular, conservada sin déficit (0) y déficit (1).

TEST DE CADERA, RODILLA Y TOBILLO	Grupo 2 Preoperatorio Conejos							
	649	658	919	13	963	931	896	1
Flexión de cadera con rodilla en extensión	0	0	0	0	0	0	0	0
Prueba de Thomas	0	0	0	0	0	0	0	0
Psoas iliaco y recto anterior	0	0	0	0	0	0	0	0
Rotadores de cadera interno y externo	0	0	0	0	0	0	0	0
Aductores de la cadera	0	0	0	0	0	0	0	0
Cuádriceps	0	0	0	0	0	0	0	0
Tobillo elongación de flexores plantares	0	0	0	0	0	0	0	0
Puntuación Total	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 28. G 2 OHB Recuperación funcional articular, conservada sin déficit (0) y déficit (1).

TEST DE CADERA, RODILLA Y TOBILLO	Grupo 3 Control Conejos							
	914	920	182	2	0	8	891	7
Flexión de cadera con rodilla en extensión	0	1	0	0	0	0	0	0
Prueba de Thomas	0	1	0	0	0	0	0	0
Psoas iliaco y recto anterior	0	1	0	0	0	0	0	0
Rotadores de cadera interno y externo	0	1	0	0	0	0	0	0
Aductores de la cadera	0	1	0	0	0	0	0	0
Cuádriceps	0	1	0	0	0	0	0	0
Tobillo elongación de flexores plantares	0	1	0	0	0	0	0	0
Puntuación Total	0	7	0	0	0	0	0	0

Tabla 29. G 3 Control Recuperación funcional articular, conservada sin déficit (0) y déficit (1).

7.9 Evolución del peso durante la experiencia.

Existió un considerable deterioro físico por las exigencias de los procedimientos experimentales acompañado de un descenso en el peso promedio desde Basal (3456 g).

G 1 con peso PreQx (3883 +/- 363 g), finalizó el PosQx con un promedio más cercano a Basal. G 2 y G 3 Control fueron los tratamientos físicamente más exigentes. En el PreQx G 2 (3919 +/- 295 g) y G 3 (3761 +/- 340 g) presentaban un peso superior a Basal. Luego en el PosQx se invirtió el resultado, G 2 y G 3 registraron menor peso promedio que G 1 y Basal. G 1 el día 30 PosQx tuvo menor descenso (3265 +/- 171 g) comparado a G 2 (2864 +/- 421 g) y G 3 Control (2823 +/- 393 g) en la misma fecha. **(Tabla 30)**

Fecha	Basal:	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
	Grupos 1, 2 y 3	Postoperatorio	(+/-dS)	Preoperatorio	(+/-dS)	Control	(+/-dS)
09/08/2012		3883	363	3919	295	3761	340
09/09/2012	3456	3540	318	3410	187	3419	284
14/10/2012		3328	241	3088	299	3047	428
30/10/2012		3265	171	2864	421	2823	393

Tabla 30. Peso corporal Basal, G1, G 2 y G 3 Control.

7.10 Mortalidad.

En cada Grupo OHB G 1 y G 2, se realizaron 3 histomorfometrías, para medir la respuesta a los tratamientos aplicados en tibia y peroné a los 15, 30 y 45 días PosQx. En las tablas se observa con (x) el deceso correspondiente a este procedimiento experimental. No hubo muertes por el tratamiento OHB en G 1, solo uno por causas desconocidas (Total: 4). **(Tabla 31)** En G 2, se realizaron las tres histomorfometrías, existió un deceso por asfixia provocada por los conejos dentro de la cámara y otros dos por causas desconocidas no relacionadas a OHB (Total: 6). **(Tabla 32)** G 3 Control presentó los decesos por histomorfometría y tres por complicaciones de la herida, bajo peso, poliuria o causas desconocidas (Total: 6). **(Tabla 33)** Todos los procedimientos, fueron diseñados y dirigidos para lograr la sobrevida de los animales participantes al finalizar la experimentación. Al terminar la experiencia todos los conejos se retiraron de la FCAyF-UNLP.

Causas	Grupo Postoperatorio 1 Conejos							
	659	972	10	6	656	9	894	937
Por histomorfometría		x		x		x		
Por tratamiento con OHB								
Por trauma, complicaciones varias: infecciones, shocks, nutrición, causas desconocidas, etc.	x							
Total								4

Tabla 31. Mortalidad (X) Grupo 1 Postoperatorio.

Causas	Grupo Preoperatorio 2 Conejos							
	649	658	919	13	963	931	896	1
Por histomorfometría			x		x	x		
Por tratamiento con OHB								x
Por trauma, complicaciones varias: infecciones, shocks, nutrición, causas desconocidas, etc.	x			x				
Total								6

Tabla 32. Mortalidad (X) Grupo 2 Preoperatorio.

Causas	Grupo Control 3 Conejos							
	914	920	182	2	00	8	891	7
Por histomorfometría	x			x		x		
Por tratamiento con OHB								
Por trauma, complicaciones varias: infecciones, shocks, nutrición, causas desconocidas, etc.	x		x					x
Total								6

Tabla 33. Mortalidad (X) G 3 Control.

DISCUSIÓN

8-DISCUSIÓN

La tesis postuló como una de sus principales ideas, investigar la acción de OHB sobre la activación y aceleración de la osteogénesis en dos lesiones de diferente naturaleza, una bicortical de tibia y otra por fractura de peroné. La meta planteada implicó un concepto de consolidación ósea con una estructura histológica compatible a la recuperación funcional precoz, datos que servirían de evidencia en traumatología maxilofacial odontológica y médica para el tratamiento de lesiones óseas con OHB.

En cirugía bucomaxilofacial la OHB tendría utilidad terapéutica en fracturas mandibulares; osteonecrosis por radio-quimioterapia y bifosfonatos; infecciones anaerobias con o sin etiología odontogénica. Su uso en infecciones de tejidos duros quedaría delimitado a osteomielitis aguda mandibular y artritis séptica de ATM. Por otro lado, también sería efectiva en infecciones de tejidos blandos: gangrena gaseosa; fascitis necrotizante; abscesos; celulitis y miositis.

La osteología aparte de aportar las herramientas para evaluar la respuesta al tratamiento instituido permitió estudiar mecanismos de formación-resorción ósea y del metabolismo fosfo-cálcico en fracturas. Un tema controvertido es el cambio que debe experimentar un marcador tras aplicar un tratamiento sobre el remodelado óseo, se ha sugerido que debería considerarse buena respuesta al tratamiento si alcanza valores de la población sana o basales. **(Schurman et al., 2013)** Los resultados de los grupos experimentales OHB (G 1 y G 2) de la tesis se compararon con Basal y Control.

Luego de producido el trauma queda en la herida tejido hipovascular, hipocelular, hipóxico, con riesgo de edema, infección y cicatrización retardada. Cicatrización es el proceso de reparación biológico de heridas que afecta al tejido epitelial. Pero, la definición de cicatriz se refiere a una marca remanente luego de la reparación de un tejido lesionado. Apegándose a este concepto, el tejido óseo también puede presentar una marca en la zona donde haya sufrido una injuria. El estudio experimental se centró en la cicatrización de tejido duro óseo con OHB y sin OHB, Las heridas que afectan el hueso y tejidos anexos se caracterizan por presentar una entidad patológica definida como isquemia traumática aguda, con daño vascular, reducción de la microcirculación, edema con o sin colapso vascular, síndrome compartimental, interrupción de la irrigación y vasoconstricción. Se trata de respuestas al trauma que repercuten en la cicatrización con extensa desvascularización del hueso y tejidos blandos, resultando en un alto porcentaje de complicaciones. **(Myers, 2000)** Las isquemias traumáticas agudas comparten características fisiopatológicas con las siguientes entidades: lesiones por aplastamiento, injertos y colgajos comprometidos, reimplantes, lesiones térmicas por congelamiento o por quemaduras. La hipoxia se puede agravar por procedimientos de osteosíntesis; necrosis isquémica; infección anaeróbica. **(Shall & Wapnir, 1995)**

Antes de iniciar el trabajo de tesis los datos de evidencia apuntaban a explicar efectos de OHB sin una explicación clara de los mecanismos de acción del oxígeno hiperbárico desde un punto de vista más global

en el organismo. Esta situación dificultó el análisis de los datos, porque la evidencia previa confundía efectos positivos observados o medidos de manera aislada, sin una explicación clara de la farmacodinamia y farmacocinética. Los conceptos conocidos se referían a las siguientes ventajas del uso de OHB en trauma:

a) el oxígeno suministrado en ambiente hiperbárico otorga poder, efectividad y celeridad farmacodinámica para mitigar la fisiopatología de la lesiones isquémicas como la generada en el trauma.

b) la herida no puede cicatrizar sin O₂ (normal: 0.3 ml/100 ml), por falta de función de los fibroblastos. Cuando la PaO₂ < 30 mmHg no se produce el colágeno para la neovascularización y reparación de las heridas. A 2,5-2,8 ATA con una PaO₂ superior a 2.000 mmHg, el plasma transporta 6 ml de oxígeno en cada 100 ml, de esta manera invierte el efecto negativo sobre el colágeno. **(Sheffield, 1988)** La recuperación celular por OHB se manifiesta con un aumento de epitelización, fibroplasia, síntesis de colágeno, angiogénesis y aumento de la función inmunológica de los leucocitos. El resultado es el control de infecciones y la reparación de tejidos.

c) el grado de isquemia tisular luego de un trauma depende de niveles séricos de óxido nítrico y ácido dihidroxibenzoico. **(Grootveld & Halliwell, 1988)**. Los marcadores de isquemia conocidos son glutamato y la relación lactato-piruvato, el daño celular genera variaciones de glicerol.

d) el mecanismo de hiperoxigenación haría que el oxígeno hiperbárico disuelto en el plasma cumpla con los altos requerimientos de oxígeno de los tejidos traumatizados en el momento de la injuria primaria. De esta manera se resolvería rápidamente la situación de estasis microcirculatorio y el edema

e) la reperfusión se revierte alterando la adherencia de los neutrófilos a las vénulas postcapilares, impidiendo de este modo la liberación de radicales libres de oxígeno tóxicos.

f) la vasoconstricción reduce del edema, generando una disminución en la extravasación del líquido en el área lesionada. La elevada PaO₂ en la sangre arterial bajo condiciones hiperbáricas compensaría la reducción del flujo sanguíneo, el efecto final sería una mejora manifiesta de los tejidos por hiperoxia, aunque con vasoconstricción. Sobre esta base se realizó el enorme esfuerzo de entender los efectos de OHB desde su origen a un nivel más superior o central sistémico. La farmacodinamia de OHB se interpretó en base a los datos recolectados y trabajos científicos publicados. Fueron de gran utilidad los resultados histomorfométricos, séricos y urinarios. Biomarcadores permitieron estudiar la evolución de los tratamientos OHB G 1 y G 2, también comprender e integrar sistemas y órganos intervinientes en la acción-respuesta farmacológica. **(Tai et al., 2010)** Para medir la respuesta a los tratamientos experimentales OHB G 1 Postoperatorio y G 2 Preoperatorio se utilizaron marcadores específicos de formación ósea (FAO y Osteocalcina) y de resorción (NTX Y CTX).

La hiperoxigenación no se contrapone a niveles de hemoglobina reducidos. El oxígeno hiperbárico vía plasma respondió al requerimiento de oxígeno vital y al de las heridas en los tejidos duros afectados. **(Boerema, 1960)** El hemograma completo aportó que el recuento de hematíes no se modificó en ninguno de los grupos experimentales. En cambio, G 1 sufrieron desde Basal una reducción en la determinación de

hemoglobina, en G 3 Control ese descenso fue menor. Esto siguió el mismo patrón que la hemoglobina corpuscular media. Por otra parte G 1 (34,5 %) presentó una baja en el hematocrito comparado a Basal (44,07 %), cifra superada por G 2, con una caída de nivel mayor (9,78 %). Estos datos posiblemente indicarían la repercusión de la toma de muestras séricas en todos los grupos (10 ml en cada caso). Trabajos precedentes se centraron en el estudio del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) como mediador de la actividad angiogénica durante la fase proliferativa de la cicatrización de heridas. **(Nissen & Polverini, 1998)** En 2008 un trabajo que estudió el efecto de OHB sobre la expresión de VEGF en un modelo animal con defectos óseos congénitos de conejos neozelandeses. **(Fok & Jan, 2008)**

La OHB en el hipotálamo induciría la expresión de factores de crecimiento como el VEGF. VEGF tiene su origen en el mesénquima (tejido conectivo de sostén de todos los órganos) y es responsable de la neovascularización en la cicatrización de heridas. La expresión de VEGF en tejido fibroso y médula ósea estaría afectada in vitro e in vivo por la tensión tisular de oxígeno, en el trabajo observaron por inmunohistoquímica que luego de 12 semanas de tratamiento, en los grupos Control existía menor cantidad de hueso laminar que en los grupos con OHB luego de 6 semanas. El estudio incluyó 20 individuos en cuatro grupos dos controles con normobaria realizando mediciones a las 6 semanas y dos experimentales con OHB 90 minutos, 2,4 ATA por día, secuencia terapéutica 5 días por 2 de descanso durante 30 días. Este esquema terapéutico fue el mismo que se aplicó en el trabajo de tesis (5x2). Los resultados obtenidos habrían sido concordantes con los trabajos de **Fok y Jan (2008)**, habría existido aumento de la osteogénesis como consecuencia de la proliferación angiogénica en tratamientos de OHB. El tratamiento OHB G 1 en la fractura de peroné alcanzó un nivel superior de STDM (hueso laminar) que Control. En la lesión perforante de tibia el tratamiento OHB G 2 también presentó un valor más alto que Control. Los tratamientos con OHB habrían tenido intervención en el metabolismo fosfocálcico, favoreciendo la formación-conservación de hueso, un efecto que junto al estímulo de la síntesis de colágeno constituiría un factor de suma importancia para la consolidación o formación del callo óseo en fracturas. La respuesta hipotalámica a la acción de la OHB sobre el eje H-SNA-SI modificaría niveles séricos de moléculas marcadoras de estrés oxidativo, enzimas pro-oxidantes (malondialdehído GSSG) y antioxidantes (glutatión GSH peroxidasa, glutatión GSH reductasa); también se ven afectadas sustancias derivadas de células inmunes como citoquinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1 β); y la mieloperoxidasa de neutrófilos y monocitos, de acción microbicida. La acción de OHB a nivel del hipotálamo surgió del análisis e interpretación de los resultados. El hemograma completo en las diferentes etapas de la experiencia sirvió como método indirecto para inferir inducción de la función hipotalámica por OHB. Esto fue posible mediante los datos de porcentaje y recuento absoluto de leucocitos: neutrófilos, eosinófilos, monocitos y linfocitos. La OHB, a través del hipotálamo, activaría la respuesta vegetativa (SNA) induciendo la síntesis de monoaminas (hormonas-neurotransmisores) por la médula adrenal con efecto favorable en la recuperación de pacientes traumatizados. Una entidad patológica que sirvió de referencia entender la acción hipotalámica de OHB fue el trastorno de estrés

postraumático (TEPT) que afecta la corteza adrenal, reduciendo niveles de corticosterona, también inhibe la expresión del receptor de glucocorticoides (GR) en el hipotálamo, la corteza infralímbica, el hipocampo y la amígdala. (Lin et al., 2019)

8.1 OHB y Medio Interno. Mecanismos de acción. Función neuroendocrina e inmune.

El medio interno es un sistema de órganos que protege la función celular de estímulos externos como cambios de temperatura, presión atmosférica, pH u osmolaridad para mantener la homeostasis. La señalización química sobre los órganos diana en el organismo puede ser endócrina, neurocrina, paracrina o autocrina. Para entender la acción del oxígeno hiperbárico como elemento bioactivo farmacológico se ha procurado encontrar fundamentación en su mecanismo de intervención sobre las funciones endócrinas y nerviosas que regulan el medio interno. Existirían dos componentes complementarios en el mecanismo de acción farmacológica de la OHB, uno de ellos la hiperbaria: su diana el hipotálamo (diencefalo); el segundo sería el gas medicinal oxígeno, como elemento reactante farmacológico por saturación controlada de hemoglobina, plasma y tejidos. Una posible explicación teórica, basada en resultados obtenidos y bibliografía científica, indicaría que la vía de acción de la OHB tendría como punto de acción primario el hipotálamo. El eje neuroendocrino Hipotálamo-SNA-Inmune permitiría entender la acción de la OHB y la inducción de la función de las glándulas Paratiroides, Tiroideas y Adrenales, la función renal, el metabolismo fosfocálcico y las hormonas intervinientes: calcitonina (CT), paratohormona (PTH), calcitriol y catecolaminas. (Figura 263) Estas hormonas regulan el metabolismo óseo. (Cummings et al., 1998) Las denominadas células C parafoliculares producen CT para regular calcemia y fosfatemia. Podría existir una “trofina” (sin denominación hasta la fecha) que estimule esa región tiroidea. La CT deriva de tejidos no tiroideos como células pituitarias y células neuroendocrinas con efecto paracrino. Inhibe osteoclastos en su función resortiva. Su secreción es regulada por el calcio sérico (Ca). Aumentos en niveles séricos de Ca inducirían aumento de CT, la reducción de Ca inhibiría niveles de CT. Por acción directa sobre los osteoclastos reduce la reabsorción ósea. Sería responsable de mantener la calcemia normal tras la ingesta. (Baylink et al., 1998) La acción biológica de la CT endógena consistiría en la regulación del Ca, junto con la PTH y el calcitriol. (Man, 2011) En presencia de turnover óseo alto la CT causa hipocalcemia e hipofosfatemia, inhibe osteoclastos (OC) y osteocitos, promueve osteoblastos. También tiene un efecto analgésico, antiinflamatorio promotor de cicatrización de heridas y antihipertensivo. Existen receptores de CT (RCT) expresados en OC y en células del SNC. El rol fisiológico exacto de CT en homeostasis y metabolismo óseo todavía no se ha establecido en humanos, existen dudas sobre su actividad paracrina y autocrina. (Deftos, 2006)

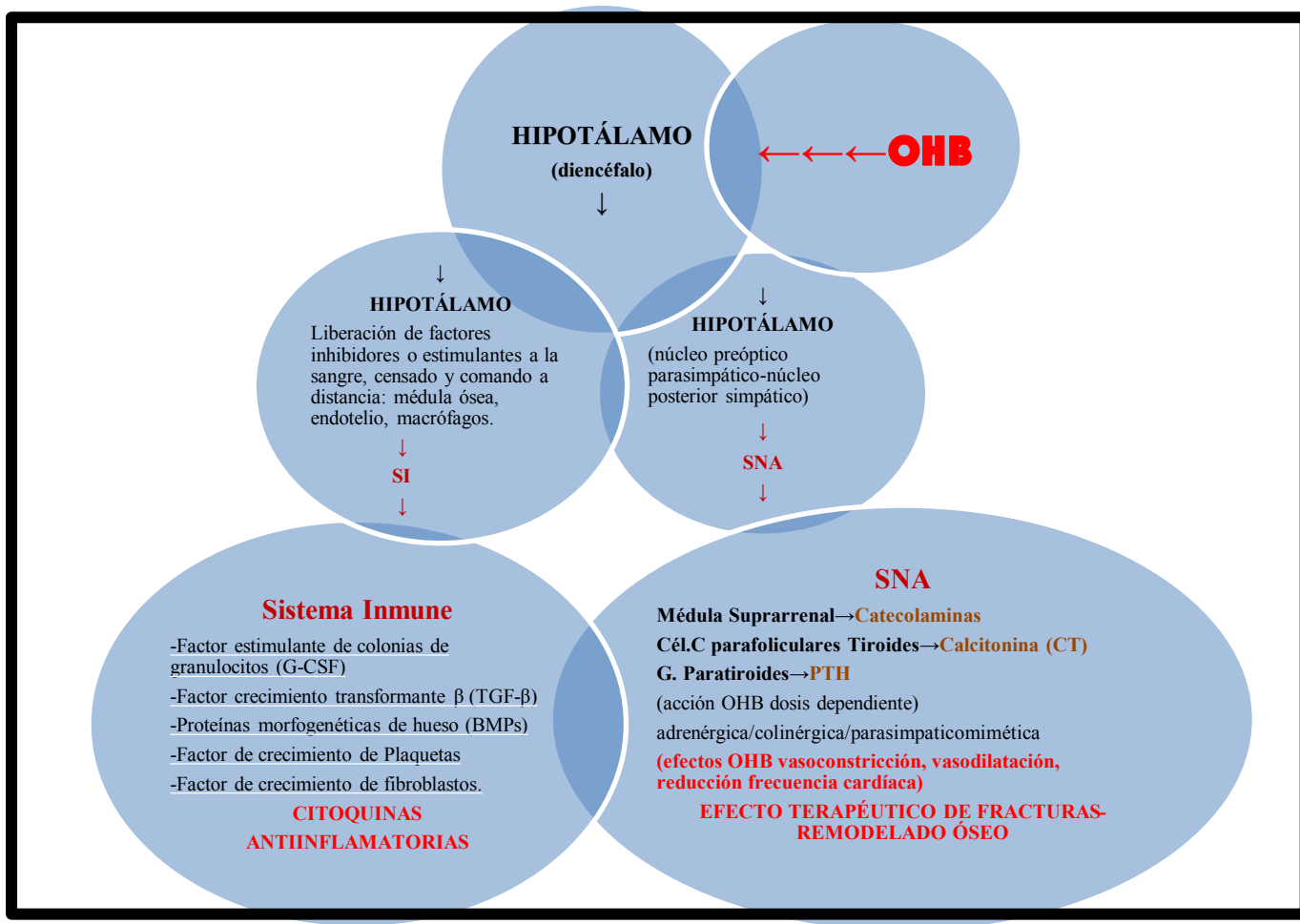


Figura 263. Esquema de alcance terapéutico de la OHB.

El SNA tiene un efecto vasomotor en las glándulas paratiroides, todavía no se ha demostrado un efecto secretomotor de PTH, como si ocurre en glándulas salivales y sudoríparas. La médula adrenal induce síntesis de Catecolaminas como adrenalina, noradrenalina y dopamina que modulan o activan síntesis hormonal de Tiroides y Paratiroides. Las paratiroides tienen importancia en el mantenimiento de los niveles normales de calcemia. (Albright & Reifenstein, 1984) La teoría de acción de OHB propuesta aquí encontraría sustento en el concepto que a las neuronas aferentes del Hipotálamo llegan los estímulos del medio ambiente: cambios en las condiciones atmosféricas, volumen sanguíneo, gases inhalatorios como oxígeno, presión parcial de gases (presorreceptores) y tensión vascular. Las neuronas aferentes osmosensibles regulan la homeostasis de los fluidos corporales, las termosensibles se encargan de la termorregulación. El Hipotálamo, es el nexo entre el sistema nervioso central y el sistema endócrino, regula la neurohipófisis (órgano circunventricular), el sistema nervioso autónomo y el sistema inmune. También releva la información que partiendo del cerebro (encéfalo) alcanza la médula espinal. La función de este órgano depende de mecanismos de retroalimentación positivos y negativos, integra información aferente neuronal y humoral. Es un órgano parte del encéfalo. (Waxman, 2011) Sus neuronas tienen acceso a las moléculas sanguíneas liposolubles, gases, glucosa y aminoácidos que atraviesan la barrera hematoencefálica.

Tiene proyecciones eferentes sinápticas y hormonales. Iniciado el tratamiento OHB, el hipotálamo censaría por vía aferente la hiperbaria y la hiperoxigenación. De esta manera se activaría la función del SNA (núcleo preóptico y posterior hipotalámico), la vía eferente enviaría su respuesta por señales químicas o neurotransmisores induciendo la actividad de células C parafoliculares, paratiroides y médula adrenal (tejidos derivados de la cresta neural). (Figura 264)



Figura 264. Esquema posible eje de acción neuroendocrino de OHB (Fisiología teórica).

Una hipótesis alternativa, postularía la existencia trofinas hipotalámicas liberadas por la OHB: “parafoliculotrofina” (PFTH); “paratiroidetrofina” y adrenomédulotrofina” que, de manera directa, inducirían la función glandular a distancia de células C parafoliculares, paratiroides y médula adrenal. (Figura 265) Ambos posibles mecanismos de acción de OHB descritos provocarían la síntesis de CT en las células C parafoliculares tiroideas, PTH y catecolaminas (aminas biógenas) en la médula adrenal.

Lin et al. (1991) aislaron receptores de la calcitonina, ubicados de manera semejante a los receptores de secretina y de la PTH/PTHrp. Los receptores de CT se presentan en el OC y en el túbulo renal, también se los ha localizado en el Sistema Nervioso Central. Simultáneamente el mecanismo de acción neuroendocrino de la OHB iniciado en el Hipotálamo modularía la respuesta Inmune, por medio de la expresión de factores de crecimiento (GF), mediadores celulares que ante estímulos (hiperbaria, hiperoxia, lesiones), son responsables de la comunicación intercelular por medio de señales de membrana celular (\neq enzimas). El Factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) es responsable de la maduración de células

precursoras a neutrófilos localizadas en la médula ósea. Aumenta la producción de granulocitos y monocitos. G-CSF puede encontrarse en médula ósea, endotelio y macrófagos.



Figura 265. Esquema de posible eje de acción neuroendocrino alternativo de OHB (Fisiología teórica).

Se acoplan a receptores tirosina quinasa de la misma manera que el Factor de crecimiento de plaquetas; Factor de crecimiento de fibroblastos; Factor de crecimiento endotelial vascular; TGF β ; BMP; Receptores de catecolaminas y de insulina. G-CSF actúa en células neuronales como factor neutrófico, estimula producción de glóbulos blancos. Su receptor es expresado por neuronas del cerebro y médula espinal. G-CSF en el Sistema Nervioso Central induce neurogénesis, neuroplasticidad e inhibe apoptosis neuronal. (Schneider et al., 2005) La evidencia obtenida en el trabajo de laboratorio avalaría en parte esta interpretación, OHB habría inducido expresión de G-CSF y por este medio se habría incrementado la diferenciación de células leucocitarias en la médula ósea y endotelio. El porcentaje promedio de Neutrófilos segmentados Basal (40 %) se vio incrementado en tratamiento G 1 Postoperatorio (62 %) y G 2 Preoperatorio (66 %). El porcentaje promedio de Monocitos presentó misma tendencia con los resultados de granulocitos (Basal: 3 %; G1: 4,43 %; G: 2 5 %). El porcentaje promedio de Eosinófilos presentó mismo comportamiento que los resultados de Neutrófilos y Monocitos (Basal: 4 %; G 1: 4,57 %; G 2: 6 %). Aumento marcado en G 2 Preoperatorio OHB comparado a Basal. Los datos de Neutrófilos, Monocitos y Eosinófilos en el Recuento Absoluto de Leucocitos, reflejaron el mismo resultado y patrón. La acción de OHB según los resultados obtenidos, podría haber inducido la expresión de Factor de crecimiento Plaquetas, el hemograma marcó la siguiente respuesta en las plaquetas: G 1 0,25 %; G 2 0,22 %; G 3 Control 0,30 %; Basal 0,16 %. Datos que guardaron tendencia análoga al Volumen Plaquetario Medio. Los

linfocitos, macrófagos, monocitos, mastocitos y basófilos producen citoquinas. También son liberadas por células endoteliales y fibroblastos. Prácticamente toda la serie leucocitaria marcó un aumento en las determinaciones del hemograma completo en grupos OHB G 1 y G 2. PCR dio negativo a compromiso infeccioso sistémico no específico en Grupos 1 y 2 OHB.

La síntesis de citoquinas antiinflamatorias (IL-4, IL-10, IL 6), derivadas de células inmunes podrían actuar como neurotransmisores o en la comunicación intercelular induciendo la activación de receptores específicos de membrana. De esta manera también tendrían protagonismo en la remodelación ósea. Las citoquinas antiinflamatorias bloquearían la síntesis de citoquinas proinflamatorias (inhiben síntesis de novo). Cada citoquina se une a un receptor de membrana específico que genera cascadas de señalización celular afectando la función celular. La interleucina 10 (CSIF) antiinflamatoria podría ser responsable de la inhibición de otras citoquinas proinflamatorias (IL-1-2-6-8). Una posible causa de la baja registrada en los niveles séricos de linfocitos (~ 20-25 %) con G 1 y G 2 pudo deberse a inhibición por OHB. Otra explicación es por la acción antimicrobiana de OHB y/o una acción inhibitoria específica en la médula ósea.

8.2 OHB y Sistema Nervioso Autónomo.

Dentro de los fundamentos de OHB pre-experiencia se encontraba un efecto positivo de vasoconstricción, pero también existía un dilema en la teoría, esta aparente contradicción planteaba también que dependiendo de la dosis y tiempo de OHB se producía vasodilatación. El Hipotálamo regula al Sistema Nervioso Autónomo (SNA) mediante proyecciones que envía hacia núcleos simpáticos y parasimpáticos en el tronco del encéfalo y la médula espinal. **(Rosler, 2014)** Aparentemente una posible “llave” que activaría este mecanismo inmuno-neuroendocrino estaría en las células de defensa: eosinófilos, monocitos, macrófagos, basófilos y mastocitos, por activación de la síntesis de mediadores químicos como citoquinas, dopamina, serotonina, TNF- α , un circuito donde el hipotálamo tiene un rol fundamental. Las citoquinas cerrarían el círculo modulando o interviniendo en la función hipotalámica. **(Seilicovich, 2003)** La acetilcolina es el neurotransmisor del sistema nervioso autónomo de la vía nerviosa simpática y parasimpática preganglionar desde su salida del cráneo hasta la médula espinal. Actúa sobre receptores muscarínicos y nicotínicos. **(Figura 266)** La fibra postganglionar simpática posee receptores alfa (α) que median vasoconstricción y beta (β) que median vasodilatación, donde actúan neurotransmisores como adrenalina y noradrenalina (catecolaminas), con transmisión de señal adrenérgica. Existen dos excepciones a esta regla en el sistema simpático postganglionar, ya que existe un sistema simpático vasodilatador muscular y la innervación simpática de las glándulas sudoríparas, ambos compuestos por neuronas que liberan acetilcolina como neurotransmisor. **(Weiner & Taylor, 1986)**

La fibra preganglionar parasimpática posee receptores nicotínicos sobre los que actúa la acetilcolina. La fibra postganglionar hasta el órgano diana tiene receptores muscarínicos M₂, M₃ con acción de acetilcolina y transmisión de señal colinérgica. Existe acuerdo general en que la concentración de calcio sérico es el

regulador dominante de la secreción de PTH y CT. (**Aurbach et al., 1985**) Sin embargo se han encontrado una variedad de compuestos no iónicos que pueden actuar como poderosos estimulantes/inductores o inhibidores de la secreción de ciertas hormonas. Entre ellas glucagón (**Pisarev et al., 1981**), prostaglandinas E₂ y F₂ (**Gardner et al., 1978 y 1979**) y las aminas biógenas (catecolaminas). Se ha demostrado que las células secretoras de CT y PTH contienen sistemas de adenilato ciclasa que son susceptibles o tendrían afinidad a catecolaminas y que la secreción de ambas hormonas correlaciona directamente con la activación de la enzima o la adición de AMPc a las células. Dichas células también poseen receptores de membrana específicos para ciertas aminas biógenas. (**Heath 1980**) Existiría un mecanismo de regulación ejercido por aminas biógenas de origen circulante o neural sobre la secreción de PTH y CT. (**Ladizesky, 1988**)

Efectos de OHB: vasoconstricción y vasodilatación.

