

Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología

www.elsevier.es/rot



INVESTIGACIÓN

Efecto del fresado y enclavado endomedular sobre la producción de factores de crecimiento en el callo de fractura de fémur en ratas

J. Mingo-Robinet^{a,*}, J.A. Valle-Cruz^b, L. Ortega-Medina^c, M. Fuentes-Ferrer^d
y L. López-Durán Stern^e

^a Departamento de Cirugía Ortopédica y Traumatología, Complejo Hospitalario de Palencia, Palencia, España

^b Departamento de Cirugía Ortopédica y Traumatología, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España

^c Departamento de Anatomía Patológica, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España

^d Departamento de Epidemiología, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España

^e Departamento de Cirugía Ortopédica y Traumatología, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España

Recibido el 15 de abril de 2013; aceptado el 15 de julio de 2013

Disponible en Internet el 7 de septiembre de 2013

PALABRAS CLAVE

Fresado;
Enclavado
endomedular;
Factores de
crecimiento;
Fémur;
Rata;
Callo de fractura

Resumen

Introducción: Existen muchos estudios referentes a los diferentes efectos producidos por el fresado intramedular en el callo de fractura, pero no existe evidencia en la literatura del efecto de dicho fresado en la osteogénesis. Realizamos un estudio prospectivo para analizar el efecto del fresado endomedular y enclavado en la producción de factores de crecimiento durante el proceso de consolidación de la fractura en el fémur producida en ratas.

Material y métodos: Producimos una fractura diafisaria, transversa, no conminuta de fémur en 64 ratas: 34 ratas no recibieron ningún tratamiento y las otras 30 se trataron mediante un procedimiento quirúrgico estandarizado, consistente en fresado del canal medular de distal a proximal y fijación de la fractura con una aguja de Kirschner. Las ratas fueron sacrificadas a las 24 h, 4.°, 7.° y 15.° días después de la fractura. Medimos la cantidad de factores de crecimiento (PDGFA, TGF2 y TGFβ-R2) en el callo de fractura mediante estudio anatomopatológico en los diferentes momentos del sacrificio.

Resultados: Los resultados de las variables primarias del estudio, estratificadas por tiempo hasta el sacrificio, no mostraron diferencias estadísticas significativas.

Discusión: Aunque la presencia de una aguja intramedular facilita la estabilización de la fractura y la formación del callo de fractura, no hemos encontrado ninguna evidencia significativa de que el fresado endomedular produzca cambios en la expresión de los factores de crecimiento estudiados (TGFβ-R2, PDGFA y TGFβ2) durante la formación del callo de fractura de fémur en ratas.

© 2013 SECOT. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mingojuan@gmail.com (J. Mingo-Robinet).

KEYWORDS

Reaming;
Intramedullary
nailing;
Growth factors;
Femur;
Rat;
Callus formation

Effect of intramedullary reaming and nailing on the production of growth factors in the femur fracture callus in rats**Abstract**

Introduction: Many studies have been conducted to determine the different effects that reaming or intramedullary nailing have on fracture healing, but there is no evidence in the literature of the effect of intramedullary reaming on osteogenesis. We performed a prospective study to analyse the effect of intramedullary reaming and nailing on the production of growth factors during the process of fracture healing in the femur of rats.

Material and methods: A transverse mid-shaft non-comminuted femur fracture was produced in 64 rats; 34 rats did not receive any treatment, and a standardized surgical procedure was performed on 30 rats, by exposing the left knee, reaming the medullary canal from distal to proximal, and then fixing the fracture with a steel pin. The rats were sacrificed at the 24th hour, 4th, 7th and 15th days after the fracture. The amount of growth factors that appeared in the callus fracture was measured using histopathology studies. The primary categorical variables analysed were PDGFA, TGF2 and TGF β -R2. These variables were analysed in each group at the different sacrifice times.

Results: The results of the primary variables of the study, stratified by the time until sacrifice, showed no statistically significant differences.

Discussion: Even if the presence of an intramedullary wire facilitates the fracture repair and the stabilising the bridge of bone between both edges of the fracture site, no evidence was found that reaming changes the expression of the growth factors studied (PDGFA, TGF β -R2 and TGF β 2) during the callus formation in rats.

