

ALARGAMIENTO ÓSEO
MEDIANTE
DISTRACCIÓN FISARIA
EN CONEJOS BAJO
INFLUJO HORMONAL.

Estudio experimental.

Misut Hiedes
Damian

UMI Number: U602949

All rights reserved

INFORMATION TO ALL USERS

The quality of this reproduction is dependent upon the quality of the copy submitted.

In the unlikely event that the author did not send a complete manuscript and there are missing pages, these will be noted. Also, if material had to be removed, a note will indicate the deletion.



UMI U602949

Published by ProQuest LLC 2014. Copyright in the Dissertation held by the Author.
Microform Edition © ProQuest LLC.

All rights reserved. This work is protected against
unauthorized copying under Title 17, United States Code.



ProQuest LLC
789 East Eisenhower Parkway
P.O. Box 1346
Ann Arbor, MI 48106-1346

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA
FACULTAT DE MEDICINA I ODONTOLOGIA DE VALÈNCIA

En el día de hoy se ha procedido a la lectura de la tesis titulada:

ALARGAMIENTO ÓSEO MEDIANTE DISTRACCIÓN FISARIA EN CONEJOS BAJO

INFLUJO HORMONAL. Estudio Experimental.

de D. DAMIAN MIFSUT MIEDES

que ha obtenido la calificación de SOBRESALIENTE CUM LAUDE

Firmado El Presidente del Tribunal, Dr. D. JOSÉ GASCÓ GÓMEZ DE MEMBRILLERA

El Secretario, Dr. D. CARLOS BARRIOS PITARQUE

El Vocal Dr. D. JAIME PRAT PASTOR

El Vocal Dr. D. ANDRÉS CARRANZA BENCANO

El Vocal Dr. D.

Valencia 31 de Marzo de 2000

El Secretario del Tribunal



El Vocal



El Vocal

Firma del Alumno



El Presidente



El Vocal





UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA
FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA

Avda. Blasco Ibáñez, 17
46010 - VALENCIA
Télex: 96 386 41 69 - 96 386 48 12
Fax: 96 386 48 05

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA
REGISTRE GENERAL
ENTRADA

15 JUN. 1999

N.º 79102
HORA 11:48
OFICINA AUXILIAR, NÚM. 9

BID T 4876

D.FRANCISCO GOMAR SANCHO, Catedrático de Traumatología y Cirugía Ortopédica del Departamento de Cirugía de la Facultat de Medicina i Odontologia de la Universitat de València,

CERTIFICA :

Que el Trabajo de Tesis Doctoral presentado por D. DAMIAN MIFSUT MIEDES , titulado "ALARGAMIENTO ÓSEO MEDIANTE DISTRACCIÓN FISARIA EN CONEJOS BAJO INFLUJO HORMONAL ", ha sido realizado bajo mí dirección.

Valencia, 22 de Marzo de 1999

Fdo.: Prof. Francisco Gomar Sancho

61542



10000930039
Biblioteca Depòsit

D 930023

L 930039

Agradecimientos.

En primer lugar agradecer al Profesor Don Francisco Gomar Sancho, Catedrático de Cirugía Ortopédica y Traumatología de la Universidad de Valencia, al haber aceptado la Dirección del Proyecto de Investigación, lo cual nos ha permitido además tener la oportunidad de conocer su dimensión científica.

Mi más profundo agradecimiento al Doctor Don Xavier Mora Iter, Jefe de Sección del Hospital de Tortosa "Verge de la Cinta", y Tutor de mi formación como Médico Interno Residente en la especialidad de Cirugía Ortopédica y Traumatología. Gracias a su apoyo y constante estímulo hemos podido obtener unos resultados que de otro modo hubieran sido muy difíciles de alcanzar.

Al Doctor Don Ismael Roldán Bermejo, Director Médico del Hospital de Tortosa "Verge de la Cinta", por su colaboración al proporcionarnos las instalaciones del propio Hospital para desarrollar nuestro trabajo científico.

Al Doctor Don Francisco García Lorente, Médico Adjunto de Radiología del Hospital de Tortosa, por su disponibilidad y colaboración en la realización del estudio radiológico.

Al Doctor Don Tomás Álvaro Naranjo, Jefe de Servicio de Anatomía Patológica del Hospital de Tortosa, por su colaboración en la realización del estudio histológico e histomorfométrico.

A la Doctora Doña Montserrat Grifoll Paredes, Farmacéutica Adjunta de Farmacia del Hospital de Tortosa, por su colaboración en la elaboración de la solución de tiroxina.

Al Doctor Don José María Tenías Burillo, Médico Adjunto del Servicio de Medicina Preventiva del Hospital de Xàtiva "Lluís Alcanyis" por su colaboración en el análisis estadístico.

Al Doctor Don Emilio López Pérez, Jefe de Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología del Hospital de Tortosa, por su colaboración.

Al Doctor Don Francisco Sanchez Mateo, Jefe de Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología del Hospital de Xàtiva "Lluís Alcanyis", por su colaboración.

Quiero agradecer de una manera muy especial a Almudena Aleixandre Hermandis, mi esposa, porque fue la ayudante incondicional en todo momento, tanto en las intervenciones quirúrgicas como en el resto del trabajo de investigación.

Al Doctor Don Francisco Forriol Brocal, por su colaboración en las sesiones quirúrgicas.

Entre las instituciones, agradecer a la Generalitat Catalana la concesión de una beca "Joves Investigadors" para la realización de nuestro proyecto de investigación.

Al Instituto de Biomecánica de Valencia, por el diseño de los fijadores-distractores externos utilizados en el trabajo.

Al Laboratorio Rhône-Poulenc-Rorer, por su colaboración al proporcionarnos la tiroxina.

Por último, mi agradecimiento a todas aquellas personas que han colaborado con nosotros en estos seis años; el incluirlos aquí haría interminable esta breve reseña, los guardo en mi memoria, porque es difícil olvidar aquellas personas que te hicieron algo más fácil tu trabajo.

Índice

INDICE	1
INTRODUCCIÓN	6
1.- Estructura y función del cartílago de crecimiento.	7
1.1.- Formación del cartílago de crecimiento.	7
1.2.- Estructura y función del cartílago de crecimiento.	9
1.2.1.- Componente cartilaginoso del cartílago de crecimiento.	9
A) Zona de reserva.	9
B) Zona proliferativa.	11
C) Zona hipertrófica	13
1.2.2.- Componente óseo o Metáfisis.	14
1.2.3.- Estructura fibrosa.	16
1.3.- Vascularización del cartílago de crecimiento.	16
1.4.- Diferencias entre la región lateral y central del cartílago de crecimiento.	17
1.5.- Cierre del cartílago de crecimiento.	18
2.- Factores que influyen en el crecimiento óseo longitudinal.	21
2.1. Efecto de las hormonas sistémicas sobre la función del cartílago de crecimiento.	21
A) Hormona de crecimiento y Somatomedinas.	21
B) Hormona Paratiroidea y Calcitonina.	25
C) Hormonas sexuales.	26
D) Glucocorticoides.	29
E) Tiroxina.	30
F) Metabolitos de la Vitamina D.	34

3.- Métodos de elongación ósea.	36
3.1.- Antecedentes históricos.	36
3.2.- Sistemas de fijación-distracción.	38
3.2.1.- Sistemas de fijación-distracción interna.	38
3.2.2.- Sistemas de fijación-distracción externa.	39
A) Sistemas transfixiantes.	39
B) Sistemas no transfixiantes (monolaterales).	40
3.3.- Técnicas de elongación ósea progresiva.	40
3.3.1.- Elongación ósea mediante osteotomía y distracción mecánica.	41
A) Osteotomía "a cielo abierto".	41
B) Osteotomía percutánea.	43
3.3.2.- Elongación ósea mediante distracción fisaria.	44
3.3.3.- Otras técnicas de elongación ósea.	50
 HIPÓTESIS	 51
 1.- Hipótesis.	 52
1.1 Algoritmo de investigación.	52
 MATERIAL Y MÉTODO	 55
 1.- Material.-	 56
1.1.- Animal de experimentación.	56
1.1.1.- Raza.	56
1.1.2.- Edad y sexo.	58
1.2.- Segmento óseo.	58
1.3.- Fijador-distractor externo.	58
1.4.- Hormona tiroidea.	60

1.5.- Estudio radiológico.	61
1.6.- Estudio histomorfométrico.	61
1.7.- Análisis estadístico.	62
2.- Método.	63
2.1.- Estabulación de los animales.	63
2.2.- Preparación de la tiroxina.	65
2.3.- Técnica anestésica.	65
2.4.- Técnica quirúrgica.	66
2.5.- Postoperatorio.	70
2.6.- Técnica para el sacrificio del animal.	71
2.7.- Estudio radiológico.	71
2.8.- Estudio histológico.	72
2.9.- Estudio histomorfométrico.	72
2.10.- Análisis estadístico.	75
RESULTADOS	77
1.- Estudio radiológico.	78
1.1.- Serie 1 ^a .	78
A) Conejos no intervenidos quirúrgicamente.	78
B) Conejos intervenidos quirúrgicamente.	80
1.2.- Serie 2 ^a .	85
1.3.- Evaluación del efecto de la tiroxina.	87
1.4.- Evaluación del efecto de la distracción fisaria.	88
2.- Estudio histológico.	89
2.1.- Primera serie experimental.	89
A) Cierre fisario.	89
B) Puentes óseos.	91
2.2.- Segunda serie experimental.	94

A) Hiperplasia celular.	94
B) Punto de fractura.	96
C) Tipo de epifisiolisis.	99
3.- Estudio histomorfométrico.	101
3.1.- Serie 1ª.	101
A) Conejos no intervenidos quirúrgicamente.	101
B) Conejos intervenidos quirúrgicamente.	105
3.2.- Serie 2ª.	112
A) Efecto de la tiroxina en conejos no intervenidos.	112
B) Efecto de la tiroxina en conejos intervenidos.	112
C) Efecto de la distracción fisaria sobre el cartílago de crecimiento.	116
3.3.- Análisis estadístico.	121
3.3.1.- Evaluación del efecto de la tiroxina.	121
3.3.2.- Evaluación del efecto de la distracción fisaria.	122
3.3.3.- Evaluación de una posible interacción o modificación de efecto entre la distracción fisaria y la tiroxina.	123
4.- Complicaciones.	125
DISCUSIÓN	130
CONCLUSIONES	141
BIBLIOGRAFÍA	144

Introducción

1.- ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DEL CARTILAGO DE CRECIMIENTO.

El crecimiento de los huesos largos se produce como consecuencia de la proliferación y diferenciación de las células cartilaginosas del cartílago de crecimiento, y la osificación de su matriz extracelular (97,261).

La fisis o placa de crecimiento es un órgano compuesto de cartílago, hueso y componentes fibrosos. Las dos fisis de un hueso largo típico son extensiones del centro de osificación primario, en la porción media del esbozo cartilaginoso fetal del hueso.

El centro de osificación primario crece y se expande de forma centrífuga en todas direcciones hasta que finalmente queda confinado a dos estructuras en forma de placa en cada extremo del hueso.

La fisis puede dividirse en tres componentes anatómicos: un componente cartilaginoso con varias zonas histológicas; un componente óseo o metafisis y un componente fibroso que rodea la periferia de la placa formando el surco de osificación de Ranvier y el anillo pericondral de La Croix. Cada uno de los tres componentes de la fisis tiene su propio y distinto sistema de irrigación sanguínea (52,290,307).

1.1.- Formación del Cartílago de Crecimiento.

Durante la 6ª semana del desarrollo embriológico humano, las células mesenquimatosas de los primeros esbozos de los miembros se diferencian, condensan y transforman en condrocitos, los cuales forman el modelo cartilaginoso del futuro esqueleto (157).

Posteriormente, las células cartilaginosas del centro diafisario se hipertrofian y la matriz vecina se calcifica con la consiguiente necrosis celular.

Durante la séptima semana embriológica los osteoblastos forman directamente una banda periosteal de hueso sobre una matriz colágena (formación ósea intramembranosa).

Al final de la octava semana, la transición de embrión a feto viene señalada por la invasión capilar en la porción central de la zona hipertrófica y cartílago calcificado (157). La invasión vascular provoca la diferenciación de las células mesenquimatosas en osteoblastos y osteoclastos.

Los osteoblastos producen una matriz osteoide en las superficies de las barras de cartílago calcificado, formando la traveculación primaria, en un proceso denominado "formación ósea endondral". Los osteoclastos destruyen el hueso para formar el canal medular. De éste proceso se forma el cartílago de crecimiento.

Después, el crecimiento longitudinal del hueso se produce por crecimiento en aposición de células desde la zona metafisaria de cada cartílago de crecimiento, atravesando un proceso que recapitula los estadios de la porción central del cartílago de crecimiento. Este proceso continúa hasta el cierre del cartílago de crecimiento, cuando el esqueleto madura.

En un tiempo concreto del desarrollo de cada hueso largo aparece un centro de osificación secundario en la parte distal del mismo, siendo su desarrollo estimulado por varios factores, incluyendo las fuerzas de estrés y cizallantes (71) y los factores tróficos (119) producidos por los condrocitos hipertróficos que inducen la angiogénesis y la osificación.

La variedad en cuanto al tiempo de aparición del centro de osificación epifisario señala la existencia de mecanismos de control local; sin embargo, la uniformidad en cuanto al tiempo de aparición entre organismos de una misma especie demuestra un alto mecanismo de control genético.

El proceso de división de los condrocitos, la hipertrofia de las células, la calcificación de la matriz, la invasión vascular y la nueva formación de hueso osteoblástico, ocurre de forma secuencial. La epífisis distal de los huesos largos se alargan por crecimiento centrífugo desde la aposición radial de células del cartílago de crecimiento, las cuales se orientan radialmente alrededor del centro de osificación secundario. El grado de crecimiento aposicional del centro secundario es más lento que el crecimiento del cartílago de crecimiento primario.

1.2.- Estructura y función del Cartílago de Crecimiento.

El cartílago de crecimiento está formado por 3 tipos de tejidos, los cuales quedan definidos en 3 componentes mayores: un componente cartilaginoso con diferentes zonas histológicas, una metáfisis ósea, y un componente fibroso formado por el surco de Ranvier y el anillo pericondral de LaCroix (52,56,57,100).