La vasoconstricción simpática en el músculo liso endotelial se halla mediada por adrenalina en los receptores α , los vasos no poseen inervación del parasimpático. La regulación nerviosa del músculo liso se encuentra a cargo de las fibras simpáticas que inervan arterias y venas pero no capilares. (**Houssay et al., 1952**) El músculo liso consume menos O₂ que el estriado, pero es fundamental para mantener el tono. El músculo se relaja en una atmosfera de N₂, al readmitir O₂ el tono se recupera (efecto compatible con vasoconstricción). En la anaerobiosis hay glucolisis y ácido láctico, al retornar a la aerobiosis existe un aumento en el consumo de oxígeno (“pago de la deuda de Oxígeno”), resíntesis de glucógeno, reducción de ácido láctico. El músculo liso relajado consume 0,46 cm³ de O₂/g, en contracción de 0,39 cm³ O₂/g. (**Evans Lovatt, 1923**) Hasta el momento solo ha sido demostrada la inervación simpática en vasos, el tono miógeno tiene un ritmo de uno a tres impulsos por segundo de descarga simpática para sostener el tono vasomotor. El simpático libera al músculo liso noradrenalina, neuropéptido y ATP. La vasoconstricción nerviosa aumenta por endotelina, también incrementa la concentración de O₂, activa el sistema vasopresina/angiotensina, produce hipotermia e hipocapnia. Los peroxinitritos (ONOO⁻), agentes oxidantes, ejercen una acción opuesta al óxido nítrico (NO, siglas en inglés), vasoconstricción, su formación in vivo se asocia a la reacción del radical libre superóxido y óxido nítrico. El aumento de este anión derivado del nitrato en circulación por la acción de OHB en dosis terapéuticas (O₂ 100 % hasta 2 ATA/2 h) podría deberse al aumento del radical superóxido que reacciona con NO, y producción de ONOO⁻. Otra teoría para explicar ese efecto vasoconstrictor, sería que el NO en presencia de oxihemoglobina y O₂ vascular y tisular (dosis terapéuticas) promovería la formación de sustancias como nitritos (NO₂) y nitratos (NO₃) poco o menos reactivos, esto desactivaría la función vasodilatadora de NO y activaría la vasoconstricción por peroxinitritos (ONOO⁻).

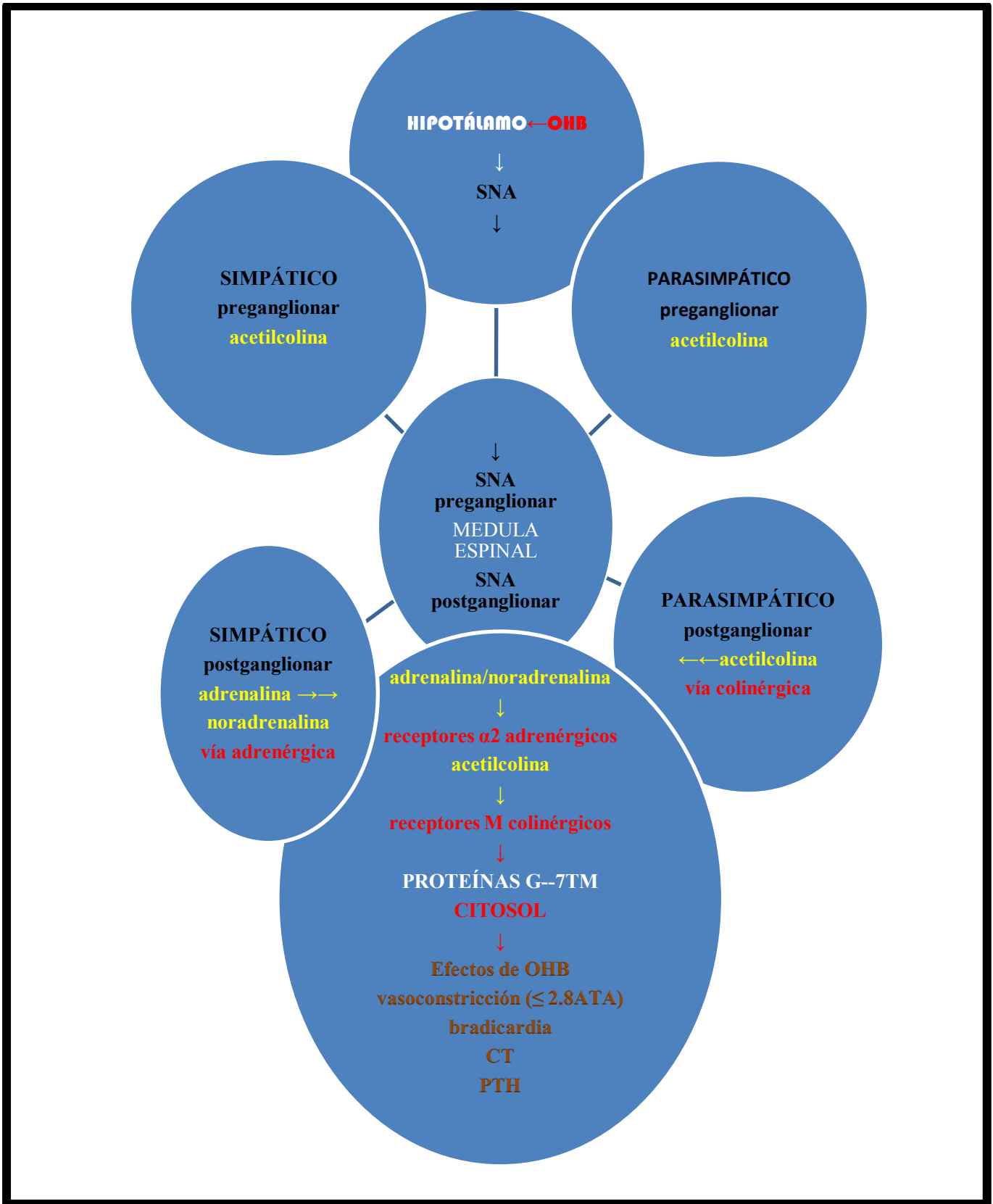


Figura 266. OHB y efecto sobre el SNA.

Una entidad patológica que serviría para entender la relación entre endotelio, SNA y metabolismo fosfocálcico es el Síndrome de Sudeck o distrofia simpática refleja (DSR). Se trata de un síndrome de dolor simpático reflejo por hiperactividad simpática postraumática. Uno de los estudios clínicos más significativos

en esta patología lo desarrolló **Veldman et al. (1993)**, con 829 pacientes. Cursa con osteopenia, vasoespasmo, edema crónico, distrofia neurovascular e hipersecreción de glándulas sudoríparas en la zona afectada. El detalle aquí es que existe un aumento de la acción simpática, que implicaría una predisposición a la osteopenia. No presupone que la hiperactividad parasimpática tendría efectos positivos sobre la densidad ósea, pero es interesante mencionarlo para futuras investigaciones. Un ejemplo práctico para entender el efecto vasomotor y su relación con la densidad ósea. La colinesterasa plasmática mide la actividad del sistema nervioso vegetativo, a mayor estímulo del SNA, se registran menores niveles de colinesterasa. Sería importante medir sus niveles séricos en una réplica del estudio realizado para comprobar los conceptos hasta aquí planteados. Podría medir una vía de acción del oxígeno hiperbárico, no sería la única. Lógicamente no todas las funciones de órganos o glándulas son reguladas por inervación, el líquido hemático es por otro lado el vehículo del alimento (hormonas, sustancias bioquímicas) y el estímulo funcional en glándulas de secreción interna y externa (riñones). Estos principios básicos fueron estudiados en la Universidad de Chicago y en el Instituto Rockefeller por Carrel, quien demostró que es posible trasplantar en masa los dos riñones, implantándolos por medio de sutura de la aorta y vena cava de un animal a otro de la misma especie. Comprobando así que la inervación renal no tiene decisiva influencia en la secreción de orina. (**Goyanes Capdevila, 1917**)

En cuanto a la vasodilatación, existe bibliografía científica donde se ha demostrado que a dosis más elevadas de OHB, 3 ATA de O₂ 100 % por más de 2 h, presiones más elevadas que las terapéuticas, aumentaría hasta cinco veces la producción de NO (vasodilatación) y activación de receptores β , en dosis terapéuticas se produce vasoconstricción (inhibe NO) activación de receptores α . (**Atochin et al., 2003**). La vasodilatación en el endotelio es mediada por acetilcoenzima A + NO y acetilcoenzima A + Factor endotelial.

La capacidad de las células tubulares proximales del riñón de sintetizar arginina a partir de citrulina, correlaciona con inducción de la síntesis de sintetasa óxido nítrico (NOS). (**Palmer et al., 1988**) El oxígeno 100 % a 3 ATA es rápidamente tóxico para el tejido neuronal y nervioso. Por este motivo en la práctica los tratamientos implican presurizaciones entre 1,5 ATA y 2,8 ATA por períodos de 60 a 120 min una o dos veces al día. (**Sheffield, 1988**) La vasodilatación por dosis elevadas y prolongadas de OHB podría explicarse por la reducción en los niveles circulantes de adrenalina o competencia con otro neurotransmisor u hormona en la activación de receptores β_2 y β_1 . La activación de los receptores M₃ en el endotelio vascular lleva a la liberación de NO que produce indirectamente vasodilatación. (**Lullmann et al., 2010**). El NO es un gas molecular liposoluble, que a diferencia de otros neurotransmisores no tiene un efecto localizado, no se almacena en presinapsis, se difunde en varias múltiples direcciones afectando a numerosa cantidad de células, es de particular importancia la intervención como mediador en el acoplamiento ostoblasto-osteoclasto de la remodelación ósea. Puede ser producido por el osteocito junto a otros mediadores como prostaglandinas y IGF-1. La liberación de NO por las plaquetas no se vería afectada por OHB, esta fue una de las conclusiones del estudio de **Shaw et al. (2009)**, para investigar el efecto de la OHB en la fisiología

plaquetaria. Expusieron plaquetas humanas a O₂ 100 % 2 ATA y a aire a 1 ATA por 90 min para medir agregación, activación plaquetaria y producción de NO. Su resultado: OHB indujo 29.8 +/- 3.0 % la agregación plaquetaria comparado con Control 5.5 +/- 0.9 %. En el trabajo las Plaquetas se incrementaron notablemente en los Grupos OHB G 1 y G 2 comparados Basal (219983/ml); G 1: 388857/ml; G 2: 336250/ml. Ambos Grupos OHB con resultados < G 3 Control (420500/ml), el porcentaje de Plaquetas presentó la misma proporción de aumento que el Volumen Plaquetario Medio. Una aclaración al margen, los resultados explicaron la importancia del uso preventivo de acidoacetilsalicílico como antiagregante plaquetario antes del tratamiento clínico con OHB, AHB o buceo. El aumento de presión atmosférica induciría a una mayor agregación o función plaquetaria, la exposición a menor presión atmosférica (altura) causa el efecto opuesto. Por otro lado, un efecto positivo de OHB sería la activación de factores de crecimiento óseo y condral derivados de las plaquetas. En un estudio donde se comparó efecto del plasma rico en plaquetas (PRP) y OHB individualmente y combinados contrastados a Control. PRP; OHB y PRP-OHB tuvieron mejoras favorables sobre la regeneración de cartílago en la rodillas izquierdas de ratas albinas Wistar. **(Korucu et al., 2014)**

Existirían dos posibilidades para explicar el mecanismo de acción de OHB y su efecto en el SNA:

a) la OHB en dosis terapéuticas (O₂ 100 % hasta 2,8 ATA 60-90 min) actuaría como un fármaco parasimpaticomimético, con acción sobre receptores muscarínicos (M₃). La vía colinérgica, por estímulo o inducción de efectos equivalentes a la acción de la acetilcolina, induciendo broncoespasmo y reducción de la frecuencia cardíaca (bradicardia). También bajo este concepto se explicaría el aumento superlativo del volumen de orina promedio (/x) comparado a Basal (38 ml). G 1: 90 ml; G 2 PreQx: 70 ml-G 2 PosQx: 115 ml; G 3 Control: 71 ml. En dosis altas no terapéuticas (O₂ 100 % > 3 ATA 60-90 min) OHB activaría receptores M₃, que mediaría un aumento del Calcio intracelular, desencadenando contracción del músculo liso, como ocurre en la broncoconstricción. Sin embargo la activación de M₃ en el endotelio vascular es responsable de un aumento en la síntesis de óxido nítrico que causa vasodilatación, por este motivo se explicaría el efecto paradójico de los parasimpaticomiméticos sobre el tono vascular y bronquiolar.

El receptor M₃ aumenta secreción gástrica y salival. Podría ser responsable de la secreción de moléculas en otras glándulas (tiroides CT-paratiroides PTH). El receptor colinérgico muscarínico activa a la proteína G cuando se une a la acetilcolina extracelular. La subunidad α de la proteína G inactiva a la adenilciclase, mientras que la subunidad β o γ activan canales de potasio, polarizando la célula. Esto causaría la disminución de la actividad cardíaca observada en la OHB. La estimulación del parasimpático libera acetilcolina en las sinapsis que unen la primera neurona con la segunda, son efectos utilizados terapéuticamente. La hiperoxia normobárica reduce la frecuencia cardíaca en humanos y en animales, se lo considera como parte del aumento del tono parasimpático, efecto descrito en el seguimiento de los pacientes durante la sesión de oxigenoterapia hiperbárica. Este efecto también ha sido asociado a la actividad de buceadores profesionales. **(Lund et al., 2000)** No se debe descartar que exista de manera

concomitante un síndrome de adaptación reflejo llamado “síndrome de inmersión mamífero” que se caracteriza por vasoconstricción periférica y bradicardia, el organismo procura mantener irrigado el corazón y el cerebro como una acción de emergencia en ambiente subacuático o hiperbárico. **Yefuni (1986)**, se describe este efecto. La disminución de la frecuencia cardíaca 10 % a 15 % sería un indicador favorable de la influencia del oxígeno hiperbárico, el aumento del pulso indicaría un signo negativo.

b) la OHB en dosis terapéuticas actuaría como un fármaco adrenérgico, simpaticomimético con acción sobre receptores α y vasoconstricción. Por otro lado, siempre en dosis terapéuticas (O_2 100 % hasta 2,8 ATA 60-90 min) actuaría en forma simultánea induciendo también la vía colinérgica, por estímulo de la síntesis de acetilcolina en receptores muscarínicos de los nervios parasimpáticos postganglionares, induciendo reducción de la frecuencia cardíaca. Aparentemente solo en dosis altas no terapéuticas (> 3 ATA 60-90 min) la OHB actuaría por la vía adrenérgica en receptores β , induciendo vasodilatación. La transducción de señal en el fluido extracelular (moléculas liberadas por acción de OHB) se uniría a un receptor α_2 adrenérgico o muscarínicos M_2 - M_3 , con efectos opuestos según la dosis de OHB. De esta manera se transmitiría la señal a la proteína G acoplada; en el citosol esta señal comunicaría con adenilciclase o canales de potasio (K^+) que retransmitirían convirtiendo ATP y AMPc (segundo mensajero) para generar la respuesta celular al estímulo. Aquí podría explicarse la bradicardia con OHB (recep. subtipo M_2) y la inducción de la secreción neuroglandular por receptores muscarínicos: M_1 en el encéfalo; M_2 en corazón, músculo liso, endotelio, epitelio glandular; M_3 en músculo liso, endotelio, epitelio glandular; M_4 páncreas y pulmón. Como se mencionó anteriormente la adenilato ciclase tendría afinidad por catecolaminas, esto permitiría inferir que los efectos de la OHB y la secreción de CT y PTH se asocia con la activación de la enzima o la adición de AMPc a las células, permitiendo al mismo tiempo coligar estos datos científicos publicados con los resultados obtenidos en el trabajo de tesis.

8.3 OHB y hormonas reguladoras del metabolismo mineral.

Las células mesenquimales de la médula ósea, tejido adiposo, periostio o sangre periférica son fuente de fibroblastos, neuronas, osteoblastos, sarcómeros, hepatocitos y células endoteliales. Las células progenitoras no hematopoyéticas promueven progenie de osteoblastos, células de revestimiento, condroblastos, osteocitos y adipocitos. Los precursores hematopoyéticos (médula ósea hematopoyética) de las células madre mesenquimáticas dan origen a monocitos, eritrocitos, plaquetas (megacariocitos) y la progenie osteoclástica.

Thom (2011) encontró que la OHB moviliza células madre de la médula ósea. La subpoblación de células progenitoras hematopoyéticas con el marcador CD34, aumentaría en determinaciones séricas luego de una sesión de 2 ATA, sin modificación del recuento de leucocitos. Existiría una relación entre aumento de expresión de NO sintetasa endotelial y la promoción de células progenitoras hematopoyéticas. La OHB afectaría el calcio sérico, reduciendo sus valores, por liberación de CT, que sería hipocalcemiante. Cuando la calcemia baja, los niveles de CT serían menores, al aumentar la calcemia se incrementaría la liberación de

calcitonina. El fosfato se mantiene en niveles séricos normales por absorción intestinal, reabsorción tubular renal, intercambio intra-extracelular y remodelamiento óseo. La concentración plasmática suele ser estable. El riñón es el principal regulador del fosfato (80 % filtrado se reabsorbe). La excreción renal suele ser equivalente al aporte de la dieta. **(Potts, 1998)** Cuando el calcio sérico baja se activa síntesis de calcitriol para restablecer valores normales, incrementando la absorción intestinal de calcio y su reabsorción renal para conservar la estructura mineral ósea. G 1 y G 2 OHB en sus resultados de calciuria confirman una inducción de la síntesis de calcitriol, G 2 logró conservar niveles basales y G 2 redujo marcadamente la calciuria. En cambio G 3 Control provocó un aumento mayor a G 1, G 2 y Basal. Las determinaciones de 25OHD y PTH se utilizaron como marcadores séricos de aumento o pérdida de estructura ósea. Los niveles de 1-alfa,25-dihidroxicolecalciferol (Calcitriol), la forma activa de la vitamina D tendrían una relación inversamente proporcional a los niveles nutricionales de vitamina D (25OHD). Incrementos de los niveles de Calcitriol, reducirían en la misma proporción los niveles de su precursor 25OHD (25 hidroxivitaminaD), reacción catalizada por la enzima α -hidroxilasa, y activada fisiológicamente por la PTH. **(Lopez Tricas, 2011)** Cerca del día 40 PosQx luego 10 días de terminados los tratamientos, G 1 registró un aumento significativo de los valores séricos de 25OHD (G 1: 54 ng/ml). Su promedio resultó ser el más alto (G 1/x: 40,69 ng/ml) en relación a Basal (/x: 39,59 ng/ml). Cabe aclarar que el día 30 PosQx alcanzó valores basales. Esto habría influido en los resultados de calciuria 24 h y fosfaturia 24 h. Calciuria G 1 (/x: 0,4 mg/l) \equiv Basal (/x: 0,4 mg/l); fosfaturia G 1 (día 15 PosQx: /x: 0,44 mg/l) < Basal (día 15 PosQx: /x: 0,20 mg/l). G 2 (36,88 ng/ml) presentó un comportamiento opuesto, con un nivel promedio inferior a Basal. Existió un patrón opuesto con la síntesis de calcitriol. Se registró un efecto positivo en la conservación de calcio (y hueso), datos corroborados por resultados de calciuria 24 h (G 2 día 15 PosQx /x: 0,2 mg/l) y fosfaturia 24 h (G 2 día 15 PosQx: /x: 0,11 mg/l). Datos \neq G 3 Control, que habría inhibido la síntesis de calcitriol, por el bajo control de la pérdida urinaria de calcio (día 15 PosQx /x: 1,8 mg/l/24h) y fosfato (día 15 PosQx /x: 1,14 mg/l/24h). Las variaciones en calcemia y fosfatemia del estudio se compararon con los resultados de 25OHD y PTH, para observar cómo se vieron afectadas por la OHB.

La relación PTH y 25OHD permitió interpretar la regulación de la calcemia y el metabolismo fosfocálcico. G 1 misma tendencia de las curvas PTH-25OHD hasta el día 30 PosQx, a los 10 días de terminados los tratamientos la respuesta se invirtió, tendencia opuesta, incremento de 25OHD y baja de PTH. G 2 registró patrón opuesto de curvas PTH-25OHD hasta el día 40 PosQx. divergencia marcada, curva PTH alta acompañada de curva baja de 25OHD y viceversa. G 3 Control \neq G 1 y G 2. El promedio de PTH comparado a Basal (/x: 39,73 pg/ml) no se incrementó en G 1 y G 2 (G 1 /x: 40,19 pg/ml; G 2 /x: 40,31 pg/ml; G 3 /x: 40,65 pg/ml). Esto sería positivo y estaría relacionado con la conservación de calcio, fosfato y estructura mineral. Su aumento implicaría pérdida de hueso. La PTH es responsable de la regulación de la concentración extracelular de Calcio, se libera en caso de hipocalcemia e hipomagnesemia. **(Silbernagl & Lang, 2010)** La curva de las determinaciones de Calcemia-tiempo describió un incremento ca. 20 % en G 2

PreQx (18 mg/dl) comparada a Basal (/x:15,51 mg/dl), luego bajó el día 7 PosQx, ca. 20 % < Basal (nadir 12,35 mg/dl). Luego, G 2 OHB logró un valor /x más alto sostenido (< Basal) en las lecturas sucesivas desde el día 15 al 40 PosQx (/x: 14,01 mg/dl). G 1 OHB \approx G 2 (/x: 14,30 mg/dl < Basal). En síntesis, la calcemia se redujo con variaciones en tratamientos G 1 y G 2 (resultados PosQx < Basal). G 3 Control \neq G 1 y G 2 con /x calcemia > Basal. Situación no registrada en Grupos OHB (valores < 15,51 mg/dl en todas las muestras). El dosaje de Calcemia en la experiencia preliminar piloto bajó ~ 10 % sin aplicación de OHB (/x: 13,96 mg/dl), esta situación sería la de una lesión ósea en proceso de cicatrización. Aquí la interpretación posible sería que G 3 Control prequirúrgico y postquirúrgico (consolidación ósea sin OHB) cuantificó /x > Basal, en cambio los Grupos OHB G 1 y G 2 sostuvieron resultados debajo de Basal, que indicarían mejor manejo y conservación de la estructura ósea. El descenso de la calcemia en las diferentes fases de la terapéutica significaría mayor captación de calcio. Formación ósea dominando el remodelado.

En la prueba piloto la fosfatemia bajó ca. 20 % (/x: 2,92 mg/dl) comparado a Basal como consecuencia de las lesiones óseas (consolidación ósea sin OHB). Posteriormente en el trabajo de laboratorio formal la curva de fosfatemia en los Grupos OHB no aumentó desde Basal (/x: 3,85 mg/dl). Las mismas lesiones y OHB mantuvieron la fosfatemia en un nivel regular, constante, en valores /x basales desde el día 7 al 30 PosQx (G 1/x: 4,03 mg/dl-G 2 /x: 3,94 mg/dl). Como dato de especial interés, el día ca. 40 PosQx los Grupos OHB redujeron fosfatemia (G 1: 2,76 mg/dl -G 2: 2,18 mg/dl), valores G 1 y G 2 < Basal, e incluso G 1 y G 2 < Prueba Piloto. Resultado \approx G 3 Control (G 3: 2,66 mg/dl). La ingesta no habría interferido en los resultados. Esta baja en fosfatemia si bien es relevante para conservar hueso puede provocar un descenso del ácido 2,3-bifosfoglicérico (BPG) en eritrocitos, provocando una menor cesión de O₂ en los tejidos. (**Nelson & Cox, 2005**) No se ha presentado el caso de un descenso patológico de la fosfatemia como en la hipofosfatemia crónica, donde sobreviene osteopenia. Al contrario, los tratamientos con OHB G 1 y G 2 tendrían mejor regulación y retención de fosfato que G 3 Control, en sintonía con el concepto de conservación o mejora de la densidad mineral ósea.

Las determinaciones de magneemia (Mg) en G 2 (/x: 1,95 mg/dl) no mostraron variaciones promedio respecto a Basal. G 2 \approx Control (/x: 1,99 mg/dl). En cambio G 1 alcanzó un promedio más alto (/x: 2,08 mg/dl) comparado a Basal. Sin embargo el promedio no reflejó dos picos de la curva de fosfatemia-tiempo en G 1 (día 7 PosQx: 2,2 mg/dl; día 30 PosQx cenit: 2,4 mg/dl, ~20 % > Basal). El incremento de Mg en G 1 podría reflejar hiperactividad suprarrenal, algún tipo de alteración renal o incremento de la pérdida de líquidos corporales.

La medición de resorción ósea con determinación urinaria de calcio carece de especificidad, depende de diversos factores como ingesta cálcica, absorción intestinal y filtración renal. Si bien se hizo su dosaje durante el estudio, fue considerado un dato complementario. La Calciuria Basal (0,44 mg/dl) se incrementó en G 3 Control (1,79 mg/dl). G 1 (0,55 mg/dl) poco más alto que Basal. G 2 (0,19 mg/dl) obtuvo un nivel más bajo que Basal. De aquí se podría inferir que conservó más Calcio.

La Fosfaturia habría presentado misma tendencia o evolución que la calciuria en G 1 y G 2. Basal (0,22 mg/l/24h) < G 3 Control (1,14 mg/l/24h); G 1 (0,44 mg/l/24h) > Basal ; G 2 (0,11 mg/l/24h) < Basal. De aquí se podría inferir que conservó más fosfato (PO₄). G1 y G 2 habrían conservado más estructura ósea. En cambio G 3 Control incrementó la pérdida urinaria de Calcio y PO₄. Existió un aumento de la calcemia en G 2 PreQx, normalizada posteriormente. Luego en el PosQx G 2 < Basal, no provocó hipercalcemia. En cambio G 3 Control produjo un efecto inverso. G 1 y G 2 redujeron calcemia y mantuvieron nivel regular de fosfatemia entre el día 7 y 30 PosQx, controlando mejor la calciuria y fosfaturia en relación a G 3 Control. Por este motivo habrían sido tratamientos favorables para inducir osteogénesis. **(Dominguez Lopez et al., 2013)** Las notables diferencias en valores de calciuria y fosfaturia de los tratamientos permitieron entender detalles ocurridos en la clínica. G 2 resultó ser el tratamiento que mejor reguló la calciuria, por ende el metabolismo fosfocálcico.