© 2013 SECOT. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

Muchos factores de crecimiento están involucrados en la regulación de la reparación de la fractura del hueso¹. En las fases iniciales, los macrófagos movilizados en el foco de la fractura producen factores de crecimiento, incluyendo el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)² y el factor de crecimiento transformante β (TGF β)³, que estimulan la proliferación de las células mesenquimales y su transformación y diferenciación en condroblastos⁴. Los PDGF que también se liberan de las plaquetas y de las células endoteliales dañadas⁵, son un potente estimulador de condroblastos, osteoblastos, así como de sus precursores⁶ favoreciendo la producción de hueso mediante la regulación de dichas células. Especial importancia tiene en la regeneración tisular de la capa interna del periostio de huesos largos. Estas células pueden diferenciarse en osteoblastos y condroblastos y, por tanto, son de especial importancia para la formación de hueso tras la fractura⁷.

Se han realizado muchos estudios para valorar el efecto que tienen el fresado y el enclavado endomedular en el proceso de consolidación de las fracturas⁸, algunos de ellos evaluando las propiedades mecánicas del enclavado⁹, los efectos de la rigidez del clavo¹⁰, o los criterios de inestabilidad tras el enclavamiento femoral⁸, los efectos del fresado en el flujo sanguíneo¹¹ y su restauración después del fresado¹², así como la comparación de los efectos entre la fijación externa y el enclavamiento endomedular¹³, pero no hay evidencia en la literatura de los efectos que el fresado y enclavado endomedular tienen en la osteogénesis.

El objetivo de este estudio es evaluar los cambios morfológicos y la producción de mensajeros celulares y su evolución en el callo de fractura producido en 2 grupos de

ratas: un grupo tratado mediante fresado endomedular, y otro grupo que no recibió ningún tratamiento. Se ha analizado mediante inmunohistoquímica la distribución de los factores de crecimiento involucrados en la proliferación y diferenciación de las células mesenquimales que participan en el proceso de consolidación de las fracturas.

Material y métodos

Se realiza un estudio experimental con 64 ratas modelo Sprague-Dawley, con un peso medio de 200 g. Ninguna de las ratas incluidas en el estudio había sido utilizada en anteriores estudios y ninguna rata fue excluida. Todas tuvieron el mismo tratamiento perioperatorio. Fueron expuestas a un ciclo de 12 h de luz y 12 h de oscuridad a 22 °C. Las ratas fueron estabuladas en jaulas de roedores con 2 ratas en cada una y recibieron una dieta estándar y agua *ad libitum*.

Cuidados y cirugía animal

Esta investigación siguió las directrices internacionales para la protección de los animales y fue aprobada por el Comité de Ética del Departamento de Cirugía de nuestra institución.

Se produce una fractura de fémur en todas las ratas, dividiéndolas en 2 grupos: 30 ratas se trataron con un clavo endomedular y 34 ratas no recibieron ningún tratamiento.

La anestesia perioperatoria fue de 2 cc (1 cc por 100 g) de una solución de ketamina de 10 mg, atropina 1 mg y diazepam 10 mg, y solución salina 5 cc administrado por vía intraperitoneal. En todas las ratas se produce manualmente una fractura de tercio medio de fémur utilizando los principios de una palanca de tipo 1, usando un punto de apoyo

entre ambas zonas de carga (cadera y rodilla). Esta técnica nos permite crear una fractura transversal no conminuta en todos los animales.

En el grupo operado con clavo intramedular (30 ratas) se realizó un procedimiento quirúrgico estándar. Tras anestesia intraperitoneal y después del rasurado local, se expone la rodilla izquierda mediante una incisión media y un abordaje parapatelar medial, luxación de la patela, exponiendo así la escotadura intercondílea. Se realiza un fresado retrogrado del canal endomedular y fijación definitiva con aguja Kirschner de 1,6 mm. La herida es lavada con solución salina y cerrada con sutura absorbible. No se protegió la carga tras la cirugía. Los animales se observaron diariamente durante los primeros 3 días, y después semanalmente. Se administró amoxicilina en agua durante 7 días.

Las ratas fueron sacrificadas mediante una sobredosis de éter en 4 momentos diferentes: a las 24 h, 4.º, 7.º y 15.º días después de la fractura. La extracción del fémur en las ratas sacrificadas se realizó mediante abordaje lateral junto a los compartimentos musculares del muslo a fin de no alterar la formación del callo. Se midieron la cantidad de factores de crecimiento que aparecieron en el callo de fractura mediante estudio anatomopatológico.