1.2.1.- Componente cartilaginoso del cartílago de crecimiento.

El componente cartilaginoso del cartílago de crecimiento se divide histológicamente en tres zonas: la zona de reserva, la zona proliferativa y la hipertrófica. Cada zona se caracteriza por unos rasgos histológicos y bioquímicos, los cuales definen su formación (266,275).

A) ZONA DE RESERVA:

Se sitúa inmediatamente adyacente al centro de osificación secundario; esta zona se caracteriza histológicamente por una distribución dispersa o aleatoria de células redondeadas únicas o emparejadas, rodeadas de una matriz abundante (157,312). Los condrocitos se hallan

en el interior de pequeños espacios de la sustancia intercelular denominados lagunas. Habitualmente, estas lagunas contienen una sola célula, pero en ocasiones forman grupos isogénicos de dos o tres células como reflejo de la multiplicación celular, y en fases posteriores se constituyen lagunas independientes (64,79).

La relación del volumen de la matriz y el volumen celular es mayor que en las otras capas de la fisis. Esta matriz contiene fibras de colágeno tipo II, poco maduras, que se orientan aleatoriamente e inhiben la calcificación, actuando como barrera contra el avance del centro de osificación secundario de la epífisis (64,144,252,330).

Los vasos sanguíneos del sistema epifisario atraviesan la zona de reserva sin irrigarla, por lo que la PO₂ es relativamente baja (20,5 +/- 2,1 mmHg) (44,330).

Hace algún tiempo se demostró que la zona de reserva es relativamente inactiva en el recambio celular y de matriz (154-158,183,273,330).

La función de la zona de reserva parece ser que es la producción de matriz y depósito o almacén de nutrientes y materias primas que pueden ser utilizadas en las zonas inferiores de la fisis (330); aunque su papel en la función del cartílago de crecimiento no está del todo aclarado (157).

Su composición es parecida a la de otros tipos estructurales de cartílago (articular, auricular y traqueal) (107); y su espesor va disminuyendo a lo largo de la edad de crecimiento (64).

Aunque existen patologías que afectan a esta zona, no se conocen las enfermedades que la afectan de forma primaria (157).

B) ZONA PROLIFERATIVA:

Las funciones de esta zona son la producción de matriz y la proliferación celular, que juntas darán lugar al crecimiento longitudinal del hueso.

La zona proliferativa se caracteriza histológicamente por columnas de células aplanadas dispuestas paralelamente a la dirección longitudinal del hueso (157,330).

Las características de las células de la zona proliferativa son las propias de los condrocitos jóvenes y activos. Las células constituyen el 25% de la capa y la sustancia intercelular representa el 75%.

En los septos que separan dichas columnas, las fibras de colágeno tipo II se hallan preferentemente en la misma dirección.

En la parte más alta de cada columna se aprecian múltiples mitosis, más visibles en los cortes transversales, que representan la característica funcional más importante de esta zona: su gran actividad. El grado de duplicación celular es constante y está fielmente regulado (186). El hecho de observarse mejor las mitosis en cortes transversales se debe, según La Croix (201), a que tienen lugar en un plano perpendicular a la dirección longitudinal de las columnas celulares.

Las columnas se comportan de forma independiente durante las mitosis (grupo isogénico axial), de modo que se dividen simultánea pero asincrónicamente con respecto a las columnas vecinas (64,273,313).

En cuanto a la relación entre la actividad mitótica de la zona de reserva y la proliferativa, Rigal (273) ha observado que cuando la capa de reserva está en mitosis, las células en pila de monedas están en reposo. Para Kember (183) y Rigal (273) una célula madre da lugar a un gran número de células, que a su vez aumentan continuamente de número por divisiones repetidas; esto sugiere que hacen falta muy pocas para el desarrollo del crecimiento óseo.

Las células superiores de cada columna son las células progenitoras, y no derivan de la zona de reserva, sino de la propia zona proliferativa. Kember (137,138,183-185) estudió el movimiento de la división celular y el crecimiento longitudinal en la epífisis proximal de tibia de las ratas, y sostiene que el concepto de crecimiento longitudinal en el cartílago de crecimiento es igual al número de células en división multiplicado por el máximo tamaño de la última célula de la zona hipertrófica.

En suma, el crecimiento longitudinal total depende del número total de células progenitoras en división y el número de divisiones reiteradas de cada célula hija. El ritmo de división celular está influenciado por factores mecánicos y hormonales, pero el número total de células progenitoras en división viene determinado genéticamente por cada cartílago de crecimiento. La hormona de crecimiento (GH) y Parathormona tienen una gran actividad en la parte alta de la zona proliferativa. Su actividad está mediada por varios compuestos sintetizados en los condrocitos. Estos agentes reguladores activos, como la Somatomedina C, el Factor de crecimiento insulinlike I, F.C. fibroblasto básico, F.C. transformador y otros no caracterizados, tienen un complejo método interactivo de control del DNA y síntesis proteica en el condrocito (330). Otros factores locales como la compresión pueden actuar en la regulación del crecimiento longitudinal en esta zona.

La rica vascularización sanguínea de la parte superior de la zona proliferativa proporciona una elevada presión de oxígeno ($57,0 \pm$ mmHg) (44), que unida a la presencia de glucógeno en los condrocitos favorece el metabolismo aeróbico necesario para la importante multiplicación celular.

C) ZONA HIPERTRÓFICA:

Se localiza en el lado metafisario de la zona proliferativa, sin existir una clara delimitación entre ambas, ya que el proceso de maduración es muy lento (313).

Las funciones de esta zona son la preparación de la matriz para la calcificación. Tradicionalmente se dividía en dos partes, la superior o zona de maduración y la inferior o zona degenerativa o de calcificación provisional (330).

En esta zona la estructura columnar permanece y el número de células que la componen varía entre 4 y 10. Las células de forma globular o cuboide son de gran tamaño (25 a 30 micras), con tendencia a aumentar de tamaño a medida que se alejan de la epífisis (43,45,64,152).

Las células se expanden en sentido longitudinal y transversal, disminuyendo simultáneamente la cantidad de sustancia intercelular, quedando únicamente los septos longitudinales entre las columnas celulares y los finos septos transversales entre las células de una misma columna. A este nivel existe una proporción de un 60% de células frente a un 40% de sustancia fundamental. En conjunto, según Duthie y Barker (64), la producción de matriz cartilaginosa es todavía acusada en el lado epifisario de esta capa y casi nula en el lado metafisario.

El último destino de la zona hipertrófica es controvertido. Estudios a microscopía electrónica (utilizando una técnica de fijación acuosa y criotécnicas) han demostrado que las últimas células de la zona hipertrófica estaban fragmentadas y no eran viables (45,46,143), pero otros estudios más recientes sugieren que todas las células de la zona hipertrófica mantienen su morfología celular compatible con su función de síntesis celular (152). Algunos análisis bioquímicos mantienen el papel activo de los condrocitos de esta zona (46-49,53,147,148), lo cual sostiene el concepto de que las células de la zona hipertrófica sobreviven al

proceso de invasión celular o se transforman en otro tipo de células en la metáfisis. El destino último de las células de la zona hipertrófica es la muerte celular.

Los septos longitudinales poseen una gran riqueza en fibras de colágeno y de proteoglicanos dispuestos entre ellas (55,58,134,135,210,218). Lo que más destaca es la presencia de lisosomas y de vesículas matriciales (9,10,108,198,199,202,203), ambas de gran importancia para que se inicie la calcificación de la sustancia fundamental. Esta calcificación se inicia en los últimos niveles de la zona de células hipertróficas y sólo se observa en los septos longitudinales (40,118,133,166,215,234,262-264,281,288,303,333).

Resultado de la avascularización de la zona hipertrófica, la presión de oxígeno es muy baja (29,3 +/- 2,4 mmHg.)(44). En una zona hipertrófica normalmente mineralizada el coeficiente de difusión es muy elevado (296,297) y la mayor fuente energética es la glicolisis aeróbica citoplasmática (47,48,50).

1.2.2.- Componente óseo o Metáfisis.

La metáfisis comienza distalmente al último septo o tabique transversal intacto, en la base de cada columna de células cartilaginosas, y termina en la unión con la diáfisis.

Las funciones de la metáfisis son la invasión vascular de los tabiques transversales en el fondo de la porción cartilaginosa del cartílago de crecimiento (eliminando la matriz cartilaginosa), la formación de hueso y la remodelación ósea.

Los capilares metafisarios poseen la peculiaridad estructural de estar desprovistos de membrana basal y las células endoteliales se encuentran unidas de un modo muy laxo, con grandes poros que permiten

la extravasación de plasma y de elementos celulares sanguíneos. Los osteoblastos que acompañan los vasos se adosan en una capa mononuclear sobre los restos de los septos longitudinales calcificados, recubiertos de tejido osteoide y formando la esponjosa primaria. Seguidamente se inician los fenómenos de resorción de los restos de la matriz cartilaginosa calcificada. En este proceso intervienen tanto mecanismos no celulares, acción directa de los enzimas sanguíneos, como mecanismos celulares mediante células multinucleadas, bien sean osteoclastos o macrófagos. Esta resorción respeta pequeños islotes de sustancia mineralizada que actuarán a modo de soporte para la formación de tejido óseo. Este tejido óseo posee ya una estructura fibrilar, si bien laxa y desordenada; la esponjosa secundaria. Simultáneamente a los fenómenos de remodelación y embudización metafisaria, el tejido óseo es paulatinamente reemplazado por un tejido mucho más estructurado: el tejido óseo lamelar (280). Este proceso requiere una sincronización de la reabsorción osteoclástica de hueso y osteoblástica para la nueva formación ósea.

Un proceso de remodelado anatómico o externo ocurre alrededor de la periferia y región subperióstica de la metafisis. El proceso de estrechamiento resultado de la reducción del diámetro de la metafisis se conoce como hueso diafisario.

El proceso que induce la invasión vascular de la zona hipertrófica es pobremente conocido. El concepto tradicional sugería que la mineralización de la matriz es un prerequisite en el paso a la invasión vascular. Recientes estudios sugieren que el cartílago derivado del factor de crecimiento puede inducir la invasión vascular (119,193).

La metafisis se caracteriza por un éstasis vascular (280), una baja presión de oxígeno ($19,8 \pm 3,2$ mmHg) (44), y un metabolismo aerobio (200).

1.2.3.- Estructura fibrosa.

Alrededor de la periferia del cartílago de crecimiento está una ranura de células en forma de cuña, la osificación del surco de Ranvier, y un anillo de tejido fibroso (el anillo pericondral de La Croix) (201). Las células del surco de Ranvier son activas en cuanto a división celular y contribuyen al incremento del diámetro, o crecimiento latitudinal de la fisis (309).

Tres tipos de células constituyen el surco de Ranvier; un tipo osteoblástico de células forman la porción ósea del anillo pericondral de la metáfisis, un tipo de células condrocitarias contribuyen al crecimiento latitudinal, y un tipo de células fibroblásticas cubren el surco y anclaje del pericondrio por arriba del cartílago de crecimiento (287). La estructura del anillo pericondral de La Croix varía enormemente entre las especies, entre los diferentes cartílagos de crecimiento en algunas especies y con la edad del animal. La estructura básica es una red de fibras de colágena que continúan con una porción fibrosa en el surco de Ranvier y el periostio de la metáfisis (269). La función del anillo pericondral es la estructura mecánica de soporte a la unión cartílago-hueso del cartílago de crecimiento (74,273,287).

1.3.- Vascularización del Cartílago de Crecimiento.

Existen tres aportes vasculares mayores al cartílago de crecimiento. La arteria epifisaria se introduce en el centro de osificación secundario (54,310-312,315,316); sus ramas terminales atraviesan la zona de reserva del cartílago en la parte superior de éste y terminan en la parte más alta de la zona proliferativa.

Los vasos no penetran dentro de la zona proliferativa e hipertrófica.

El principal vaso nutriente entra por la metáfisis. Los bucles capilares de dicho vaso nutriente principal terminan al final del septo transversal cartilaginoso, en la interfase hueso-cartílago del cartílago de crecimiento.

Los vasos giran sobre sí mismos para formar el retorno venoso (12,54,233). La estructura de éste aporte vascular tiene como consecuencia una zona avascular en la parte baja de la zona proliferativa e hipertrófica. Esta situación es el factor que más influye en la fisiología de los condrocitos del cartílago de crecimiento.

La periferia del cartílago de crecimiento es irrigada por las arterias metafisarias y la arteria pericondral de LaCroix.

1.4.- Diferencias entre la región lateral y central del cartílago de Crecimiento.

Dentro de un mismo cartílago de crecimiento existen diferencias estructurales entre la región central y lateral (97,224,225). La región lateral se localiza en el margen del cartílago de crecimiento, cerca del anillo pericondral y de forma contigua a la "zona marginal germinativa" descrita por Hert (139). La región central se localiza en la zona media justo debajo del centro de osificación secundario.

Miralles y Delgado (224) describieron las diferencias que distinguen ambas regiones en términos morfométricos; en un estudio realizado en ratas de 15 días, encontraron que la región lateral de la fisis era más alta y tenía mayor número de células que la región central. Este incremento se atribuye a la zona proliferativa, ya que en la zona hipertrófica la altura y el número de células es similar en ambas regiones. Sin embargo, el número de columnas con gran número de células es menor en la región lateral que en la central. La presencia de mayor número de células en la región lateral se puede atribuir a:

- a) la ausencia de centro de osificación secundario a dicho nivel,
- b) la proximidad del anillo pericondral,
- c) la presencia de la "zona marginal germinativa", la función de la cual no está bien especificada, aunque puede ser también condrogénica (139).

Estas diferencias cuantitativas entre la región central y lateral hacen que sea necesario, a la hora realizar un estudio histomorfométrico, especificar en que región se está realizando la medición.

En la actualidad es bastante aceptado que el crecimiento de la condroepífisis se produce por cuatro mecanismos:

1. Crecimiento aposicional, por aumento celular del pericondrio y anillo pericondral (269)
2. División celular intersticial (97)
3. Crecimiento "auxético", por crecimiento del volumen celular (56)
4. Por incremento de secreción de matriz de los condrocitos (97)

Y a su vez, el aumento en la actividad celular puede ser debido a la presencia de la zona marginal descrita por Hert (139).

1.5 .- Cierre del Cartílago de Crecimiento.