8.4 OHB e inducción de la formación ósea en lesión perforante de tibia y fracturaria de peroné.

El efecto de aumento en la formación ósea de OHB podría estar relacionado con un aumento de la actividad osteoinductora de la proteína morfogenética ósea humana (BMP-2), esto fue documentado por Okubo con métodos radiográficos, bioquímicos e histológicos, observó la formación de hueso nuevo en ratas. **(Okubo et al., 2001)** Las proteínas morfogenéticas óseas (BMP-2 y BMP-7) realizan la inducción de la formación del hueso nuevo. Las BMP pertenecen a la familia de proteínas del factor de crecimiento transformante-beta (TGF-β), modulan la diferenciación de las células mesenquimales pluripotentes. La molécula TGF-β es producida por plaquetas, células endoteliales, linfocitos y macrófagos. En ese proceso de diferenciación, dichas células constituyen lugares diana de las BMP en tejidos blandos, tales como músculo, periostio y tejido blando subcutáneo, así como en las células madre de la médula ósea. El efecto sobre la resorción de OHB en los osteoclastos debería ser buscado por algún mecanismo análogo a la acción de calcitonina o a la inhibición del sistema RANKL/RANK. En los resultados se observó que existe un leve incremento de la actividad osteoclástica (resorción), con predominio de la formación, acompañado de un aumento en FAO sérica. Una posible acción de OHB que explicaría el efecto sobre la resorción ósea sería la alteración de la actividad absorptiva de los osteoclastos, afectando el equilibrio osmótico en intercambio de agua e iones. **(Rowe & Asuman, 1980)**. Otra alternativa podría ser una intervención/inhibición en el sistema RANKL/RANK, mecanismo participa en la formación, función y supervivencia de los osteoclastos. **(Kostenuik et al., 2009)**

Para evaluar de manera dinámica la formación ósea en Tibia con Grupos OHB G 1 y G 2 (en menor tiempo que G 3 Control, mejores propiedades cuantitativas y cualitativas estructurales) se contó con datos de histomorfometría ósea que permitieron definir la función celular ósea “in vivo” (STDM; STSM; VM). Desde el día 15 al 25 PosQx el parámetro histomorfométrico STDM (hueso maduro) presentó mejores resultados en G 2 que en G 3 Control. G2 consiguió mayor porcentaje de hueso laminar en la lesión en tibia

luego de 4 semanas. Tratamiento OHB más efectivo que G 1. G 2 habría logrado mayor avidez del hueso para mineralizar el osteoide, esto fue observado por ejemplo en la notable reducción en la calciuria respecto a G 3 Control. La inducción de la formación ósea podría atribuirse a la inhibición de la producción de heparina, proteasas, prostaglandinas y citoquinas como la interleuquina 6. Todas sustancias relacionadas con el endotelio, la vía respiratoria y el sistema inmunitario. Un estudio relacionó la mastocitosis (células inmunes hematopoyéticas de la médula ósea) con mayor formación ósea por histomorfometría y marcadores de formación séricos. **(Diehl et al., 2016)** La inhibición de sustancias como prostaglandinas por OHB habría intervenido positivamente en la consolidación ósea. Así se podría haber inducido la formación de hueso. Las prostaglandinas y eicosanoides, derivados de todas las células del organismo salvo los eritrocitos, son mediadores celulares que actúan como hormonas autocrinas y paracrinas, son vasodilatadoras, antiagregantes plaquetarias, regulan la temperatura corporal y reducen la presión arterial. Las citoquinas de linfocitos, macrófagos y endotelio inducen proliferación y diferenciación celular, modulan la secreción de inmunoglobulinas (anticuerpos). Tienen funciones autocrinas, paracrinas y endócrinas. Los mastocitos sintetizan y almacenan histamina, serotonina, dopamina, citosinas (FNT), heparina y condroitinsulfato. Todos neurotransmisores o mediadores químicos que enlazarían, comunicarían el medio interno: SNA, Sistema Endócrino y el Sistema Inmune. Los mastocitos están implicados en la comunicación intercelular de la curación de heridas, alergia y artritis, también en la defensa contra patógenos: bacterias, parásitos y venenos. Se encuentran en cantidades importantes en el epitelio de las vías aéreas. El grupo G 2 OHB incrementó el resultado de toda la serie leucocitaria comparado a Basal. G 1 OHB acompañó esta tendencia en relación a Basal. Los eosinófilos, monocitos y neutrófilos aumentaron sus valores en G 1 y G 2 según las lecturas realizadas. Son células que actúan en el desecho de tejido necrótico, respuesta inmune y cicatrización. De manera opuesta, el porcentaje de Linfocitos en Grupos OHB G 1 y G 2 bajó ca. 50 % desde Basal. Un ejemplo que explicaría el resultado sería que los antibióticos utilizados podrían haber reducido su concentración, otra opción sería una alteración de la función en la médula ósea o una acción inmunomoduladora o depresora de OHB (explicada más adelante). Existe evidencia que OHB en astrogliosis y microgliosis suprime citoquinas proinflamatorias e incrementa citoquinas antiinflamatorias. En el mismo trabajo se demostró que OHB suprime la inflamación en el SNC y en el sistema nervioso periférico. Otro trabajo dilucidó el rol de la interleuquina 10 (IL-10) en la neuroprotección de una lesión traumática cerebral. Este efecto se observó en un modelo animal de ratones con 1 hora de OHB O₂ 100 %, 2 ATA. Registró reducción de expresión de IL-1, IL-6 y proteinasa MMP9. **(Chen et al., 2014)** G 1 y G 2 alcanzaron un resultado inferior (< 50 %) de STSM (hueso sin mineralización completa) que G 3 Control. G 2 (/x: 1,666 μ/día) fue más rápido que G 1 y G 3 Control en el parámetro histomorfométrico velocidad de mineralización (VM) hasta 15-25 días PosQx, G 2 tuvo la ventaja de haber logrado un pico mayor el día 15 PosQx, efecto más rápido comparado a G 3 Control. Según los resultados existió mismo patrón de evolución (día 1 al 45 PosQx) en los resultados de STDm y VM.

El tratamiento G 2 Preoperatorio aportó el mejor resultado para una lesión perforante bicortical en un hueso diafisario como la tibia, si se considera su efecto positivo en menor tiempo o (> hueso laminar). G 2 sería el tratamiento de primera elección durante los primeros 20-25 días PosQx.

En la lesión tibial G 3 Control (0,86 %) tuvo la lectura histomorfométrica más alta de Superficie Osteoclástica Melsen (parámetro de resorción). G 2 (0,41 %) ~50 % < G 3. La diferencia no fue tan definida en Superficie Osteoclástica Malluche (G 3: 1,53; G 2: 1,43). Un estudio de **Tanaka & Morimoto (1995)** demostró que los linfocitos T se unen a osteoblastos por receptores de membrana de superficie como los de ICAM1, integrina 1B2 (LFA-1), VCAM-1 integrina 4B1 (VLA-4) y CD2 para LFA-3. Estos complejos estimulan señales de activación que facilitan la producción de citoquinas proinflamatorias para la remodelación ósea. Los osteoclastos (OC) derivan de células hematopoyéticas, línea monocito-macrófago, también poseen precursores en sangre circulante. (**Riancho & Delgado-Calle, 2011**) Como ya se ha mencionado el porcentaje promedio de monocitos se incrementó en los Grupos OHB G 1 y G 2. La mayor parte de los precursores indiferenciados se encuentran en la médula ósea, pero también hay precursores “monocitoides” circulantes en la sangre periférica. Los osteoblastos (OB) son de origen mesenquimal, las células madre mesenquimales pueden diferenciarse a OB, fibroblastos, condroblastos, adipocitos. **Modder & Khosla (2008)** consideran que los pericitos que rodean los vasos de la médula ósea tendrían esa capacidad de diferenciación pluripotencial. Los OB “dirigen” la osteoclastogénesis por medio de diferentes procesos. Existe un acoplamiento OB-OC que regula la función sobre el hueso. Mecanismos humorales mediadores del acoplamiento OB-OC inducen osteoclastogénesis: óxido nítrico, TGF- β , prostaglandinas o RANKL (familia TNF). Este acoplamiento para guiar la función osteoclástica depende de sustancias sintetizadas por los OB, por ejemplo el factor estimulante de las colonias de monocito-macrófagos (M-CSF o CSF-1). (**Dallas & Bonewald, 2010**)

En modelos experimentales murinos se ha demostrado que la falta de M-CSF impide la formación de OC y conduce a la osteopetrosis. Por otro lado el RANKL es producido por OB, células inmunitarias y endoteliales. Modelos murinos knock out para TRAF6 han mostrado que el bloqueo de la expresión de este gen desarrolla osteopetrosis. La vía opuesta sería por inhibición de osteoclastogénesis, por medio de la síntesis osteoblástica de osteoprotegerina. (**Raggatt & Partridge, 2010**) La expresión de RANKL y osteoclastogénesis depende de niveles de PTH y 1,25-dihidroxivitamina D o algunas citosinas como IL-6. (**O'Brien, 2010**) En la tesis esto sintonizaría con los resultados histomorfométricos y radiológicos de G 2 donde hubo predominio de formación ósea en Tibia, si bien este grupo OHB presentó un aumento de la Superficie Osteoclástica registró una mayor proporción de Superficie Osteoblástica (G 2: 8,95 %; G 1: 5,35 %; G 3: 2,38 %), Volumen Osteoide (G 2: 2,17 %; G 1: 0,02 %; G 3 Control: 0,54 %) y Velocidad de Mineralización.

La determinación del Recuento Absoluto de Linfocitos midió una baja importante desde Basal en Grupos OHB. G 1 (3004,57 mm³) y G 2 (2717,75 mm³); G 3 Control presentó un descenso más discreto (4663,25

mm³). El porcentaje de Linfocitos Basal (53 %), bajó en G 1 (28,14 %) y G 2 (23 %), el descenso de G 3 Control (34,75 %) fue menor. Estos resultados podrían ligarse al estudio de Tanaka. La baja observada en el laboratorio de linfocitos podría deberse a la adhesión de linfocitos T a los osteoblastos, y algún grado de intervención en la síntesis de citoquinas que habría provocado una baja en los niveles séricos de las células de defensa. Cabe mencionar que PCR dio negativo en todas las etapas de la experiencia, por ende no ha existido compromiso sistémico inmune de los conejos participantes. **Mucci (2014)** demostró la participación de los linfocitos T en el proceso de diferenciación y activación de los OC en el daño óseo de la enfermedad de Gaucher en dos modelos in vitro, humano y murino. Allí se observó que la citoquina TNF-a sería uno de los principales mediadores involucrados en el aumento del proceso de resorción. El descenso de linfocitos circulantes podría haber causado una baja de la resorción ósea. Según parámetros de resorción histomorfométricos G 1 obtuvo el valor más bajo de Superficie Osteoclástica Melsen y Malluche (0 %). Esto significaría un resultado positivo en tibia para tratamiento OHB G 1, un comportamiento asociado a un fármaco anticatabólico, una reducción del proceso de resorción. **(Schurman et al., 2013)** Los datos histomorfométricos estructurales (tamaño y cantidad de hueso) permitieron estimar el efecto de los tratamientos G 1 y G 2. **(Velásquez, 2009)** G 1 en Tibia igual que G 2 alcanzó niveles de Superficie Osteoblástica superiores a G 3 Control. En cambio G 3 tuvo predominio de Superficie Osteoclástica, ca. 50 % > G2. G 2 presentó aumento de Superficie Condroides (G 2: 14,8 %; G 1: 0 %; G 3 Control: 0 %). El tejido condroide se asocia a pseudoartrosis, movimiento entre los trazos fracturarios o falta de estabilidad en la reducción durante la consolidación ósea postrauma. Otra interpretación sería que el tratamiento podría estimular la formación de condroide. Este tejido proviene del pericondrio, células mesenquimales indiferenciadas que nutren el cartílago. Por otro lado el periostio posee dos capas celulares: una externa de fibroblastos y otra interna indiferenciada osteogénica que en una lesión por trauma podría diferenciar a osteoblastos y condroblastos. **(McKibbin, 1978)** Por algún mecanismo, estos factores podrían haber intervenido en los resultados. Se midió misma tendencia y desarrollo de los datos entre los parámetros Volumen Osteoide y Superficie Condroides en tratamiento G 2 OHB. Luego de 15 días de tratamiento PreQx el Volumen Trabecular Basal (22,79 %) describió un descenso con el tratamiento G 2 (20,03 %). En el PosQx G 1 (/x: 26,7 %) logró mayor Volumen Trabecular promedio que G 2 y G 3 Control (/x: 19,3 %). La curva Volumen Óseo (VO)-Tiempo postrauma definió que para el día 15 PosQx G 1 (46,22 %) y G 2 (66,6 %) tuvieron VO inferior a G 3 Control (89,3 %). Al término de los tratamientos (día 30 PosQx) y hasta el día 45 PosQx, VO se incrementó marcadamente en los Grupos OHB (G 2: 96,55 % y G 1: 80,54 %). Esto podría deberse a un “efecto residual o inercial” de la terapéutica. Un efecto no bien definido en la bibliografía consultada. G 2 demostró mejor respuesta en relación a la formación de VO postrauma, luego seguiría el tratamiento G 1. Los dos grupos experimentales OHB tuvieron resultados más positivos que Control (/x: G 2: 68,82 %-/x: G 1: 56,88 %-/x: G 3: 57,78 %). Se podría inferir que G 1 y G 2 habrían logrado antes que G 3 Control los aspectos positivos de la consolidación ósea: calidad, geometría,

microarquitectura y ultraestructura. (**Mellibovsky Saidler & Díez Pérez, 2006**) Según estos resultados, para un tratamiento OHB que procure mejorar la consolidación ósea en tibia podría aplicarse una terapéutica única de 10 o 15 sesiones prequirúrgicas y luego de la cirugía 20 o 30 sesiones postquirúrgicas. Por otro lado habría quedado definida la utilidad de OHB para el tratamiento complementario de enfermedades que afectan el metabolismo mineral óseo. Una opción terapéutica alternativa, para analizar metodológicamente, sería utilizar una técnica combinada o simultánea de OHB y Control (AHB), “1+1” solo por 10 días en el PreQx y 30 días de solo OHB PosQx. Habría que buscar el efecto obtenido a los 20 a 25 días con AHB y el efecto de OHB luego de finalizada terapéutica. Por 15 días adicionales habría un efecto positivo sobre Volumen Óseo que complementarían a Control. El protocolo G 2 Preoperatorio (10/30), se diseñó con la intención de aportar evidencia a la especialidad médica hiperbárica tomando como referencia el precedente de **Marx (1999)**, su experiencia publicada en tratamientos OHB de osteonecrosis. Su esquema terapéutico se basó en un protocolo Preoperatorio 20/10, 20 sesiones de OHB prequirúrgicas, cirugía, y posteriormente otras 10 sesiones de OHB. Demostró el aumento de la celularidad respecto a Basal y la neovascularización con reducción de la fibrosis en el tejido.

Bouachour et al. (1996) llevó a cabo un estudio clínico controlado aleatorio (ECCA) de 36 pacientes con injurias traumáticas, dividido en dos grupos de 18 individuos cada uno (esquema terapéutico comparable a G 1 Postoperatorio) Grupo Control sin OHB y Grupo Experimental con OHB. Aplicó OHB en cámara multiplaza, 90 min por sesión, 2 sesiones 2,5 ATA/día, 6 días (6x1). Demostró el beneficio de usar OHB para las heridas con síndrome por aplastamiento en los pacientes que tenían las fracturas grado III-B y III-C de Gustilo. Reportó la curación completa en 17 de 18 pacientes con OHB, en el Grupo Control la curación completa fue en 10 de 18 pacientes. El tiempo para lograr la curación de los pacientes fue 50 días en el grupo OHB y 55 días en el grupo control. El resultado observado positivo fue superior en Grupos OHB, pero el tiempo requerido para la curación fue similar en ambos grupos. El resultado logrado en Tibia coincide con Bouachour, en el sentido de haber alcanzado mejores mediciones en los Grupos OHB 1 y 2, con datos histomorfométricos más favorables, la diferencia estaría en que el efecto positivo de OHB se habría alcanzado con G 1 y G 2 en menor tiempo en relación a G 3 Control. Las imágenes radiográficas no aportaron datos de certeza diagnóstica pero se realizaron de todas formas para seguir el control de los tratamientos OHB junto a la observación clínica. G 2 tuvo la respuesta más favorable de Callo Periendóstico.

La resolución de la lesión perforante bicortical en tibia se alcanzó en menor tiempo y con mejores propiedades estructurales. Se observó un patrón análogo de resultados entre la variable radiográfica Callo Periendóstico y los parámetros histomorfométricos Volumen Trabecular y Velocidad de Mineralización. **Ueng et al. (1998)** en un ensayo experimental sobre elongación de tibia en conejos observó que el grupo tratado con OHB inmediata tuvo una tendencia a la formación más rápida del callo, con mayor densidad mineral ósea que en el grupo que no recibió OHB. El grupo que recibió OHB mediata y elongación, no tuvo

diferencia con el grupo control. La zona central del callo elongado se compone de células fibroblasto-like, células mesenquimales osteoprogenitoras derivadas del periostio, endostio y células de la médula ósea con capilares y tejido condroide. Según su estudio, la OHB aumentaría la proliferación de las células mesenquimales progenitoras óseas que tendrían un efecto positivo sobre la formación del callo óseo. Los resultados radiográficos de G 2, han sido más positivos que G 1 en la formación del callo de tibia.

En Peroné los parámetros dinámicos de formación histomorfométricos indicaron para el día 15 PosQx que G 1 (3,22 %) presentó una respuesta STDM menor que G 3 Control (8,06 %), propiedades estructurales de inferior calidad. Secundariamente, el mismo día el parámetro VM (relación ritmo de mineralización y estructura ósea) en G 1 (1,26 μ /día) fue superior a G 3 Control (1,10 μ /día). Desde esa fecha hasta el día 45 PosQx G 1 bajó su respuesta a cero (0 μ /día). G 3 Control tuvo evolución inversa, su curva continuó en ascenso hasta finalizar la experiencia (2,18 μ /día). El promedio de VM fue mayor en G 3 Control (1,92 μ /día) que en grupos OHB G 1 (0,42 μ /día) y G 2 (0,43 μ /día). La STDM en G 1 se apreció de manera notable desde el día 30 (0 %) al 45 PosQx (36,26 %) valores muy superiores a G 3 Control (6,21 %). G 2 logró su cenit el día 30 PosQx (8,82 %), posteriormente terminó en cero (0 %) el día 45 PosQx (STDM G 1/x: 13,16 %; G 2/x: 4,41 %; G3/x: 6,26 %). Los datos obtenidos por G 1 podrían deberse a una respuesta positiva “rebote” luego de terminar el tratamiento OHB. Por acumulación o saturación de O₂ compartimental en la zona de la herida. Un efecto similar al del modelo de descompresión de N₂ en el “Algoritmo de Haldane”. (**Boycott, 1908**) En este caso el efecto se produjo luego de finalizar el suministro de oxígeno hiperbárico. Un estudio de laboratorio realizado sobre mandíbulas de conejos blancos japoneses de **Sawai et al. (1998)** realizaron histomorfometrías en injertos de hueso ilíaco autólogo con implantes de titanio. Seleccionaron 40 unidades experimentales, 20 tratadas con OHB experimentales, y 20 control, sin tratamiento OHB. El tratamiento OHB Postoperatorio siguió este esquema: 1 sesión de 60 min, 2,4 ATA/día, 20 días consecutivos. Las muestras de hueso para histomorfometría fueron tomadas los días 20, 30, 60, 90 y 120 PosQx, Cada corte óseo de 20 μ . Encontraron que el grupo OHB desde el día 30 al 120 PosQx tuvo mayor cantidad de contactos hueso-implante en el hueso injertado comparado al grupo no tratado con OHB. En cambio en la zona receptora no observaron diferencia significativa histomorfométrica entre grupos control y experimental. El resultado logrado en hueso injertado con los implantes coincidió con el observado en G 1 Postoperatorio, datos de STDM > a partir del día 30 PosQx. Sawai observó efecto positivo de OHB hasta 120 días PosQx. Los tratamientos OHB fueron coherentes en relación a la formación de hueso reticular, lograron menor STSM que Control (STSM G 1/x: 14,62 %; G 2/x: 9,07 %; G3/x: 17,63 %). En la lesión de Peroné el tratamiento G 2 también sería eficaz pero hasta el día 30 PosQx. En cambio, si se pudiera confirmar en una réplica, una constante en el efecto de G 1 a partir de la finalización de OHB, ese “rebote” o “crecimiento exponencial” de las propiedades estructurales óseas desde el día 30 al 45 PosQx haría de este tratamiento la terapéutica de primera elección por haber registrado VM superior a G 1 y G 3 hasta el día 15 PosQx, pero fundamentalmente obtuvo valores más altos de STDM que G 3 Control (G 1 ca.

50 % > G 3 Control). Según parámetros histomorfométricos estáticos, el Volumen Óseo (VO) trabecular después de 15 días de finalizados los tratamientos desarrolló una curva ascendente en los Grupos OHB, superior a G 3 Control (G 1: 59,2 %; G 2: 56,42 %; G3: 48,18 %). El promedio del parámetro VO (G 1/x: 55,61 %; G 2 /x: 53,39 %; G 3 /x: 62,04 %) no reflejó el incremento en los datos histomorfométricos de G 1 y G 2 el día 45 PosQx. El promedio Volumen Osteoide en G 1 y G 2 siguió el mismo patrón de resultados que VO (G 1 /x: 0,42 %; G 2 /x: 0,18 %; G 3 Control /x: 0,15 %). G 1 (/x: 8,39 %) y G 2 (/x: 8,41 %) obtuvieron un promedio menor que Control (/x: 12,11 %) de Superficie Osteoblástica.

G 2 tuvo menor Superficie Osteoclástica según parámetros de Melsen y Malluche (G 2 Melsen /x: 0,16 % - Malluche /x: 1,19 %). G 1 presentó una respuesta superior a G 2, (G 1 Melsen /x: 7,25 % - Malluche /x: 7,45 %; G 3 Control Melsen /x: 5,63 % - Malluche /x: 2,84 %). G 1 habría acelerado la remodelación. La aposición perióstica o subperióstica en la consolidación ósea podría haber afectado este resultado, por disposición más periférica del tejido cortical. Un mecanismo que tal vez implique mayor osteoclastogénesis. Situación descrita en un trabajo de investigación clínica de Claus-Hermberg y colaboradores. (**Claus-Hermberg et al., 2010**)

En las imágenes radiográficas de Peroné la variable “callo perióstico” en G 1 y G 2 < Control. La lectura radiográfica del tratamiento OHB G 1 Postoperatorio en Peroné fue en todas las etapas inferior a G 2 y G 3 Control hasta el día 28 PosQx. En cambio el G 2 recuperó mejor luego de 21 días PosQx, llegando al día 28 PosQx con un valor más alto que Control.

Los marcadores séricos y urinarios de formación y resorción ósea determinaron la respuesta al tratamiento del trauma óseo y la respuesta fisiopatológica de las lesiones en huesos largos (tibia-peroné). **Nilsson (1989)** investigó la cicatrización ósea en un estudio experimental con un modelo animal en pequeños animales de laboratorio. Comparó los efectos de OHB en la consolidación de fracturas luego de osteotomía mandibular y la respuesta ósea de otra osteotomía en tibia de conejos. Dosó fosfatasa alcalina ósea como marcador sérico de formación, y halló que la OHB tuvo un efecto inductor reparativo, de formación de osteodentina en la pulpa dental, y reacción condroide en hueso. En el PreQx G 2 incrementó FAO (G 2: 62,83 UI/l; Basal: 44,11 UI/l), pero menos que G 3 Control (66,67 UI/l). En el PosQx G 1 (60,76 UI/l) y G 2 (60,25 UI/l) mantuvieron niveles de FAO superiores a Basal similares a G 3 Control (60,63 UI/l). Los resultados coinciden con la evidencia de que FAO participa en los primeros estadios de mineralización de la matriz ósea en la transición de fase, de callo blando a callo duro. La rápida fase inicial de mineralización, estaría relacionada con la actividad osteoblástica (mineralización primaria). La mineralización secundaria, es independiente, es una fase más lenta diferenciada de la actividad del osteoblasto que inició el proceso. (**Bhaskar, 1983**) Las determinaciones de Fosfatasa Alcalina (FAL) en G 1 y G 2 siguieron la mismo patrón de resultados que Osteocalcina (opuesto a FAO). El dosaje sérico de FAL observó una baja remarcable en los Grupos OHB (G 1: 30,07 UI/l; G 2: 18,14 UI/l; G 3 Control: 23,86 UI/l; Basal: 59,97 UI/l).

El fragmento Nterminal de Osteocalcina mide última etapa de mineralización y maduración de los cristales de hidroxapatita. G 1 produciría una respuesta de osteocalcina alta a partir del día 30 PosQx (12,60 ng/ml) > a G 2 (7,55 ng/ml) y G 3 Control (7,05 ng/ml). En la determinación del día 45 PosQx G 1 (10,10 ng/ml) y G 2 (9,30 ng/ml) mantuvieron un nivel alto. G 3 Control descendió a un valor más bajo que el medido PreQx (2,80 ng/ml). Osteocalcina demostró que existiría una respuesta positiva de la OHB, como efecto “inercial” luego de terminado el suministro de OHB. Esto fue observado de la misma manera en los resultados histomorfométricos. **Villarreal Brito et al. (2013)** encontró que una mayor expresión de osteocalcina puede asociarse a la inducción de fuerzas ortodóncicas de tensión en el ligamento periodontal. El incremento en la expresión de osteocalcina en la última etapa del estudio de tesis (30-40 días PosQx) comprobaría que la osteocalcina, efectivamente se relaciona con el proceso de finalización de mineralización de la matriz ósea o mineralización secundaria.

Los resultados de las determinaciones de telopéptidos carboxiterminales β CTX (liberados al fluido extracelular durante la resorción) no aportaron variaciones en G 1 (/x: 8,96 mg/dl) y G 2 (/x: 9,14 mg/dl) en relación a Basal (/x: 9,05 mg/dl) y G 3 Control (/x: 8,98 mg/dl). Estos resultados indicarían una correlación positiva con acción OHB anticatabólica en tratamiento G 1 y anabólica en G 2.

En orina se midió telopéptidos aminoterminales NTX (un marcador de resorción de alta especificidad). En los Grupos OHB (G 1: 76 nMECO/mM; G 2: 80 nMECO/mM; G 3 Control: 96 nMECO/mM) NTX alcanzó un aumento marcado respecto a Basal (57,17 nMECO/mM). G 1 y G 2 habrían producido una resorción menor a G 3 Control (< 15-20 %). Estos resultados de los marcadores de resorción se cotejaron con el Estudio FREEDOM (anticatabólico vs placebo), dosaron valores de CTX con un tratamiento anticatabólico por tres años. Sus resultados: al primer mes, reducción de resorción ósea de 86 %, luego de 3 años redujo 72 % la pérdida mineral ósea. (**Cummings et al., 2009**)

8.5 OHB y efectos en el remodelado óseo.

Para definir la categoría terapéutica de OHB en hueso se tomó como referencia la tabla de clasificación de fármacos aprobados en Argentina para la prevención de fracturas osteoporóticas, según los efectos sobre el remodelado óseo. Publicado en las Guías 2012 para el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de la osteoporosis (**Schurman et al., 2013**) Los resultados obtenidos permitieron avanzar hacia una aproximación para precisar la categoría farmacológica de la OHB en el tratamiento preventivo de fracturas y su efecto sobre el remodelamiento. El efecto de OHB sobre el remodelado trabecular óseo radicaría en la unidad de remodelado óseo (URO), su función es que el hueso reabsorbido sea reemplazado por igual cantidad de tejido duro. También es responsable de la mineralización homogénea y que el tiempo de actividad sea constante. Existirían dos opciones posibles para clasificar los tratamientos OHB de acuerdo a su efecto en el proceso de remodelado de hueso. Los enunciados siguientes se han basado en los resultados obtenidos en tibia. Clasificación:

a) fármaco anticatabólico, efecto reductor del remodelamiento.

b) fármaco anabólico óseo, efecto acelerador del remodelamiento, con saldo positivo a favor de la formación.

a) G 1 Postoperatorio: si se procurara un tratamiento de acción anticatabólica con OHB, que redujera la resorción de hueso, G 1 Postoperatorio, presentaría mayor aproximación a los efectos de Calcitonina. La administración de calcitonina se asocia con un aumento compensatorio de la secreción de PTH. Esto no anularía su efecto osteogénico. **(Lopez Tricas, 2011)** Desde el día 7 al 40 PosQx la calcemia en G 1 midió niveles más bajos (/x: 14,24 mg/dl), ~ 10 % < Basal. La curva de fosfatemia en el mismo grupo describió una evolución amesetada no demasiado diferente de Basal hasta el día 30 PosQx, posteriormente redujo su lectura (2,76 mg/dl). G 1 habría incrementado la curva de magnesemia, el día 7 PosQx: 2,20 mg/dl (~10 % > Basal) y el día 30 PosQx: 2,40 mg/dl (~20 % > Basal). G 1 incrementó calciuria (0,55 mg/l) comparado a Basal (0,4 mg/l); también tuvo un incremento leve de fosfaturia (Basal /x: 0,2 mg/l; G 1 0,3 mg/l). Las curvas de calciuria y fosfaturia siguieron evolución opuesta entre Grupos OHB G 1 y G 2. G 2 redujo calciuria y fosfaturia en el PosQx. La curva de PTH en G 1 ascendió desde el día 30 al 40 PosQx (/x: 44,25 UI/l) ~10 % > Basal (39,70 UI/l). El incremento de PTH en G 1 habría seguido el mismo comportamiento de aumento de los valores séricos de 25OHD. Para la misma fecha G 2 ≠ G 1. G 1 incrementó los niveles de 25OHD desde el día 30 al 40 PosQx (G 1 /x: 48,12 ng/ml > Basal /x: 39,59 ng/ml), una deducción inferida sería que habría reducido aproximadamente 20 % los valores de 1,25-dihidroxitamina D. **(Sarli et al., 2013)** La reducción de la remodelación con G 1 OHB se tradujo en concentraciones bajas FAL y Osteocalcina acompañado de aumento de FAO, datos que podrían ser asociados o compatibles a Calcitonina. G 1 describió un descenso más marcado que G 2 en los marcadores de resorción CTX y NTX.

b) G 2 Preoperatorio: según los resultados obtenidos se podría asociar a un fármaco anabólico sobre el hueso. Se han encontrado resultados compatibles con los efectos de Teriparatida. Teriparatida es un fármaco empleado en osteoporosis análogo de la hormona paratiroidea (PTH). Una droga osteoactiva anabólica pura, que estimula la función de osteoblastos y osteocitos, reduce su apoptosis y favorece la diferenciación de preosteoblastos a osteoblastos. Se utiliza en casos graves de osteoporosis donde se requiere una mejora rápida y contundente de la calidad mecánica del esqueleto. **(Sarli et al., 2013)** Su porción activa se encuentra en el fragmento constituido por los primeros aminoácidos 1-34 desde el extremo N-terminal de la PTH natural, se obtiene de la *Escherichia coli*. Favorece la formación de hueso por estímulo de osteoblastos. Aumenta la absorción intestinal de calcio, y reduce la eliminación de calcio renal, incrementa masa ósea y riesgo de fracturas vertebrales. El péptido interactúa con el receptor tipo 1 de la PTH. Este receptor es una proteína G (transductores de señales celulares). El receptor tipo 1 de PTH se localiza principalmente en los osteoblastos y en las células de los túbulos renales. Estudios de afinidad infieren la existencia de otro receptor para la PTH (tipo 2), con mayor afinidad por el extremo C-terminal de la PTH. El sistema RANKL/RANK incrementa osteoclastogénesis, Osteoprotegerina (OPG) es el antagonista fisiológico del

receptor RANK. Se ha demostrado en cultivos celulares que la PTH incrementa la síntesis del agonista (RANKL), con mayor osteoclastogénesis. Existe evidencia que en ratas macho, teriparatida aumentaría síntesis de OPG por los osteoblastos (OB) y también la síntesis de RANKL por OC. Teriparatida habría reducido el riesgo de fractura en un 65 %. **(Neer et al., 2001)**

Sarli et al. (2013) en un trabajo clínico retrospectivo evaluaron el tratamiento con Teriparatida en osteoporosis grave en tres grupos experimentales: G 1 (46 pacientes con administración de PTH 6 meses); G 2 (29 pacientes PTH 12 meses) y G 3 (20 pacientes PTH 18 meses). La DMO del cuello de fémur alcanzó un incremento significativo al final del tratamiento. La osteocalcina, CTX y FAO aumentaron sus niveles desde el 1º al 3º mes de tratamiento, regresaron a valores basales a los 18 meses. Las calcemias, fosfatemias y calciurias no se modificaron significativamente. Teriparatida, según este trabajo habría incrementado los niveles de calcitriol (1,25-dihidroxitamina D) aproximadamente 19 %, prácticamente en la misma proporción en que disminuyeron los niveles de su precursor 25OHD (25 hidroxivitaminaD), reacción catalizada por la enzima α -hidroxilasa, y activada fisiológicamente por la PTH. También aumentó la calcemia las primeras 24 h y redujo la fosfatemia, tuvo efecto hipocalciúrico. **(Lopez Tricas, 2011)** G 2 destacó por su marcado efecto hipocalciúrico (0,19 mg/l), incluso por debajo de Basal (0,39 mg/l). G 3 Control totalmente opuesto (1,79 mg/l) > Basal. G 1 y G 2 < G 3. G 1 (0,55 mg/l) > Basal (0,39 mg/l). Este fue un dato que marcaría la gran diferencia existente entre un tratamiento OHB PreQx-PosQx y otro con OHB sólo PosQx. En otras variables también se repitió dicha observación, diferencias entre G 1 y G 2 que sugirieron una farmacodinamia con efectos particulares y diferentes en cada caso.