Variables de estudio

Las principales variables categóricas analizadas fueron PDGFA, TGF2 y TGFβ-R2. De cada grupo evaluamos estas variables en los diferentes momentos de sacrificio (24 h, 4.º, 7.º y 15.º días después de la fractura). Para ello, se realizó un análisis inmunohistoquímico en células endoteliales, mesenquimales, osteoblastos, osteocitos, condroblastos y condrocitos. Se aplicó una puntuación cuantitativa en función del número de anticuerpos presentes para cada factor de crecimiento: no positivo (–), solo ocasionalmente positivo (+/–), menos de 10% de células positivas (+), de 10-50% células positivas (++), y más del 50% de células positivas (+++).

Se analizaron otras variables categóricas secundarias, tales como el grado de necrosis, hemorragia, células inflamatorias, neoformación de vasos y el callo. Se evaluó la respuesta de cada grupo al tratamiento.

Histología

Cada espécimen, que consistía en hueso y músculo con los tejidos blandos adyacentes, fue fijado en formaldehído al 10% y descalcificado en una solución de ácido fórmico al 10%. Las muestras fueron seccionadas a lo largo del eje del fémur en el plano sagital e introducidas en parafina. En el grupo enclavado, la aguja de Kirschner fue retirada previamente a su preparación. Se realizaron cortes de 4 μm de espesor, teñidas con hematoxilina-eosina y tricrómico de Masson. Se realizaron preparaciones más específicas para la inmunohistoquímica, gracias a la máquina de tinción TechMate™ (DakoCytomation). Se utilizaron los siguientes anticuerpos policlonales y diluciones: TGFβ2 (Santa Cruz Biotechnology®, sc-90; 1:40), PDGFA (N-30) (Santa Cruz Biotechnology®, sc-128; 1:20) y TGFβ-R2 (L-21) (Santa Cruz Biotechnology®, sc-400; 1:40). La unión de los anticuerpos primarios fue visualizada

utilizando el método peroxidasa-antiperoxidasa. Después de completar la inmunorreacción, las secciones fueron teñidas con hematoxilina.

Análisis estadístico

Las variables fueron descritas por su distribución de frecuencia. La comparación entre el grupo experimental y el grupo de control para los resultados categóricos primarios (PDGFA, TGF2, TGFβ-R2) fue evaluada con la prueba Chi-cuadrado de Pearson o la prueba de Fisher (en caso necesario). Así mismo, el riesgo relativo (RR) y su intervalo de confianza del 95% fueron estimados. Se realizó el mismo análisis estratificado por tiempo de sacrificio (antes y después de las 24 h). Un análisis de remisión logística fue empleado con el fin de evaluar el efecto de la interacción entre el grupo de estudio y la variable dicotómica tiempo de sacrificio.

Se agruparon los resultados de la valoración en positivo o negativo basado en la presencia o no de células positivas.

Un valor del 5% se acepta como significativo para todas las pruebas. El procesamiento de datos y análisis se ha realizado mediante el paquete estadístico SPSS® v15.0.

Resultados

Preparación animal

No hubo incidencias perioperatorias, y no se observaron signos de sufrimiento durante el periodo experimental. El grupo intervenido mediante fijación interna recuperó marcha normal al día siguiente de la intervención, mientras que el grupo sin fijación interna caminaba a 3 patas durante los primeros días tras la fractura. No hubo ninguna infección o la muerte.

Histología

Sacrificio en las primeras 24 horas

Un día después de la fractura, las características morfológicas de ambos grupos fueron muy parecidas. Se observaron áreas de necrosis, hemorragia con hematoma, y numerosas células inflamatorias, tales como neutrófilos y macrófagos en los bordes de la fractura.

No se observó neoformación de hueso o cartílago aunque se evidenciaron osteoblastos en la capa interna del periostio.

En las muestras histológicas obtenidas en los grupos sacrificados a las 24 h después de la fractura, la inmunotinción para PDGFA fue positiva en células mesenquimales y endotelio. La inmunotinción para TGFβ-R2 fue positiva en células endoteliales, células mesenquimales, osteoblastos y osteocitos. Además, se observó una inmunotinción débil para TGFβ2 en células mesenquimales y solo ocasionalmente en el resto de tejidos y células circundantes.