En el cierre del cartílago de crecimiento se han invocado varios factores (62), como los hormonales, aunque existen pocos estudios detallados a este respecto (186,187); se conocen gracias a los estudios de Trueta (316) y otros autores, los cambios que se producen en la fusión fisaria, pero no sus razones. Al disminuir la producción de células y progresar la invasión vascular metafisaria, la metáfisis alcanza la epífisis y el cartílago acaba desapareciendo, los vasos metafisarios atraviesan la barrera fisaria alcanzando la epífisis.

La teoría de que cada condrocito tiene un número de divisiones

genéticamente determinado hasta su muerte puede explicar el cierre simultáneo de fisis simétricas.

Durante el proceso de cierre fisario se producen algunos cambios:

1. Los condrocitos proliferantes son cada vez menos frecuentes y forman conos en vez de empalizadas.

2. Las células hipertróficas se hacen infrecuentes y la formación de trabéculas nuevas (esponjosa primaria) se reduce.

3. La invasión capilar es desigual.

Los mecanismos de cierre del cartílago fisario son conocidos en algunas patologías, así, el exceso de presión sobre la fisis por deformidades angulares, la radiación de la fisis, los traumatismos tanto por fracturas como iatrogénicos (epifisiodesis) producen detención del crecimiento.

Cierre del cartílago de crecimiento en el Conejo Neozelandes.

Algunos estudios como los de Masoud et al. (182,213,214) evalúan el cierre fisario radiológica e histológicamente a nivel distal de fémur y proximal de tibia y peroné.

Radiológicamente el cartílago de crecimiento se cierra:

- a nivel distal femoral..... entre la 20-23 semana (media de 21)
- a nivel proximal tibial..... entre la 22-27 semana (media de 26)
- a nivel proximal peroneal..... entre la 23-31 semana (media de 27)

Histológicamente se cierra:

- a nivel distal femoral..... entre la 19-24 semana (media de 22)
y se muestra activo hasta la 10-21 semana (media de 18)
- a nivel proximal tibial..... entre la 25-32 semana (media de 28)
y se muestra activo hasta la 19-31 semana (media de 26)
- a nivel proximal peroneal..... entre la 26-32 semana (media de 29)
y se muestra activo hasta la 25-28 semana (media de 27).

Teóricamente, en el estudio histológico existe potencial de crecimiento hasta la 18,26 y 27 semanas de edad en fémur, tibia y peroné respectivamente.

2.- FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CRECIMIENTO ÓSEO LONGITUDINAL.

En el curso del desarrollo fisiológico del cartílago de crecimiento, este cartílago recibe importantes influencias de factores tanto locales como generales, que inciden sobre su actividad proliferativa, activándola, enlenteciéndola o distorsionándola.

Además de factores genéticos (222,223,298), también la dieta (211), la función de las glándulas endocrinas (23,73,104,105,150,151,205,276), la actividad física y otros factores menos precisos (17,232,238,301), intervienen en sostener y modificar en general el crecimiento óseo, mientras que el crecimiento de un segmento concreto del esqueleto puede ser afectado por trastornos locales.

No es tarea fácil discernir el papel desempeñado por cada factor, puesto que la mayoría de ellos están interrelacionados. Así, se han encontrado receptores de factores sistémicos en la zona proliferativa, mientras que los condrocitos de la zona hipertrófica pueden responder a factores locales (330). A veces pueden obtenerse datos valiosos en este sentido, al observar cambios en la actividad del cartílago de crecimiento asociados a la ausencia de un factor específico, o por la incidencia artificial de un factor determinado en los experimentos.

2.1 Efecto de las hormonas sistémicas sobre la función del Cartílago de Crecimiento.

A) HORMONA DE CRECIMIENTO Y SOMATOMEDINAS.

La hormona de crecimiento está compuesta, en el caso del hombre, de 188 aminoácidos con dos puentes disulfuro, y es secretada por la

hipófisis. Su estructura varía considerablemente de unas especies a otras, siendo específica para cada una de ellas. La concentración normal en plasma es de aproximadamente de 4 ng/ml en el adulto, mientras que en el niño es cercana a 7 ng/ml; viéndose modificada dependiendo de los estímulos que actúen inhibiéndola o facilitando su secreción. La GH comienza a regir el crecimiento hacia los dos años de edad, y su secreción prosigue toda la vida, y aunque no se ha estudiado extensamente, los resultados sugieren que su secreción en humanos disminuye con la edad (172). Sufre una fuerte elevación a las dos horas de sueño, normalizándose a las 5 horas. Esto tiene lugar sin hipoglucemia ni elevación de la insulinemia, que son los estímulos de su secreción. La elevación de los corticoides tiene lugar en el último tercio del sueño, cuando la GH ya es normal.

En el hipotálamo se secreta un factor de liberación de la hormona de crecimiento. Este factor es estimulado por el sueño profundo, por un aumento en la reserva de aminoácidos, y a través del sistema adrenérgico cerebral por una disminución del sustrato energético y por estrés. El factor de liberación, al actuar sobre las células acidófilas de la hipófisis anterior, produce un aumento de la síntesis y secreción de hormona de crecimiento. La regulación es muy compleja y en ella desempeñan un papel importante diversos estímulos positivos (tiroxina, ACTH, estrógenos, hipoglucemia, sueño, arginina, alimentación proteica, endotoxinas, metopirona, adrenalina) y negativos (corticoides, aumento de GH en plasma, hiperglucemia) (73).

Se sabe que esta hormona actúa sobre el metabolismo del organismo a través de los siguientes mecanismos:

Aumento de la utilización de aminoácidos (anabolismo proteico) en todas las células de la economía; esto lleva consigo una mayor biosíntesis proteica.

Inhibición de la utilización periférica de la glucosa.

Y, como consecuencia, mayor movilización y utilización de las grasas (aumento de la lipólisis) (244).

Al extirpar la hipófisis a un animal joven este deja de crecer; las células de la zona proliferativa dejan de dividirse y no se producen células nuevas para madurar, sin embargo, la calcificación sigue y la zona metafisaria continúa osificándose al mismo tiempo que disminuyen las trabéculas.

Para Trueta y Amato (314) el problema es básicamente vascular; Trueta, tras la hipofisectomía, observó una disminución de las capas de reserva y proliferativa, y una disminución de la vascularización.

La GH es la única hormona que estimula la longitud ósea a dosis dependiente (244) y es esencial para la normal condroplasia, controlando la multiplicación en la capa proliferativa. La tiroxina actúa sinérgicamente, pero a nivel de osteogénesis. Sin embargo, sin la presencia de otras hormonas no podría promover la maduración completa del esqueleto.

La administración de GH en ratas macho jóvenes hipofisectomizadas suponía un 10% de elevación en la desviación celular y un 18% si se asociaban a tiroxina (201).

La respuesta a la hormona de crecimiento puede estar influenciada por varios factores, como son las calorías de la dieta, edad o asociación a tratamiento con tiroxina, cortisona y hormonas sexuales, y el problema de la formación de anticuerpos contra la hormona.

Varias experiencias con GH, como las de Tapp (305) y Cañadell (64) observaron un discreto aumento de las capas de reserva y proliferativas de la fisis y un aumento en la formación de trabéculas óseas epifisarias.

El receptor de la GH fue clonado en 1987 (208), localizándose el gen receptor humano en el cromosoma 5 (25,131).

En ratas, la mayoría de los tejidos incluyendo el hígado, el tejido adiposo, el cartílago de crecimiento, el músculo, el corazón y la piel tienen receptores de la GH mRNA (244). Y además, se ha demostrado recientemente que la GH puede aumentar los niveles de receptores de GH mRNA, tanto in vivo como in vitro (242,243,324).

La clonación del GH-receptor es importante para la transducción de la señal de GH (32,103).

Las mutaciones en el gen Ghreceptor pueden producir resistencia a la GH. El Síndrome de insensibilidad a la GH, también conocido como Enanismo tipo Laron, es una enfermedad hereditaria la cual se caracteriza por un defecto de crecimiento, baja concentración de IGF-I en suero y aumento de la secreción de GH (204).

En la capa de células germinales del cartílago de crecimiento epifisario del conejo recién nacido no se ha encontrado inmunorreactividad a los receptores de GH, sin embargo en conejos de 20 y 50 días si existía GH receptores(24); lo que sugiere que los GH-receptores están regulados por el desarrollo.

En 1957 Salomon y Daughaday (277) demostraron que la GH estimulaba la incorporación de sulfato dentro del cartílago de crecimiento indirectamente a través de un factor sérico, llamado inicialmente factor sulfato y posteriormente Somatomedina, mostrándose idéntico a la IGF-I y II. Estos hallazgos fueron la base de la hipótesis de la Somatomedina, afirmandose que la GH estimulaba la producción de IGF-I en el hígado, el cual estimulaba secundariamente el crecimiento óseo longitudinal.

Hay dos formas diferentes de péptidos IGF. El IGF-I (70aa) y el IGF II (67 aa) con una secuencia de aminoácidos igual en un 70% (86).

Muchos datos avalan el concepto de que el efecto primario de la GH es mediar a través de las Somatomedinas (85,206). Algunos estudios han sugerido que la GH puede tener un efecto directo en la proliferación

del cartílago de crecimiento (167,242), o actividad de proteasa de cartílago (149). La producción de Somatomedinas por el hígado es regulada por el nivel de GH (293,317).

Las Somatomedinas incluyen dos clases de proteínas: una clase de péptidos básicos llamadas Somatomedinas C (SMC), también llamada "Insulin-like growth factor I" (IGF-I); y una clase de péptidos neutrales llamados "Multiplication-stimulating activity" (MSA), también llamados "Insulin-like growth factor II" (IGF-II). El mecanismo de producción de las Somatomedinas no está claramente definido.

La respuesta primaria de los condrocitos del cartílago de crecimiento a la estimulación de las Somatomedinas (primariamente SMC) es un incremento de la proliferación celular y síntesis de proteoglicanos (84,157). Otros efectos incluyen un incremento de la síntesis de colágeno (83) y transporte de aminoácidos (2).

Un exceso de GH en un niño en crecimiento lleva a un incremento en la proliferación condrocitaria y da como resultado un auténtico gigantismo.

Un déficit en GH lleva a una disminución en la proliferación condrocitaria. El cartílago de crecimiento permanece abierto por un periodo prolongado y el proceso puede ser reversible por la adición de GH exógena.

B) HORMONA PARATIROIDEA Y CALCITONINA.

En estudios in vivo administrando hormona paratiroidea se ha demostrado un incremento de la actividad enzimática del ciclo de Krebs y de la actividad de las fosfatasas ácidas y alcalinas en la zona hipertrófica (93). Además, la hormona paratiroidea (PTH) in vivo incrementa significativamente la incorporación de sulfato (síntesis de

proteoglicanos) (137). La PTH ensancha el cartílago de crecimiento. En estudios in vitro los condrocitos del cartílago de crecimiento son estimulados con PTH también, mostrando un incremento significativo en la síntesis de proteoglicanos (154,180,181).

Los efectos in vivo de la calcitonina son: el incremento en el desarrollo del cartílago de crecimiento, un aumento de los enzimas del ciclo de Krebs y de la incorporación de sulfato (137). En estudios in vitro se ha demostrado que la calcitonina induce un incremento de la síntesis de proteoglicanos y colágeno tipo I (98).

El mecanismo de acción de la calcitonina no está claro. Algunos estudios han sugerido indirectamente que el calcio que afluye de las células puede jugar un papel importante en la transducción de la señal.

C) HORMONAS SEXUALES.

En los humanos, los andrógenos y estrógenos son cruciales para el aumento del crecimiento óseo longitudinal durante la etapa puberal, y la fusión de los cartílagos de crecimiento epifisarios. Esto se puede observar en la pubertad precoz, con un desarrollo del crecimiento puberal temprano y una talla final baja debido a la fusión de los cartílagos de crecimiento (42). El mecanismo de acción sugerido es que los esteroides sexuales ejercen un efecto indirecto y otro directo sobre el crecimiento óseo longitudinal. Influyen en la secreción de GH en humanos (122,165) y en ratas (172).

Receptores de ambos esteroides sexuales han sido demostrados en cultivos de cartílago de crecimiento (72) y células afines al osteoblasto(244). In vitro, los esteroides sexuales estimulan la síntesis de proteoglicanos en los condrocitos epifisarios humanos y la producción de IGF-I en osteoblastos humanos (104).

Después de la pubertad o de inyecciones repetidas de testosterona, los huesos aumentan considerablemente de espesor y depositan cantidades considerables de sales de calcio. Cuando se secretan cantidades importantes de testosterona, o cualquier otro andrógeno, no sólo aumenta la intensidad del crecimiento óseo, sino que las fisis se cierran en fase temprana. Los estrógenos aumentan la actividad osteoblástica y también producen la soldadura de la epífisis con la diáfisis. Sin embargo, el efecto de los estrógenos sería mucho más intenso en la mujer que el de la testosterona en el hombre: ésto podría explicar porqué el crecimiento en la mujer suele cesar algún tiempo antes que el crecimiento en el hombre. Hoy por hoy, se desconocen los mecanismos íntimos mediante los cuales actúan las hormonas sexuales en el crecimiento esquelético.

Según Trueta (316), la administración en ratas jóvenes de grandes dosis de estrógenos producía un adelgazamiento del cartílago de crecimiento y un aumento del número de columnas óseas, que progresaban desde el lado metafisario. En hembras produce un avance significativo de la edad esquelética. Los estrógenos a grandes dosis (20 microgr. de estradiol, producen la fusión de las trabéculas metafisarias por inhibición de la resorción ósea y estímulo de su aposición.

Tapp (305) también observó retraso considerable del crecimiento en grosor y longitud tras la administración de estradiol en ratas. La trabécula primaria estaba aumentada desde la línea epifisaria, pero débil e irregular, mientras que los osteoblastos estaban presentes cerca de la línea epifisaria, pero eran escasos en la parte profunda de la metafisis. Había disminución del peso y del consumo, así como de la formación de hueso y de periostio.

También Cañadell (64) con experiencias en conejos observó un aumento en el grosor del cartílago de crecimiento, sobre todo en las

capas proliferativa e hipertrófica.