La curva de calcemia-tiempo ha permitido observar que desde Basal (15,51 mg/dl), G 2 aumentó (18 mg/dl) en la primera muestra (día 2 PreQx) ni bien iniciado el tratamiento OHB PreQx, análogo al efecto descrito en teriparatida las primeras 24 h por **Sarli et al. (2013)**. G 3 Control desarrolló una curva similar a G 2 en el PreQx inmediato (día 2 PreQx: 18 mg/dl). Luego a partir del día 7 PreQx G 2 bajó su lectura (14,83 mg/dl). G1 registró calcemia cero mg/dl en la etapa prequirúrgica. G 3 Control \neq G 2 se mantuvo en un nivel regular (16,87 mg/dl).

La curva fosfatemia-tiempo en la primera muestra prequirúrgica (día 2 PreQx) de G 2 (3,93 mg/dl) mantuvo nivel Basal (/x: 3,91 mg/dl) \approx G 3 Control (3,97 mg/dl). En las determinaciones del día 7 PreQx G 2 incrementó ese nivel (4,18 mg/dl). No registró baja en fosfatemia (un efecto asociado a Teriparatide). Los Grupos experimentales OHB mostraron una baja de fosfatemia después de finalizados los tratamientos, entre el día 30 y 40 PosQx. Desde el día 30 al 40 PosQx la síntesis de PTH inducida por la terapéutica OHB G 1 y G 2 (G 1/x: 44,25 UI/l; G 2/x: 43,62 UI/l) > Basal (/x: 39,70 UI/l). Patrón de resultados opuesto a las determinaciones de fosfatemia.

El análisis de la curva 25OHD-tiempo aportó datos que asociarían a G 2 con los efectos de Teriparatida. G 2 redujo niveles de 25OHD en forma marcada, comparado a Basal (39,95 UI/l), desde el día 7 al 40 PosQx (secuencia G 2: 33,33 UI/l; 34,50 UI/l; 28 UI/l). Según lo anteriormente detallado, un alza de 19 % de 1,25-

dihidroxivitamina D habría tenido en Teriparatida (FORTEO), una baja equivalente de 25OHD. (Sarli et al., 2013) En los resultados se observó una baja en G 2 de ~ 20 % comparado a Basal (39,95 ng/ml).

La lesión por fractura de peroné no se tomó como referencia para las afirmaciones realizadas anteriormente, los resultados de Superficie Osteoclástica Melsen y Malluche fueron más bajos con G 2 y G 3 Control que en G 1. Esto habría indicado un comportamiento diferente de los tratamientos OHB de acuerdo a la naturaleza de la lesión ósea.

8.6 Acción antimicrobiana de OHB en trauma agudo de miembro posterior, miembro inferior y mandíbula.

El trabajo se desarrolló bajo un modelo de experimentación extrapolable que permitió integrar el estudio de la microbiota o microbioma de extremidades y facies (piel: superficie externa de la cara). Se postuló, tal vez implícitamente, que de producirse un trauma, la fuerza interviniente provendría de afuera hacia adentro, afectando la mandíbula y no a la inversa. Por este motivo el modelo desarrollado en la tesis sería válido para extrapolar lesiones en miembros posteriores de animales e inferiores de humanos con la misma microbiota en su superficie externa que en la facies, específicamente en la región mandibular. Las posibles infecciones derivadas de una injuria externa en cualquiera de estas regiones podría provocar el mismo tipo de entidad patológica interna o externa por progresión de microorganismos desde el exterior al interior de la zona afectada. La infección de la herida puede originarse por dos vías: la vía endógena (flora, piel, mucosa, sangre) o exógena (trauma, manipulación, instrumental contaminado, antisépticos mal usados). Los conceptos científicos aquí vertidos, derivan de la medición de variables observacionales de la clínica que complementaron los resultados específicos de la consolidación ósea. Se trata de variables que por su importancia condicionan la evolución positiva de la recuperación postquirúrgica.

Finalmente en los resultados no se demostró discrepancia entre Grupos OHB y G 3 Control. Ningún grupo presentó casos de infección anaerobia producto de las lesiones óseas o la cicatrización de tejidos blandos.

Se evaluó aspecto de tejidos blandos, presencia de infecciones anaerobias y riesgo de amputación. (Ince et al., 2008) Las variables observadas indicaron que en los Grupos OHB G 1 y G 2 hubo ausencia de isquemia, de infección bacteriana anaerobia local y ninguna indicación requerida de amputación por gangrena. G 3 \equiv G 1 y G 2. Si bien se obtuvieron resultados favorables con y sin OHB, se realizó una revisión bibliográfica que permitió enmarcar la observación y seguimiento clínico de los conejos californianos. Existe evidencia que con la OHB en el esquema terapéutico de los pacientes con traumas graves existe menor incidencia de complicaciones infecciosas por inhibición del desarrollo de microorganismos anaerobios tipo *Clostridium sp* o *Bacteroides sp*. (Buettner, 2007) El crecimiento de *Clostridium sp* y *Bacteroides sp* se inhibe en condiciones de O₂ hiperbárico. Las bacterias patógenas se clasifican según la PaO₂ en la cual se desarrollan. En el postrauma se debe prevenir fundamentalmente el shock séptico. Los anaerobios no pueden sobrevivir en atmósfera normóxica, porque carecen de sistemas antioxidantes. El hábitat de las bacterias anaerobias

está limitado a zonas del organismo donde la tensión de oxígeno es baja. Los *Streptococcus sp*, *Pneumococcus sp*, *Candida sp* y *Mycobacteria sp* crecen más lentamente en el ambiente enriquecido con O₂. Los microorganismos aerobios pueden beneficiarse en un espacio de mayor contenido de O₂, pero el tratamiento tiene lugar en el ambiente hiperbárico; cuando la PaO₂ es ≥ 1000 mmHg su crecimiento también se detiene por el aumento de la fagocitosis. **(Atroshchenko, 1984)**

(Boerema, 1960) fue el primero en postular el posible efecto terapéutico del oxígeno a altas concentraciones plasmáticas en las enfermedades causadas por gérmenes anaerobios. En 1960 trató al primer paciente con gangrena gaseosa en cámara hiperbárica. El O₂, por su capacidad de formar las especies reactivas de oxígeno (ERO), es esencialmente necesario para la resistencia a la infección. Los leucocitos poseen mecanismos de inhibición de patógenos diferenciados:

a) mecanismos dependientes de O₂.

b) mecanismos independientes de O₂.

a) Los glóbulos blancos pierden la capacidad fagocítica en ausencia de O₂, el proceso es O₂ dependiente, en condiciones normales se forman ERO que atacan a las bacterias. Esta “necesidad” de oxígeno para “activar” funciones de las células inmunes también podría explicar la síntesis de mediadores celulares que intervendrían en la remodelación ósea. Los fibroblastos, las células endoteliales, neutrófilos y macrófagos pueden generar estos oxidantes. Los polimorfonucleares (PMN) tendrían esta acción, rodeando a las bacterias y exponiéndolas al poder oxidativo de las ERO con alta presión parcial de oxígeno.

El efecto bactericida de los PMN y macrófagos se realiza por mecanismos de destrucción ERO y especies reactivas del nitrógeno (ERN).

b) un mecanismo intracelular donde moléculas en los lisosomas de PMN entran en contacto con el microorganismo fagocitado: proteínas catiónicas (defensinas, cathepsina G y azurozidina); lisozima y lactoferrina. **(Iáñez Pareja, 1999)** Las defensinas (en macrófagos de conejo y PMN neutrófilos en humanos), tienen una estructura que les permite insertarse en las membranas microbianas para formar canales iónicos desestabilizantes regulados por voltaje. Estos péptidos antibióticos actúan como inhibidores contra un amplio espectro de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, hongos y virus.

El oxígeno hiperbárico es bactericida para los microorganismos aerobios y anaerobios facultativos solamente a exposiciones (presión y duración) mucho mayores que las que pueden utilizarse en clínica (3 ATA durante 24 h). La hiperoxia y la OHB aumentan la actividad de diferentes agentes antimicrobianos: antimetabolitos, inhibidores de la pared celular, inhibidores de la síntesis de proteínas y agentes de óxido-reducción. La cefalosporina de tercera generación y los aminoglucósidos de amplio espectro para gram negativos han demostrado un aumento de la actividad in vitro cuando la PaO₂ se incrementa.

La penicilina y el OHB producen un efecto sinérgico en reducir la cantidad de microbios/g de tejido in vivo.

La sulfanilamida y trimetoprima poseen un efecto sinérgico con el O₂ hiperbárico. El efecto inhibitorio bacteriano del oxígeno hiperbárico se debe a su Pa y no a la presión atmosférica. Se supone que una parte

del efecto sinérgico se debe a la activación de fagocitosis o activación de los agentes antimicrobianos, y otra parte al aumento de la sensibilidad de los microorganismos a los antibióticos. El aumento de la potencia de los antibióticos aminoglucósidos en combinación con la oxigenoterapia hiperbárica, se explicaría por la velocidad del transporte de los aminoglucósidos a través de la pared bacteriana, ATP-dependiente, producido por el metabolismo aeróbico. La OHB prolonga el efecto de los aminoglucósidos de inhibición de la síntesis de proteínas y activa el estrés oxidativo que afecta al patógeno por incremento (Δ) de la PaO₂. **(Subbotina, 2006)** El descenso (∇) en los niveles de ATP en sangre por método enzimático de Adam, **(Bergmeyer, 1983)** puede considerarse evidencia de sinergismo entre OHB y quimioterapia. **(Wilkinson et al., 1987)**

En el proceso de cicatrización de las heridas, a los pocos minutos de producida la lesión (fase inflamatoria) arriban los neutrófilos, a los 2 o 3 días los macrófagos, existiría un efecto antiinflamatorio con OHB, posiblemente por inhibición de la expresión de citoquinas proinflamatorias: factor de crecimiento transformante (TGF- β 1), factor de crecimiento plaquetario, factor de necrosis tumoral, interleucina 1 α (IL-1 α) De esta manera disminuiría la quimiotaxis y la mitogénesis en células de la inflamación. Por regulación de expresión celular endotelial inhibiría la adhesión de granulocitos y su migración, también inhibiría la infiltración de macrófagos.

Un estudio clínico de **Xie y Li (2007)** describió este efecto en defectos en la piel de extremidades, hicieron un tratamiento quirúrgico con colgajos injertados. Luego de la cirugía de 135 pacientes divididos en 3 grupos, uno con OHB, otro con tratamiento de dexametasona, y un tercero con tratamiento de heparina. En sus resultados (RR) no encontraron diferencia significativa entre grupos en la supervivencia de los colgajos en la primera fase de la cicatrización inflamatoria. OHB-Dexametasona (RR 0,50 95 % CI 0,19-1,35) OHB-Heparina (RR 0,42 95 % CI 0,16-1,09). Estos tratamientos buscan un resultado positivo antes de la fase proliferativa (angiogénesis, fibroplasia) de la lesión como coadyuvante de terapéuticas convencionales. Aparentemente la idea fue determinar la fase ideal en la cual podría usarse la terapéutica para mejorar la cicatrización. Este trabajo presentó defectos metodológicos, no reportaron que cámara hiperbárica usaron (clase A, B o C), tampoco a cuantas ATA trabajaron, ni la duración de cada tratamiento. Publicaron haber hecho dos sesiones de OHB/día durante 3 días, a partir del cuarto día 1 sesión/día, 12 tratamientos completos por paciente. Luego de terminado el estudio hicieron el control por 7 días.

El O₂ es tóxico para microorganismos anaerobios como *Clostridium tetani*, *Staphylococcus aureus* y *Bacteroides sp.* Otros ejemplos de microorganismos sensibles a OHB: anaerobios facultativos *Streptococcus sp.*, *Fusobacterium sp.*, *Actinomyces sp.*, *Actinobacillus sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Peptostreptococcus sp.*, *Porphiromonas sp.*, *Prevotella sp.*, *Espiroquetas sp.* **(Prescott et al., 1999)**

La osteomielitis aguda (< 15 días) o subaguda (15-20 días) es una infección bacteriana o fúngica de localización más frecuente en metáfisis de huesos largos y maxilar inferior. El microorganismo causante en el 80 % de los casos es el *Staphylococcus aureus*. También puede originarse por: *Streptococcus pyogenes*,

Streptococcus pneumoniae, *Haemophilus influenzae* tipo b, *Candida sp* y *Kingella Kingae*. En diabéticos y drogadictos la *Pseudomonas sp* es el agente etiológico. Su patogenia es por vía hematológica aguda, secundaria a un foco contiguo de infección o por inoculación directa de la bacteria.

La gangrena gaseosa es causada tanto en lesiones faciales como en extremidades, por bacterias como: *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* y *Vibrio vulnificus*.

El *Clostridium sp* se encuentra en casi todos los lugares: alimentos, superficies, piel. Estos microorganismos patógenos pueden causar una infección, multiplicación de flora bacteriana con respuesta clínica e inmune. La flora colonizante (*Streptococcus grupo A*, *Staphylococcus aureus*) es potencialmente patógena en determinadas circunstancias y se agrega a la flora residente (*Peptostreptococcus sp* y *Propionibacterium sp*). Las infecciones musculoesqueléticas comunes al tercio inferior de la cara y extremidades inferiores en humanos pueden clasificarse según el tejido afectado:

a) tejidos duros: osteomielitis aguda (fémur, tibia, húmero y mandíbula). El 30 % de los casos de osteomielitis aguda se presentan con antecedentes de trauma en la zona afectada (**Morrisy & Haynes, 1989**); artritis séptica (ATM y articulación tibiofemoral).

b) tejidos blandos: gangrena gaseosa, fascitis necrotizante, abscesos, celulitis y miositis.

Los gérmenes que provocan las infecciones mencionadas, se hallan comúnmente en la piel y mucosas de personas afectadas, tanto en cabeza y cuello como en extremidades también pueden vehiculizarse por vía hematológica por bacteriemia (concepto básico de esta tesis, no solo bajo la óptica del autor, antes de la presentación ante el jurado, hubo innumerables consultas con profesionales de referencia y antigüedad en las disciplinas estudiadas).

Mader encontró que la cefalotina es tan efectiva como OHB sobre *Staphylococcus aureus* en conejos. Midió perfusión y tensión de O₂ intramedular en metafisis tibial, 21 infectadas y 45 no infectadas en ambiente de 1 ATA; 104 infectadas y 321 no infectadas bajo condiciones de OHB. La perfusión aguda no aumentó por OHB en tibias infectadas o no infectadas. El efecto bactericida fagocítico sobre el *Staphylococcus aureus* decreció notablemente con una PaO₂ 23 mmHg, mejoró significativamente a PaO₂ 45 y 109 mmHg, y más efectivo a PaO₂ 150 mmHg. La conclusión fue que en el hueso osteomielítico OHB incrementaría el oxígeno intramedular a unas tensiones que conducen a un aumento de la función fagocítica. (**Mader et al., 1980**)

Triplett y Branham (1981) también en un estudio de laboratorio hicieron fracturas mandibulares en conejos e inocularon *Bacteroides melaninogenicus* para provocar osteomielitis. Dividieron aleatoriamente la población en cuatro grupos: I- Control sin OHB, 8 conejos; II- OHB, O₂ 100 % 2 ATA/2 h/día, 40 sesiones en 16 individuos; III-OHB (mismo esquema terapéutico mencionado) y antibióticos, 5 conejos; IV- Sin OHB solo antibióticos, 5 conejos. No encontraron una mejora superlativa con ningún tratamiento, pero sí mayor estabilidad en el grupo experimental con tratamiento de OHB que en el grupo sin tratamiento. No hubo diferencia entre grupos III y IV. Pero tal vez el dato más importante aquí es que no encontraron efectos negativos de la aplicación de OHB a 2 ATA por 80 h (40 sesiones/40 días consecutivos).

En una revisión retrospectiva sobre 12 casos de fascitis necrotizante de origen odontogénico, la mayoría derivados de un absceso molar, casi todos los pacientes tenían comorbilidades: diabetes, hipertensión, obesidad, en todos los casos después de la cirugía se aplicó OHB coadyuvante dentro de las 24 h PosQx, con un promedio de 31 días de estadía hospitalaria. La conclusión observada fue que OHB redujo la morbilidad y mejoró la recuperación clínica. **(Whitesides et al., 2000)**

Riseman y Zamboni (1990) trataron 29 pacientes con fascitis necrotizante, 12 con terapéutica convencional y 17 % con OHB. Sus resultados aportaron 66 % de mortalidad sin OHB y 23 % de mortalidad en pacientes tratados con OHB.

Pisarello (2003) describe en una publicación el Síndrome de Lemierre, una infección agresiva del cuello con una tasa alta de mortalidad. Cursa con faringotonsilitis e infección peritonsilar seguido por rigidez unilateral a lo largo del músculo esternocleidomastoideo, con tromboflebitis de la vena yugular interna. El microorganismo causal es el *Fusobacterium necrophorum*. Clínicamente existe septicemia y tromboembolismo periférico en pulmones y hueso. Según este trabajo la OHB como tratamiento coadyuvante resultó favorable con una rápida mejora en la condición del paciente, el alta se logró en 15 días. Esquema de OHB aplicado: 2,5 ATA 5 días, 2 sesiones/día, 90 min c/u.

Una complicación de la osteomielitis es la muerte ósea (osteonecrosis), la infección sobreagregada puede obstruir la circulación de sangre dentro del hueso. (<https://www.mavoclinic.org>, 2019) La osteonecrosis presenta: hipoxia progresiva, hipovascularidad e hipocelularidad. **(Marx, 1983)** El mismo autor en un trabajo clínico control aleatorio de 1999 estudió complicaciones postquirúrgicas y porcentaje de casos con infección en 368 individuos, 184 experimentales y 184 control sin OHB, todos necesitaban reconstrucción mandibular e injertos óseos y colgajos de tejido blando con una exposición a radioterapia de ≥ 64 Gy, 20 días preoperatorios y 10 postoperatorios de OHB. Reportó mejores resultados en injertos y colgajos de tejido blando que en tejidos duros irradiados con una patología oncológica. RR: después de hemimandibulectomía (2,2 95 % CI 0,8-5,9). RR después de injertos y colgajos de tejidos blandos (8,7 95 % CI 2,7-27,5). **(Marx, 1999)** La teoría etiopatogénica de Meyer define que la osteonecrosis puede aparecer por trauma, infección y radiación. **(Titterington 1971)** Una revisión sobre el empleo e indicaciones bucomaxilofaciales de OHB coincide en que una de las tres principales indicaciones recomendadas por expertos es la prevención de osteorradionecrosis (ORN). Las otras dos indicaciones de OHB como terapéutica coadyuvante: reconstrucción ósea mandibular y colgajos del tejido blando. **(Iriarte Ortabe, 2006)** La osteonecrosis también puede originarse por bifosfonatos, la mandíbula se ve más afectada que el maxilar superior (proporción 2:1). El 60 % de los casos son precedidos de un procedimiento quirúrgico dental coincidente con la administración de algunos fármacos para osteoporosis u osteopenia. La causa sería una sobresupresión del turnover óseo y comorbilidades como focos de infección previas. **(Hellstein, 2006)**

La osteonecrosis implica un grave problema clínico para los pacientes, cursa con dolor intolerable, fractura, sequestros desvitalizados óseos y fistulas que hacen imposible la alimentación. Por este motivo la OHB, sin

dudas, es una herramienta útil para el tratamiento de estos casos. **(Nadella et al., 2015)** La osteonecrosis mandibular puede presentarse en postexodoncia de pacientes que recibieron bifosfonatos por osteoporosis u oncología, también se puede presentar en pacientes que reciben o recibieron quimioterapia o radioterapia. Podría existir un efecto inhibitor de la vía osteoblástica (células mesenquimales) y una inducción de la vía osteoclástica (hematopoyética) con reducción de citoquinas antiinflamatorias aumento en progenie de osteoclastos (IL1, IL6, TNFalfa, RANKL), con la consiguiente pérdida de calidad y cantidad arquitectónica de hueso. La hiperoxigenación vía plasma serviría para la necrosis de cabeza de fémur otra entidad de características similares a la osteonecrosis mandibular. Ambas patologías son originadas por falla o reducción del aporte circulatorio de la médula hematopoyética, factores antiangiogénicos, en zonas anatomopatológicamente similares de irrigación terminal.

En tejidos blandos, la necrosis tisular por falta de permeabilidad vascular provocada por el frío extremo se denomina lesión por congelación (tejidos blandos: -2 °C/ hueso: -4 °C), es una entidad asociada a la hipotermia (< 35 °C). A temperaturas ≤ 0 °C el organismo reacciona con separación celular endotelial, vasoconstricción periférica, aumento de permeabilidad y adherencia de neutrófilos, interrupción de la circulación en las extremidades (50 % de la superficie corporal) y necrosis de los tejidos expuestos. En 1982 se realizó un trabajo clínico en 56 heridos con heridas mutilantes, en especial afectados por “pie de trinchera” en sus diferentes estadios, 34 se trataron con OHB. El tratamiento de OHB redujo infecciones anaerobias, dolor, mejoró significativamente ulceraciones por necrosis y previno a la mínima expresión mutilaciones o amputaciones. **(Campos, 1985)** OHB reduciría el riesgo de amputación. No existieron indicaciones de amputación en los individuos participantes dentro de los Grupos OHB G 1 y G 2.

La necrosis tisular por falta de permeabilidad vascular o por infección de bacterias se denomina gangrena. Cursa con edema, dolor intenso, ampollas y líquido purulento, puede evolucionar a un shock séptico y ser mortal. En el tejido epidérmico el valor del cociente metabólico (- QO_2) mide ml de O_2 consumidos por 1 mg de tejido seco en 1 h (- QO_2 normal: -3,41 ml/mg/h +/- 0,21). En cámaras monoplazas luego de 3 sesiones consecutivas (1/día) de O_2 3 ATA 90 min de duración, el - QO_2 puede Δ 83 %. **(Wilkinson et al., 1987)** En el trabajo debió tenerse en cuenta la posibilidad de hacer diagnóstico diferencial entre gangrena húmeda (quemaduras o trauma), gangrena gaseosa (*Clostridium perfringens* en musculatura profunda, ampollas crepitantes) y gangrena de Meleney. Las bacterias pueden ingresar desde la herida a los tejidos profundos y causar una infección. Las acciones terapéuticas incluyen: desbridamiento del tejido necrótico, repermeabilización del aporte sanguíneo, antibiotioterapia y OHB contra bacterias anaerobias. Desola publicó un estudio clínico de 85 casos de gangrena gaseosa de origen abdominal y traumático. Allí demostró que con aplicación de OHB se reduce 30 % la mortalidad en pacientes con gangrena gaseosa de origen abdominal y 15 % la mortalidad en casos de origen por trauma. **(Desola et al., 1990)**

Perez Carballada et al. (1984) suministró 900 sesiones de OHB en un sistema hiperbárico Vickers (RU), una cámara monoplaza y un armario de recirculación con consola de comando y tubos de alta presión de

oxígeno. En una publicación científica presentaron su experiencia en OHB: trataron 40 enfermos con isquemia arterial o insuficiencia vascular periférica, 1 a 2 sesiones/día por 10 días (2,5 a 3 ATA), posteriormente si era necesario se continuaba con 1 sesión por día hasta resolver la lesión. En la mayoría de los pacientes se observó remisión de las ulceraciones en pocas sesiones y además la desaparición o reducción del dolor. También trataron cuatro casos de osteomielitis refractaria al tratamiento antibiótico. Reportaron que en estos casos: ...“se consiguió controlar o localizar el proceso, posibilitando el tratamiento traumatológico...”. Sus resultados coinciden con los obtenidos en la tesis respecto a la ausencia de situaciones de infección PosQx en G 1 y G 2 OHB. El mismo servicio utilizó la OHB en necrosis infecciosas por gérmenes anaerobios, con y sin formación de gas, 140 enfermos. En ellos se pudo observar gran utilidad de la OHB en: sepsis moderada; estado de necrosis local variable, pero sin compromiso muscular importante; con puertas de entrada quirúrgica, traumatológica o por maniobras exploratorias instrumentales; con evolución rápida pero no fulminante de unos 4 a 7 días; con o sin patología asociada que condicione una meiotragia. El protocolo utilizado fue OHB 3 ATA 1^{er} día 4 sesiones, 2^{do} y 3^{er} día 3 sesiones, 4^{to} y 5^{to} día 2 sesiones, 6^{to} y 7^{mo} día 1 sesión diaria. En estos casos de infecciones anaerobias la oxigenoterapia hiperbárica produjo mejoría local y general, disminución de la acidosis y facilitó la aplicación de medidas quirúrgicas. Esta detallada publicación de un equipo de expertos en infectología explicaría el efecto de OHB sobre la inhibición del desarrollo de microorganismos anaerobios en heridas que afectan diferentes planos y aportaría claridad a los resultados obtenidos en la tesis, donde con los Grupos OHB G 1 y G 2 no se registró presencia de infección en plano óseo, muscular, aponeurótico o epitelial que comprometiera la evolución favorable de los tratamientos.

Daroda et al. (1985), describió la experiencia de su servicio también con un sistema hiperbárico monoplaza Vickers. Presentó un estudio estadístico realizado en 76 pacientes quemados, 53 de los cuales recibieron como tratamiento complementario de sus lesiones un plan de O₂ 2 ATA, durante 1 h/día. Este grupo se comparó a otros 23 enfermos que no recibieron OHB. De acuerdo con los resultados, los autores consideraron que la oxigenoterapia hiperbárica brindó efectos beneficiosos por disminución de la mortalidad general, reducción de los enfermos sépticos y del número de complicaciones, estimulación de la recuperación de los remanentes epiteliales y transformación de la flora bacteriana infectante habitual. Observaron que al cambiar las condiciones del medio (O₂ 2 ATA), la microbiota patógena se transformaba en microbiota residente o colonizante no patógena. Sus resultados aportaron evidencia que explicaría el resultado positivo en las lesiones de tejidos duros y blandos afectados en el tema de estudio.

Se demostró ausencia de infección sistémica/local o déficit inmunitario, las determinaciones de PCR no dieron diferencias entre Grupos OHB G 1 y G 2 comparados a G 3 Control y Basal. El promedio de PCR Basal (/x: 0,01 mg/dl), no habría tenido modificaciones con los Grupos OHB 1 (/x: 0,01 mg/dl) y 2 (/x: 0,01 mg/dl). G 1 y G 2 ≡ G 3 (/x: 0,01 mg/dl). La proteína C reactiva (PCR) se eleva en el 98 % de los

casos de osteomielitis aguda. Alcanza su pico a las 48 h del ingreso y desciende a niveles normales a los 7-10 días de tratamiento. **(Hernández Sampelayo Matos et al., 2008)**

Las imágenes radiográficas de Tibia y Peroné en G 1 y G 2 no indicaron existencia de lesiones asociadas a infecciones de tejidos duros o blandos. Los datos clínicos acompañaron al diagnóstico radiográfico. No se observó presencia de necrosis por falta de permeabilidad vascular o infecciosas por gérmenes anaerobios (con y sin formación de gas) o de isquemia. En G 1 y G 2 no se presentaron infecciones musculoesqueléticas en extremidades posteriores de conejos, infecciones comunes al tercio inferior de la cara y extremidades inferiores de humanos en tejidos duros: osteomielitis y artritis séptica. Tampoco se registró presencia de infecciones en tejidos blandos: gangrena gaseosa, fascitis necrotizante, abscesos, celulitis y miositis. Sin diferencia significativa a G 3 Control.

La 1^{ra} barrera del sistema inmune es la piel, mucosa y secreciones: salivales, nasales, lagrimales, sudor, cerumen. La 2^{da} barrera es inespecífica y su incremento correlaciona con infecciones bacterianas, la 3^{ra} barrera es específica de linfocitos B y T (antígeno-anticuerpo). En humanos adultos la médula ósea es el órgano principal del cual derivan los leucocitos, secundariamente otros centros de producción son los ganglios y vasos linfáticos, amígdala bazo y timo. Neutrófilos segmentados aumentó Grupos OHB G 1 y G2 (G 1/x: 62,86 %; G 2 /x: 66 %) comparados a Basal (/x: 39,92 %) y G 3 Control (/x: 58 %). Eosinófilos mismo patrón que el resultado de neutrófilos (G 1 /x: 4,57 %; G 2 /x: 6 %; G 3 Control /x: 3,75 %; Basal/x: 4,07 %). Monocitos similar evolución de lectura que neutrófilos y eosinófilos (G 1 /x: 4,43 %; G 2 /x: 5 %; Control /x: 3,5 %; Basal /x: 3,44 %). La serie leucocitaria neutrófilos, eosinófilos y monocitos aumentada comparado a valores basales y linfocitos reducidos no se asocia a infección bacteriana. G 1 y G 2 mostraron niveles bajos de Linfocitos en relación a Basal (G 1 /x: 28,14 %; G 2 /x: 23 %; Control /x: 34,75 %; Basal /x: 53,2 %). Estos resultados de inhibición de la proliferación de linfocitos podría deberse a un efecto de inmunodepresión/inmunomodulación de OHB y/o algún grado de afectación de la médula ósea o timo. Esta es una acción farmacológica utilizada en trasplantes de órganos por medicamentos inmunosupresores para evitar el rechazo. Como nueva hipótesis, la causa sería activación de la corteza adrenal y síntesis de hormonas esteroideas, estrógenos (estrone, estradiol o estriol) o andrógenos (10 % circulante deriva de la corteza adrenal). De esta manera inhibirían síntesis de IL-1, TNF- α , IL-3, IL-4 (citoquinas inflamatorias) y diapédesis, inducción de apoptosis de linfocitos. Estos efectos en un tratamiento de corto plazo y bajas dosis no sería negativo o incompatible con formación ósea.