Sacrificio al cuarto día de la fractura

Cuatro días después de la fractura se evidencia la neoformación de vasos. El callo periostal y endostal están presentes, y pequeñas islas de condroblastos y condrocitos pueden identificarse entre abundante proliferación osteoblástica.

Tabla 1 Comparación de la incidencia de factores de crecimiento según la variable tiempo

	Menos de 24 h (%)	Más de 24 h (%)	General (%)	Riesgo relativo (IC 95%)	Valor de p	Valor de p ^a
<i>PDGFA células endoteliales</i>						
Grupo experimental	7 (63,6)	12 (63,2)	19 (63,3)	0,9 (0,6-1,4)	0,909	0,643
Grupo control	8 (72,7)	14 (60,9)	22 (64,7)	1		
<i>PDGFA células mesenquimales</i>						
Grupo experimental	9 (81,8)	13 (68,4)	22 (73,3)	0,8 (0,6-1,1)	0,384	0,844
Grupo control	10 (90,9)	18 (73,3)	28 (82,4)	1		
<i>PDGFA osteoblastos</i>						
Grupo experimental	2 (18,2)	6 (31,6)	8 (26,7)	0,9 (0,4-1,9)	0,807	0,911
Grupo control	2 (18,2)	8 (34,8)	10 (29,4)	1		
<i>TGFβ-R2 células endoteliales</i>						
Grupo experimental	9 (81,8)	17 (89,5)	26 (86,7)	1,0 (0,8-1,3)	0,443	0,615
Grupo control	7 (63,6)	20 (87,0)	27 (79,4)	1		
<i>TGFβ-R2 células mesenquimales</i>						
Grupo experimental	10 (90,0)	17 (89,5)	27 (90,0)	1,0 (0,8-1,3)	0,483	0,488
Grupo control	8 (72,7)	20 (87,0)	28 (82,4)	1		
<i>TGFβ-R2 osteoblastos</i>						
Grupo experimental	5 (45,5)	17 (89,5)	22 (73,3)	1,1 (0,8-1,6)	0,325	0,586
Grupo control	2 (18,2)	19 (82,6)	21 (61,8)	1		

^a Análisis de remisión logística del término interacción.

Las células mesenquimales son también numerosas. La formación ósea fue aparentemente más extensa en el grupo con una fijación intramedular. Posteriormente al cuarto día posfractura, la histología demostró que la tinción para PDGFA fue igualmente positiva para células endoteliales y las células mesenquimales, pero también en los osteoblastos. Todas las líneas celulares, incluyendo las células endoteliales, las células mesenquimales, condroblastos, condrocitos, osteoblastos y osteocitos mostraron una alta inmunotinción positiva para TGFβ-R2. La tinción para TGFβ2 no mostró diferencias con el grupo de las primeras 24 h postsacrificio, con solo un ligero incremento en algunas células mesenquimales.

Sacrificio a la semana posfractura

Una semana después de la fractura, los cambios morfológicos en ambos grupos fueron parecidos aunque la formación de hueso, tanto en el periostio como endostio fue más extensa que en los momentos anteriores. La tinción para PDGFA apareció en todos los tipos de células en estudio, incluyendo las células endoteliales, células mesenquimales, osteoblastos y osteocitos, apareciendo por primera vez en condroblastos y condrocitos. De igual forma a lo observado en el cuarto día posfractura, la tinción para TGFβ-R2 fue positiva en todas las células, siendo más intensa en ambos grupos de ratas que para PDGFA. Al igual que en las muestras anteriores, la tinción para TGFβ2 fue muy débil de forma generalizada.

Sacrificio a los 15 días posfractura

A los 15 días de la fractura, los cambios morfológicos no relevaban cambios significativos aunque los infiltrados inflamatorios no fueron tan intensos. Las tinciones para PDGFA

no mostraron diferencias respecto al grupo del séptimo día posfractura, siendo más intensa la tinción para TGFβ-R2. La tinción para TGFβ2 fue igual a días anteriores.

Resultados estadísticos

La [tabla 1](#) muestra los resultados de las principales variables de estudio estratificado por tiempo hasta el sacrificio. En la muestra global, no se evidencia diferencias estadísticamente significativas para ninguna variable. Cuando se evaluaron las diferencias en la incidencia de resultados de las distintas variables entre los 2 grupos, según el tiempo de sacrificio, ninguna interacción demostró diferencias estadísticas.