En cuanto a las experiencias en ratas con testosterona, Trueta (316) observó que tras la administración de testosterona se produce un acortamiento del cuerpo, cola, fémur y tibia, y los cartílagos de crecimiento se vuelven delgados y atróficos. Las experiencias realizadas por Tapp en este sentido no demostraron efecto alguno del propionato de testosterona sobre las ratas.

Los andrógenos a dosis sustanciales (316) producen un adelgazamiento y atrofia del cartílago de crecimiento; en las experiencias de Cañadell (64) la administración de propionato de testosterona provocó una disminución de la capa proliferativa y un aumento de la capa hipertrófica.

ESTROGENOS:

La magnitud de los efectos del estrógeno en el cartílago de crecimiento depende de las especies, edad y sexo del animal. En general los estrógenos poseen un efecto inhibitorio del crecimiento óseo longitudinal (289). La ooforectomía produce un ensanchamiento de la epífisis con una disminución de la mineralización y un retraso en el cierre del cartílago de crecimiento epifisario (157). Dosis suprafisiológicas de estrógenos aceleran el proceso de envejecimiento del cartílago de crecimiento y producen su cierre (289).

El mecanismo de acción de los estrógenos en el cartílago de crecimiento es desconocido. En estudios in vivo e in vitro muestran una estrógeno dependencia, disminuyendo en proteoglicanos y en la síntesis de DNA (267). Algunos estudios sugieren que el estrógeno in vivo inhibe la GH mediada por la producción de somatomedina (260).

TESTOSTERONA:

El déficit de testosterona produce un retraso del crecimiento (206) a través del retraso en la maduración y osificación metafisaria. Los niveles

fisiológicos de testosterona promueven este proceso, pero un exceso en el nivel de testosterona aumenta la osificación en una gran extensión, con estimulación de la proliferación y maduración de condrocitos y por lo tanto, resulta en un retraso del crecimiento (289).

La testosterona administrada a animales normales puede retrasar toda proliferación y aumento de la maduración celular, acelerando el envejecimiento del cartílago de crecimiento (306).

El mecanismo de acción de la testosterona en los condrocitos del cartílago de crecimiento no ha sido definida.

D) GLUCOCORTICOIDES.

Son uno de los tres tipos de hormonas esteroideas que secreta la corteza suprarrenal (corticosteroides). Parece ser que el 95% de la actividad de los glucocorticoides se debe al cortisol también llamado hidrocortisona y compuesto F. Intervienen en menor proporción la corticosterona y mucho menos la cortisona.

La secreción de glucocorticoides viene regulada por la adrenocorticotropina (ACTH), que actúa enzimáticamente en la formación de estos esteroides. La ACTH es secretada por la hipófisis. En presencia del factor de liberación de ACTH, liberado por el hipotálamo, la concentración de ACTH puede aumentar incluso 20 veces. Cuando la concentración de glucocorticoides es elevada, existe inhibición de ACTH y si es baja hay excitación por mecanismo inverso. Estas hormonas aumentan la formación de glucosa en el tejido hepático y con ello aumentan las reservas de glucógeno.

Parece ser que la cortisona actúa indirectamente por una depresión de la GH, pues sus niveles disminuyen tras la administración experimental de cortisona. Si a continuación se administra ACTH, las cifras de GH

vuelven a la normalidad (64). Administrada a grandes dosis detiene la división celular, deteniendo o impidiendo el crecimiento (64)

Sobre el cartílago de crecimiento tiene un efecto claramente inhibitor en dosis adecuadas, producido probablemente por inhibir la liberación y la acción de la GH (64).

Tapp (305) también observó un retraso del crecimiento en grosor y longitud tras la inyección subcutánea de acetato de cortisona en ratas; produciéndose un adelgazamiento del cartílago de crecimiento, con una trabécula más débil de lo habitual disminuyendo de peso y consumo, así como la formación de hueso y periostio.

Trueta (315) en sus experiencias en conejos tras la inyección de cortisona observó una detención casi completa del crecimiento y aposición subperióstica por inhibición de los osteoblastos. Aumentaba la absorción ósea, con aumento de los osteoclastos reemplazándose el hueso por médula grasa, apareciendo una estructura celular alterada, lo que podría explicar su dificultad en sintetizar proteínas a partir de los aminoácidos. Para Trueta (315), la cortisona es antagonista de la GH, y un agente poderoso de la desintegración ósea. En exceso pueden retrasar severamente el crecimiento esquelético (39,123). El efecto antianabólico de los corticoides está en el tejido diana, a través de la inhibición de la incorporación de sulfato (239), y puede ser mediado a través de la inhibición del efecto de las somatomedinas en el cartílago de crecimiento (101).

Los corticosteroides producen una disminución de la proliferación celular, aceleración y maduración celular (291) y una interferencia con el metabolismo energético del condrocito (220).

E) TIROXINA.

En el tiroides se secretan tres hormonas, pertenecientes a dos grupos diferentes. Un primer grupo contiene dos hormonas, que estructuralmente son un aminoácido yodado, y que se secretan por las células foliculares; estas son: la triyodotironina y la tetrayodotironina. El otro grupo sólo contiene una hormona, antagonista de la parathormona; se trata de la calcitonina.

De las hormonas yodadas, la más importante es la tiroxina (tetrayodotironina), por su mayor concentración: La triyodotironina tiene los mismos efectos, pero con una acción sobre los tejidos notablemente más rápida. La regulación de la tiroxina depende de un factor de liberación secretado por el hipotálamo, que puede ser estimulado o inhibido por una serie de mecanismos suprahipotalámicos y extrahipotalámicos y también por un mecanismo inverso, dependiente de la concentración de hormona en el plasma. El sistema simpático también actúa sobre el tiroides estimulando la secreción de tiroxina.

La mayoría de los efectos de la tiroxina en el organismo son secundarios a la estimulación del consumo de oxígeno (acción calorígena), aunque la tiroxina también afecta el crecimiento y la maduración en los mamíferos, ayuda a regular el metabolismo de los lípidos e influye, junto con otras hormonas, sobre los hidratos de carbono. Las hormonas tiroideas estimulan la síntesis proteica, aun cuando a dosis elevadas la inhiben (305). De esto resulta que la tiroxina tiene una acción sinérgica con la GH sobre el metabolismo de las proteínas.

Cuando falta tiroxina, como no hay anabolismo proteico normal, el efecto de la GH es muy escaso. Hay dos estados donde la influencia de esta hormona sobre el crecimiento es más manifiesto: por una parte, en los niños hipotiroides el crecimiento es defectuoso, mientras que, por otra parte, los niños hipertiroideos suelen presentar un crecimiento esquelético excesivo y se vuelven más altos de lo normal.

Tapp (305) inyectando tiroxina a altas dosis (50 microgr./dia) durante 14 días, en ratas jóvenes, observó un retraso del crecimiento, con una reducción considerable de la trabécula ósea primaria. A pequeñas dosis (5 microgr.), sin embargo, aumenta la formación de hueso y periostio por un aumento de secreción de GH. En las experiencias realizadas por el grupo de Cañadell (64) inyectando 400 microgr/dia de tiroxina sódica en conejos, durante 15 días por vía subcutánea, no encontraron diferencias notables entre estos y los controles.

So Guang Ren y col.(271) en su estudio con ratas observaron que existía una respuesta bifásica del crecimiento tibial con la administración exógena de T4. Esta respuesta se caracterizó por un incremento en anchura y longitud del cartílago de crecimiento epifisario cuando se administró T4 a dosis de 2,8 y 32 microgr/Kg/ día; y una disminución cuando se administraba T4 a dosis de 64 microgr,/kg/dia.

En su estudio demostraban que un incremento en la dosis exógena de T4 aumentaba tanto el nivel de T4 en suero como el consumo de comida.

A dosis de 64 microgr/Kg/dia, aumentaba el consumo de comida, en cambio, disminuía el crecimiento en anchura y longitud del cartílago de crecimiento. La disminución del peso sugiere que los animales tienen alterado el anabolismo a estas dosis, siendo parecido a lo observado en el hipertiroidismo humano.

A dosis de 64 microgr/Kg/dia, la concentración de T4 en suero es aproximadamente dos veces el nivel normal. De este modo, solo moderados incrementos de T4 en suero han sido conseguidos con dosis de T4 de 64 microgr/Kg/dia, sugiriendo que la disminución en la velocidad de crecimiento observada a estas dosis no es un efecto verdadero de las altas concentraciones de T4 en suero.

En su estudio en ratas, observaron que un aumento de T4 en suero

lleva a una disminución paradójica de la velocidad del crecimiento. Esto es parecido a lo observado por Tapp en otro estudio con ratas (305). No obstante, no está claro si esta inesperada disminución en la velocidad de crecimiento es debida a diferencias de especies o a otros factores.

El efecto de la hormona tiroidea en el crecimiento óseo longitudinal puede ser mediada directamente por la hormona tiroidea (59,60), o indirectamente por la producción de IGF (129) inducida por la hormona tiroidea, la secreción de GH (177) o por otros factores de crecimiento.

La tiroxina es necesaria para el crecimiento y la acción conjunta con la GH (145,251). Los niveles fisiológicos de tiroxina son necesarios para mantener el peso corporal, estímulo de la síntesis proteica, aumento de la síntesis y degradación de colesterol y triglicéridos, y aumento de los requerimientos de vitaminas.

El exceso de tiroxina produce un catabolismo proteico y su déficit produce un retraso del crecimiento.

In vitro la tiroxina estimula la incorporación de sulfato y este efecto es aumentado por la adicción de la GH (142,318).

El déficit de tiroxina lleva al cretinismo y los polímeros del condroitin sulfato son degradados. Los mucopolisacáridos se acumulan en los condrocitos y deterioran la actividad sintética (99).

Han sido mostrados 3 posibles mecanismos diferentes para la estimulación del crecimiento óseo longitudinal. In vivo, se ha demostrado que las hormonas tiroideas estimulan la secreción de GH (80,140). Además, aumentan la IGF-I mRNA en ratas hipofisectomizadas (332) y estimulan la producción de IGF-I en el hígado de las ratas (159).

Un efecto directo de las hormonas tiroideas en el cartílago de crecimiento ha sido demostrado también, así, en ratas hipofisectomizadas las hormonas tiroideas estimulan el crecimiento óseo longitudinal (308) y son necesarias para la formación de células hipertróficas en ratas

normales (209,270).

IGF-I VERSUS HORMONA TIROIDEA:

La actividad de las fosfatasas alcalinas (ALP) se expresa durante el último proceso de diferenciación, como hipertrofia, degeneración y calcificación del cartílago de crecimiento.

Recientemente se ha demostrado que ni la GH ni la IGF-I regulan estos pasos. Sin embargo, la triyodotironina (T3) aumenta la actividad de las ALP y reduce la síntesis de DNA mediante su mediación, con incorporación de timidina. Se ha demostrado que el aumento de la concentración de T3 a dosis dependiente reducían la incorporación de timidina estimulada por la IGF-I. No se ha encontrado interacción entre la T3 y la GH (247), lo cual puede ser interpretado como que la T3 bloquea la expansión clonal de células epifisarias estimulada por factores de crecimiento como la IGF-I, y la T3 estimula la maduración de los condrocitos (157).

F) METABOLITOS DE LA VITAMINA D.

El cartílago de crecimiento contiene receptores intracelulares para ambos, la 24,25 dihidroxi (24,25 (OH)₂ D3) y 1,25 hidroxilado (1,25 (OH)₂ D3) metabolitos de la vitamina D (302).

Algunos estudios han demostrado que el tejido cartilaginoso puede tener capacidad de convertir el 25 hidroximetabolito (25 OH D3) al 24, 25 (OH)₂ D3 (124).

Los receptores de los metabolitos de la vitamina D parece estar localizados primariamente en la zona proliferativa y la parte superior de los condrocitos de la zona hipertrófica. El efecto de estos metabolitos es estimular la mineralización de la matriz. El mecanismo exacto por el cual se realiza no está claramente definido.

El metabolito 1,25 (OH)₂ D₃ parece incrementar la acumulación de calcio mitocondrial intracelular (22,292) y además, modifica el potencial de membrana plasmática y el gradiente de potasio intracelular. Los metabolitos de la vitamina D, particularmente el 24, 25 (OH)₂ D₃ metabolito, a niveles fisiológicos, también incrementan la proliferación celular y la metacromasia de la matriz.

Niveles suprafisiológicos producen una diferenciación anormal del cartílago con conversión a la producción de colágeno tipo I.

Un déficit de 1,25 (OH)₂ D₃ metabolito, produce una marcada disminución en la mineralización de la matriz ensanchada de la zona hipertrófica y el espacio mineralizado. Estas alteraciones clínicas producen el raquitismo.

La forma bioactiva de la vitamina D (Vit D) es la 1,25 (OH)₂ D₃ y se ha demostrado que es importante en el proceso de maduración de los condrocitos epifisarios. Se han encontrado receptores para la Vit D en el cartílago de crecimiento epifisario, y la Vit D estimula la proliferación (194) y la maduración (130,284) en cultivos celulares.

En humanos el déficit de Vit D (raquitismo) se caracteriza por una acumulación de cartílago de crecimiento proliferativo pero pobremente mineralizado (194).

3.- MÉTODOS DE ELONGACIÓN ÓSEA.

Concepto de elongación ósea:

Se trata del aumento de la longitud de un segmento óseo a través de diferentes técnicas quirúrgicas.

3.1.- Antecedentes históricos.

La primera publicación referida a los alargamientos óseos fue la de Codivilla (75) en 1905, el cual realizaba una osteotomía oblicua diafisaria seguida de un escayolado de la pierna, que era cortado circunferencialmente aplicandose una tracción y rellenando el hueco del molde con un nuevo escayolado. Posteriormente modificó su técnica, añadiendo una tracción esquelética transcalcánea incluida en la escayola.

Magnuson en 1908 en animales de experimentación y en 1913 (259) en experiencias clínicas utilizó una técnica de osteotomía en forma de "z", alargamiento inmediato con mesa de tracción de Hawley y mantenimiento de la posición con tornillos de marfil y placas desmontables. En 1916, Ombredanne (259) fue el primero en documentar el principio de tracción esquelética y contratracción en el mismo hueso.

Putti (268), aunque publicó sus experiencias en 1921, desde 1910 había venido utilizando una técnica de tracción esquelética para conseguir alargamientos en fémures, y posteriormente utilizó un tubo telescópico externo ("osteoton") sobre el que se sujetaban los pins transesqueléticos.