8.7 Recuperación funcional de las articulaciones.

Se realizó un test de cadera, rodilla y tobillo para evaluar los movimientos articulares cercanos a la herida fue positivo en 23 de los 24 conejos. El test mide acortamientos, desequilibrios musculares o déficit de flexibilidad y amplitud articular de cadera, rodillas y tobillo. Lado derecho e izquierdo (operado), se trató de una evaluación bilateral. **(Schneiders et al., 2012)**

Se consideró desequilibrio y acortamiento muscular a los movimientos incompletos o reducción de la amplitud de movimientos (ROM). (**Ramos Espada et al., 2007**).

Pruebas realizadas: flexión de cadera con rodilla en extensión (**Ridge, 1985**); prueba de Thomas; psoas ilíaco y recto anterior (**Liebenson, 1999**); rotadores de cadera interno y externo (**Ridge, 1985**); aductores de la cadera (**Daza, 1996**); cuádriceps (**Ridge, 1985**); tobillo elongación de flexores plantares (**Liebenson, 1999**). Hasta la finalización del estudio G 1 Postoperatorio y G 2 Preoperatorio conservaron todos los movimientos, las articulaciones no se vieron afectadas por la resolución de las heridas.

8.8 Efecto de OHB en la función hepática y renal.

Para observar el efecto de los tratamientos a nivel hepático se utilizó el examen de albúmina en sangre, los Grupos OHB presentaron valores aproximadamente 10 % < Basal (/x: 38,54 g/l). G 1 Postoperatorio (/x: 34,85 g/l) y G 2 Preoperatorio (/x: 35,11 g/l). Control (/x: 37,28 g/l) no presentó variación respecto a Basal. Durante el curso de la experiencia todos los grupos mantuvieron en rango normal sus valores de albúmina. Aparentemente no habría existido compromiso de la función hepática, se desestimó posible alteración por los tratamientos.

Con la finalidad de determinar el estado de la función renal se evaluaron resultados séricos y urinarios marcadores de presencia de falla aguda. Mismo criterio, descartar patologías producto de la terapéutica aplicada. El dosaje de Creatinina en G 1 (/x: 1,05 mg/dl) mantuvo un nivel poco más alto que Basal (/x: 0,95 mg/dl). G 2 registró valores de promedio más bajos (/x: 0,70 mg/dl), tendencia similar a G 3 Control (/x: 0,79 mg/dl). Los Grupos OHB G 1 y G 2 aumentaron los niveles de uremia en relación a Basal (Basal /x: 38,85 mg/dl; G 1/x: 56,19 mg/dl; G 2 /x: 47,75 mg/dl; G 3 Control: /x: 50,50 mg/dl). El nitrógeno ureico en sangre presentó datos opuestos a las determinaciones de creatinina, debiera desestimarse una causa renal de la uremia más alta que Basal. El resultado podría asociarse con un cuadro de azotemia prerrenal, presente en casos de quemaduras, poscirugías, pérdida de volumen de sangre, medicamentos que tratan la hipertensión, AINE, o afecciones que produzcan una reducción del flujo sanguíneo al riñón. De manera que los desechos del metabolismo de proteínas derivados del hígado se acumulan en sangre y no se desechan por orina. G 1 podría considerarse el grupo que más exigió la función renal, creatinina y uremia séricas. Este grupo OHB tuvo resultados más altos que G 2 y G 3 Control. No hubo variación relevante en los promedios de calcemia de Grupos OHB (G 1: 14,24 mg/dl; G 2 /x: 13,94 mg/dl) y Control (/x: 14,39 mg/dl) comparados a Basal (/x: 15,67 mg/dl). Esto descartaría hipocalcemia por causa renal.

El volumen normal de Orina Basal de conejos fue de 35 a 40 ml/día, aumentó más tarde durante la experiencia en G 1 (PreQx /x: 39 ml; PosQx: /x: 90 ml) y G 2 (PreQx /x: 35-70 ml; PosQx /x: 115 ml). G 3 Control presentó aumento menor que G 1 y G 2 (PreQx /x: 40 ml; PosQx /x: 71 ml). A pesar de estos resultados G 1 y G 2 OHB de acuerdo a las variables medidas, habrían tenido menor incidencia negativa en la filtración glomerular que G 3 Control. Valores de filtración glomerular inferiores o superiores a Basal

podrían interpretarse como tratamientos más exigentes comprometedores de la función normal. Sin embargo han sido relevantes dos variables medidas en orina que indicarían diferentes grados de afectación renal con los tratamientos. En Basal la concentración promedio de proteínas cuantitativas en orina fue cero (0 mg/dl), en los Grupos OHB G 1 y G 2 se registraron valores más altos que Basal (G 1 /x: 1,72 mg/dl; G 2 /x: 1,76 mg/dl; G 3 Control /x: 1,36 mg/dl). Albuminuria Basal tuvo un valor /x: 36,31 ug/dl, los datos experimentales en G 1 y G 2 demostraron misma evolución que proteínas cuantitativas (G 1/x: 90,33 ug/dl; G 2 /x: 115,67 ug/dl; G 3 Control /x: 71,33 ug/dl).

La densidad urinaria normal puede fluctuar entre 1005-1030 (mg/ml), se mantuvo en un resultado promedio sin variaciones, con valores menores a Basal en los Grupos OHB (G 1/x: 1005 mg/ml; G 2 /x: 1005 mg/ml; G 3 Control /x: 1005 mg/ml; Basal/x: 1010 mg/ml).. Esto habría indicado aceptable estado de hidratación del lote de individuos experimentales. La baja registrada en la osmolalidad, orina más diluida dentro de parámetros normales, pudo deberse a alto consumo de líquidos, a un efecto diurético de la OHB, o algún grado de intervención a nivel glomerular. **(Vico Cano et al., 2004)**

La creatinina es el marcador en suero más utilizado para evaluar función renal, es el producto del metabolismo de la creatina en el músculo, su producción es proporcional a la masa muscular, se elimina por filtración glomerular. La Creatinuria se incrementó en G 1 (/x: 1,36 g/l) en relación a Basal (/x: 0,92 g/l), en G 2 bajó (/x: 0,65 g/l). G 3 Control (/x: 1,06 g/l) conservó un nivel cercano a Basal. G 2 habría tenido mejor efecto sobre la actividad glomerular, coincidió con los dosajes de calciuria, fosfaturia y volumen de orina 24 h. **(Díaz de León Ponce et al., 2008)**

El cálculo del Índice de Filtrado Glomerular permitió determinar el aclaramiento de creatinina, para descartar acidosis metabólica, mioglobinuria por destrucción de músculo esquelético; aumento en el catabolismo hepático de proteínas; incremento de citoquinas; resorción ósea; hipercalciuria; hipoxemia, insuficiencia renal; hipoperfusión; rabdomiolisis y síndrome compartimental. **(Launizar-García, 2011)** El nivel Basal (0,020 ml/min/24 h) se incrementó en Grupos OHB G 1 (0,056 ml/min/24 h) y G 2 (0,039 ml/min/24 h). G 3 Control registró valores en un rango parecido a G 1 y G 2 (0,045 ml/min/24 h). Este aumento, o hiperfiltración glomerular ($\sim > 50 \%$), pudo deberse a síndrome de isquemia reperfusión, sobrecarga de la función renal, pérdida de masa muscular. Otras posibles causas: síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) por el trauma, respuesta a la cirugía, o isquemia. **(Irriguible, 2018)** Según los resultados de esta fórmula, G 1 obtuvo los valores más altos, aunque G 2 y G 3 Control también incrementaron considerablemente sus resultados.

El filtrado renal del Calcio se analizó con la relación Calcio/Creatinina (*Ratio Ca/Cr*), su valor de referencia Basal fue 0,03 mg/dl. G 1 (0,03 mg/dl) midió igual a Basal, en cambio G 2 (0,02 mg/dl) presentó un resultado más bajo que Basal. G 3 Control (0,09 mg/dl) alcanzó niveles más altos que Basal. G 2 (/x: 0,19 mg/dl/24 h) redujo la Calciuria Basal (/x: 0,44 mg/dl/24 h), conservó más Calcio. G 1 provocó un aumento

leve de calciuria (/x: 0,55 mg/dl/24 h). En cambio G 3 Control aumentó calciuria (/x: 1,79 mg/dl/24 h) hasta valores muy superiores a Basal, G 1 y G 2.

Fosfaturia habría presentado mismo desarrollo de sus resultados que calciuria en G 1 y G 2 (Basal: 0,22 mg/l/24h; G 1: 0,44 mg/l/24h; G 2: 0,11 mg/l/24h) Nivel marcadamente más bajo en G 2, que habría conservado más fosfato. Fosfaturia G 3 Control (1,14 mg/l/24h) misma tendencia que calciuria, provocó un aumento notable. Como consecuencia de los resultados experimentales descriptos el peso corporal se vio afectado en relación a Basal (/x: 3456 g) menos ($\sim < 10\%$) con tratamiento G 1 (/x: 3265 g). En cambio G 2 (/x: 2864 g) y G 3 Control (/x: 2823 g) habrían generado una mayor reducción del peso corporal, una baja considerable ($> 15\%$). G 2 y G 3 Control fueron grupos que recibieron tratamiento hiperbárico por más tiempo en el prequirúrgico (G 2: O₂ 100 % 2,4 ATA; G 3: placebo aire 1,3 ATA). El tratamiento de G 1, solo en el postquirúrgico, no habría reducido tanto el peso de los conejos.

CONCLUSIONES

9-CONCLUSIONES

Concluido el estudio experimental con el conjunto de datos obtenidos se procedió a la tarea de aceptar o rechazar las hipótesis planteadas en el inicio de la planificación.

1- Se acepta la hipótesis general que la aplicación de Oxigenoterapia Hiperbárica con tratamientos G 1 Postoperatorio y G 2 Preoperatorio, como complemento de la terapéutica quirúrgica en isquemias traumáticas agudas por fracturas óseas, promueve la actividad celular, enzimática y vascular de tejidos blandos osteogénicos (periostio; endostio) y duros (óseo) durante la cicatrización, y desarrolla un postoperatorio más rápido. El aporte del periostio en la consolidación de una fractura o lesión ósea corresponde el equivalente a 1/3 de la reparación tisular, el endostio sería responsable de los 2/3 restantes. En los tejidos epitelial y muscular solo se observó la evolución de la cicatrización. Se observó variación de la respuesta osteogénica luego del trauma en tratamientos OHB y Control, dependientes del hueso afectado (tibia o peroné) y la naturaleza del trauma.

2-Se acepta la hipótesis que las propiedades estructurales y funcionales de la matriz mineralizada del callo óseo en tibia, son superiores con OHB G 2 Preoperatorio que en G 3 Control (sin OHB). En la lesión de peroné no se acepta esta hipótesis, existieron mejores propiedades estructurales sin OHB.

Las variables histomorfométricas del callo óseo evaluadas para llegar a esta conclusión fueron volumen óseo, superficie osteoblástica, osteoide, osteoclástica, condroide, también análisis de imágenes radiográficas, que determinaron cómo se produjo la consolidación del callo óseo. G 2 Preoperatorio presentó mayor superficie osteoblástica, osteoide, condroide y menor superficie osteoclástica Melsen y Malluche. Existió similitud en la extensión o superficie osteoide de G 2 Preoperatorio y G 1 Postoperatorio, mejor que G 3 Control. El volumen osteoide G 2 Preoperatorio fue superior a G 3 Control. En peroné existió mayor volumen óseo en G 3 Control, fue semejante con datos histomorfométricos dinámicos de superficie trabecular simple y doble marcación. En tibia y peroné OHB G 2 Preoperatorio, demostró parámetros histomorfométricos estáticos de superficie osteoblástica, osteoide, osteoclástica y condroide con mayor actividad y valores correspondientes a mejores características estructurales. El tratamiento G 3 Control tuvo mayor superficie osteoblástica que G 2 Preoperatorio y G 1 Postoperatorio. En tibia presentó valores más altos que G 1 y G 2 de superficie osteoclástica Melsen y Malluche. En peroné G 3, el mismo parámetro, tuvo valores superiores a G 2. La extensión y volumen osteoide con OHB G 1 fue mayor que G 3 Control sin OHB. En las imágenes radiográficas de tibia, el callo óseo observado confirmó la hipótesis que existiría mejor resolución de la lesión con OHB G 2. Mientras que radiográficamente en peroné, G 3 Control, fue mejor que G 2 y G 1. Las radiografías coincidieron con los parámetros histomorfométricos volumen trabecular, volumen óseo total y velocidad de mineralización, con diferentes métodos de medición se obtuvieron resultados semejantes.

La calcemia se redujo con los tratamientos respecto a valores basales, esto se asoció con mejora en la densidad ósea y mayor calcificación. En G 1 Preoperatorio y G 3 Control, existió mayor efecto hipocalcemiante desde el día 10 PreQx al 15 PosQx. G 1 Postoperatorio redujo la calcemia entre el día 30 y 45 PosQx, coincidiendo con la histología donde se observó un aumento de la mineralización para esa misma fecha. La OHB sería más favorable en períodos diferentes, por ejemplo: G 2 Preoperatorio desde 10 días PreQx hasta 15 días PosQx, y G 1 Postoperatorio a partir del día 30 días PosQx. Fosfatemia y calcemia tuvieron valores opuestos durante el estudio realizado, esto se consideró normal. Cuando ambas son iguales, bajas o altas, esto podría deberse a déficit de calcitriol o pérdida ósea. La relación calcemia-fosfatemia con tratamientos OHB ha sido compatible a mayor densidad del callo óseo comparado a G 3 Control.

G 2 Preoperatorio obtuvo los mejores niveles de 25OHD entre el día 7 y 21 PosQx. G 1 Postoperatorio tuvo incremento de 25OHD desde el día 30 al 45 PosQx, esto indicó mayor conservación de calcio y fosfato en el organismo. G 2 Preoperatorio presentó valores de calciuria y fosfaturia más bajos que Basal, conservó más hueso, estructura mineral y formó hueso nuevo.

G 1 Postoperatorio aumentó la fosfaturia y la calciuria respecto a Basal, un incremento no severo. G 3 Control incrementó marcadamente fosfaturia y calciuria, tuvo la peor relación para formación y estructura ósea. En Grupos OHB se registraron valores de 25OHD asociados a mejor estructura ósea. G 1 aumentó 25OHD desde el día 30 al 45 PosQx, correspondiéndose con el parámetro histomorfométrico superficie trabecular doble marcación, el incremento se asoció con mayor absorción de calcio y aumento de mineralización o calcificación de la matriz. G 2 tuvo 25OHD más alta desde el día 7 al 20 PosQx, luego sobre el final del estudio alcanzó un valor más bajo que G 3 Control.

La curva PTH-25OHD en G 1 desde el día 30 al 45 PosQx evolucionó con divergencia, 25OHD adquirió progresivamente valores más altos y PTH valores más bajos. Esto coincide con un “efecto inercial” o “efecto inercia aceleración” donde existiría aumento de formación ósea con G 1 OHB a partir de los 30 días PosQx, luego de finalizar el tratamiento. Las determinaciones de PTH entre grupos no registraron resultados demasiado dispares considerando el promedio total, pero sí facilitaron la interpretación de tendencia y variación del análisis de la curva respuesta-tiempo 25OHD-PTH.

3-Se acepta la hipótesis sobre consolidación o formación de callo óseo con OHB, G 1 y G 2, en tiempo más reducido respecto grupo sin OHB (G 3 Control) en la lesión de tibia con tratamiento G 2, mientras que en peroné, se rechaza esta hipótesis. En tibia, desde el día 15 al 25 postquirúrgico (PosQx) OHB con tratamiento G 2 fue más rápido en μ /día que tratamiento sin OHB G 3 Control. G 1 más lento pero con mayor estructura de hueso calcificado, esto tuvo mismo patrón de resultados que parámetros histomorfométricos superficie trabecular doble marcación y volumen óseo promedio. Por otro lado, en peroné hasta el día 45 PosQx, G 3 Control fue más rápido en μ /día que tratamientos con OHB. Las Radiografías concuerdan con los parámetros histomorfométricos estáticos, volumen óseo y superficie osteoblástica. De esta manera, se evaluó el efecto del oxígeno hiperbárico en la osteogénesis con la finalidad

de reducir los tiempos cicatrizales junto a una estructura mineral equivalente a la lograda con tratamientos convencionales.

4-Se acepta que OHB favorece la osteogénesis respecto a grupo sin OHB. En tibia hasta 30 días PosQx, G 2 OHB alcanzó mejor respuesta osteogénica, resultados con mayor presencia de hueso laminar maduro, comparado al logrado en tratamiento Control sin OHB. Los parámetros histomorfométricos dinámicos superficie trabecular doble marcación (STDM) y simple marcación (STSM) experimental indicaron que la respuesta con G 2 OHB sería más positiva que sin OHB hasta el día 30 PosQx. G 1 registró valor cero en STDM de tibia, pero en STSM se observó que tuvo mejores resultados entre el día 30 y 45 PosQx.

En peroné se acepta la hipótesis que con OHB, tratamiento G 1 lograría mejor respuesta osteogénica que G 3 Control sin OHB. Pero el detalle, nuevamente, es que esto se produjo entre el día 30 y 45 PosQx, como “efecto inercial” o “efecto inercia aceleración” al terminar el tratamiento con OHB. Estas conclusiones se confirmaron por histomorfometría STDM y STSM. G 2 a la inversa, fue más positivo según parámetros histomorfométricos hasta el día 30 PosQx. La osteogénesis imperfecta se refiere a formación de tejido óseo donde existe un defecto de la matriz fibrosa que no permite transformación de hueso esponjoso en compacto (hueso laminar o maduro), predomina el hueso reticular, con “osteoblastos defectuosos”. Esta situación afortunadamente no fue observada en ninguna de las dos lesiones óseas realizadas con tratamientos experimentales OHB. La fosfatasa alcalina específica ósea (FAO), se incrementó desde Basal durante los 10 días PreQx con G 2 y G 3 Control, demostrando que existiría un efecto medible de OHB en la actividad ósea antes de realizar las lesiones en tibia y peroné. G 1 desarrolló el valor más alto a los 7 días PosQx, hasta 45 días PosQx FAO fue superior con OHB comparado a G 3 Control. Este resultado representaría mayor formación ósea, y un efecto sobre el remodelado óseo. La diferencia ha sido marcada respecto a Basal pero no ocurrió lo mismo entre Control y Grupos OHB, quiere decir que la OHB y Control habrían afectado la actividad ósea, esto es independiente de que un tratamiento haya sido mejor que otro en sus efectos sistémicos, o que haya tenido mejor relación riesgo-beneficio. En la curva FAO-tiempo, el valor más alto fue a los 15 días PosQx, coincidiendo con el concepto de mayor calcificación en la primera etapa de formación ósea, en cambio Osteocalcina logró mejor efecto con OHB entre los días 30-45 PosQx, confirmando mayor valor sérico durante la última etapa de mineralización. Los marcadores de resorción como CTX indicaron mayor actividad resorptiva en G 3 Control entre los 7 y 15 días PosQx. CTX tuvo resultados más favorables en G 1; G 2 presentó valores más bajos de CTX entre el día 7 y 15 PosQx. Esto ha permitido interpretar que en los primeros 15 días posteriores a la lesión aumentaría considerablemente la formación ósea, luego seguiría durante aproximadamente 10 a 12 días una etapa de resorción, para luego reactivar la formación a partir del día 30 PosQx. Los valores de NTX en orina 24 h, confirmaron los de CTX, existió mayor discrepancia entre grupos, con la misma tendencia, mejor con OHB, G 1 y G 2 que en G 3 Control. Esto indicaría que existió remodelamiento o remodelado óseo, un proceso biológico que es positivo, mientras predomine la formación sobre la resorción, situación que ocurrió con OHB. La curva

CTX-FAO coincidiría con lo anteriormente referido, misma evolución hasta el día 7 PosQx. Desde el día 8 al 15 PosQx y del 30 al 45 PosQx desarrollaron trayectorias opuestas, una aumentó y la otra declinó. Estos datos también podrían asociarse al cambio de fase del callo óseo, la transición de hueso reticular a laminar maduro.

5-Se rechaza la hipótesis que existiría menor cantidad de complicaciones infecciosas producidas por microorganismos anaerobios con OHB G 1 y G 2 respecto a grupo G 3 Control sin OHB. No se apreciaron diferencias clínicas entre los grupos experimentales y control en la disminución de infecciones anaerobias. Existe numerosa evidencia científica que avala el uso de OHB con esquema terapéutico similar a G 1 Postoperatorio (en este caso sería OHB postinfección) y antibioticoterapia en infecciones de tejidos bucomaxilofaciales duros y blandos:

- a) osteomielitis aguda de mandíbula y artritis séptica (ATM).
- b) gangrena gaseosa, fascitis necrotizante, abscesos, celulitis y miositis.

6-Se rechaza la hipótesis que el movimiento de articulaciones se recuperaría en menor tiempo con OHB respecto a sin OHB. Probablemente exista un efecto positivo del O₂ hiperbárico sobre las articulaciones cuando se lesionan, pero en el estudio realizado no se vieron afectadas.

7-Se rechaza la hipótesis que la proporción de amputaciones sería menor con OHB G 1 y G 2 respecto grupo G 3 Control sin OHB, debido a que no se encontraron diferencias entre grupos experimentales y control.

8-Los resultados logrados con OHB G 1 y G 2 permitirían la extrapolación clínica quirúrgica y traumatológica bucomaxilofacial humana en las siguientes situaciones e indicaciones terapéuticas:

- a) terapéutica de fracturas en cuerpo y ramas ascendentes mandibulares. OHB G 1.
- b) terapéutica de osteonecrosis mandibular por quimioterapia; radioterapia; bifosfonatos. OHB G 1.
- c) mejoramiento de la oseointegración de implantes de titanio odontológicos en mandíbula. OHB G 2.
- d) cirugía ortognática, en casos con indicación de osteotomías mandibulares por requerimientos estéticos y funcionales (deformaciones; prognatismo; mordida abierta; disfunción de ATM). OHB G 2.
- e) casos que requieren cirugía correctiva por pseudoartrosis o consolidación ósea viciosa o disfuncional mandibular. OHB G 1.

9-Los resultados logrados en la fórmula leucocitaria implicarían un efecto inmunomodulador de OHB que podría utilizarse para evitar rechazo en:

- a) injerto óseo autólogo; aloinjerto; sintético en mandíbula. OHB G 2.
- b) reconstrucción posresección mandibular. OHB G 2.
- c) terapéutica OHB PreQx y PosQx para reemplazo de implante de titanio odontológico fracasado en mandíbula. OHB G 2.

10-El modelo experimental de extrapolación para traumatología y osteología humana tendría utilidad para el estudio de propiedades y/o aplicación de nuevos materiales, elementos o compuestos biocompatibles óseos

con finalidad terapéutica o diagnóstica de miembro inferior, superior y mandíbula. También podría utilizarse para investigación y aplicación veterinaria.

11- El estudio de los datos epidemiológicos de Argentina y otros países de América indicó que la caída doméstica es la primera causa externa de injuria; sobreesfuerzo por actividad física en actividad recreacional excluyendo deportes la segunda; en tercer lugar las torceduras articulares o esguinces con contusiones y heridas superficiales por deportes. El trauma en miembros superiores e inferiores representa el 30 % de todas las lesiones corporales reportadas. Otras causas con un porcentaje de prevalencia menor son accidentes de trabajo, violencia o agresión de persona desconocida y tránsito, en último caso, con menor frecuencia, se ubican las lesiones por corte o amputación. En personas de 5 a 35 años de edad el trauma significa la primera causa de fatalidad, en Argentina se ubicó como la tercera o cuarta causa de muerte considerando causas externas como accidentes, violencia social, e infecciones sobrevenidas por injurias. Estos datos ubican el contexto en el cual el cirujano profesional debe manejarse, la OHB aportaría una herramienta complementaria eficaz para resolver mejor y más rápidamente las lesiones por trauma en hueso. Debería realizarse un estudio estadístico serio de costo-beneficio de la terapéutica hiperbárica para definir su muy probable conveniencia económica para los seguros de salud públicos, privados y el paciente particular.

BIBLIOGRAFÍA

10-BIBLIOGRAFÍA

- ADVISORY COMMITTEE FOR HYPERBARIC OXYGEN IN BELGIUM (2004) ECHM 7th Consensus Conference; Summary of Clinical Indications for HBO Therapy. Disponible en: <https://www.achobel.be>
- AGAIAN NA & KHANGULIAN GL (1991). La oxigenación hiperbárica en el tratamiento del crush-syndrome. *Khirurgiia (Moscú)*, 10: 120-125.
- ALBRIGHT F & REIFENSTEIN EC (1984). The parathyroid glands and metabolic bone disease. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins Pub, 145-204.
- ALDAO C (1954). Medicina del Buceo. Mar del Plata: Base de Submarinos. Escuela de Buceo, 17-286.
- AMERICAN ASSOCIATION FOR LABORATORY ANIMAL SCIENCE (1987). Laboratory Animal Science. Special Guide, Vol 37. Disponible en: <https://www.aalas.org>
- APRILE H, FIGÚN M & GARINO R (1956). Anatomía Odontológica. Buenos Aires: Editorial El Ateneo, 56-525.
- ARIAS NO (2001). Capítulo 32 Fracturas de la diáfisis del húmero; Capítulo 33 Seudoartrosis de la diáfisis del húmero. En: COSENTINO R, COSENTINO RV, DARODA S, MENVIELLE FE, PEREIRA PA, BENEDETTI CM (eds.) Miembro Superior. La Plata: Grafikar Sociedad de Impresores, 165-170.
- ARRIEN LM (2012). 2^{das} Jornadas de Electromedicina y Tecnología Médica. Olavarría, Argentina.
- ATKINS P & JONES L (2012). Leyes de los gases. Capítulo 4: Las propiedades de los gases. Principios de química. Los caminos del descubrimiento 5^{ta} ed. Editorial Médica Panamericana, 3-1052.
- ATOCHIN I, DEMCHENKO T, ASTERN J, BOSO A, PIANTADOSI C & HUANG P (2003). Contributions of endothelial and neuronal nitric oxide synthases to cerebrovascular responses to hyperoxia. *J Cerebr Blood F Met*, 23: 1219-1226.
- ATROSHCHENKO ZB (1984). Prevención de la infección de las heridas abiertas en miembros por la oxigenoterapia hiperbárica. *Vestn Khir Im II Grek*, 132: 114-117.
- AURBACH CD, MARX SJ & SPIEGEL MM (1985). Parathyroid hormone, Calcitonin and the Calciferols. In: WILSON JD & FOSTER DW (eds) Textbook of Endocrinology. Ed WB Saunders Co, 1137.
- AYUS JC, TEJEDOR A & CAMELO C (2007). Agua, electrolitos y equilibrio ácido base. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 2-341.
- BARRATT MR & POOL SL (2008). Principles of clinical medicine for space flight, Nasa Johnson Space Center. New York: Ed Springer Science, 227-240.
- BASSETT CAL (1972). Clinical implications of cell function in bone grafting. *Clin Orthop*, 87: 49-59.
- BAYLINK DJ, JENNINGS JC & MOHAN S (1998). Calcium and bone homeostasis and changes with aging. In: HAZZARD W, BLASS J, ETTINGER W, HALLER J & OUSLANDER J (eds) Principles of geriatric medicine and gerontology 4^{ta} Ed. Mc Graw-Hill, 56-1041.

- BELLIS M (2020). History of hyperbaric chambers-Hyperbaric oxygen therapy. Disponible en: <https://www.thoughtco.com>
- BENNETT PB & ELLIOTT DH (1993). Chapter: History of decompression procedures. In: HEMPLEMAN HV (ed) *The physiology and medicine of diving in man and other animals*, London Saunders, 342-375.
- BENNETT MH, STANFORD RE & TURNER R (2012). Hyperbaric oxygen therapy for promoting fracture healing and treating fracture non-union. Review. Randwick: Departamento de Buceo y Medicina Hiperbárica-Departamento de Ortopedia del Hospital Príncipe de Gales. The Cochrane Library: John Wiley & Sons Ltd, 11: 2-18.
- BERGMEYER HU (1983). *Methods of Enzymatic Analysis* 3rd Ed. Weinheim: Verlag Chemie, 11-605.
- BERT P (1878) *La pression barométrique recherches de physiologie expérimentale*. Paris: Masson G (ed.) 1168 pp.
- BHASKAR SN (1983). *Histología y Embriología Bucal de Orban* 9^{na} Ed. Buenos Aires: Editorial El Ateneo, 266-340.
- BLANCO A (2007). *Química Biológica* 8^{va} Ed 1^{ra} Reimp. Buenos Aires: Editorial El Ateneo, 115-145.
- BLEIL ME, APPELHANS BM, ADLER NE, GREGORICH SE, STERNFELD B & CEDARS MI (2012). Pubertal timing, androgens and obesity phenotypes in women at midlife. *The journal of clinical endocrinology & metabolism*, 97: 1948-1952.
- BOEREMA I (1960). Live Without Blood. *Journal of Cardiovascular Surgery*, 1: 133-146.
- BORDOW R, RIES A & MORRIS T (2003). *Neumología*. Madrid: Ed. Marbán, 598 pp.
- BOUACHOUR G, CRONIER P, GOUELLO JP, TOULEMOND JL, TALHA A & ALQUIER P (1996). Hyperbaric oxygen therapy in the management of crush injuries: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *J Trauma*, 41: 333-339.
- BOYCOTT AE, DAMANT GCC & HALDANE JS (1908). The Prevention of Compressed Air Illness. *Journal of Hygiene*, 8: 342-443.
- BOZLER E (1930). The heat production of smooth muscle. *Journal of Physiology*, 69: 442-462.
- BROWN TL, LEMAY HE, BURSTEN BE & BURDGE JR (2004). *Gases. Química: la Ciencia Central* 9^{na} Ed. Pearson, 364-406.
- BRUNTON LL, HILAL-DANDAN R & KNOLLMANN BC (2019). *Goodman & Gilman: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica* 13^{ra} Ed. McGraw-Hill, 200-700.
- BUHEL W, STUMPF P, HAAS A & DESSAUER P (1965). *Cosmos y Vida (Weltall, weltbild, weltanschauung)*. Buenos Aires: Editorial Paulinas, 11-216.
- BUCKINGHAM JC, LOWLEY HD, CHRISTIAN HC & PHILIP JG (1996). Activation of the HPA axis by immune insults: roles of interactions of cytokines, eicosanoids y glucocorticoids. *Pharmacol Biochem Behav*, 54: 285-298.