Discusión

La fractura ideal en un estudio experimental debe ser una fractura estándar, tanto en localización, como en tipo de fractura, grado de conminución, lesión de partes blandas, estabilidad y desplazamiento de los fragmentos¹⁴. En la literatura se describen distintos modelos de fractura¹⁴⁻¹⁷, utilizando diferentes métodos de fijación para fémur, incluso técnicas percutáneas¹⁸, si bien es cierto que el mayor número de estudios experimentales son realizados en fracturas de tibia.

En nuestro estudio, hemos creado un modelo experimental mediante el uso de una técnica sencilla y reproducible en que la fractura se produce manualmente. La lesión de partes blandas con este modelo ha sido baja con el fin de evitar en lo posible la hipoperfusión tisular de los compartimentos del muslo que podrían afectar a la consolidación de la fractura. Una cobertura muscular adecuada del hueso cortical

es necesaria para maximizar el potencial osteogénico en fracturas con fresado endomedular, tal vez debido a la capacidad de la musculatura para restablecer el flujo sanguíneo del periostio y la contribución a la diferenciación de células mesenquimales pluripotenciales en células con capacidad osteogénica en el foco de fractura¹⁹.

La reparación de las fracturas presenta 2 procesos diferentes²⁰, la proliferación celular y la diferenciación que se puede dividir en 4 etapas basadas en las características celulares, matriz extracelular y el momento de aparición de estas células²¹. Estas etapas serían: primera, una respuesta de lesión inmediata (desde el momento de la lesión hasta 2 días después de la fractura); segunda etapa con la formación de hueso intramembranoso (de 2 a 4 días); tercera etapa, la fase de condrogénesis (de 4 a 10 días), y la cuarta etapa con la osificación endocondral (15 días).

Esto sigue una respuesta biológica específica que empieza con una respuesta aguda inflamatoria. Después del traumatismo que produce la fractura, el hematoma que se forma alrededor de la fractura formará un molde para la formación del callo. La respuesta aguda inflamatoria se inicia dentro de las primeras 24 h, como puede verse en este estudio, y es completa después de los 7 días tras el traumatismo. Esas células inflamatorias promueven la angiogénesis.

En una segunda fase, participarían las células mesenquimales diferenciándose en células con poder osteogénico. La formación osteocondral se produce entre los extremos de la fractura y la zona externa del periostio. Debido a que la curación de las fracturas requiere un suministro de sangre adecuado, la angiogénesis y revascularización tienen lugar en el punto de la fractura. Finalmente, el callo cartilaginoso se reabsorbe y es reemplazado por un callo óseo duro²².

Pero esta vía de curación puede ser modificada por el fresado endomedular²³. Se ha demostrado que el fresado endomedular produce daños en el suministro de sangre endostal, lo que conduce a la necrosis avascular del endostio. Pero el fresado también tiene efectos positivos, como el incremento del aporte sanguíneo al periostio²⁴ o el aporte de autoinjerto al foco de fractura²⁵.

En el presente estudio los resultados son parecidos. El acontecimiento más temprano en la curación de la fractura es la presencia de un infiltrado inflamatorio, incluyendo los macrófagos y la proliferación de células mesenquimales. Tanto las células endoteliales como las mesenquimales comienzan a expresar PDGFA, que se libera en el lugar de la fractura, e induce la proliferación de células mesenquimales y su diferenciación a osteoblastos y condroblastos. Poco después de las primeras 24 h, los osteoblastos fueron evidentes en la superficie endosteal y las células mesenquimales periostales comenzaron a aparecer alrededor de los bordes de la fractura. Seguidamente, a los 4 días, continúa con la formación de hueso intramembranoso con osteoblastos, condroblastos y condrocitos.

La reabsorción se lleva a cabo por numerosos osteoclastos en las superficies óseas adyacentes al hueso necrótico, mientras que el crecimiento vascular se hace evidente. Después de 7 días comienza la osificación encondral en la fractura, y 15 días más tarde un puente de hueso y cartilago se forma en la superficie externa del hueso. Este puente se encontró siempre en las ratas con una fijación intramedular, pero no en el otro grupo aunque la formación de cartilago sí fue visto en ambos grupos.