En 1927 y 1928, Abbot y Grejo (1) describieron sus métodos de elongación tibial y femoral respectivamente, y en 1936, Compere (76) sugirió la utilización de injertos óseos para evitar o disminuir la incidencia de no-uniones. En los años treinta surgieron una serie de sistemas tanto en Europa como en Estados Unidos que introdujeron importantes

novedades como los clavos transfixiantes, la distracción y compresión longitudinal, así como las articulaciones universales. En 1931 Pitkin y Blackfield (259) recomendaron por primera vez, clavos transfixiantes unidos a dos barras externas. Un año después, H Judet (237), insistió en la necesidad de perforar las dos corticales. Con la idea de incrementar la rigidez de los montajes, Cuendet (259), en 1933 utilizó un fijador semicircular, de donde saldrían otros modelos diseñados por Volkov-Organesian e Ilizarov (164), en la URSS, Kronner (197) y Fischer (110), en Estados Unidos, Monticelli (226,228-230), en Italia y Mendoza (217) en España.

En 1936 Compere (76) sugirió la utilización de injerto óseo para disminuir la incidencia de pseudoartrosis. Raoul Hoffmann (141) diseñó el primer fijador externo de la nueva era con clavos de 3 mm de diámetro y con rosca en la zona de contacto de ambas corticales, que permitía además la reducción de las fracturas.

En 1950, Mc Carrol (159), realizó elongaciones con una placa ranurada efectuando una doble tracción transesquelética, proximal y distal a la rodilla para disminuir las presiones sobre las superficies cartilaginosas de la rodilla debidas a la tensión de los isquiotibiales y del cuádriceps. Bertrand (31) utilizó clavos intramedulares para realizar elongaciones femorales y controlar la alineación de los fragmentos.

Los métodos de elongación ósea pueden dividirse en tres grandes grupos:

- técnicas o procedimientos de estimulación del crecimiento óseo
- técnicas o métodos de elongación ósea inmediata
- técnicas o métodos de elongación ósea progresiva.

Los dos primeros, tanto la estimulación ósea (17,18,28,51,61,64,120,153,173,312) como las elongaciones óseas

inmediatas o extemporáneas (219,248,325) están actualmente en desuso.

En la actualidad, la elongación ósea pasa por el uso de fijadores-distractores externos con distracción progresiva.

3.2.- Sistemas de fijación-distracción.

Estos sistemas deben de reunir una serie de características tales como, la de permitir una distracción controlada, una estabilidad adecuada de los fragmentos óseos, una máxima versatilidad (elongación fisaria y metafisaria, corrección de deformidades, etc.) y un mínimo de complicaciones.

Los sistemas de fijación-distracción se pueden agrupar en:

- Sistemas internos.
- Sistemas externos.

3.2.1.- Sistemas de fijación-distracción interna.

En 1956, Bost (41) utilizó una varilla intramedular para mantener el alineamiento, siguiendo después otros autores utilizando múltiples aparatos de fijación-distracción interna, aunque su uso es actualmente nulo. Aunque su ventaja radica en minimizar los problemas infecciosos frecuentes en los sistemas externos, desde el punto de vista práctico no han demostrado ser suficientemente eficaces para sustituir a los implantes externos.

De los fijadores-distractores internos destacan los clavos intramedulares (27,34,132,163,331) expansibles mediante diferentes métodos (hidráulicos, mecánicos, eléctricos.) y las placas de osteosíntesis expansibles.

3.2.2.- Sistemas de fijación-distracción externa.

Se pueden dividir a su vez en dos tipos, los transfixiantes y los no transfixiantes.

A) SISTEMAS TRANSFIXIANTES.

Se basan en la estabilización de los fragmentos óseos a través de clavos, tornillos o agujas que atraviesan completamente el miembro, pudiendo ser de configuración bilateral, en forma de cuadrilátero, biplanos y circulares completos o incompletos.

Como inconvenientes más importantes destacan la transfixión muscular pudiendo provocar limitaciones funcionales, trastornos tróficos, etc., y el riesgo de dañar estructuras nobles como vasos y nervios.

Los aparatos transfixiantes más relevantes en cuanto a su utilización son el de Anderson (14) (poco utilizado en la actualidad), los circulares de Ilizarov (160,161), Monticelli-Spinelli (230) y Wasserstein (327).

En 1950, Mendoza (217) realizó un estudio biomecánico experimental sobre el tratamiento de las fracturas con un aparato circular muy similar a los actuales. Biomecánicamente, la principal propiedad de este tipo de aparatos es la fijación dinámica axial, a la vez que elástica, siendo este un factor favorecedor importante de la osteogénesis en la zona elongada.

En los aparatos de Ilizarov y Monticelli-Spinelli, además se obtiene una mayor estabilidad, una buena tolerancia hueso-agujas y una gran versatilidad, pudiéndose aplicar a un gran número de patologías durante largo tiempo. Sin embargo, presentan una serie de inconvenientes, tales como su dificultad de colocación y manejo postoperatorio que ocasionan

largas hospitalizaciones; su gran aparatosidad provoca a veces una mala tolerancia por parte del paciente, sobre todo cuando están colocados en el fémur, y también puede considerarse como inconveniente el hecho de no poder funcionar en régimen de rigidez, hecho importante en la distracción fisaria, que requiere una epifisiolisis controlada.

B) SISTEMAS NO TRANSFIXIANTE (MONOLATERALES).

Se trata de sistemas que no requieren atravesar la extremidad para cumplir las funciones de estabilización y elongación ósea. Son de sencilla aplicación y manejo postoperatorio, siendo bien tolerados por el paciente, teniendo la posibilidad de funcionar de forma rígida o dinámica. De este tipo de aparatos destacan los de Wagner (326) y De Bastiani (87,88), por ser los que actualmente gozan de mayor popularidad.

Se caracterizan por utilizar tornillos de grueso calibre (los más comunes son de 6 mm de diámetro) unidos entre sí por el cuerpo del aparato, una estructura tubular telescópica.

Al modelo original de Wagner han seguido algunas modificaciones para adaptarlo a las nuevas demandas, así Cañadell (63,65) introdujo la pieza en "T" para elongación fisaria y metafisaria, el dispositivo de distracción-compresión para el transporte óseo (94) y el mecanismo de dinamización del cuerpo telescópico del aparato, dando lugar a un nuevo fijador (Lazo-Cañadell) (65).

El aparato diseñado por De Bastiani, se caracteriza por la coincidencia del eje del cuerpo y el eje de colocación de los tornillos; y la particularidad del fileteado cónico que presentan estos últimos.

3.3.- Técnicas de elongación ósea progresiva.

3.3.1.- Elongación ósea mediante osteotomía y distracción mecánica.

Pueden dividirse a su vez en dos grupos según el tipo de osteotomía realizada:

- a) Osteotomía "a cielo abierto" o simplemente abierta.
- b) Osteotomía percutánea.

A) OSTEOTOMÍA "A CIELO ABIERTO".

Las dos técnicas más populares de este grupo son las de Wagner (326) y la de De Bastiani (90); y se caracterizan por iniciar la elongación realizando una osteotomía a cielo abierto en el hueso a elongar durante el tiempo quirúrgico para la colocación del aparato fijador-distractor.

Técnica de Wagner en fémur:

Consta de 4 fases:

1. Tiempo quirúrgico inicial y proceso de distracción:

a) Inserción percutánea de los dos pares de tornillos de Schanz (proximal y distal) mediante guía y taladrado previo.

b) Aplicación del aparato elongador de Wagner.

c) realización de osteotomía transversa abierta y diafisaria con sierra oscilante, y distracción inmediata de 0,5-1 cm.

d) distracción diaria de 1,5 mm. con cuidados diarios de la herida y ejercicios fisioterapéuticos para mantener la funcionalidad de la extremidad.

2. La segunda fase es la osteosíntesis interna rígida (placa, con o sin aporte de injerto óseo, tras la retirada del fijador).

3. Cambio de la placa rígida por una semirrígida (semitubular) a los 9-12 meses del postoperatorio, cuando se puede observar la corticalización del lado opuesto a la placa y canalización medular de la zona de elongación.

4. Retirada de la placa semirrígida a los 3 a 6 meses de su colocación.

A nivel tibial, se añade la particularidad de elongar también el peroné, realizando una osteotomía de este al mismo nivel que la de la tibia; y solidarizar el peroné y la tibia con dos tornillos proximal y distalmente a la osteotomía, que eviten su desplazamiento durante la distracción.

En cuanto a sus principios biológicos, existen algunos detalles de la técnica tales como la localización diafisaria de la osteotomía (zona de vascularización precaria), su realización a cielo abierto, y la desperiostización de la zona, que pueden dificultar en cierto modo la consolidación de la zona de elongación (21).

Técnica de De Bastiani y col. (90).

Desarrollada a partir de las ideas de Wagner, consta de tres fases:

1. Inserción de los clavos, aplicación del aparato elongador, osteotomía y distracción.
2. Espera hasta la consolidación.
3. Retirada del aparato.

La osteotomía, aunque es abierta, se realiza mediante una mínima exposición, subperióticamente y mediante perforaciones y escalpelo, recordando la osteotomía percutánea.

La principal característica de la técnica es que la distracción se difiere hasta que comienza a observarse la formación de callo radiológicamente en la zona de la osteotomía, en general a los 10-15 días del postoperatorio, por lo que tomó la denominación de "callotaxis".

Además de las dos técnicas descritas, Wasserstein (327,328) describió una técnica cuya particularidad era la colocación de un aloinjerto cilíndrico en la zona de elongación sujeto mediante un clavo endomedular

fino para acortar el proceso de consolidación. Pero esta técnica no ha gozado de popularidad.

B) OSTEOTOMÍA PERCUTÁNEA.

Actualmente este tipo de osteotomía de elongación, independientemente del tipo de fijador-distractor externo empleado, es el que más difusión está adquiriendo (221,250), al provocar un menor daño en el hueso y partes blandas adyacentes.

En 1952, Anderson (14) propuso realizar una osteotomía mediante una pequeña incisión cutánea y perforación múltiple del hueso en la zona elegida. El procedimiento quedaba completado con un "golpe de kárate" sobre el hueso previamente debilitado por las perforaciones (osteoclasia).

Posteriormente, Kawamura (178,179) preconizaba una osteotomía de elongación percutánea, sin perforaciones previas, con lo que pretendía seccionar la cortical dejando intacto el contenido de la medular del hueso, sobre todo los vasos.

En los últimos años Ilizarov (160,161) en Rusia y Monticelli y Spinelli (231) en Italia, con lo que ellos denominan compactotomía y corticotomía respectivamente, describen la idea de romper la cortical del hueso circunferencialmente sin dañar otras estructuras ni externas ni internas a la misma.

Así pues, con esta técnica de elongación el objetivo era mejorar la reconstrucción del segmento elongado:

- localizando la osteotomía metafisaria o cercana a la metafisis;
- utilizar métodos relativamente poco traumatizantes, como osteotomos o escoplos para la osteotomía, y evitar en lo posible las sierras oscilantes (21);
- preservar al máximo la integridad de las partes blandas;

- no realizar distracciones bruscas, sino diferir la distracción hasta unos días después de la osteotomía. Después realizar dicha distracción a un ritmo regular y a una velocidad que no sobrepase 1-1,5 mm por día.

3.3.2.- Elongación ósea mediante distracción fisaria.

Se trata de una técnica de elongación progresiva basada en la utilización de la fisis como "locus minoris resistentiae" del hueso, a través de la cual, y mediante distracción a ambos lados del misma, se consigue la separación entre metafisis y epífisis y con ello el alargamiento óseo. Es, por tanto, una técnica que no necesita de la realización de una osteotomía u osteoclasia -- alargamiento "sin sangre"-- a diferencia de las técnicas descritas anteriormente.

Las primeras experiencias basadas en estas ideas fueron publicadas por Ring en 1958 (274), refiriéndose a la realización de la distracción fisaria mediante pequeños tensores externos en femures de perro.

Ilizarov y Soybelman (161) en 1969 repitieron el experimento en ovejas, obteniendo un resultado similar. En ambos estudios se comparó el tipo de fractura ocasionado con una epifisiolisis tipo I de Salter y Harris (162,278,279).

Monticelli, Spinelli y Bonucci (228-231) en 1979 y 1981 repitieron también la experiencia en ovejas con igual resultado, y calcularon que la fuerza de distracción necesaria para producir una fractura en la epífisis proximal de tibia en ovejas era de 20 a 25 Kg., produciéndose la separación durante los 7 primeros días, a un ritmo de distracción de 1 mm por día. Describieron además claramente los cambios histológicos que se producen tras el proceso de distracción fisaria, dividiéndolo en 3 estadios:

1. Epifisiolisis y formación del hematoma.

2. Reabsorción del hematoma y formación de tejido fibroso que se incrementa en longitud de acuerdo con las fuerzas de distracción aplicadas.

3. Osificación del tejido fibroso y reconstitución del hueso periostal.

El mecanismo de producción en el primer estadio es el mismo que en la epifisiolisis traumática, produciéndose una fractura a lo largo de la línea que divide la zona de maduración y la de los condrocitos hipertróficos del cartílago de crecimiento; con la formación de un hematoma en dicha área, con un pericondrio conservado. Las fuerzas de distracción aumentan progresivamente la distancia entre las dos superficies de la fractura, y es probable que, al menos durante los primeros días el volumen del hematoma también aumente progresivamente.

Durante el segundo estadio, la sangre coagulada es reabsorbida por los macrófagos, invadida por vasos capilares, y gradualmente sustituida por tejido fibroso que al principio tiene una apariencia mixoide y después se compone de fibroblastos en paralelo y fibras de colágeno. Este tejido fibroso no sólo reemplaza el coágulo de sangre ocupando el espacio creado, sino que también aumenta en longitud hasta que cesan las fuerzas de distracción.

El tejido fibroso desarrollado es parcialmente calcificado y transformado en la trabécula metafisaria, siendo parcialmente reabsorbido tras la penetración de los vasos sanguíneos. Pequeñas islas de este cartílago se fusionan a veces con el tejido conectivo, junto con pequeños espacios quísticos.