- BUETTNER M (2007). Hyperbaric Oxygen Therapy in the Treatment of Open Fractures and Crush Injuries. *Emerg Med Clin*, 25: 177-188.
- BURGENER F & KORMANO M (1996). Diagnóstico diferencial radiológico en ortopedia y reumatología. Barcelona: Ediciones Mayo SA, 47-265.
- CABALLERO HERNÁNDEZ D, TAMEZ GUERRA RS, RODRIGUEZ PADILLA C, TAMEZ GUERRA P, WEBER RJ & GÓMEZ FLORES R (2001). Regulación neuroendocrina del sistema inmune. *Ciencia UANL*, 4: 205-215.
- CALINGER R (1999). A contextual history of mathematics. Prentice-Hall, 150.
- CAMPOS HO (1985). Tratamiento de pie de trinchera con la inclusión de la oxigenoterapia hiperbárica. Análisis de 56 casos. *Congreso Argentino de Cicatrización*. Buenos Aires.
- CAMPOS HO (2019). Historia de SAMHAS. Red Nacional de Centros Hiperbáricos. Disponible en: <https://www.samhas.com.ar>
- CARLI A (2008). La Ciencia Como Herramienta. Guía para la investigación y la realización de informes, monografías y tesis científicas. Buenos Aires: Biblos, 71-144.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (2008). NCHS Vital statistics data available. Mortality multiple cause files. Hyattsville: National Center for Health Statistics. Disponible en: https://www.cdc.gov/nchs/data_access/vitalstatsonline.htm
- CHANDLER D (2007). Undersea and Hyperbaric Medical Society 1967-2007: *A history of 40 years*. *UHMS*, 59.
- CHAO YS & ARO HT (1991). Biomechanics of fracture fixation. In: MOW VC & HAYES WC (eds) New York: Basic Orthopedic Biomechanics 1st Ed. Raven Press, 314-315.
- CHEN LH, WARNER M, FINGERHUT L & MAKUC D (2009). Injury episodes and circumstances: National Health Interview Survey, 1997-2007. *Vital Health Stat*, 241: 1-55.
- CHEN X, DUAN XS, XU LJ, ZHAO JJ, SHE ZF, CHEN WW, ZHENG ZJ & JIANG GD (2014). Interleuquina 10 mediate neuroprotection of hyperbaric oxygen therapy against traumatic brain injury in mice. *J Neuroscience*, 266: 235-243.
- CHURCHILL WLS (1940). *The few*. House of Commons. London: Chartwell Trust, published by permission Curtis Brown. International Churchill Society. Disponible en: <https://www.winstonchurchill.org>
- CIANCIO S & BOURGAULT P (1990). Farmacología Clínica para Odontólogos 3^{ra} Ed. México: El Manual moderno SA, 1-56.
- CLARK DJ, GEBHART GF, GONDER JC, KEELING ME & KOHN DF (1997). The 1996 Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. *ILAR Journal*, 38: 41-48.
- CLAUS-HERMBERG H, LOZANO BULLRICH MP, REY M & POZZO MJ (2010). Importancia relativa de las modificaciones del contenido mineral óseo y del área en la determinación del descenso de la densidad mineral ósea del cuello femoral en la posmenopausia. Hospital Alemán, CABA. *Actual Osteol* 6: 9-15.

- COSENTINO R, ARIAS NO & COSENTINO RV (1985) Esguinces y roturas musculares y tendinosas. *Folia Traumat (Leuven)*, 7.
- COSENTINO R (1992). Miembros Inferiores: semiología con consideraciones clínicas y terapéuticas. Buenos Aires: Editorial El Ateneo, 503 pp.
- CUMMINGS SR, BROWNER WS & BAUER D (1998). Endogenous hormones and the risk of hip and vertebral fractures among older women. *N Engl J Med*, 339: 733-738.
- CUMMINGS SR, SAN MARTÍN J & MCCLUNG MR (2009). Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis (FREEDOM). *N Engl J Med*, 361: 756-765.
- CURTIS H (2008). Biología 7^{ma} Ed. Santiago de Chile: Editorial Médica Panamericana, 330-711.
- DALLAS SL & BONEWALD LF (2010). Dynamics of the transition from osteoblast to osteocyte. *Ann N Y Acad Sci*, 1192: 437-443.
- DARODA M, PAGOLA A, GARCÍA C, GONZALEZ AYALA S, PODJARNY J & RAMÓN ML (1985). Oxígeno terapia hiperbárica en quemados. *Rev Argent Quemad*, 3: 19-40.
- DAZA J (1996). Test de movilidad articular y examen muscular de las extremidades. Editorial Médica Panamericana, 1-232.
- DEFTOS L (2006). Chapter 18. Calcitonin. American Society for Bone and Mineral Research. California: The University of California, 115-117.
- DELGADO MARTINEZ AD (2009). Cirugía Ortopédica y Traumatología. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 7-816.
- DE ROBERTIS E, PONZIO R & HIB J (2011). Biología Celular y Molecular. 15^{ta} Ed Avellaneda: Editorial El Ateneo, 181-292.
- DESOLA J, ESCOLÁ E, MORENO E, MUÑOZ MA, SÁNCHEZ U & MURILLO F (1990). Tratamiento combinado de la gangrena gaseosa con oxígeno terapia hiperbárica, cirugía y antibióticos. Estudio colaborativo multicéntrico. *Med Clin (Barcelona)* 94: 641-650.
- DESOLA J, CRESPO A, GARCÍA A, SALINAS A, SALA J & SÁNCHEZ U (1998). Indicaciones y contraindicaciones de la oxígeno terapia hiperbárica. *JANO/Medicina*, 54: 5-11.
- DESOLA J (2009). Indicaciones actuales de la oxígeno terapia hiperbárica. *Formación Médica Continuada en Atención Primaria*, 16: 507-523.
- DIAZ DE LEÓN PONCE MA, NAVA DE LA VEGA A, MENESES CALDERÓN J, MORENO SANTILLÁN AA, GONZALEZ DÍAZ JI & BRIONES GARDUÑO JC (2008). Insuficiencia renal aguda en trauma. *Rev. Asoc. Mex. Med*, 22: 36-41.
- DIEHL M, FANTI D, MORANDI A, GALICH A, GARCÍA RIVELLO H & PLANTALECH L (2016). Osteoesclerosis asociada a mastocitosis sistémica. Hospital Italiano de Buenos Aires. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 50: 429-434.
- DI FIORE M (2012). Atlas de Histología Normal 7^{ma} Ed. Buenos Aires: Editorial El Ateneo, 22-31.

- DIRECCIÓN DE ESTADÍSTICAS E INFORMACIÓN DE SALUD (2018). Anuario Estadísticas Vitales. Información Básica, Argentina. Disponible en: <http://www.deis.msal.gov.ar>
- DOMINGUEZ LOPEZ MO, MARTINEZ ALMAZÁN E, MUÑOZ ROMERO C, ALVAREZ MARTÍN A & GARCÍA NAVARRO JA (2013). Interpretación de las pruebas de metabolismo calcio-fósforo. Tratado de Geriátria para Residentes, 615-625.
- DOMOUZOGLU EM, NAKA KK, VLAHOS AP, PAPAFAKLIS MI, MICHALIS LK, TSATSOULIS A & MARATOS-FLIER E (2015). Fibroblast growth factors in cardiovascular disease: The emerging role of FGF21. *American Journal of Physiology, Heart and Circulatory*, 309:1029-1038.
- DOWNING JEG & KENDALL MD (1996). Peripheral and central neural mechanisms for immune regulation through the innervation of immune effector sites. In: MARSH JA & KENDALL MD (ed) *The physiology of immunity*. New York: CRC Press, 103-126.
- DUNN AJ & WANG J (1995). Cytokine effects on CNS biogenic amines. *Neuroimmunomodulation*, 2: 319-328.
- DURÁN A (2000). El legado de las matemáticas, de Euclides a Newton, los genios a través de sus libros. Sevilla: Consejería de Cultura Junta Andalucía, 17-60.
- ECHM 7th Consensus Conference Lille 2004. Summary of clinical indications for HBO Therapy (2006). Disponible en: <http://www.achobel.be>
- ECKENHOFF RG & HUGHES JS (1984). Acclimatization to decompression stress. In: BACHRACH AJ & MATZEN MM (eds). *Underwater Physiology VIII. Proceedings of the 8th Symposium on Underwater Physiology*. Bethesda: Undersea Medical Society, 93-100.
- EDA S, KAUFMANN J, ROOS W & POHL S (1998). Development of a new microparticle-enhanced turbidimetric assay for C-reactive protein with superior features in analytical sensitivity and dynamic range. *J Clin. Lab. Anal*, 12: 137-144.
- EDEIKEN J & PHILIP JH (1977). Diagnóstico radiológico de las extremidades de los huesos. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana SA, 357-1138.
- EDMONDS C (2005). *Diving and Subacutic Medicine* 4th Ed. London: Hodder Arnold, 433-443.
- ELGADBAN J (2017) Regulación de Gases Medicinales en la Argentina. Resolución (MS) ANMAT N° 1130/00. Rosario: Colegio de Ingenieros Especialistas de la Provincia de Santa Fé, 1-38. Disponible en: <https://www.cie.gov.ar>
- EVANS LOVATT C (1923). Studies on the physiology of plain muscle II. The oxygen usage of plain muscle, and its relation to tonus. London: National Institute for Medical Research and the Physiological Laboratory of St Bartholomew's Hospital. *J Physiol*, 1-11.
- FARLEY J (1995). Skeletal alkaline phosphatase activity in serum. *Clin Chem*, 41: 1551-1553.
- FEIJÓ A (2005). Utilização de Animais na Investigação e Docencia: uma reflexáo ética necessaria. Porto Alegre: Editora Pontificia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 63-126.

- FERRETTI JL, COUNTRY G & CAPOZZA R (2014). Osteocitos mirando hacia arriba. *Actualizaciones en Osteología AAOMM*, 43-75.
- FOK TC & JAN A (2008). Hyperbaric oxygen results in increased vascular endothelial growth factor (VEGF) protein expression in rabbit calvarial critical-sized defects. Toronto: University of Western Toronto *Oral and Maxillofacial Surgery*, 5: 417-422.
- FOLDES FF (1958). Use of muscle relaxants. *Postgrad Med J*, 34: 367-372.
- FRANCIS J (2003). Manifestations of decompression disorders. In: BRUBAKK A, NEUMAN T Bennett and Elliott's Physiology and Medicine of Diving 5th Ed. United States: Saunders, 578-599.
- FROST HM (1962). Model endocrine control system of bone remodeling. Henry Ford Hospital. *Med Bull*, 10:169.
- FUKADA E & YASUDA I (1957). On the Piezoelectric effect of bone. *Journal of the Physical Society of Japan*, 12: 1158-1162.
- GARCÍA CM & ORTEGA DT (2005). Elementos de osteosíntesis de uso habitual en fracturas del esqueleto apendicular: evaluación radiológica. *Revista Chilena de Radiología*, 58-70.
- GARDNER DG, BROWN EM, WINDECK R & AURBACH GD (1978). Prostaglandin E2 stimulation of adenosine 3,5 monophosphate accumulation and parathyroid hormone release in dispersed bovine parathyroid cells. *Endocrinology*, 103: 577.
- GARDNER DG, BROWN EM, WINDECK R & AURBACH GD (1979). Prostaglandin F2 inhibits 3,5 adenosine monophosphate accumulation and parathyroid hormone release from dispersed bovine parathyroid cells. *Endocrinology*, 104:1.
- GARZA HH & CARR DJJ (1997). Neuroendocrine peptide receptors on cells of the immune system. BLALOCK JE (ed) Neuroimmunoendocrinology 3rd Rev. Basel: Karger. *Chem Immunol*, 69: 132-154.
- GAY ESCODA C & BERINI AYTÉS L (2004). Cirugía Bucal. Barcelona: Editorial Océano, 597-652.
- GENESER F (1987). Histología. 3^{ra} Ed Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana SA, 184-340.
- GÓMEZ ALONSO C, NAVES DÍAZ M, RODRIGUEZ GARCÍA M, FERNANDEZ MARTÍN JL & CANNATA ANDÍA JB (2003). Revisión del concepto de suficiencia e insuficiencia de vitamina D. Servicio de Metabolismo Óseo y Mineral. Instituto Reina Sofía de Investigación. Hospital Universitario Central de Asturias. Universidad de Oviedo. *Nefrología (Madrid)*, 23: 73-77.
- GOYANES CAPDEVILA J (1917). Estado actual de la Cirugía Plástica, sus problemas y sus conquistas. Real Academia Nacional de Medicina, Madrid. *E. Tipog. Enrique Teodoro*, 13.
- GREENSPAN A (2006). Radiología de Huesos y Articulaciones. Madrid: Marbán, 47-240.
- GROOTVELD M & HALLIWELL B (1988) 2,3-dihydroxybenzoic acid is a product of human aspirin metabolism. *Biochemical Pharmacology* 37: 271-280.
- GUSTILO RB, MENDOZA RM & WILLIAMS DN (1984). Problems in the management of type III (severe) open fractures: a new classification of type III open fractures. *J Trauma*, 24: 742-746.

- GUTIERREZ GOMEZ J (2008). El proceso de remodelación ósea. *Ortho-tips*, 4: 170-176.
- GUYTON A & HALL JE (2016). Tratado de Fisiología Médica 13^{ra} Ed. Elsevier España SA, 300-1168.
- HAMMARLUND C (1999). The physiologic effects of hyperbaric oxygenation. In: KINDWALL EP & WHELAN HT (ed) *Hyperbaric Medicine Practise* 2nd Ed. Flagstaff Az: Best Publishing Company, 37-68.
- HEATH H (1980) Biogenic amines and the secretion of parathyroid hormone and calcitonin. *Endocr Rev*, 1: 319.
- HELLSTEIN JW (2006). Systematic review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *Ann Intern Med*, 144: 753-761.
- HERNÁNDEZ SAMPELAYO MATOS T, ZARZOSO FERNÁNDEZ S & NAVARRO GÓMEZ ML (2008). Osteomielitis y artritis séptica. En: AEP. Protocolos de infectología. Disponible en: <http://www.aeped.es>
- HOUSSAY B, LEWIS J, ORÍAS O, BRAUN MENÉNDEZ E, HUG E, FOGLIA V & LELOIR L (1952). Fisiología Humana 2^{da} Ed. Año del Libertador General San Martín. Buenos Aires: Librería El Ateneo Editorial, 324-1051.
- IAÑEZ PAREJA E (1999). Curso de Inmunología General: 13. Inmunidad celular. Departamento de Microbiología. Universidad de Granada. Disponible en: <http://www.ugr.es>
- INCE P, ABBAS ZG, LUTALE JK, BASIT A, ALÍ SM, CHOCHAN F, MORBACH S, MOLLENBERG J, GAME FL & JEFFCOATE WJ (2008). Use of SINBAD classification system and score in comparing outcome of foot ulcer management on three continents. *Diabetes care*, 31: 964-967.
- INSTANTIE VOOR DIERENWELZIJN UTRECHT (2014). Experiments on Animals Act. Animal Welfare Body Utrecht. Legislation, Regulations and Guidelines. Disponible en: <https://www.ivd-utrecht.nl>
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFÍA E ESTATÍSTICA (2009). Indicadores sociodemográficos e de Saúde no Brasil, 154. Disponible en: <http://www.ibge.gov.br>
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFÍA E ESTATÍSTICA (2015). Pesquisa Nacional de Saúde. Acceso e utilização dos serviços de saúde, Acidentes e Violências. Brasil, Grandes Regioes e Unidades da Federação, 98. Disponible en: <http://www.ibge.gov.br>
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS Y CENSOS (2015). Informe de mortalidad 2010-14. Ministerio de Salud Nacional, Sistema Estadístico de Salud. Disponible en: <http://www.indec.gov.ar>
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS Y CENSOS (2018). Indicadores de Salud. Tasa de Mortalidad General. Disponible en: <http://www.indec.gov.ar>
- INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE (2016). Guía Armonizada de ICH Anexo Integrado a ICH E6 (R1): Guía para la Buena Práctica Clínica ICH E6 (R2). Disponible en: <https://www.ema.europa.eu>

- IÑURRIETA VE (2007). Los Buzos del Puerto de Mar del Plata 2^{da} Ed. Mar del Plata: Editorial Martín, 306 pp.
- IRIARTE ORTABA J (2006). Empleo de la Oxigenoterapia mediante Cámara Hiperbárica en Cirugía Oral y Maxilofacial. *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial*, 28: 7-24.
- IRRIGUIBLE T (2018). Aumento del aclaramiento de creatinina ¿Cuánto más, mejor? Barcelona: Servicio de Medicina Intensiva, Hospital Germans Triás i Pujol. *J Medin*, 42: 500-503.
- ISAKOV YV, ATROSHCHENKO ZB & GRIGORIEV NI (1980). OHB en la prevención de la infección en el trauma abierto del aparato locomotor. *Vestn Khir*, 10: 117- 121.
- JAFFE R & SAMUELS S (2006). Anestesia con Procedimientos en el Quirófano. Madrid: Marbán Libros SL, 896-908.
- JARA ALBARRÁN A (2011). Endocrinología 2^{da} Ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana SA, 253-378.
- JEROSCH J (2006). Cirugía estándar en Ortopedia y Cirugía Traumatológica. Bogotá: Amolca, 196-362.
- JOHANSEN K, DAINCS M, HOWEY T, HELFET D & HANSEN ST (1990). Objective criteria accurately predict amputation following lower extremity trauma. *J Trauma*, 30: 568-573.
- JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION (2013). Declaration of Helsinki. Disponible en: <https://jamanetwork.com>
- JOURNAL OF CLINICAL ENDOCRINOLOGY & METABOLISM (2012). Scientific Statement: Postmenopausal Hormone Therapy, 95: 1-66.
- KINDWALL E (2008). Hyperbaric Medicine Practice 3rd Ed. Flagstaff: Best publishing Company, 735-790.
- KOCHANNEK KD, MURPHY SL, XU JQ & ARIAS E (2019). Deaths: Final data for 2017. National Vital Statistics Reports. Hyattsville: National Center for Health Statistics, 68: 1-77.
- KOHN D (1997). Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals. New York: Academia Press, 205-228.
- KOMATSU DE & HADJIARGYROV M (2004). Activation of the transcription factor HIF-1 its target genes, VEGF, HO-1, Inos, during fracture repair. *Bone*, 34: 8-680.
- KORUCU I, KEKEÇ A, ARSLAN A, OLTULU P, KORUCU E & OZER M (2014). Regenerative effects of hyperbaric oxygen therapy and the platelet-rich plasma on the osteochondral defects of rats. *Eklem hastalıkları ve cerrahisi*, 31: 260-266.
- KOSTENUIK P, NGUYEN H & MCCABE J (2009). Denosumab, a fully Human Monoclonal Antibody to RANKL. Inhibits bone resorption and increases BMD in knock-in mice that express chimeric (murine/human) RANKL Journal of bone and mineral research. American Society for bone and mineral research, 24:182-195.
- KOURY M & CHAMPY M (1987). Les résultats des ostéosynthèses mandibulaires par plaques miniaturisées vissées. A propos de 800 fractures traitées en dix ans. *Ann Chir Plast Esthet*, 32: 262-266.

- KURLIANDSKI V (1980). Estomatología Ortopédica. Moscú: Editorial Mir, 9-120.
- LADIZESKY MG (1988). Participación de la inervación simpática en la regulación de la secreción de Paratohormona y Calcitonina. Tesis para optar por el grado de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires, 1-151.
- LANE JM & SANDHU HS (1987). Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am*, 2: 25-213.
- LAUNIZAR-GARCÍA ME (2011). Anestesia en el paciente con trauma. *Rev Mex Anest*, 34: 152-154.
- LEACH RM, REES PJ & WILMSHURST P (1998). ABC of Oxygen. Hyperbaric oxygen therapy. *BMJ*, 317: 3-1140.
- LI G & BAKER SP (2012) Injury Research: Theories, Methods, and Approaches. Springer Science & Business Media, 34-43.
- LIEBENSON C (1999). Manual de Rehabilitación de la Columna Vertebral. Ed Paidotribo, 1-521.
- LIN HY, HARRIS TL, FLANNERY MS, ARUFO A, KAJI EH, GORN A, KOLAKOVSKI LF, LODISH HF & GOLDRING SR (1991). Expression cloning of an adenylate cyclase-coupled calcitonin receptor. *Science*, 254: 4-1022.
- LIN CC, HUANG KL, TUNG CS & LIU YP (2019). Hyperbaric oxygen therapy restored traumatic stress-induced dysregulation of fear memory and related neurochemical abnormalities. *Behavioural brain research*, 359: 861.
- LINNAEUS C (1758). Systema naturae: per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Tomo I. Holmiae: Impensis Direct Laurentii Salvii. Editio Decima Reformata, 1-824.
- LINZEY A (1985). The Status of Animals in the Christian Tradition. Birmingham: Woodbrooke College, 8-27.
- LOPEZ TRICAS JM (2011). Teriparatida: Informe técnico, 1-11. Disponible en: <https://www.info-farmacia.com>
- LORRAIN SMITH J (1899) The pathological effects due to increase of oxygen tension in the air breathed. *J Physiol*, 24: 19-35.
- LOVEMAN G (2014). Submarine tower escape decompression sickness risk estimation. *UHMS*, 41: 315-329.
- LUCHEMOS POR LA VIDA ASOCIACIÓN CIVIL (2014) Estadísticas; Muertes por accidentes de tránsito en Argentina 2008-13. Disponible en: <https://www.luchemos.org.ar>
- LUCHEMOS POR LA VIDA ASOCIACIÓN CIVIL (2019) Estadísticas; Muertos en Argentina durante 2019. Disponible en: <https://www.luchemos.org.ar>
- LULLMANN H, MOHR K & HEIN L (2010). Farmacología Texto y Atlas 6^{ta} Ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 86-335.

- LUND V, KENTALA E, SCHEININ H, KLOSSNER J, HELENIUS H, SARIOLA-HEINONEN K & JALONEN J (2000). La Oxígenohiperbárica incrementa la actividad parasimpática en buceadores profesionales. *Acta Physiologica Scandinavica*, 170: 39-44.
- LUNDGREN CEG & FERRIGNO M (1985). Physiology of breath-hold diving. *31st Undersea and Hyperbaric Medical Society Workshop UHMS*, 74: 15-87.
- MACCHI R (2001). Introducción a la Estadística en Ciencias de la Salud. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 5-88.
- MADER JT, BROWN GL, GUCKIAN JC, WELLS CH & REINARZ JA (1980). A mechanism for the amelioration by hyperbaric oxygen of experimental staphylococcal osteomyelitis in rabbits. *J Infect Dis*, 142: 915-922.
- MALLUCHE HH & FAUGERE MC (1990). Bone biopsies: histology and histomorphometry of bone. In: AVIOLI LV, KRANE SN (ed). Philadelphia: WB Saunders Co, 283-328.
- MAN Z (2011). Curso de Extensión Universitaria Osteopatías Metabólicas. Buenos Aires: Universidad Favaloro, 1-165.
- MANSO RUIZ M (2006). Examen físico en perros y gatos, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana, 1-10.
- MARONI JJ (1938). Exploración de miembros inferiores. Buenos Aires: Editorial El Ateneo, 11-175.
- MARTEL I, DOLGANOVA T, NIKOLAICHUK E, SAZONOVA N & DOLGANOV D (2003). La oxigenoterapia hiperbárica en el tratamiento de pacientes con fracturas expuestas utilizando la técnica de Ilizarov. *Vestn Khirln II Crek*, 162: 9-35.
- MARX RE (1983). A new concept in the treatment of osteoradionecrosis. *J Oral Maxillofac Surg*, 41: 351-357.
- MARX RE (1999). Radiation injury to tissue. In: KINDWALL EP *Hyperbaric Medicine Practise* 2nd Ed revised, 665-724.
- MAURY J (2012). Newton y la Mecánica Celeste. Barcelona: Blume, 68-111.
- MAUVESIN G & ESPINOSA C (2011). Buceo, Aspectos Médicos y Fisiológicos 1^{ra} Ed. Mar del Plata: Gráfica Relieve, 19-50.
- MAYO CLINIC (2019). Osteomielitis. Síntomas y causas. Disponible en: <https://www.mayoclinic.org>
- MCKIBBIN B (1978). The biology of fracture healing in long bones. *J Bone Joint Surg Br*, 60: 150-162.
- MCMURRAY TP (1942). The semilunar cartilages. *British Journal of Surgery*, 29: 407-414.
- MELLIBOVSKY SAIDLER L & DÍEZ PÉREZ A (2006) Qué significa la calidad ósea. *Seminarios de la Fundación Española de Reumatología*, 7: 165-176.
- MICHELET FX, DEYMES J & DESSUS B (1973). Osteosynthesis with miniaturized screwed plates in maxillo-facial surgery. *J Maxillofac Surg*. 1: 79-84.
- MILIKOVSKI C (2001). Atlas de Histopatología. Madrid: Marbán, 518-547.

- MIRANDA P (2016). Leyes de los gases. Disponible en: <https://es.slideshare.net>
- MODDER UI & KHOSLA S (2008). Skeletal stem/osteoprogenitor cells: current concepts, alternate hypotheses, and relationship to the bone remodeling compartment. *J Cell Biochem*, 103: 393-400.
- MONTIEL GM (2006). Monografía Gases Ideales. Perú: Universidad Nacional de Piura, 1-41. Disponible en: <https://www.es.slideshare.net>
- MORRISY RT & HAYNES DW (1989). Acute hematogenous osteomyelitis: a model with trauma as etiology. *J Pediatr Orthoped*, 9: 56-447.
- MOSTELLER RD (1987). Simplified Calculation of Body-Surface Área. *The New England Journal of Medicine*, 317-1098.
- MOTT R (2006). Mecánica de Fluidos 6^{ta} Ed. México: Pearson Educación, 52-206.
- MUCCI JM (2014). Mecanismos Fisiopatogénicos involucrados en la patología ósea de la enfermedad de Gaucher. Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. Tesis para optar por el grado de Doctor, 1-107.
- MUHONEN A & LINDHOLM TC (2002). Osteodistraktion of a previously irradiated mandible with or without adjunctive hyperbaric oxygenation: an experimental study in rabbits. *Int. J Oral Maxillofacial Surgery*, 31: 379-404.
- MÜLLER ME (1991). Reconstructive surgery of bone. In: MÜLLER ME, ALLGÖWER M, SCHNEIDER R & WILLENEGGER H (ed). Manual of internal fixation 2nd Ed. Berlin: Springer-Verlag, 19-91.
- MYERS RA (2000). Hyperbaric oxygen therapy for trauma: crush injury, compartment syndrome, and other acute traumatic peripheral ischemias. *Int Anesthcsiol Clin*, 38: 139-151.
- NADELLA KR, KODALI RM, GUTTIKONDA LK & JONNALAGADDA A (2015). Osteoradionecrosis of the jaws. Clinico-Therapeutic Management: A literature review and update. Siddhartha Institute of Dental Sciences. *J Maxillofac Surg*, 4: 891-901.
- NAIDU S & BERGQUIST V (1977). Compartment Syndromes in the Leg: A surgical emergency. *Am Surg*, 43: 303-309.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. INSTITUTE FOR LABORATORY ANIMAL RESEARCH (1996). USA. Washington: Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 1.
- NEER RM, ARNAUD CD, ZANCHETTA JR, PRINCE R, GAICH GA, REGINSTER JY, HODSMAN AB, ERIKSEN EF, ISH-SHALOM S, GENANT HK, WANG O & MITLAK BH (2001). Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *New England J Med*, 344: 1434-1441.
- NELSON D & COX M (2005) Lehninger Principles of Biochemistry 4th Ed. New York: Freeman Company, 1216 pp.
- NILSSON LP (1989) Effects of hyperbaric oxygen treatment on bone healing. An experimental study in the rat mandible and the rabbit tibia. *Swed Dent J Suppl*, 64:1-33.