Incluso si la fractura tiene un potencial riesgo de inestabilidad rotacional, como es el caso, no tuvimos ningún caso de no unión o retraso de unión en el presente estudio, obteniendo buenas tasas de consolidación, en comparación con otros estudios^{10,26}. Muchos estudios han valorado los efectos del fresado en el flujo sanguíneo intramedular y su efecto en el callo de fractura^{11,12} encontrando áreas altamente vascularizadas en el callo a pesar del fresado. Nosotros no encontramos ninguna diferencia en el tamaño del callo o la morfología del mismo entre las fracturas fresadas y no fresadas.

Estudios previos *in vitro* y estudios *in vivo* han demostrado que numerosos factores de crecimiento y moléculas de la matriz extracelular desempeñan un papel esencial en la reparación de las fracturas. En este estudio, se analizaron las diferencias en los patrones temporales de expresión de diversos factores de crecimiento cuando la fractura es fresada y fijada mediante una osteosíntesis endomedular, analizando PDGFA, TGFβ-R2 y TGFβ2.

Estudios *in vitro* han sugerido que TGFβ induce la diferenciación de células mesenquimales en el periostio a osteoblastos y condrocitos, pero el mecanismo por el cual el TGFβ promueve la condrogénesis y osteogénesis es desconocido²⁷. En nuestro estudio, la tinción para TGFβ2 se positiviza solo ocasionalmente, y esto puede deberse a la mala reactividad del anticuerpo, ya que el receptor de TGFβ-R2 es expresado por todos los tipos celulares del callo óseo. La tinción TGFβ-R2 es positiva a las 24 h, principalmente en las células endoteliales y mesenquimales, y desde el cuarto día es además positivo en condroblastos, condrocitos, osteoblastos y osteocitos.

Las PDGF mejoran tanto la proliferación como la diferenciación osteogénica de células mesenquimales²⁸. En nuestro estudio, hemos observado una tinción ligeramente positiva a PDGFA en células endoteliales y mesenquimales hasta el séptimo día cuando apreciamos alguna tinción positiva en condroblastos y osteoblastos.

En resumen, nuestros resultados demuestran que en la reparación de las fracturas del fémur de ratas tiene lugar

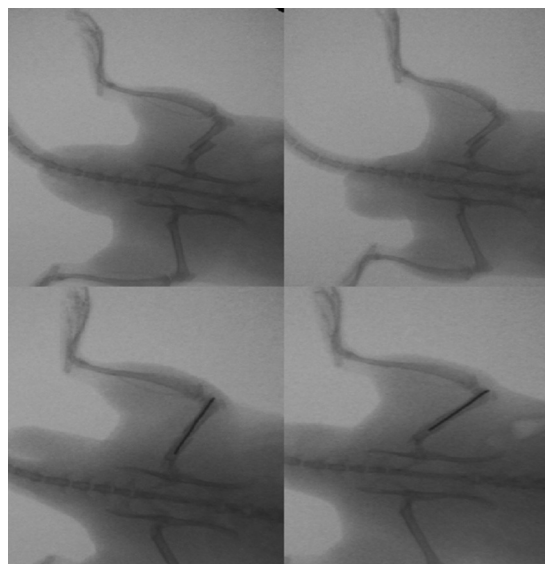


Figura 1 Fracturas diafisarias no conminutas de tercio medio de fémur y controles postoperatorios.

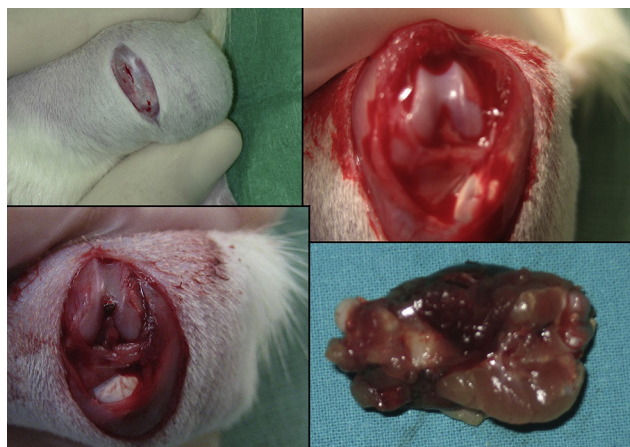


Figura 2 Detalles de la técnica quirúrgica y de la muestra extraída.