El tercer estadio está representado en principio por la calcificación y después por la osificación del tejido fibroso, con la formación de trabéculas longitudinalmente, que se sitúan paralelas a las otras. La calcificación parece empezar de las vesículas de matriz derivadas

probablemente de la degeneración de los fibroblastos y después de los osteoblastos. Este mecanismo es similar al que ocurre en el cartílago epifisario normal (13,36-38). La osificación tiene lugar directamente de los elementos celulares del tejido fibroso sometido a la diferenciación osteoblástica y en conexión con el segmento metafisario. Además tiene lugar también desde el cartílago epifisario, aunque con menor regularidad que en otros sitios.

Después de pasar un tiempo todo el tejido fibroso es reemplazado por tejido óseo trabecular orientado longitudinalmente y ordenado de forma regular; así, pocos trazos de este tejido son reorganizados pasados 12 meses. Al mismo tiempo la osificación periostal aumenta la formación de una fina capa de hueso (inicialmente trabecular y después compacta) alrededor del tejido fibroso osificado, formando una nueva diáfisis.

Esta secuencia de eventos durante los tres estadios aseguran que la distracción epifisaria alarga el hueso, dejándolo bien formado al final del proceso. Pero esta conclusión no concuerda con la de otros investigadores. Letts y Meadows (207) observaron en conejos blancos que la distracción epifisiolisis puede provocar cambios articulares de forma severa. Ring (274), en cachorros, encontró una fusión prematura de la fisis, no consolidación en el foco de alargamiento y fracturas a través del hueso alargado. En conejos, Jani (168-170) encontró alteraciones en el crecimiento en la dirección longitudinal de la fisis. Por otra parte, Sledge y Noble (294) (en conejos jóvenes) y Fishbane y Riley (112,113) (en perros) demostraron que la producción de una fractura a través de la zona hipertrófica no tiene efectos nocivos en el cartílago de crecimiento, y las fuerzas de distracción aumentan la proliferación de los condrocitos y la síntesis de matriz. Los autores rusos (114,161,164,334,335) utilizaban un aparato de distracción similar al de Monticelli, Spinelli y Bonucci (229), obteniendo unos resultados satisfactorios en humanos. Es posible que las

complicaciones observadas en los conejos y cachorros dependan del tipo de animal de experimentación elegido (pequeño y con dificultad de manejo) y además por el tipo de aparato de distracción empleado, el cual no puede asegurar una inmovilización estricta de los fragmentos durante la distracción.

La edad de los animales es también de importante consideración. Remarcado por Letts y Meadows (207), el mejor resultado fue obtenido en animales cerca de la maduración esquelética, ya que en este caso es posible evitar el daño que puede producirse por el prematuro cierre de la fisis; aunque los autores citados no aportan una solución a dicho problema.

En el cartílago de crecimiento resultante tras la distracción pueden observarse en muchos casos columnas de condrocitos distorsionadas e irregulares, divididas en lóbulos y rodeadas de fibroblastos y fibras de colágeno. Estos hallazgos y la ausencia de hueso trabecular hace pensar que la restauración de la osificación endocondral no es siempre predecible.

Posteriormente, otros autores siguieron realizando estudios experimentales en un intento de resolver las múltiples dudas que iban surgiendo al respecto (5,6,7,8,19,20,33,90,94,112,115-117,146,168-170,207,253-258,293,295,300,304,319-323,329).

El primer trabajo publicado para describir la aplicación clínica de la técnica fue realizado por Zazijalov y Paskin en 1967 (334) y 1968 (335), quienes introdujeron el término: distracción-epifisiolisis.

Posteriormente, una serie de autores (16,29,30,33,67,68,81,106,109,111,113,168-170,174 - 176,192,195,196,207,212,216,226 - 230,235,236,240,241,257,258,265,272,282,294), fundamentalmente europeos, han seguido aplicando esta técnica en pacientes.

Técnica de distracción fisaria (18):

La técnica más frecuentemente utilizada consiste en la elongación progresiva a través de la fisis, con un fijador externo, a un ritmo de 0,5 mm por día, aumentando la distancia entre epífisis y metáfisis hasta una separación deseada (10 mm), manteniendo el fijador hasta el final del proceso.

Existe además un segundo método de distracción fisaria que emplea pequeñas fuerzas con un lento grado de distracción (0,25 mm/12 horas), con la intención de inducir un incremento en la actividad del cartílago de crecimiento, sin causar fractura ni separación. De este modo, la integridad funcional del cartílago se mantiene hasta el final del periodo de crecimiento fisiológico (245,246,293,328).

En 1979, De Bastiani, Aldegheri y Renzi-Brivio introdujeron el término de "Chondrodiatasis" (89-91) para describir esta lenta, controlada y simétrica distracción de la fisis sin ruptura ni fractura, en la cual aumenta la actividad metabólica de las células cartilaginosas del cartílago de crecimiento (90,293), produciéndose un incremento de la zona hipertrófica con hiperplasia celular y un incremento de la producción de matriz. La zona de reserva y las columnas celulares quedarían histológicamente iguales; volviendo a la normalidad el metabolismo celular tras el cese del alargamiento (6,136).

La distracción fisaria reúne una serie de ventajas con respecto a otras técnicas expuestas y comentadas anteriormente:

- simplicidad y rapidez de aplicación, todavía mayores que las de la elongación mediante osteotomía percutánea,
- realización en un sólo tiempo quirúrgico,
- no se necesita la sección quirúrgica de la piel, periostio ni hueso,

- gran facilidad de consolidación, sin necesitar cirugías complementarias como aporte de injerto óseo o fijación interna,
- ausencia de grandes secuelas estéticas debidas a grandes incisiones cutáneas.

Sin embargo, entre los inconvenientes atribuidos a esta técnica podemos destacar:

- particular tendencia a la aparición de rigideces articulares a nivel de rodilla y tobillo, cuando la distracción se aplica sobre las fisis distal femoral y tibial distal, respectivamente,
- larga duración del tratamiento (319)
- riesgo de producción de artritis sépticas a causa de la vecindad a la articulación de los tornillos o de las agujas epifisarias (69,121),
- y finalmente , merece la pena hacer un comentario sobre la viabilidad futura del cartílago de crecimiento sometido a distracción. Lógicamente en caso de producirse un daño permanente de la fisis (cierre prematuro), las repercusiones no sólo serian funcionales (cese del crecimiento), sino que, además, sería imposible repetir la distracción fisaria más adelante en caso de necesitarla. Así, el riesgo de alterar el cartílago de crecimiento hace que la distracción fisaria deba utilizarse hacia el final del crecimiento (33,35,67,115-117,121,228-230,249,265,300).

La distracción fisaria es particularmente efectiva en la corrección de las disimetrías de los miembros inferiores que no excedan del 10% al final de la etapa de crecimiento (6,7), en la hipoplasia congénita progresiva durante el periodo de intensa actividad de crecimiento y en pacientes acondroplásicos (91,92). Según Paley (248,249) la distracción fisaria produce una osificación más rápida, permite una carga más temprana y el número de complicaciones es menor que en otras técnicas de elongación ósea, debiendo limitarse a niños mayores de 12 años por el peligro de cierre temprano de las epífisis.

Actualmente se mantienen como indicaciones de la distracción fisaria de la extremidad distal del fémur o de la extremidad proximal de la tibia en las siguientes circunstancias:

- A. Pequeñas disimetrías
- B. Fémur congénito corto
- C. Dismetrías con displasia de cadera
- D. Dismetrías con corrección angular
- E. Tumores óseos metafisarios

3.3.3.-Otras técnicas de elongación ósea.

En este apartado cabe mencionar dos técnicas como la distracción de focos de artrodesis y de fracturas de los huesos largos.

1. Distracción de un foco de artrodesis.

Puede realizarse en aquellos casos en los que además de la fusión articular, es necesario un alargamiento de la extremidad. Así, al realizar la artrodesis de forma convencional, se fijan los fragmentos óseos mediante un fijador-distractor monolateral. Al cabo de unos 15 días, como se realiza en otras distracciones diferidas se inicia la distracción del foco de artrodesis, a un ritmo de 0,5 mm. dos veces al día hasta conseguir el alargamiento previsto. La ventaja de esta técnica es la de realizar todo el tratamiento (fusión articular y corrección de la disimetría) en un solo tiempo quirúrgico (96).

2. Distracción de un foco de fractura.

En algunos casos en que está previsto realizar un alargamiento de un determinado hueso, y se presente una fractura en el mismo hueso, puede realizarse una fijación externa de la fractura y proceder al cabo de unos días a la distracción de los fragmentos como si se tratara de un alargamiento óseo convencional.

Hipótesis

1.- HIPÓTESIS

El cierre fisario prematuro como consecuencia del proceso de alargamiento óseo mediante distracción fisaria es uno de los mayores problemas de su aplicación.

El riesgo de alterar la viabilidad futura del cartílago de crecimiento obliga a limitar la utilización de la citada técnica en pacientes con edad cercana a la madurez esquelética.

Dado que la administración de tiroxina a dosis elevadas puede provocar un retraso del crecimiento, con disminución de la anchura y longitud del cartílago de crecimiento (64,271), decidimos realizar un estudio experimental asociando la administración de tiroxina al proceso de distracción fisaria, con el objetivo de intentar disminuir el citado riesgo de cierre prematuro del cartílago de crecimiento.

1.1.- Algoritmo de investigación.

El modelo experimental diseñado comprende las siguientes fases:

1ª FASE: En la primera fase dividimos el estudio en 4 grupos:

A: grupo control

B: grupo tratado hormonalmente con tiroxina

C: grupo tratado mediante distracción fisaria

D: grupo tratado mediante distracción fisaria y tiroxina

Los grupos A y B estaban formados por 12 conejos cada uno, los cuales se estudiaron a 3 tiempos de evolución diferente (un mes, un mes y medio, y dos meses de experimentación), en grupos de 4 conejos, para cubrir el periodo fértil de la fisis distal del fémur del conejo de raza Neozelandesa.

Los grupos C y D (conejos intervenidos quirúrgicamente) estaban formados por 8 conejos cada uno, estableciéndose 2 tiempos de evolución (un mes y un mes y medio de experimentación), también en grupos de 4 conejos; en estos grupos no se siguió un tercer tiempo a los dos meses porque los resultados al mes y medio eran definitivos (Tabla I).

En esta primera fase la administración de tiroxina se realizó de forma simultánea con el alargamiento óseo desde el primer día.

Nuestro objetivo era estudiar el efecto de la tiroxina sobre la fisis, en cuanto a la prevención de la formación de puentes óseos y cierre fisarios prematuros, tanto en los fémures intervenidos quirúrgicamente como en los no intervenidos.

FASE I	GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C	GRUPO D
	CONTROL	TIROXINA	DISTRACCIÓN F.	D.F. + TIROXINA
1 MES	4 CONEJOS	4 CONEJOS	4 CONEJOS	4 CONEJOS
1,5 MESES	4 CONEJOS	4 CONEJOS	4 CONEJOS	4 CONEJOS
2 MESES	4 CONEJOS	4 CONEJOS		

2ª FASE: En la segunda fase dividimos el estudio en 2 grupos:

A: grupo en el que no administramos tiroxina.

B: grupo en el que se administró tiroxina durante 10 días.

En esta fase se iniciaba la distracción fisaria a partir del undécimo día en ambos grupos. De esta forma, estudiamos las fisis a los 10 días de iniciado el experimento (al finalizar el tratamiento hormonal), a los 13 días (después de 3 días de alargamiento fisario) y a los 17 días (7 días después de iniciada la distracción fisaria) (Tabla II).

En la 2ª Fase experimental nuestro objetivo era estudiar los estadios iniciales del alargamiento óseo a través de la fisis, tanto en los conejos tratados hormonalmente como en los no tratados.

FASE II	GRUPO A	GRUPO B
	SIN TIROXINA	TIROXINA 10 DIAS
10 DIAS	4 CONEJOS	4 CONEJOS
13 DIAS (3 d.f.)	4 CONEJOS	4 CONEJOS
17 DIAS (7 d.f.)	4 CONEJOS	4 CONEJOS

Material y Método

1.- MATERIAL

1.1.- Animal de Experimentación.

En el presente trabajo hemos utilizado 64 conejos hembra de raza Neocelandesa, de 9 semanas de edad y con un peso medio de 2130 gramos (1500 - 2675). Los animales se obtuvieron a través de una granja de mejora genética.

El animal de experimentación escogido para nuestro estudio fue el conejo, por varios motivos:

- por el gran paralelismo entre sus núcleos de osificación y los del hombre, con una edad esquelética muy similar al nacer (64),

- por su crecimiento proporcional al del hombre, incluso en la fusión de sus cartílagos de crecimiento,

- por poseer además, un sistema de vascularización ósea muy parecido al del hombre (311),

Finalmente, también tuvimos en consideración la facilidad en la obtención de una muestra homogénea, con grupos de conejos de la misma camada, proporcionados por una granja de mejora genética, colaboradora del Departamento de Genética de la Universidad Politécnica de Valencia, situada en Sant Carles de la Rápita (Tarragona).

1.1.1.- Raza.

Para la selección de la raza, se consideraron varias con las siguientes premisas:

- facilidad de obtención
- manejabilidad
- tamaño adecuado para el estudio

seleccionamos así dos razas, el Gigante de España o Gigante Valenciano y el Neocelandes.

GIGANTE VALENCIANO:

Cruce entre Conejo Común y Gigante de Flandes, se obtuvo en 1915 por un procedimiento alternativo, fijándose en 1921 en París como una nueva raza.

El peso de un conejo adulto se sitúa entre 5 y 7 Kg. con un tamaño de 80 cm.

NEOCELANDES:

Llama la atención sus ojos rojos y pelaje blanco. El peso del conejo adulto es de 4 a 5 Kg., con un tamaño medio de 60 cm.

Se trata de un conejo manso que permite un fácil manejo (Fig. 1).