- NISSEN NN & POLVERINI PJ (1998). Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing. *Am J Pathol*, 152: 52-1445.
- NORMA OFICIAL MEXICANA DE EMERGENCIA (2003). NOM-EM-002-SSA2-2003, para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las infecciones nosocomiales. Disponible en: <http://www.biblat.unam.mx>
- O'BRIEN CA (2010). Control of RANKL gene expression. *Bone*, 46: 911-919.
- OKUBO Y, BESSHO K, FUJIMURA K, KUSUMOTO K, OGAWA Y & IIZUKA T (2001). Effect of hyperbaric oxygenation on bone induced by recombinant human bone morphogenetic protein-2. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 39: 91-95.
- OXIGENACIÓN HIPERBÁRICA AVILA (2020). Isquemia Periférica Traumática Aguda. Blog Casos Clínicos Documentados. Disponible en: <http://www.oxygenacionhiperbaricaavila.com.ve>
- PALMER RMJ, ASHTON DS & MONCADA S (1988). Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*, 333: 664-665.
- PARFITT AM, DREZNER MK, GLORIEUX FH & KANIS JA (1987). Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbol and units. *J Bone Miner Res*, 2: 595-610.
- PAUWELS F (2012). Biomechanics of the locomotor apparatus: contributions on the functional anatomy of the locomotor apparatus. *Springer*, 375.
- PAYAN DG, MCGILLIES JP, REYNOLD FK, MITSUHASHI M & GOETZEL EJ (1987). Neuropeptide modulation of leukocyte function. *Ann NY Acad Sci*, 496: 182-191.
- PÉREZ CARBALLADA J, MAGLIO F, CALVI A, NOGUERAS M & DEL BUEY E, (1984). Actualización sobre Medicina Hiperbárica. *Rev. Pat. Inf y Torácica Hosp Muñiz*, 16-20.
- PFITZNER J (1976). Poiseuille y su ley. *Anestesia*, 31: 5-273.
- PHILIP RB, SCHACHAM P & GOWDEY CW (1971). Involvement of platelets and microthrombi in experimental decompression sickness; similarities with disseminated intra-vascular coagulation. *Aerosp Med*, 42: 494-502.
- PISANÓ A & BARBIERI F (1985). Atlas de anatomía comparada de los vertebrados 3^{ra} Ed. CABA: EUDEBA, 3-261.
- PISARELLO JB (1988). Manual de Oxigenoterapia Hiperbárica. Maryland: UHMS, 25-85.
- PISARELLO JB (2003). Hyperbaric oxygen (HBO₂) in the treatment of Lemierre Syndrome. *Journal of the Undersea and Hyperbaric Medical Society*, 30: 87-91.
- PISAREV M, CARDINALI DP, JUVENAL GJ, VACAS MI, BARONTINI M & BOADO RJ (1981). The role of the sympathetic nervous system in the control of the goitrogenic response in the rat. *Endocrinology*, 109: 2202.
- POBLETE R (1994). Patología arterial y venosa. Santiago de Chile: Sociedad de Cirujanos de Chile, YURI A (ed.) 29-317.

- POTTS JT (1998). Enfermedades de las glándulas paratiroides y otros procesos hipercalcémicos e hipocalcémicos. En: FAUCI AS, BRAUNWALD E, ISSELBACHER KJ, WILSON JD, MARTÍN JB, KASPER DL, HAUSER SL & LONGO DL 14^{ta} Ed. Principios de Medicina Interna. Mc Graw-Hill, Interamericana de España SAU, 56-2534.
- PRADO T & MUÑOZ DE LA ROSA D (2009). Politraumatismo: Accidentes de tránsito. Hospital Ángel C. Padilla, Tucumán (Argentina). *Rev Asoc Argent Ortop Traumatol*, 74:1-7.
- PREIN J, KLOTCH DW, MANSON PN, RAHN BA & SCHILLI W (1998). Manual of Internal Fixation in the Cranio-Facial Skeleton. Springer, 57-93.
- PRESCOTT LM, HARLEY JP & KLEIN D (1999). Microbiología 4^{ta} Ed. Mexico: McGraw Hill Interamericana, 1200 pp.
- PRICE CP & NEWMAN DJ (1987). Principles and Practise of Immunoassay. *J Immunol Methods*, 99: 205.
- PUGACHEV V (1973). Introducción a la Teoría de las Probabilidades. Moscú: Editorial Mir, 11-79.
- RADONIC V, BARIC D, TUDOR M, BILL B, KOVACEVIC H & GLAVINA-DURDOV M (1995). Die vasculare Kriegswunden. *Chirurg*, 66: 6-883.
- RAGGATT LJ & PARTRIDGE NC (2010). Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. *J Biol Chem*, 285: 25103-25108.
- RAMOS ESPADA D, GONZALEZ MONTESINOS JL & VICENTE JM (2007). Propuesta de test de evaluación de la movilidad articular y estudio de los acortamientos musculares en una población de educación secundaria obligatoria. Universidad de Cádiz. *Rev Int Med Cienc Act Fis Dep*, 26: 144-157.
- RASPALL G (2006). Cirugía Oral e Implantología de 2^{da} Ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 162-235.
- RHINELANDER FW (1968). The normal microcirculation of diaphyseal cortex and its response to fracture. *J Bone Joint Surg Am*, 50: 784-800.
- RIANCHO JA & DELGADO-CALLE J (2011). Mecanismos de interacción osteoblasto-osteoclasto. Santander (España) *J Reuma*, 7: 1-4.
- RICHARDSON D, KINSELLA J & SHREEVES K (2008). The Encyclopedia of Recreational Diving. California: PADI, 3-83.
- RIDGE IL (1985). Manual of Orthopaedic Surgery. American Orthopaedic Association: Chicago, 100 pp.
- RIDLEY R (2009). Good Laboratory Practice (GLP) World Health Organization 2nd Ed. Lausanne: Onprod, 9-289.
- RISEMAN JA & ZAMBONI WA (1990). Hyperbaric oxygen therapy for necrotizing fasciitis reduces mortality and the need for debridements, 108: 847-50.
- ROSENBERG IH (1997). Sarcopenia: origins and clinical relevance. *The journal of nutrition*, 127: 990-991.

- ROSLER R (2014). El hipotálamo y sus funciones. Asociación Educar para el Desarrollo Humano. Disponible en: <https://www.asociacioneducar.com>.
- ROUVIÉRE H & DELMAS A (1994). Anatomía Humana. Tomo III: Miembros; Sistema Nervioso Central. 9^{na} Ed. Barcelona: Gráficas Aleu SA, 308-720.
- ROWE DJ & ASUMAN E (1980). The effects of calcitonina y colchicine on the cellular response to diphosphonate. Medline: *Br J Exp Pathol*, 61: 303-309.
- RUDY R, BRINKER W, BUTLER H, DE ANGELIS M, DOWNER A, DUELAND R, FLO G, HOHN RB, KNECHT C, LEIGHTON R, NUNAMAKER D, POND M, ROSEN H & APEAR V (1981). Manejo de las fracturas de los miembros en los pequeños animales. Clinicas veterinarias de Norteamérica. Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur SA, 3-193.
- RUSSELL WMS & BURCH RL (1959). The principles of humane experimental technique. The sources, incidence, and removal of inhumanity. London: Methuen, 1-189.
- SARLI MA, ZANCHETTA MB, REY PG & SPIVACOW RF (2013). Tratamiento de la osteoporosis grave con Teriparatide. *Medicina (Buenos Aires)*, 73: 428-432.
- SARMIENTO A (1974). Functional bracing of tibial fractures. *Clin. Orthop*, 105-202.
- SAWAI T, NIIMI A, JOHANSSON CB, SENNERBY L, OZEKI K, TAKAHASHI H, ALBREKTSSON T & UEDA M (1998). The effect of hyperbaric oxygen treatment on bone tissue reactions to c.p. titanium implants placed in free autogenous bone grafts. A histomorphometric study in the rabbit mandible. *Clin Oral Implants Res*, 6: 384-397.
- SCHNEIDER A, KRUGER C, STEIGLEDER T, WEBER D, PITZER C, LAAGE R, ARONOWSKI J, MAURER MH, GASSLER N, MIER W, HASSELBLATT M, KOLLMAR R, SCHWAB S, SOMMER C, BACH A, KUHN HG & SCHABITZ WR (2005). The hematopoietic factor G-CSF is a neuronal ligand that counteracts programmed cell death and drives neurogenesis. *J Clin Invest*, 115: 98-2083.
- SCHNEIDERS AG, SULLIVAN SJ, HENDRICK PA, HONES BD, MCMASTER AR, SUGDEN BA & TOMLINSON C (2012). The ability of clinical tests to diagnose stress fractures: a systematic review and meta-analysis. *J Orthop Sports Phys Ther*, 42: 760-771.
- SCHURMAN L, BAGUR A, CLAUS-HERMBERG H, MESSINA OD, NEGRI AL, SANCHEZ A, GONZALEZ C, DIEHL M, REY P, GAMBA J, CHIARPENELLO J, MOGGIA MS & MASTAGLIA S (2013). Guías 2012 para el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de la osteoporosis. *Medicina (Buenos Aires)*, 73: 55-74.
- SEILICOVICH A (2003). Citoquinas y Regulación Hipofisaria. *RAEM*, 40: 24-25.
- SEYLE H (1946). The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. *The journal of clinical endocrinology*, 6: 177-230.
- SHALL P & WAPNIR I (1995). Compartment Syndrome in Combined Arterial and Venous Injuries of the Lower Extremity. *Am J Surg*, 158: 136-141.

- SHAW F, WINYARD P, SMERDON G, BRYSON P, MOODY A & EGGLETON P (2009). Hyperbaric oxygen treatment induces platelet aggregation and protein release, without altering expression of activation molecules. *J Clin Biochem*, 42: 467-476.
- SHEFFIELD PJ (1988). Tissue Oxygen Measurements. In: Problem wounds. The role of Oxygen. DAVIS JC & HUNT TK (eds) New York: Elsevier, 17-51.
- SILBERMAN F & VARAONA O (2010). Ortopedia y Traumatología 3^{ra} Ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 3-446.
- SILBERNAGL S & LANG F (2010). Fisiopatología, texto y atlas 3^{ra} Ed. Madrid, 132-145.
- SOKAL R (1995). Introducción a la Bioestadística. Barcelona: Editorial Reverté, 5-180.
- SOUTHWOOD R (2003). The story of life. Oxford University Press, 19-35.
- STEDMAN TL (1997). Diccionario de Ciencias Médicas 25^{ta} Ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 460-1066.
- STRAUSS MB (1981). Role of hyperbaric oxygen therapy in acute ischemias and crush injuries, an orthopedic perspective. *HBO Review*, 2: 87-108.
- STRAUSS MB (1999). Crush injury, compartment syndrome and other acute traumatic peripheral ischemias. In: KINDWALL EP & WHELAN HT (eds) Hyperbaric Medicine Practice 2nd Ed revised. Best Publishing Company, 753-778.
- STRAUSS MB (2002). Hyperbaric Oxygen for Crush Injuries and Compartment Syndromes. In: KINDWALL EP (ed) Hyperbaric Medicine Practise. Flagstaff AZ: Best Publishing Company, 344.
- STRAUSS MB (2012). The effect of hyperbaric oxygen in crush injuries and skeletal muscle-compartment syndromes. *Undersea Hyperbaric Medicine*, 39: 847-855.
- SUBBOTINA N (2006). Medicina Hiperbárica. Buenos Aires: Altuna Impresores, 3-204.
- SWINDLE PF (1943). The possible relationship between intravascular agglutination of erythrocytes and decompression sickness. *Rep Com Aviat M Nat Res Counc (Washington)* 178: 7.
- TAI PA, CHANG CK, NIU KC, LIN MT, CHIU WT & LIN JW (2010). Reduction of ischemic and oxidative damage to the hypothalamus by hyperbaric oxygen in heatstroke mice. Hindawi Publishing Corporation. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 1-11.
- TANAKA Y & MORIMOTO I (1995). Osteoblast are regulated by cellular adhesion through ICAM-1 and VCAM-1. *Journal of bone and Mineral Research*, 10: 1462-1468.
- TEJADA-VERA B (2019). Leading causes of deaths: United States, 1999-2017. National Center for Health Statistics, 68: 1-77. Available at: <https://www.cdc.gov/nchs/products/index.htm>
- TEME A (2005). Pie Diabético en Riesgo. Córdoba: Talleres Gráficos Antinori, 65-150.
- THALMANN E (1997). Improved probabilistic decompression model risk predictions using linear-exponential kinetics. *UHMS*, 24: 255-274.
- THOM SR (2011). Hyperbaric oxygen-its mechanisms and efficacy. *Plast Reconstr Surg*, 127: 131-141.

- TITTERINGTON WP (1971). Osteomyelitis and osteoradionecrosis of the jaws. *J Oral Med*, 26: 7-16.
- TJARNSTROM J, HOLMDAHL L, ARNELL P, FALKENBERG M & RISBERG B, (1999). Treatment with hyperbaric oxygen affects endothelial cell fibrinolysis. *Eur J Surg*, 165: 8-834.
- TRI-COUNCIL POLICY STATEMENT 2 (2018). Ethical Conduct for Research Involving Humans. Canada. Disponible en: <https://ethics.research.ubc.ca>
- TRIPLETT RG & BRANHAM GB (1981). Treatment of experimental mandibular osteomyelitis with hyperbaric oxygen and antibiotics. *Int J Oral Surg*, 10: 178-182.
- UENG S, LEE S, LIN S, WANG C, LIU S & YANG H (1998). Bone healing of tibial lengthening is enhanced by hyperbaric oxygen therapy: A study of bone mineral density and torsional strength on rabbits. *Journal of trauma-injury infection and critical care*, 44: 676-681.
- UNDERSEA & HYPERBARIC MEDICAL SOCIETY (2011). Indications for Hyperbaric Oxygen Therapy. Available at: <https://www.uhms.org>
- UNIVERSITY OF BIRMINGHAM & UNIVERSITY OF KEEL (2012). Technical Report: Hyperbaric oxygen therapy. West Midlands Commissioning Support Unit and Keel School of Pharmacy, 31. Available at: <https://www.birmingham.ac.uk>
- URIST MR (1965) Bone: formation by autoinduction. *Science*, 12: 893-899.
- VELÁSQUEZ FFH (2009). Histomorfometría de la biopsia ósea previo marcaje y procesada sin descalcificar. *Patol Rev Latinoam*, 47: 108-117.
- VELDMAN PHJM, REYNEN HM, ARNTZ IE & GERIS RS (1993). Signs and symptoms of reflex sympathetic dystrophy, prospective study of 829 patients. *Lancet*, 342: 6-1012.
- VICO CANO J, VÍRSEDA CHAMORRO I, GARCÍA DE GUARDIANA L & CANALDA M (2004). Medida de la concentración urinaria: densidad vs osmolalidad. Hospital Central de la Defensa. *An Clin*, 29: 49-56.
- VIDAL FERNADEZ C & LÓPEZ LONGO F (2001). Exploración de lesiones osteoarticulares: dolor e inflamación. Madrid: Luzán 5 SA Ediciones, 1-128.
- VILLARREAL BRITO M, ALVAREZ PEREZ MA & MARICHI RODRIGUEZ FJ (2013). Expresión de la osteocalcina en el ligamento periodontal al inducir fuerzas ortodóncicas. *Rev Odonto Mex*, 17: 144-184.
- WAGNER FW (1981). The dyvascular foot: a system of diagnosis and treatment. *Foot Ankle*, 2: 64-122.
- WALKER P (1996). The Wordsworth Dictionary of Science and Technology, WR Chambers Ltd Edimburgh-Cambridge University Press-Wordsworth Editions Ltd Hertfordshire, 1024 pp.
- WAXMAN SJ (2011). Diencéfalo. *Neuroanatomía Clínica* 26^{ta} Ed. Ciudad de México: McGraw-Hill Interamericana, 120-121.
- WEINER N & TAYLOR P (1986). Transmisión neurohumoral: los sistemas nerviosos autónomo y motor somático. En: Goodman y Gilman; Las bases Farmacológicas de la terapéutica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 79.

- WELLS CH, GOODPASTURE JE & HERRIGAN DJ (1977). Tissue gas measurements during hyperbaric oxygen exposure. Proceedings of the Sixth International Congress on Hyperbaric Medicine. Aberdeen: Aberdeen University Press, 118-124.
- WEST JB (2005). Fisiología Respiratoria 7^{ma} Ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 1-202.
- WHITESIDES L, COTTO-CUMBA C & MYERS R (2000). *Journal of oral and maxillofacial surgery*, 58: 144-151.
- WILCOX D, DOVE B, MCDAVID D & GREER D (2002). UTHSCSA Image Tool for Windows, Version 3. San Antonio: University of Texas Health Sciences Center (USA).
- WILKINSON FF, CALORI BA, ROSASCO SA & RUBIO RA (1970). Oxígeno hiperbaro: su influencia en el metabolismo intermedio en enfermos de Lepra lepromatosa. *Fontilles Rev Leprología*, 7: 565-572.
- WILKINSON FF, ROSASCO PALAU SA, BESUSCHIO S, CALORI BA & BERTHOLDS M (1987). Hyperbaric Oxygenation (HBO) as a Complementary Treatment of Patients with Multibasillary Lepromatous Leprosy. *Jap J Leprosy*, 56: 159-165.
- XIE ZX & LI CY (2007). Changes in arterial flow after flap grafting under various tensions. *Clin Rehabil Tissue Eng Res*, 11: 5004-5005.
- YEFUNI S (1986). Manual de la Oxigenoterapia Hiperbárica. Ed Moscú Medicina, 65-78.
- ZAMBONI W (1993). Analisis morfológico de la microcirculación durante la reperfusión de la isquemia en músculo esquelético y el efecto de OHB en un modelo animal con ratas de laboratorio. *Plast Reconst Surg*, 91: 1110-1123.
- ZAMBONI W, ORIANI G, MARRONI A & WATTEL F (1996). Applications of hyperbaric oxygen therapy in plastic surgery. Handbook of Hyperbaric Medicine. Milan: Springer-Verlag, 441-483.
- ZANCHETTA MB (2012). Evaluación de la microarquitectura ósea mediante tomografía computada periférica de alta resolución (HR-pQCT). Aplicaciones clínicas. *Actual Osteol*, 8: 29-38.
- ZANCHETTA J & TALBOT J (2001). Osteoporosis; Fisiopatología, diagnóstico, prevención y tratamiento. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana SA, 39-64.
- ZAR J (1996). Bioestadistical Analysis 3th Ed. New Jersey: Prentice Hall (USA) 707.

APÉNDICES

Apéndice A. Modelo experimental de extrapolación para Traumatología y Osteología.

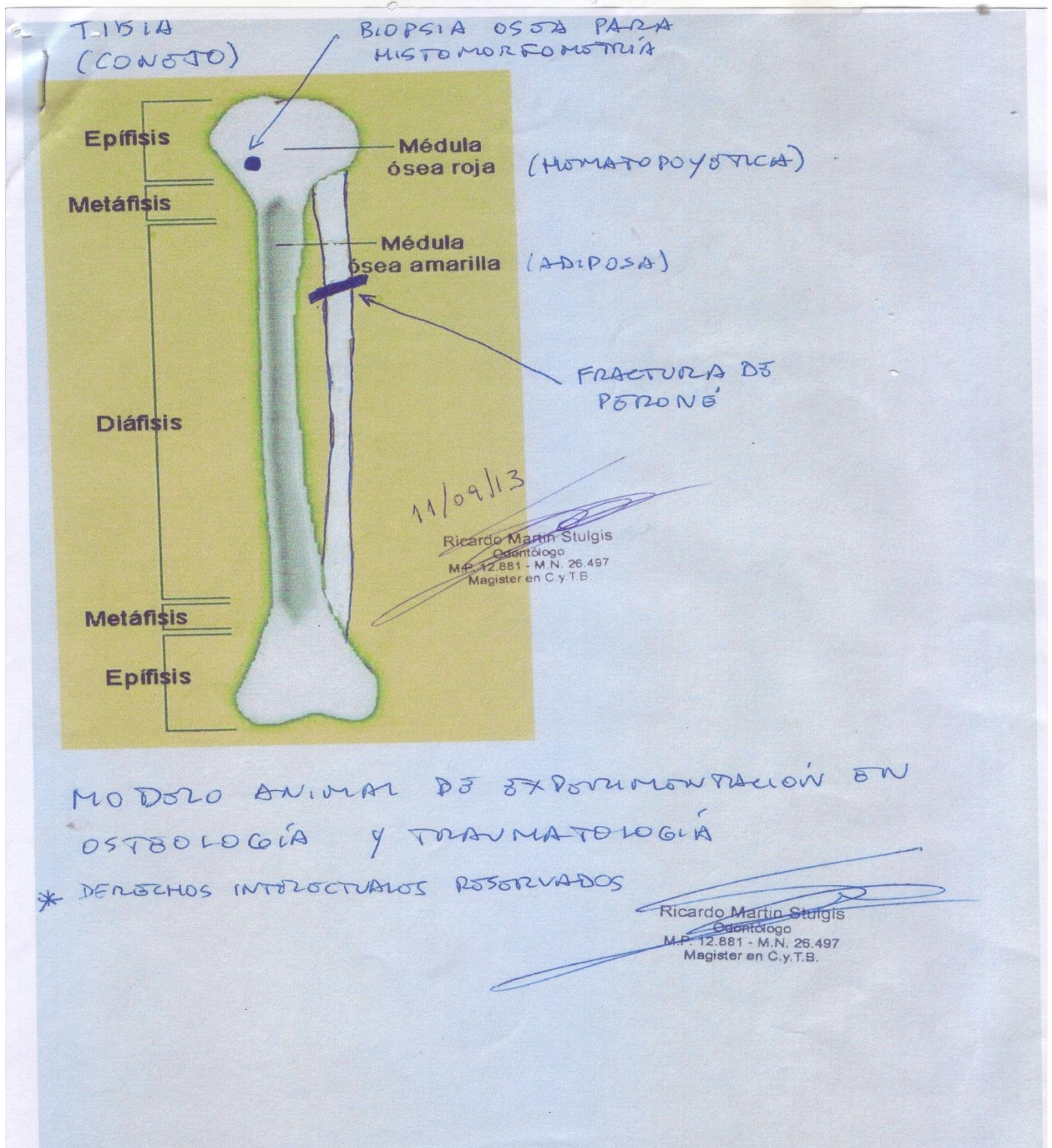


Figura 267. Esquema topográfico de las lesiones óseas.

Apéndice B. Fotografías: procedimientos experimentales y espacios de trabajo.



Figura 268. SOHBE Bioterio FCV (UNLP).



Figura 269. Sistema experimental OHB (SOHBE).



Figura 270. O₂ 100% 2,4 ATA.



Figura 271. Trabajo del equipo quirúrgico.



Figura 272. Maniobras quirúrgicas, abordaje.



Figura 273. Sala de operaciones del quirófano.



Figura 274. Separación y uso de trefina.



Figura 275. Cirujano veterinario.



Figura 276.Coordinación de tareas, roles definidos. Figura 277. Espacio de recuperación FCAYF-UNLP.

Apéndice C. Fotografías: Cámaras Hiperbáricas Clase A, B y C.



Figura 278. Monoplaza (Clase B) Vickers, Pabellón Quemados. HIGA San Martín de La Plata (ARG).
 Figura 279. Unidad de Soporte Vickers. HIGA San Martín de La Plata.



Figura 280. Vista frontal: ingreso de pacientes. Monoplaza HIGA San Martín de La Plata.
 Figura 281. Vista distal, N° serie y Presión máx: 30 PSIG. HIGA San Martín de La Plata.

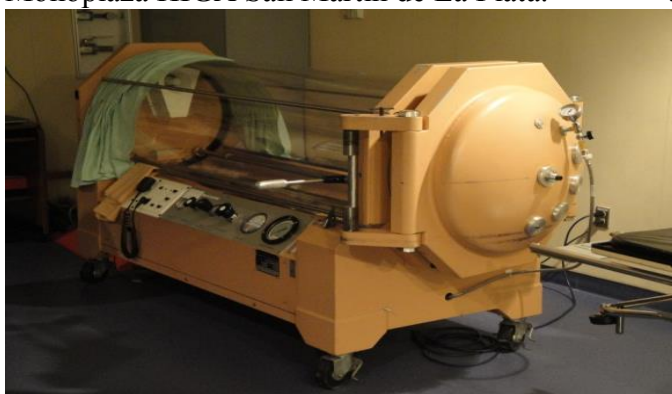


Figura 282. Toronto General Hospital (TGH).
 Figura 283. Pan-America Hyperbarics Inc. (TX-USA)

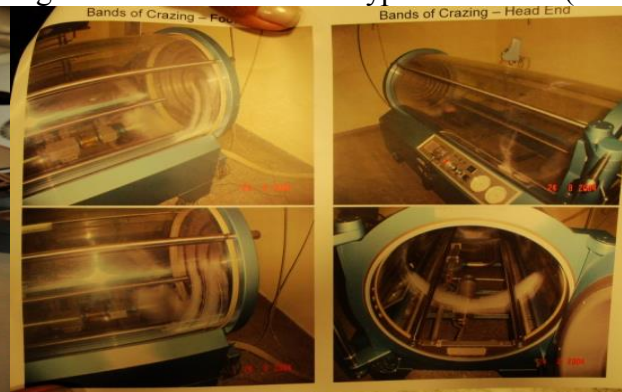


Figura 284. Fisurómetro para Plexiglás ATMO-SAUHMA 2011, Brasil (BR).
 Figura 285. e.g. Cartucho monoplaza con "crazing", (agrietamiento) del Plexiglás. ATMO-SAUHMA.



Figura 286. Multiplaza “Clase A” Rectangular Fink Engineering (AUS). TGH, Canadá.



Figura 287. Cámara de experimentación “Clase C” Ecotec. San Pablo (BR).



Figura 288. Multiplaza en Quilmes, Bs. As. (ARG).



Figura 289. ARA ESSB Mar del Plata (ARG).



Figura 290. ARA Multiplaza Clase “A” COMEX, Htal. Naval Pedro Mayo (HNPM). (CABA-ARG)



Figura 291. ARA Consola de Comando COMEX (HNPM).



Figura 292. Mar del Plata (ARG).



Figura 293. Buceo “Folias”, Puerto Madryn (ARG).

Apéndice D. Cronología de la OHB.

- ca. 540 a. C. Anaxímedes de Mileto en *Periphyseos* definió al aire como el material del que se componía todo el universo.
- ca. 400 a. C. Hipócrates asociaba los cuatro elementos con cuatro humores conocidos como bilis amarillo (fuego), bilis negra (tierra), flema (agua) y sangre (aire).
- ca. 356 a. C. Aristóteles sabio contemporáneo de Alejandro Magno, menciona las primeras referencias históricas sobre el uso de campanas de buceo para la pesca de esponjas, rescate de elementos. **(Aldao, 1954)**
- 1662 Henshaw (RU) crea la primera cámara hiperbárica, descubrió que enfermedades crónicas respondían mejor al tratamiento hipobárico, y las agudas a la terapéutica hiperbárica.
- 1772-77 descubrimiento simultáneo del oxígeno por Scheele y Priestley. **(Bellis, 2020)** Lavoisier renombró el “aire esencial” como oxígeno.
- 1843 Siebe desarrolló el primer traje y escafandra de buceo. Utilizó un modelo animal de rana para demostrar que la descompresión generaba burbujas y que la recompresión las resolvía.
- 1860 primera cámara hiperbárica en el continente americano: Oshawa, Ontario, Canadá.
- 1879 Fontaine, cirujano, desarrolló la primera sala de operaciones presurizada móvil, mejorando el efecto de la anestesia (óxido nítrico) y la cicatrización postoperatoria.
- 1878 Paul Bert creador de la baromedicina, estudió como cambios en la presión atmosférica modifican las respuestas fisiológicas. **(Perez Carballada et al., 1984)** En su trabajo *La Pression Barometrique* describe los efectos de una elevada PaO₂ en el SNC. **(Bert, 1878)**
- 1859 Monturiol construye el primer sumergible pesquero *Ictíneo I*.
- 1888 Peral, en España, bota el primer submarino militar de la historia contemporánea, el *submarino peral*, 22 m de eslora, propulsión de dos motores eléctricos alimentados por una batería de 613 elementos, periscopio y tres torpedos.
- 1895 primer proceso viable para producir oxígeno líquido desarrollado por Carl von Linde y William Hampson.
- 1898 el físico William Thomson, calculó que el oxígeno que permanece en el planeta tiene solo unos 400 o 500 años.
- 1907 Dräger obtuvo la patente por el desarrollo del *Pulmotor original*. Primer ventilador mecánico.
- 1908 en medio de una carrera tecnológica internacional para dominar el ambiente submarino, Boycott, Damant y Haldane publicaron *La prevención de la enfermedad del aire comprimido*. El trabajo presentó las primeras tablas de descompresión para hacer el buceo más seguro en base a un modelo experimental con 85 cabras. **(Boycott et al., 1908)**
- 1916 en Italia Alberto Gianni construyó la primera cámara de descompresión: la “cassa disazotatrice”.
- 1930 Damant y Philips comprobaron el efecto benéfico del oxígeno a presión, se dan las pautas para su uso seguro. Tiempos de descompresión más reducidos después del buceo.
- 1928 Construcción en Cleveland, Ohio (EEUU) de un hospital hiperbárico de cinco pisos: la *esfera de acero* (steel ball) de 20 m de diámetro. El más grande alguna vez construido, con 12 camas por nivel.
- 1941-43 se introdujo el uso del oxígeno para terapia de patologías por descompresión, hasta ese entonces se utilizaba aire. Cousteau y Gagnan inventan el primer equipo de buceo autónomo *Aqua-Lung*.
- 1967 inició sus actividades la *Undersea Medical Society* de la Universidad de Pennsylvania. Sus objetivos en el desarrollo de la OHB incluyeron: promover el desarrollo científico, protocolizar tratamientos, determinar indicaciones precisas y normas de seguridad para el Medicare. Posteriormente se renombró *Undersea and Hyperbaric Medical Society* (UHMS) en 1986. **(Chandler, 2007)**

Figura 294. Cronología de la OHB.

Apéndice E. Hitos históricos de OHB en Argentina.

-1879-1926 en Argentina la evolución de la baroterapia estuvo ligada a la historia naval. En los talleres (Rio Santiago, Tigre, Zárate, Puerto Belgrano) se construyeron las cámaras que equiparon las estaciones de salvamento de la Armada Argentina (ARA), algunas de ellas aún prestan servicio, tal es el caso de la existente en la Escuela de Submarinos y Buceo (ESSB) de la ciudad de Mar del Plata. **(Iñurrieta 2007)**

-1960 Rosasco, Wilkinson y Calori comenzaron a utilizar OHB en el tratamiento de lepra lepromatosa en el Leprosario de General Rodríguez y en el Hospital Pirovano. **(Wilkinson et al 1970)**

-ca. 1970-80 el Hospital Naval Pedro Mayo (HNPM) y la Base Naval de Mar del Plata (ARA) contaban con servicios multiplaza Galeazzi y Compañía Marítima de Expertos (COMEX). La ESSB de Mar del Plata (ARA) sumó un simulador de buceo de hasta 60 m de profundidad para formación profesional e industria petrolera.