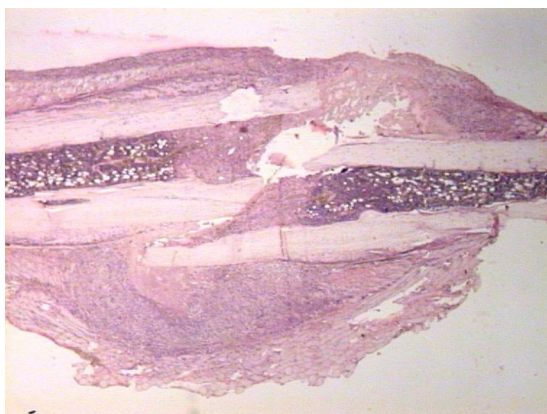


Figura 3 Aspecto microscópico del callo de fractura en una muestra estudiada.

tanto una reparación intramembranosa como endocondral. Estos procesos se ven estimulados por los diversos factores de crecimiento, los cuales están implicados en la proliferación y diferenciación celular. Pero, incluso si la presencia de una fijación intramedular puede facilitar la reparación de la fractura al estabilizar el puente óseo entre ambos bordes de la zona de la fractura, no hemos encontrado

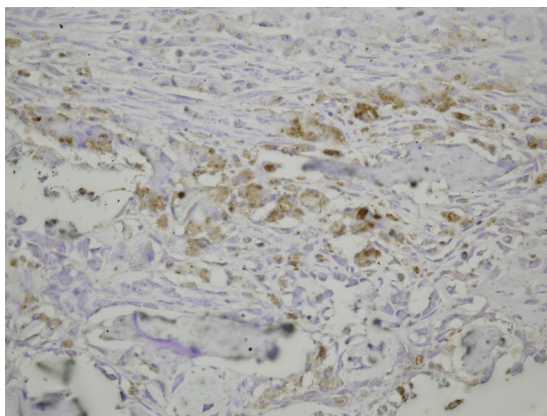


Figura 4 Tinción PDGFA en osteoblastos a los 7 días de la fractura.

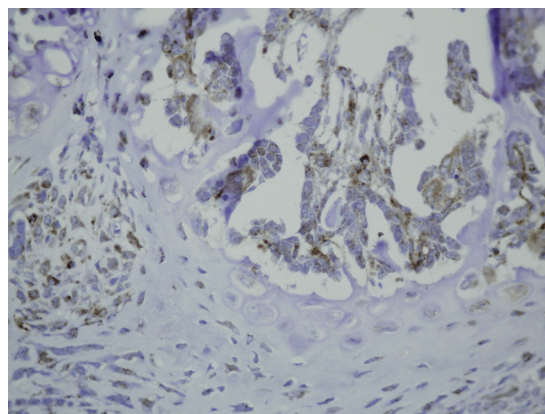


Figura 5 Tinción PDGFA en osteoblastos a los 15 días de la fractura.

ninguna evidencia de que el fresado intramedular cambie la expresión de los factores de crecimiento estudiados (PDGFA, TGFβ-R2 y TGFβ2) durante la formación del callo de fractura (figs. 1–5).

Nivel de evidencia

Nivel de evidencia II.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Joyce ME, Jingushi S, Scully SP, Bolander ME. Role of growth factors in fracture healing. *Prog Clin Biol Res.* 1991;365:391–416.
2. Andrew JG, Hoyland JA, Freemont AJ, Marsh DR. Platelet-derived growth factor expression in normally healing human fractures. *Bone.* 1995;16:455–60.
3. Horner A, Kemp P, Summers C, Bord S, Bishop NJ, Kelsall AW, et al. Expression and distribution of transforming growth factor-beta isoforms and their signaling receptors in growing human bone. *Bone.* 1998;23:95–102.
4. Bourque WT, Gross M, Hall BK. Expression of four growth factors during fracture repair. *Int J Dev Biol.* 1993;37:573–9.
5. Majesky MW, Reidy MA, Bowen-Pope DF, Hart CE, Wilcox JN, Schwartz SM. PDGF ligand and receptor gene expression during repair of arterial injury. *J Cell Biol.* 1990;111:2149–58.