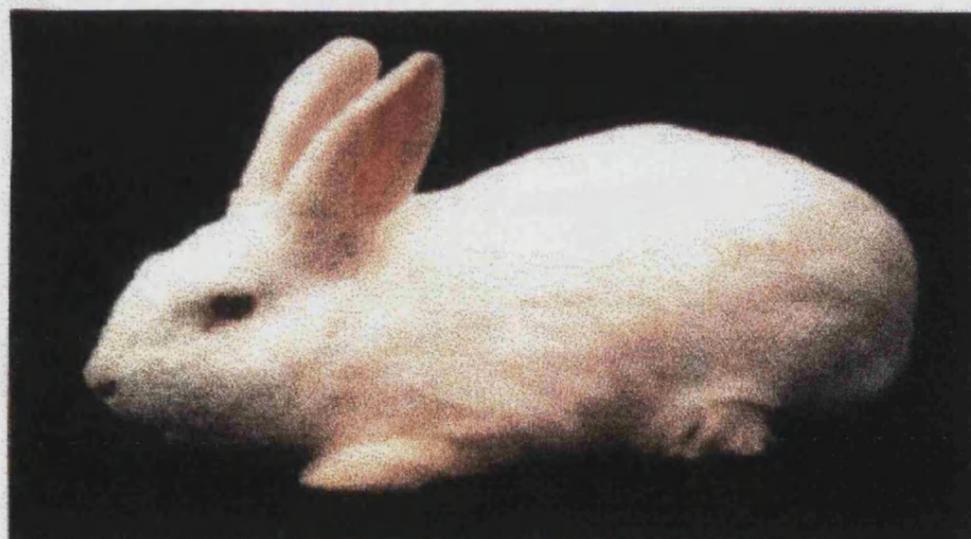


Figura 1. Conejo raza Neozelandesa.

En los estudios preliminares trabajamos con ambas razas, aunque finalmente nos decidimos por el Neocelandes por su mejor manejabilidad al ser más pacífico.

1.1.2.- Edad y Sexo.

Para este estudio trabajamos con conejos de 9 semanas de edad, momento en el que la fisis distal femoral es plenamente fértil (correspondería según la regla de Cañadell (64,138) a un niño de 6,9 años):

Edad en días del conejo x 0,11= Edad en años del niño

El cierre fisario distal de fémur en conejos de raza Neocelandesa se localiza alrededor de la semana 18 (182).

El sexo elegido fue el femenino, ya que las hembras eran más pacíficas que los machos.

1.2.- Segmento óseo.

La intervención quirúrgica que más adelante describiremos se realizó en la pata trasera derecha de los animales, a nivel femoral. El fémur izquierdo de los animales se utilizó como control.

Elegimos el fémur del conejo para nuestro estudio por su mayor tamaño, apto para la colocación del fijador externo.

El hecho de que el segmento óseo femoral diste más del suelo que el tibial, facilita las condiciones higiénicas postoperatorias en lo que se refiere al cuidado de las heridas, en los orificios cutáneos de entrada de las agujas del fijador externo.

1.3.- Fijador-distractor externo.

A pesar de ser el conejo uno de los animales más utilizados en estudios experimentales de Traumatología y Cirugía Ortopédica, tuvimos una gran dificultad en encontrar fijadores externos diseñados para su

utilización en el fémur del conejo (283,286), por lo que solicitamos la colaboración de Instituto de Biomecánica de Valencia (IBV), en el diseño y fabricación de un fijador externo capaz de atender nuestras solicitudes en cuanto a:

- localización en el fémur
- tamaño adecuado al conejo de 9 semanas y tolerable hasta las 15 semanas
- precisión en el alargamiento óseo
- solidez en su estructura
- económico en su fabricación.

Para cumplir estos requisitos, se diseñó un primer prototipo (Fig. 2) con el que se encontraron los siguientes inconvenientes:

- El arco proximal no era suficientemente alto, lo que provocaba compresión sobre la masa muscular del muslo del conejo.
- La distancia entre las agujas proximales y distales era demasiado grande, lo que provocaba un compresión del arco proximal sobre el abdomen del animal.

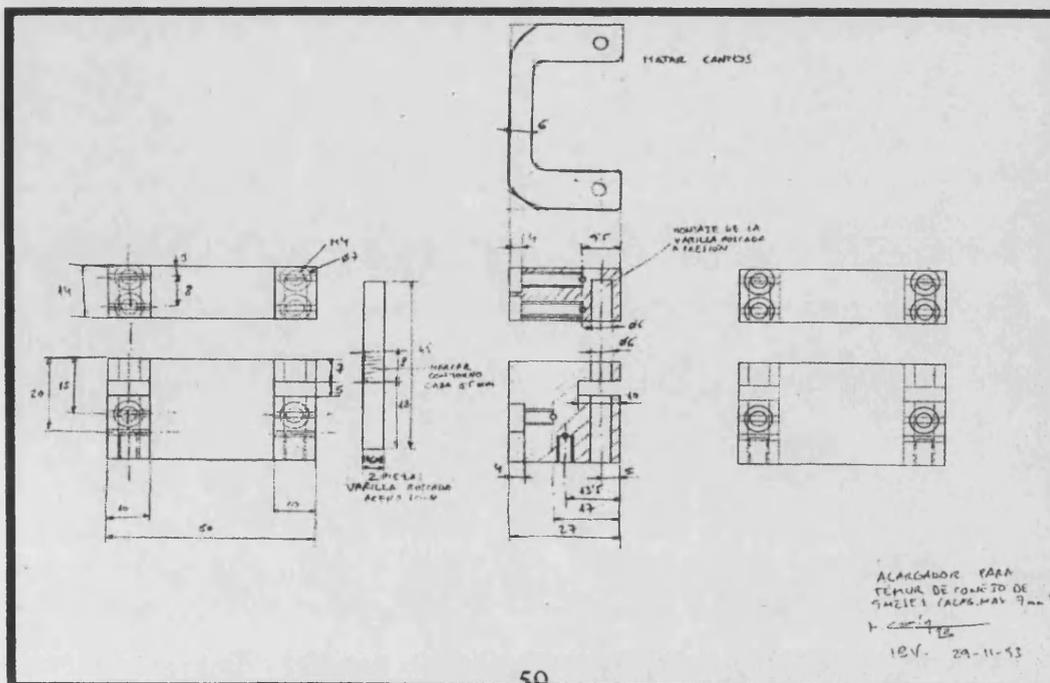


Figura 2. Prototipo de fijador-distractor externo.

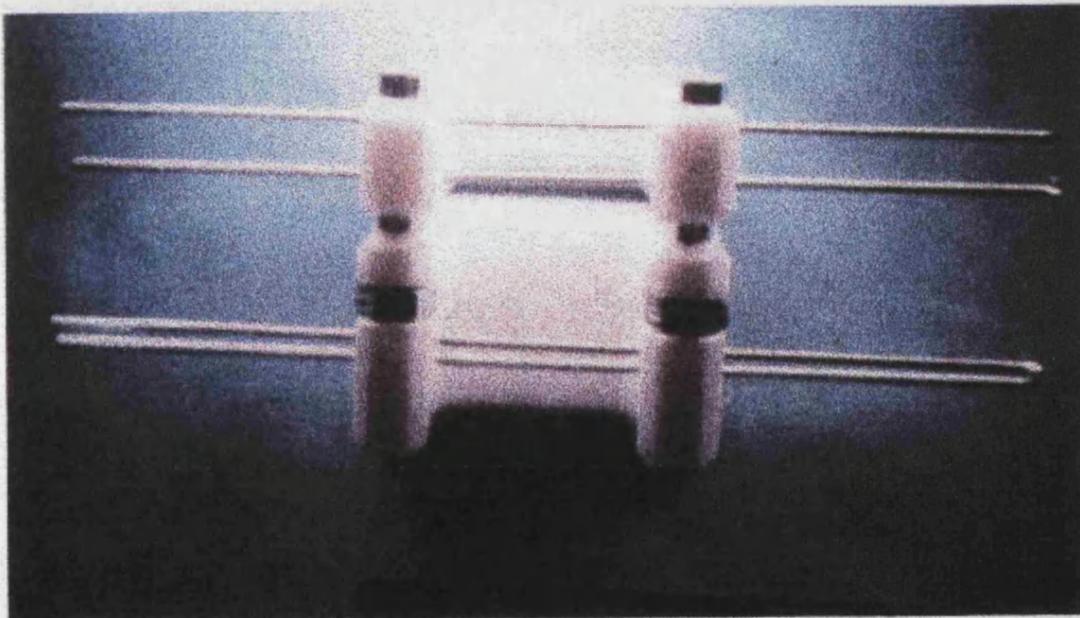
Se realizaron las correcciones oportunas y se experimentó con el nuevo fijador externo con cuatro conejos, observando su buen funcionamiento.

Características del Fijador-Distractor

El fijador-distractor constaba de un cuerpo de polietileno en dos piezas, unidas por dos barras de acero roscadas, con un sistema micrométrico para la distracción fisaria con el cual se obtenía una distracción de 0,5 mm. por cada mitad de paso de rosca.

La fijación se obtenía mediante la transfixión femoral con 4 agujas de Kirschner de 1,5 mm, 2 proximales y 2 distales a la fisis. (Fig. 3)

Figura 3. Fijador-distractor externo.



1.4.- Hormona tiroidea.

Para el estudio se utilizó L-Tiroxina proporcionada por el Laboratorio Rhône-Poulenc-Rorer S.A.

1.5.- Estudio radiológico.

Para el estudio radiológico se utilizó un mamógrafo ALPHA RT INSTRUMENTARIUM con ánodo de Molibdeno.

Las características técnicas fueron:

	Foco	MAS (miliamperios/segundo)	Kv (Kilovoltios)
Antero-posterior	100	32	27
Lateral	100	40	27

El tipo de película utilizado fue CRONEX MICROVISION (Mammography film) DUPONT.

1.6.- Estudio histomorfométrico.

La irregularidad de algunas fisis hace difícil, sino imposible, elegir la zona que servirá para establecer comparaciones entre dos o más de ellas. Por ello deben utilizarse métodos que permitan expresar numéricamente los resultados (125,126). Se han utilizado diversas técnicas, desde la cuantificación mediante procesador de imágenes (127,213) hasta el empleo de un ocular micrométrico (128).

El avance tecnológico en el campo de la informática ha dado como resultado la aparición, hace ya algunos años, de los procesadores de imágenes, utilizados por algunos autores para realizar mediciones cuantitativas de la fisis (127,213) con una gran fiabilidad, lo cual garantiza su uso (126).

En nuestro trabajo utilizamos un equipo compuesto por un microscopio Olympus BH-2 conectado a una cámara Sony CCD; y un ordenador PC con el procesador de imágenes BIOCOM (Fig. 4).

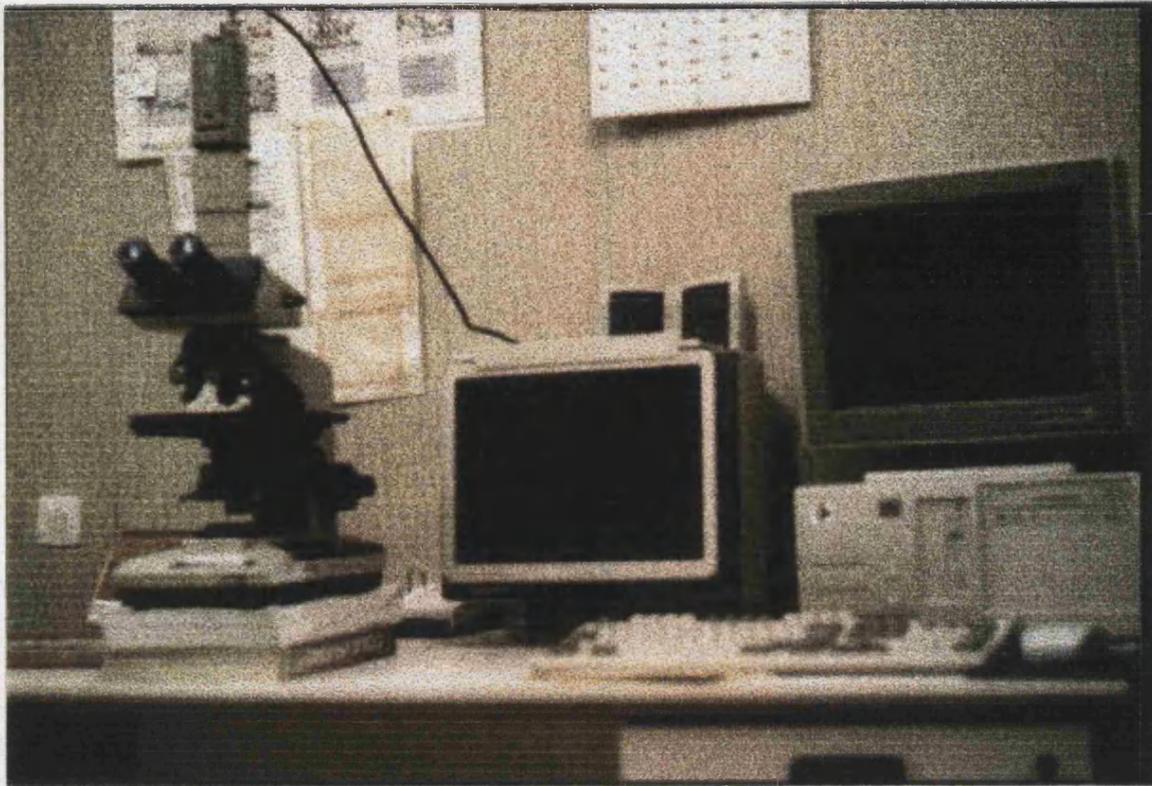


Figura 4. Equipo informático para estudio histomorfométrico.

1.7.- Análisis estadístico.

Para el almacen de datos se utilizó el programa D Base 3 Plus, y el análisis estadístico se realizó mediante el paquete SPSS-PC para Windows.

2.- MÉTODO

2.1.- Estabulación de los animales.

La estabulación de los animales se realizó de acuerdo con las directrices comunitarias para la Unión Europea recogidas en la Directriz 86/609/CEE del 24 de noviembre, anexo II al artículo 5; Real Decreto 223/1988 BOE 18 de Marzo de 1988 sobre la protección de los animales utilizados para la experimentación y otras finalidades científicas.

La estabulación de los animales fue realizada en jaulas independientes para cada conejo, con comida y bebida de dispensación semiautomática.

Las dimensiones de la jaula (50x 38x 33)(Fig. 5) permitían el desplazamiento por su interior.