En la misma década se crearon servicios públicos monoplace Vickers en el HIGA San Martín de La Plata, Pcia. Bs. As. **(Daroda 1985)** y el Hospital Muñiz de CABA **(Perez Carballada 1984)**.

-1986 Spirito y Lehmann crean la Sociedad de Medicina Hiperbárica.

-1990 inauguración del Centro Hiperbárico del Hospital Naval Puerto Belgrano (HNPB), se adaptó un pabellón de dicho hospital para la instalación de una cámara multiplaza donada por la Universidad de Pennsylvania.

-1997 Pisarello y Espinosa crean la SAMHAS.

-2010 inició sus actividades el Servicio de OHB en Puerto Madryn.

-2011 volvió a funcionar un servicio de oxigenoterapia hiperbárica en el Hospital Naval Ushuaia (HNU), Centro Hiperbárico Arnaldo Herrera. En los centros hiperbáricos de los HHNN se administra un promedio de 6500 dosis de OHB cada año.

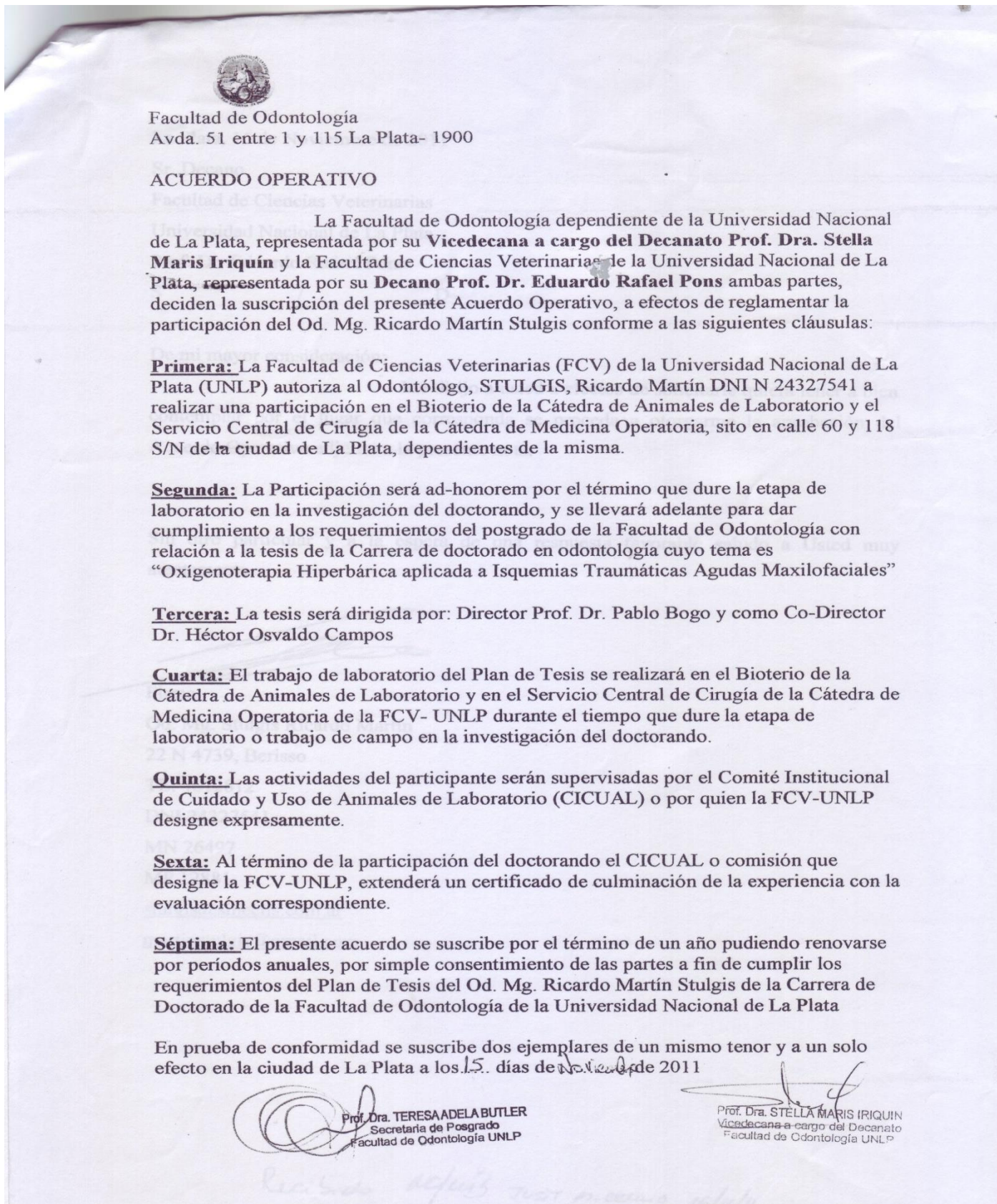
-2019 la Red Nacional de Servicios Hiperbáricos argentina cuenta en total con 22 servicios de OHB, estatales y privados. **(Campos 2019)**

Figura 295. Hitos históricos de OHB en Argentina.

Anexos

Anexo A. Documentación Respaldata.

-Acuerdo Operativo FOLP-FCV (UNLP). Foja 1 de 1.



-Admisión en Sociedad Argentina de Investigación Odontológica (SAIO).

Foja 1 de 1.



SOCIEDAD ARGENTINA DE INVESTIGACIÓN ODONTOLÓGICA
International Association for Dental Research
División Argentina

Buenos Aires, 12 de julio de 2012

Estimados *Nuevos Socios*:

La Sociedad Argentina de Investigación Odontológica tiene el agrado de comunicarles que, luego de la evaluación de las solicitudes de admisión enviadas oportunamente, la Comisión Directiva ha aceptado el ingreso a la Sociedad de los nuevos socios que se detallan a continuación, a partir del día 12 de julio de 2012:

Noelia Ramos (*socia odontóloga*)
Amalia Alfonsin (*socia odontóloga*)
Basilio Victorio Pawlusiak (*socio odontólogo*)
Carlos Daniel Gigena (*socio odontólogo*)
José Arturo Cacciamano (*socio odontólogo*)
Ricardo Martín Stulgis (*socio odontólogo*)
Carolina Alejandra Martinik (*socia Licenciada en Nutrición*)
Daiana Maricel Cuevas (*socia estudiante*)
Stephany Emilce Calvo (*socia estudiante*)
Camila Anabella Argañaraz (*socia estudiante*)
María Soledad Penso (*socia estudiante*)
Viviana Mastrangelo (*socia estudiante*)
Ramiro Ubertone (*socio estudiante*)
Nicolas Gabriel Cuchero (*socio estudiante*)

Los propósitos de la Sociedad Argentina de Investigación Odontológica son promover el avance de la investigación de todas las ramas de la ciencia odontológica, de otras ciencias relacionadas con la salud bucal y con el organismo como un todo, y mejorar la comunicación y cooperación entre los investigadores con el objetivo de lograr mayores beneficios para toda la población.

Con el deber y la plena convicción de llevar adelante esta misión, la Sociedad Argentina de Investigación Odontológica recibe a *sus nuevos socios* con una cordial bienvenida.

Atentamente,

Sociedad Argentina de Investigación Odontológica

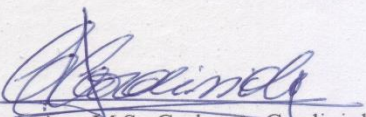
La Plata, 24 de Agosto de 2012


CERTIFICADO SANITARIO

Los animales entregados al Od. Mg. Ricardo Martín Stulgis para el trabajo de tesis "Oxigenoterapia Hiperbárica aplicada a Isquemias Traumáticas Agudas Maxilofaciales" para optar al Título de Doctor en Odontología por convenio operativo Facultad de Ciencias Veterinarias-Facultad de Odontología Universidad Nacional de La Plata (FOLP), aceptado para su realización por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) y el Comité de Ética de la Carrera de Doctorado de la FOLP pertenecen al Criadero de la Cátedra de Reproducción Animal Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata.

En estos animales se realiza periódicamente monitoreo microbiológico parasitológico, serológico y bacteriológico de rutina.

Los animales, todos ellos conejos de raza californiana, a la fecha tienen ocho meses de edad, peso 3600 g- 4100g, machos, identificados con tatuajes. En buen estado sanitario con tratamiento preventivo antiparasitario de Ivermectina y sulfas siguiendo un cronograma preestablecido. Se encuentran libres de enfermedad clínica por lo que su estado sanitario es aceptado para ser utilizados en experimentación animal.


Ing. Agr. M Sc Carlos A. Cordiviola


Méd. Vet. RAUL A. LACCHINI
Profesor Titular
Introducción a la Zootécnica

-Prueba Piloto: Informe elevado al CICUAL FCV (UNLP).

Foja 1 de 1.

La Plata 16 de Noviembre de 2011

Sra. Directora de Ciencia y Técnica
Dra. Adriana Raquel Massone

Me dirijo a usted a fin de completar los ítems solicitados por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio pertenecientes al Protocolo para el Uso de Animales de Investigación Científica del Proyecto y Plan de Tesis Doctoral "Oxigenoterapia Hiperbárica aplicada a Isquemias Traumáticas Agudas Maxilofaciales".

1-Localización de los animales: jaulas metálicas con un área de 30 cm. por 40 cm. Instalaciones del Curso de Introducción a la Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de La Plata.

a- Temperatura de postoperatorio inmediato 18 a 21 grados centígrados 24hs en Servicio Central de Cirugía, luego ambiente en jaulas anteriormente descriptas en predio cerrado perteneciente a la Facultad de Agronomía.

b- Alojamiento individual, exclusivo para los animales.

2- Origen de los animales: Curso de Introducción a la Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de La Plata.

3-Localización del defecto óseo: zona ubicada en la metáfisis proximal de la tibia. El mismo se provoca con una aguja trefina para obtener una muestra ósea bicortical junto a tejido esponjoso. En el mismo abordaje quirúrgico se realizará una fractura simple de peroné.

4- Vía de extracción de sangre: vena marginal de la oreja hasta 2 ml por toma.

5- Método de eutanasia: "Euthanyle" Pentobarbital sódico 40g. y Difenhidantoina sódica 5g. 0,2 ml. por kg. de peso. Vía endovenosa.

6- Métodos de analgesia: Pre anestésico Morfina 2mg/kg- Acepromacina 1mg/kg IM
Intranestésico Fentanilo 0,02-0,04 mg/kg IM
Postoperatorio Ketoprofeno 10 mg, 0,2ml. por kg de peso
(2mg/kg) 1 por día hasta 3 días consecutivos. Vía SC, IM.

Se adjunta a la presente nota la solicitud Acuerdo Operativo FOLP-FCV (UNLP)

Integrantes adicionales del grupo del proyecto/investigación:

Estadístico UNLP Santiago Corva

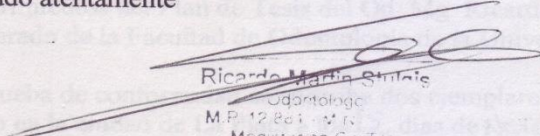
Alumno de grado FCV-UNLP Leandro Vecchio

Fecha estimada de inicio: 15/02/2012

Fecha estimada de terminación: 15/04/2012

Se notificará oportunamente al CICUAL toda modificación o corrección metodológica, estadística o técnica que requiera el protocolo para su correcto desarrollo y finalización.

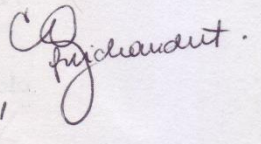
Saludo atentamente


Ricardo Martín Stelais
Odontólogo
M.P. 12.861 - M.T.S.
Magister en C.y.T.B.

(0221) 461-2812

(0221) 154085344

stelais@instituto.com.ar

Recibido
16-11-11


-Trabajo de Laboratorio en Bioterio, Quirófano y Servicio de Radiología FCV (UNLP): Informe elevado al CICUAL FCV (UNLP).

Foja 1 de 6.

La Plata 10 de Octubre de 2012

Sra. Directora de Ciencia y Técnica
Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad Nacional de La Plata
Dra. Adriana Raquel Massone

De mi mayor consideración:

Me dirijo a usted a efectos de actualizar el estado de evolución en que se encuentra el trabajo de campo del proyecto de investigación. Desearía manifestar mi agradecimiento a la Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV) de la UNLP por otorgarme con enorme paciencia y colaboración el tiempo necesario para lograr las condiciones necesarias para el correcto inicio de las actividades planificadas. La fecha estimada originalmente de inicio para el 15 de Febrero de 2012, fue prorrogada para la primera semana de Abril de 2012 donde se dio comienzo al acondicionamiento de una sala gentilmente cedida temporalmente por el Bioterio de la FCV para instalar la cámara hiperbárica de experimentación. Debido a las numerosas dificultades metodológicas encontradas, propias del proyecto, y percibiendo que el tiempo requerido sería más amplio del esperado, opté por no aceptar el otorgamiento de una licencia de la Facultad de Odontología UNLP, donde ejerzo tareas docentes. Finalmente llevó casi ocho meses, desde Febrero de 2012 hasta Septiembre de 2012, contar con las condiciones optimas para dar comienzo a las actividades.

AVANCE DE PROTOCOLO PARA EL USO DE ANIMALES EN LA INVESTIGACION CIENTIFICA

Comité Institucional para el cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio Facultad de Ciencias Veterinarias- UNLP

Cátedra/Servicio: Bioterio FCV UNLP

Proyecto

Título del Proyecto: **“Oxigenoterapia Hiperbárica aplicada a Isquemias Traumáticas Agudas Maxilofaciales”**

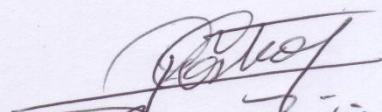
Convenio operativo FCV-FOLP para optar al título de Doctor en Odontología U.N.L.P.

Nombre del Responsable del Proyecto: Ricardo Martín Stulgis

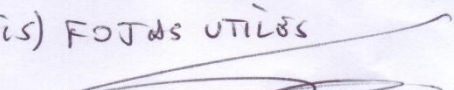
Correo electrónico:

Teléfono: (0221) 4612812 / celular (0221) 154085344

Domicilio: Calle 22 N 4739 Berisso (1923), Pcia. Bs. As.


Ricardo Martín Stulgis
10-10-12

6 (seis) FOTOS UTILES


Ricardo Martín Stulgis
Odontólogo

-Servicio Anatomía Patológica HIBA: certificado retiro de preparados, informes e imágenes de histomorfometrías óseas.

Foja 1 de 1.

C.A.B.A, 28 de Junio de 2013

Ref. Retiro de preparados, informes e imágenes Histomorfometría Osea HIBA

Proyecto: "Oxigenoterapia Hiperbárica aplicada a Isquemias Traumáticas Agudas Maxilofaciales"

Tesis para optar al Título de Doctor en Odontología por convenio operativo Facultad de Ciencias Veterinarias-Facultad de Odontología Universidad Nacional de La Plata (FOLP), aceptado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) y el Comité de Ética de la Carrera de Doctorado de la FOLP Od. Mg. UNLP Ricardo Martín Stulgis

Titular y diseñador del proyecto de modelo animal de experimentación en pequeños animales de laboratorio, modelo de extrapolación humana para traumatología ósea maxilofacial y extremidades.

Derechos intelectuales reservados

Por medio de la presente, el que suscribe, Dra. Ana Alceste Morandi Servicio Anatomía Patológica del Hospital Italiano de Buenos Aires declaro y manifiesto que durante la prestación y/o cumplimiento de servicios y tareas profesionales al Od. Mg. Ricardo Martín Stulgis M.N. 26497 M.P.12881, entrego 23 (veintitres) preparados de tejido óseo procesados por histomorfometría ósea, con sus respectivos 23 (veintitres) informes histopatológicos e imágenes, recibo como pago \$700 (pesos setecientos) por el servicio prestado.

Firma:



Aclaración: MORANDI ANA ALCESTE

DNI. 93425426

-Laboratorio Rozenfeld (CEDIB SA): compromiso de confidencialidad.

Foja 2 de 2.

ciudad de Berisso Pcia. Bs. As., como así también representando a la sociedad Laboratorios CEDIB S.A. a no copiar ni reproducir de ninguna forma los elementos, datos y/o cualquier tipo de información mencionada anteriormente, sin el previo consentimiento y conformidad por escrito del Od. Mg. Ricardo Martín Stulgis, tanto durante la prestación de servicios profesionales, como después de terminada mi vinculación con él.

Por último, reconozco como de propiedad exclusiva del Od. Mg. Ricardo Martín Stulgis todos los datos, elementos e información mencionada previamente durante o con motivo de los servicios y tareas que presté junto al personal a mi cargo del Laboratorio Rozenfeld de Análisis Clínicos y Bacteriológicos de Laboratorios CEDIB S.A. y de CEDIB S.A. en el marco de la prueba piloto del año 2011 y la experiencia científica desarrollada desde el mes de agosto a diciembre de 2012.

Firma por Laboratorios CEDIB S.A.:

Jr. JOSE L. ROZENFELD
BIOQUÍMICO CLÍNICO
MAT. N° 571

Aclaración:

x ROZENFELD, José

DNI.

x 4629964

-Servicio Osteopatías Médicas, Hospital de Clínicas San Martín (UBA): certificado retiro de muestras séricas.

Foja 1 de 1.

C.A.B.A., 10 de octubre de 2014

Ref. Retiro muestras séricas remanentes (posterior a determinaciones) Hospital de Clínicas José de San Martín Universidad de Buenos Aires.

Proyecto: "Oxigenoterapia Hiperbárica aplicada a Isquemias Traumáticas Agudas Maxilofaciales"
Tesis para optar al Título de Doctor en Odontología por convenio operativo Facultad de Ciencias Veterinarias-Facultad de Odontología Universidad Nacional de La Plata (FOLP), aceptado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) y el Comité de Ética de la Carrera de Doctorado de la FOLP
Od. Mg. UNLP Ricardo Martín Stulgis.

Titular y diseñador del proyecto de modelo animal de experimentación en pequeños animales de laboratorio, modelo de extrapolación humana para osteología y traumatología ósea maxilofacial y extremidades.

Derechos intelectuales reservados

Por medio de la presente, el que suscribe, por el Servicio Osteopatías Médicas Hospital de Clínicas Universidad de Buenos Aires declaro y manifiesto que durante la prestación y/o cumplimiento de servicios y tareas profesionales al Od. Mg. Ricardo Martín Stulgis M.N. 26497 M.P.12881, hago entrega de 64 (sesenta y cuatro) muestras séricas congeladas del año 2012.remanentes posteriores a determinaciones de PCR ultrasensible, Magnesio (Mg), Paratohormona (PTHi), Telopéptido carboxilo-terminal de colágeno tipo I (sCTX), 25 hidroxivitamin D (25ohD), Fosfatasa Alcalina Osea específica (FAO), realizadas por la Prof. Dra.Susana Zeni y/o colaboradores entre agosto de 2012 y febrero de 2014.

Retira las muestras séricas el Od. Mg. Ricardo Martín Stulgis quien ha realizado el pago total correspondiente en todo concepto como honorario profesional de los servicios prestados por la Prof. Dra. Zeni y/o colaboradores del servicio a su cargo en el Hospital de Clínicas José de San Martín de la Universidad de Buenos Aires.

Manifiesto que recibí el pago total por los servicios prestados y nada más tengo que reclamar.

Firma:

Aclaración:

DNI.

Susana Zeni
Susana Zeni
10020382

-Oxígeno Medicinal Linde: e.g. remito recambio de cilindros.

Linde

GRUPO LINDE GAS ARGENTINA S.A.

R

Código 91
DOCUMENTO NO VALIDO COMO FACTURA
ORIGINAL

REMITO 0004-00070015



Fecha: 09/10/2012



Agencia La Plata

Calle 7 Entre Calle 514 Y Calle 515 (1900) - Rin

Tel.: (0221)4840318 / (0221)4845323 Urgencias: 15-431-2891/2893 E.Bianchi o F.Bianchi

Administración Central

Calle 54 (ex Mitre) N° 2075 (1650) San Martín

Tel.: (011) 4724-8888

I.V.A. RESPONSABLE INSCRIPTO

0000000000091000032020100151547201401128

C.U.I.T. N° 30-50139538-9

Ing. Brutos N°: 902-912928-2

C.N.P.S. FUSIO.: 501-39538

Inicio de actividades 16/11/1954

Cliente: STULGIS RICARDO MARTIN

Dirección de entrega: 00 - Stulgis Ricardo Martin - Calle 60 Y 118 Fac. De Cs Veterinarias

Lab. De Bioterio - La Plata - La Plata

C.U.I.T.: 20-24327541-6

RESPONSABLE MONIOTRIBUTO

Empresa Transportista: BIOGAS S.A. - CALLE 7 1680C.U.I.T. :30-69994713-6

Transporte: Biogas - Movil 05 - Placa: Gpe 991 - Chofer: Ariel Marty

Nro. de Cliente: 1220110555 - 00

Producto	Envases Cía. Cliente	Cantidad	Unidad
02000 OXIGENO MEDICINAL	2	21.40	M3
			Total de envases entregados 2

Stock y Movimiento de Envases			
Tipo de envase	Saldo registrado	Entrega Actual	Nuevo saldo
CILINDROS GASES DEL AIRE	2	2	4
Información disponible en Compañía al 09/10/2012 08:47:25 AM Existen Movimientos Pendientes De Actualizar			

Damos nuestra conformidad en cuanto a la calidad y cantidad por los productos recibidos de Grupo Linde Gas Argentina S.A. especificados mas arriba, así como al stock y movimientos de envases más arriba indicados, sometiéndonos en un todo en cuanto a los envases recibidos en comodato a las disposiciones del reglamento para entrega de envases, cuyo texto declaramos conocer y que se las transcribe al reverso del presente.

Conforme destinatario	
Firma	Aclaración

C.A.I. Nro: 32020100151547
Fecha vencimiento: 12/01/2014



90 AÑOS JUNTO A USTED

Anexo B. Centros de Oxigenoterapia Hiperbárica en la República Argentina.

CABA:

1. Hospital Naval de Buenos Aires. Patricias Argentinas 351- Ciudad Autónoma Buenos Aires. (5 pacientes). Tel. (011) 4103-5300 int. 5574 Emergencias Guardia Medica int. 5333 medicinahiperbarica1982@yahoo.com.ar Profesionales de Armada Argentina.
2. Centro de Medicina Subacuática e Hiperbárica – HIPERBAYRES S.R.L. Zado 3492 esq Piran (C.P. 1431) - Ciudad Autónoma de Buenos Aires. (6 pacientes). Tele-fax: 4572-6203 Urgencias: 11-5014-8196 info@hiperbayres.com.ar Web: www.hiperbayres.com.ar Dr. Oscar E. Serqueira.
3. Centro de Medicina Hiperbárica Buenos Aires - Hipercámaras S.A. Sánchez de Bustamante 1175, (CP: 1173) - Ciudad Autónoma de Buenos Aires. (5 pacientes). Tele-fax: 4963-0030. Urgencias: 15-4937-3901 hipercamaras@gmail.com www.hipercamaras.com.ar Dra. Nina Subbotina.
4. Estación de Salvamento, Incendio y Protección Ambiental. Avenida Edison 988 - Dársena F – Puerto de Buenos Aires Tel: (11) 4576-7623 / 7641 int. 58 medibuzguard@hotmail.com Multiplaza Profesionales de Prefectura Naval Argentina.
5. Oxicámara Blanes 383 Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Tel. (11) 6156 – 9252 cunicar@hotmail.com Dr. Enrique Ortiz
6. Hospital Municipal de Quemados “Dr. Arturo U. Illia”. Pedro Goyena 369, Caballito Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Monoplaza. Dra. Mercedes Portas. Tel. (11) 4923 – 3022.

Pcia de BUENOS AIRES:

7. OXISALUD – Hospital Pediátrico Federico Falcón. Polonia 6800 esq. Arata. Del Viso – Pilar Buenos Aires. 02320 – 40 63 60 info@oxisaludargentina.com Dr. Héctor Osvaldo Campos.
8. Escuela de Submarinos y Buceo Mar del Plata. Martínez de Hoz S/n, (C.P:7600) - Mar del Plata - Buenos Aires. (4 pacientes). Tel.: 0223-451-9907. Profesionales de Armada Argentina.
9. Centro de Medicina Hiperbárica. España 1326. (C.P:7600) - Mar del Plata - Buenos Aires. (10 pacientes). Tel. (0223) 473-7870. Urgencias :(0223) – 155240960 / 155264001 info@medicinahiperbarica.com.ar Dr. Gustavo Mauvecin. Dr Carlos Espinosa.
10. Cámara Hiperbárica Hospital Municipal Olavarría Dr. Héctor Cura. Rivadavia 4058, (C.P: 7400) – Olavarría – Buenos Aires. Tel: (0284) 44-0806. 0284-15546821. mariojcarrion@hotmail.com Dr. Mario Carrión
11. Hospital Naval Puerto Belgrano. Base Naval Puerto Belgrano. – (C.P.8111) - Buenos Aires. (5 pacientes). Tel. (02932) 489698. Profesionales de Armada Argentina.
12. Centro de Medicina Hiperbárica. De La Madre 430. Punta Alta - (C.P.8109) - Buenos Aires. (6 pacientes). Tel: 02932-425086/433653/15520535. vitalmarti@hotmail.com Dr. Alberto Vital Martínez.

13. Instituto de Oxigenación Hiperbárica Argentino-Cubano Monoplaza. Av. De Mayo 504 Tel:(2293) 42-6015 / 15639092 Tandil. stradajauregui@yahoo.com.ar Dr. Cesar Mario Strada Jauregui.

Pcia de CORDOBA:

14. Centro Fundación de Enfermedades Vasculares, Medicina Hiperbárica. Gral.Deheza 241, Ciudad de Córdoba - Tel: (0351) 4524312 – Director: Prof. Dr. Alberto Teme - a_teme2000@hotmail.com

Pcia de SANTA FE:

15. Centro de Medicina Hiperbárica San Ignacio de Loyola. Mariano Candiotti 4505 – (C.P: 3016) - Santo Tomé – Santa. Fe. (3 pacientes). Te: 0342 – 4741032 – 4740034 Fax: 0342-4743173. Urgencias: Dr. Alberto Antuña. (0342) 156-306619. antuflia@ciudad.com.ar Profesionales del Ejército Argentino.

16. Centro Integral de Rehabilitación Aprepa. Av. 1 de Junio 464. C.P: 2136 - San Jeronimo Sud – Santa Fe. Telefax: 0341-4909099-9287 – Dra.Laura Bennazar. / Dra. Fabiana Fleman Multiplaza 5 con opción a 10 pacientes. bennazarlaura@hotmail.com / fabianafleman@hotmail.com

Pcia de SAN LUIS:

17. Servicio de Medicina Hiperbárica Tempus Gobernador Alric esquina Villa del Carmen Barrio Amppya. San Luis Capital. Multiplaza 2/3 Pacientes. Dr. Hugo Bruno. info@tempusrehabilitacion.com.ar 0266 15 4378065 0266 /15 4776549 0266/ 15 4679640.

Pcia de FORMOSA:

18. Hospital de Alta Complejidad J.D.P. Formosa Servicio de Medicina Hiperbárica Dr. Esteban Estrada 011 5412 4852 contacto@hacfsa.gov.ar

19. Hospital Interdistrital de Formosa. Servicio de Medicina Hiperbárica. Dr. Esteban Estrada 011 5412 4852. contacto@hacfsa.gov.ar

Pcia de NEUQUEN

20. Centro de medicina hiperbárica de Neuquén. Alberdi 254, Neuquén Capital. CP: 8300. Policlínico Neuquén. Teléfono 299 154765704 Teléfono de Urgencia 299 4422331 cmhnqn@santacruzoyg.com.ar. Monoplaza Dr. Gustavo Serrano.

Pcia de CHUBUT

21. Centro de Medicina Hiperbárica Hospital Zonal de Puerto Madryn “Dr. Andrés Ísola. Roberto Gómez y Agustín Pujol, Puerto Madryn. Multiplaza (3 pacientes). Méd. Sergio Hornung. cemedhiperbaricapm@gmail.com 0280 4451999 Int. 1110.

Pcia de TIERRA DEL FUEGO

22. Hospital Naval Ushuaia Base Naval Ushuaia. Yaganes y Gral. Paz (9410) Ushuaia Pcia. Tierra del Fuego. (4 pacientes) Tel. (02901) 42-2038. Profesionales de Armada Argentina.

ANTARTIDA ARGENTINA:

23. Centro Hiperbárico Antartida Argentina. Base Naval Carlini. Multiplaza. Profesionales Civiles y Militares del Instituto Nacional del Antártico.

Los centros Hiperbáricos pertenecientes a las Fuerzas Armadas y de Seguridad prestan sus servicios a la comunidad, por lo cual, fueron integrados a la red nacional considerándolos pioneros en la Medicina Hiperbárica y del Buceo, y piedra fundamental para el crecimiento de la especialidad en la República Argentina como centros de tratamiento y de formación académica y de personal idóneo en el manejo de recintos hiperbáricos.

Las Cámaras de la Red Nacional de Servicios Hiperbáricos enumeradas anteriormente cumplen normas ASME, PVHO1, PVHO2 y NFPA, para su construcción. Ofrecen la máxima calidad en seguridad a Pacientes, Buzos Profesionales y Deportivos.

ANMAT regula la terapéutica farmacológica con Gases Medicinales.

AGRADECIMIENTOS

A mi Familia.

*A quienes por afinidad académica se han esforzado y colaborado para que una idea pudiera materializarse.
A los oponentes, sin su denodado y constante aporte negativo no hubiera llegado tan alto ni tan profundo en la carrera profesional.*

*Derechos Intelectuales Reservados. Depósito en custodia de obra inédita.
Prohibida su reproducción parcial o total*

Autor: Od. Mg. Ricardo Martín Stulgis

Fecha: 1/10/2020



Contacto de correo electrónico: martinstulgis@gmail.com

“Nunca (...) le debieron tanto a tan pocos...”

Sir Winston Churchill (08/20/1940)

+