6. Horner A, Bord S, Kemp P, Grainger D, Compston JE. Distribution of platelet-derived growth factor (PDGF) A chain mRNA, protein, and PDGF-alpha receptor in rapidly forming human bone. *Bone*. 1996;19:353–62.
7. Nakahara H, Bruder SP, Goldberg VM, Caplan AL. *In vivo* osteochondrogenic potential of cultured cells derived from the periosteum. *Clin Orthop Relat Res*. 1990;259:223–32.
8. Mølster AO, Gjerdet NR, Alho A, Bang G. Fracture healing after rigid intramedullary nailing in rats. *Acta Orthop Scand*. 1983;54:366–73.
9. Indrekvam K, Gjerdet NR, Engesaeter LB, Langeland N. Effects of intramedullary reaming and nailing of rat femur. A mechanical and chemical study. *Acta Orthop Scand*. 1991;62:582–6.
10. Sha M, Guo Z, Fu J, Li J, Yuan CF, Shi L, et al. The effects of nail rigidity on fracture healing in rats with osteoporosis. *Acta Orthop*. 2009;80:135–8.
11. Grundnes O, Utvåg SE, Reikerås O. Effects of graded reaming on fracture healing. Blood flow and healing studied in rat femurs. *Acta Orthop Scand*. 1994;65:32–6.
12. Grundnes O, Utvåg SE, Reikerås O. Restoration of bone flow following fracture and reaming in rat femora. *Acta Orthop Scand*. 1994;65:185–90.
13. Sigurdson UE, Reikerås O, Utvåg SE. External fixation compared to intramedullary nailing of tibial fractures in the rat. *Acta Orthop*. 2009;80:375–9.
14. Greiff J. A method for the production of an undisplaced reproducible tibial fracture in the rat. *Injury*. 1978;9:278–81.
15. Bonnarens F, Einhorn TA. Production of a standard closed fracture in laboratory animal bone. *J Orthop Res*. 1984;2:97–101.
16. An Y, Friedman RJ, Parent T, Draughn RA. Production of a standard closed fracture in the rat tibia. *J Orthop Trauma*. 1994;8:111–5.
17. Tatari H, Fidan M, Erbil G, Koyuncuoglu M, Karci T, Destan H, et al. A new device to produce a standardized experimental fracture in the rat tibia. *Saudi Med J*. 2007;28:866–71.
18. Bhandari M, Shaughnessy S. A minimally invasive percutaneous technique of intramedullary nail insertion in an animal model of fracture healing. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2001;121:591–3.
19. Utvåg SE, Grundnes O, Rindal DB, Reikerås O. Influence of extensive muscle injury on fracture healing in rat tibia. *J Orthop Trauma*. 2003;17:430–5.
20. Tatsuyama K, Maezawa Y, Baba H, Imamura Y, Fukuda M. Expression of various growth factors for cell proliferation and cytodifferentiation during fracture repair of bone. *Eur J Histochem*. 2000;44:269–78.
21. Joyce ME, Terek RM, Jingushi S, Bolander ME. Role of transforming growth factor-beta in fracture repair. *Ann N Y Acad Sci*. 1990;593:107–23.
22. Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. *Injury*. 2011;42:551–5.
23. Högel F, Schlegel U, Südkamp N, Müller C. Fracture healing after reamed and unreamed intramedullary nailing in sheep tibia. *Injury*. 2011;42:667–74.
24. Reichert IL, McCarthy ID, Hughes SP. The acute vascular response to intramedullary reaming. Microsphere estimation of blood flow in the intact ovine tibia. *J Bone Joint Surg Br*. 1995;77:490–3.
25. Froelke JP, Bakker FC, Patka P, Haarman HJ. Reaming debris in osteotomized sheep tibiae. *J Trauma*. 2001;50:65–9.
26. Mølster AO, Gjerdet NR. Effects of instability on fracture healing in the rat. *Acta Orthop Scand*. 1984;55:342–6.
27. Joyce ME, Roberts AB, Sporn MB, Bolander ME. Transforming growth factor-beta and the initiation of chondrogenesis and osteogenesis in the rat femur. *J Cell Biol*. 1990;110:2195–207.
28. Pountos I, Georgouli T, Henshaw K, Bird H, Jones E, Giannoudis PV. The effect of bone morphogenetic protein-2, bone morphogenetic protein-7, parathyroid hormone, and platelet-derived growth factor on the proliferation and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells derived from osteoporotic bone. *J Orthop Trauma*. 2010;24:552–6.