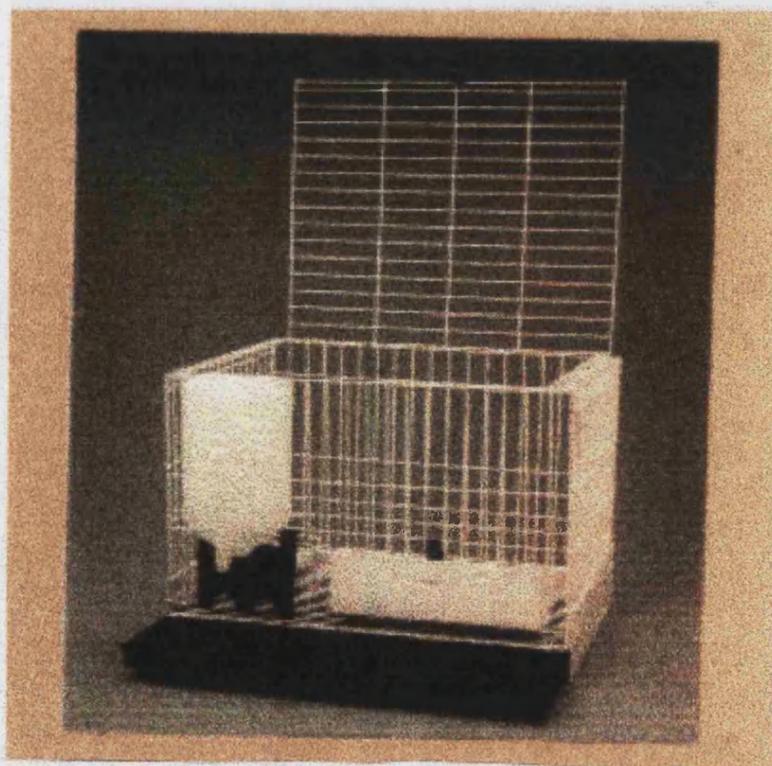


Figura 5. Jaula para conejo.

La alimentación fue siempre a base de pienso específico para conejo, con la siguiente composición:

Dieta de Mantenimiento Conejo Ref.: IPM-C70 (Tabla III).

Información Analítica					
	IPC-R10	IPM-R20	IPM-C70	IPS-Y80	IPS-P90
Análisis químico (%)					
Humedad máxima	9	9	10	10	9
Proteína bruta	19.2	17	14.5	16.5	23.5
Lipido (mat.)	0.80	0.7	5.5	1.3	1.08
Maduración - Celulosa (mat.)	0.8	0.5	0.5	0.58	0.7
Grasa bruta - mat.	3.5	3.0	2.8	2.9	6
Fibra bruta	4.5	5	18	10.5	0.95
Centrose (mat.)	5	8	8.5	8.4	5
Cenizas	5.85	9.8	7	7.8	2.1
Fósforo	0.7	0.65	0.5	0.5	1.07
Cloruro (mat.)	0.5	0.6	0.6	0.6	0.4
M.E.L.N.	66.5	55	48	47	41
Energía mat. (Kcal/kg)	3000	2850	2900	2750	3150
Composición vitaminas (mg/kg)					
Vitamina A (I.U.)	15000	10000	10000	15000	15000
Vitamina D3 (I.U.)	2000	1000	1400	2000	3000
Vitamina E - tocopherol	100	50	30	75	50
Vitamina K3 - menadiona	2.4	7.3	7	30	2.8
Vitamina B1 - tiamina	15	7.5	5	20	2.5
Vitamina B2 - riboflavina	15	6	4.2	20	5
Vitamina B6 - piridoxina	10	5	2	10	6
Vitamina B12 - cobalamin	50	25	—	30	—
Vitamina PP - ac. nicotínico	60	30	34	67	30
Acido Pantotámico	30	15	15	31	30
Cistina	1500	750	1200	1500	2000
Oligoelementos (mg/kg)					
Manganeso	80	40	70	70	80
Cinc	80	30	70	70	80
Hierro	50	25	100	220	120
Cobalto	20	10	15	10	5
Iodo	1.50	0.75	—	1	1
Cobalto	0.88	0.44	0.4	0.4	1

Se estandarizó una cantidad de comida diaria durante todo el periodo de estabulación en:

120 gr. x conejo x día

no añadiéndose en ningún caso otro tipo de dieta especial.

El agua se dispensó "ad libitum".

2.2.- Preparación de la L-tiroxina.

Partiendo de L-tiroxina en polvo, se mezclaba con NaCl polvo a una concentración 1:18 para aumentar su volumen. Esta mezcla se añadía a una solución de NaOH 0,002 N para obtener un ph entre 11 y 12, y facilitar así la disolución de la tiroxina.

La solución resultante tenía una concentración en L-Tiroxina de 400 mcg/ ml.; y se hacía pasar por un filtro esterilizante (Millipore Ref.: SLGV013OS de baja absorción de proteínas) en campana de flujo laminar y en condiciones asépticas.

La inyección subcutánea en el animal de experimentación se realizaba inmediatamente tras la preparación del fármaco.

Este proceso se repetía diariamente durante los diez días de tratamiento.

2.3.- Técnica anestésica.

Las anestесias en el animal de experimentación se realizaban por vía intramuscular y endovenosa con una mezcla anestésica de Clorhidrato de Ketamina y Prometazina según la siguiente pauta:

1. Preparación de la mezcla anestésica compuesta por:

- KETOLAR (R) 50 mg. (Clorhidrato de Ketamina, vial de 10 ml con 50 mg./ ml.)

- FRINOVA (R) 2 ml. (50 mg. de Prometazina)

2. Inyección intramuscular de 1,2 c.c. por Kg. de peso de mezcla anestésica.

Durante el tiempo de espera preanestésico (10-15 minutos) se procedía a la inyección intramuscular de una dosis de profilaxis antibiótica

con CEFAZOLINA base-sal sódica (KEFOL (R) 0,5 gr.) vial de 2 ml. a razón de 0,4 c.c. por kg. de peso.

Se procedía a la depilación de la pata a intervenir con crema depilatoria (OPILCA (R)) y se cateterizaba la vena marginal de la oreja para los siguientes pasos anestésicos.

3. Se administraban 0,5 c.c. de solución anestésica y se podían repetir nuevas dosis en caso de necesidad durante la intervención.

2.4.- Técnica quirúrgica.

En todos los casos las intervenciones se realizaron bajo las máximas condiciones de asepsia.

La esterilización del material quirúrgico se hizo mediante la inmersión durante 10' en líquido INSTRUMET (R), y lavado posterior con suero fisiológico.

La sesión se iniciaba pesando y recogiendo los datos identificativos del animal (nº de placa), en hoja de datos (Fig. 6).

GRUPO:					
A	B	C	D		
SERIE:					
I			II		
NÚMERO DE CONEJO:					
EDAD: (días)					
PESO: (gramos)					
FECHA INICIO DISTRACCIÓN FISARBA:					
FECHA INICIO TRATAMIENTO TIROXINA:					
EDAD SACRIFICIO:					
1 MES	1,5 MESES	2 MESES	10 DIAS	13 DIAS	17 DIAS
INCIDENCIAS Y OBSERVACIONES:					

Figura 6. Hoja de datos.

Después se procedía al tiempo anestésico según la técnica detallada, con la preparación de la pata a intervenir, depilando y pintando la piel con solución antiséptica BETADINE (R) (Povidona Yodada al 10%), cubriendo con un paño fenestrado y dibujando sobre la piel la prominencia del condilo femoral externo y el punto de inserción del ligamento lateral externo (Fig. 7).



Figura 7. Preparación del campo quirúrgico e identificación del cóndilo femoral.

A continuación se comprobaba la alineación de los agujeros del fijador externo para el paso de las agujas de Kirschner.

Se colocaba el animal en decúbito lateral izquierdo y se iniciaba la intervención introduciendo la primera aguja más distal (1,5 mm) en el cóndilo femoral, a través del fijador externo y con técnica percutánea a nivel del punto de inserción del LLE, con motor (Fig. 8).

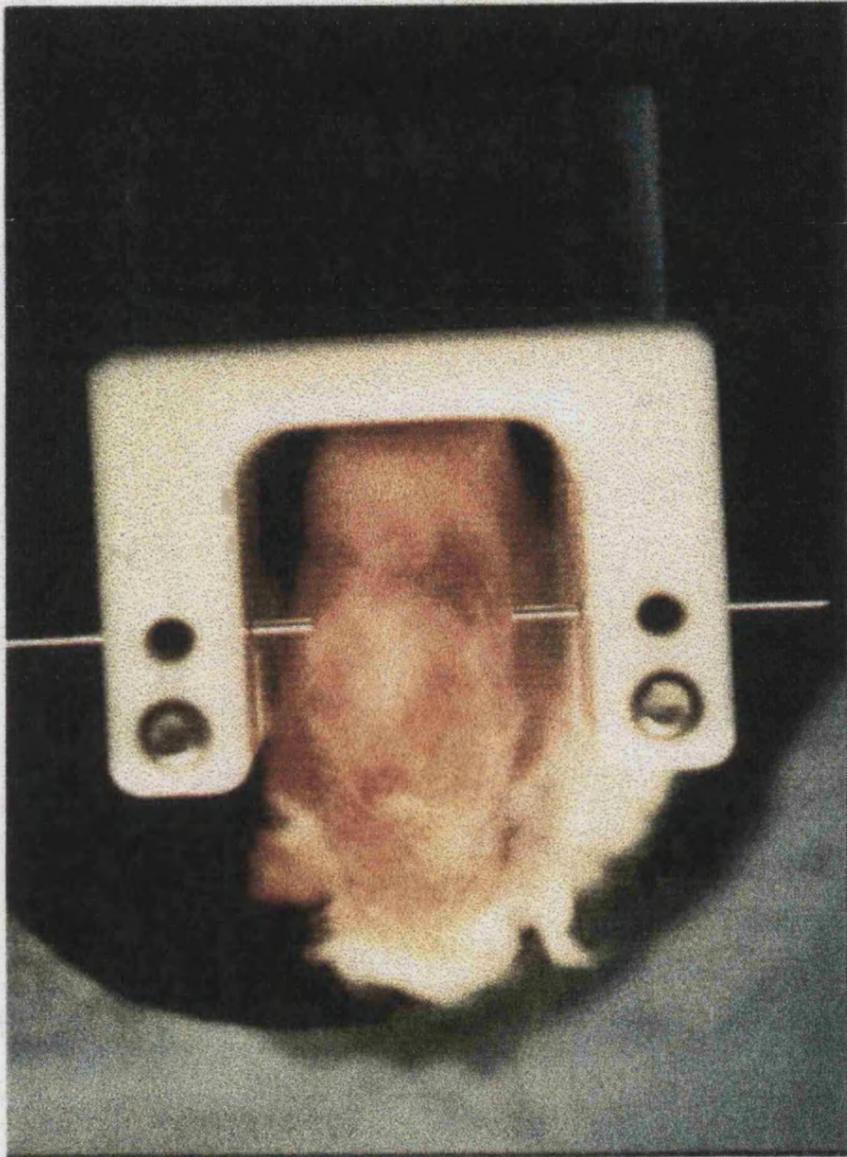


Figura 8. Colocación de la aguja de Kirschner distal.

Seguidamente se introducía la aguja más proximal en la diáfisis femoral. En estos momentos ya no era posible la corrección de la situación del fijador y por lo tanto, la introducción de las dos agujas restantes era muy sencilla.(Fig. 9,10)

Posteriormente se bloqueaba el fijador a las agujas enroscando los cuatro tornillos con llave allen y se cortaban las agujas a ras del fijador, desinfectando los puntos de entrada de las agujas con BETADINE (R).

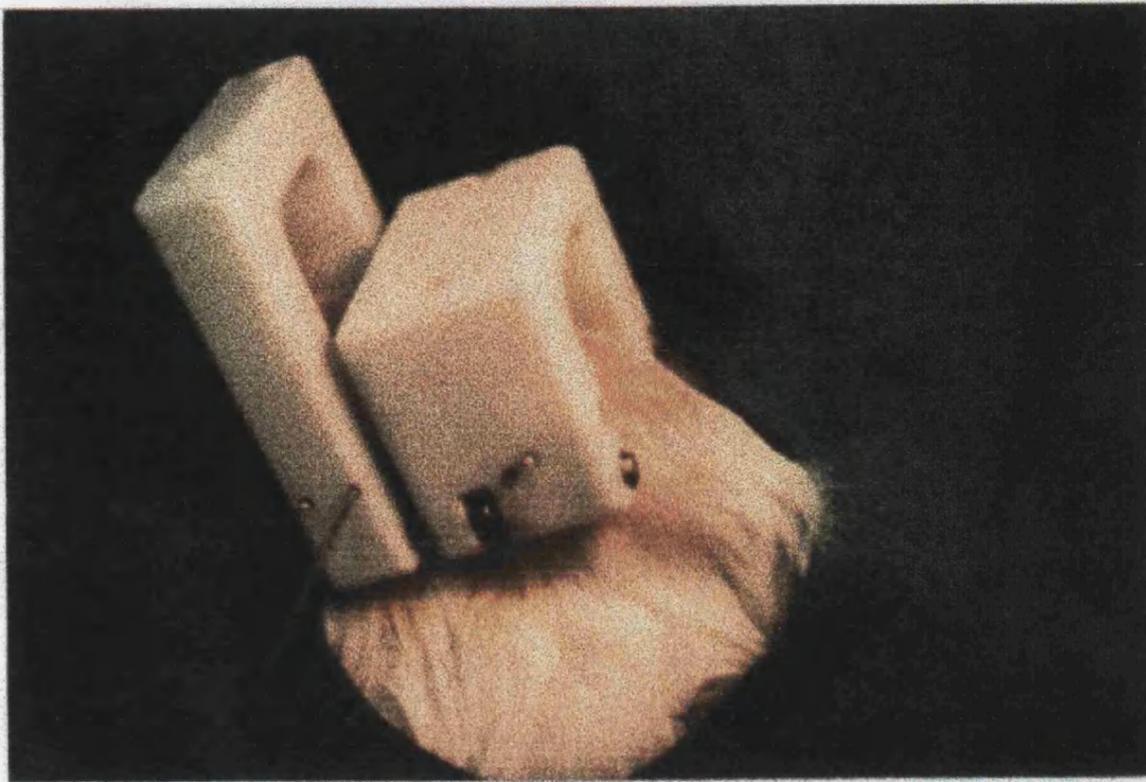


Figura 9. Colocación del resto de agujas de Kirschner.

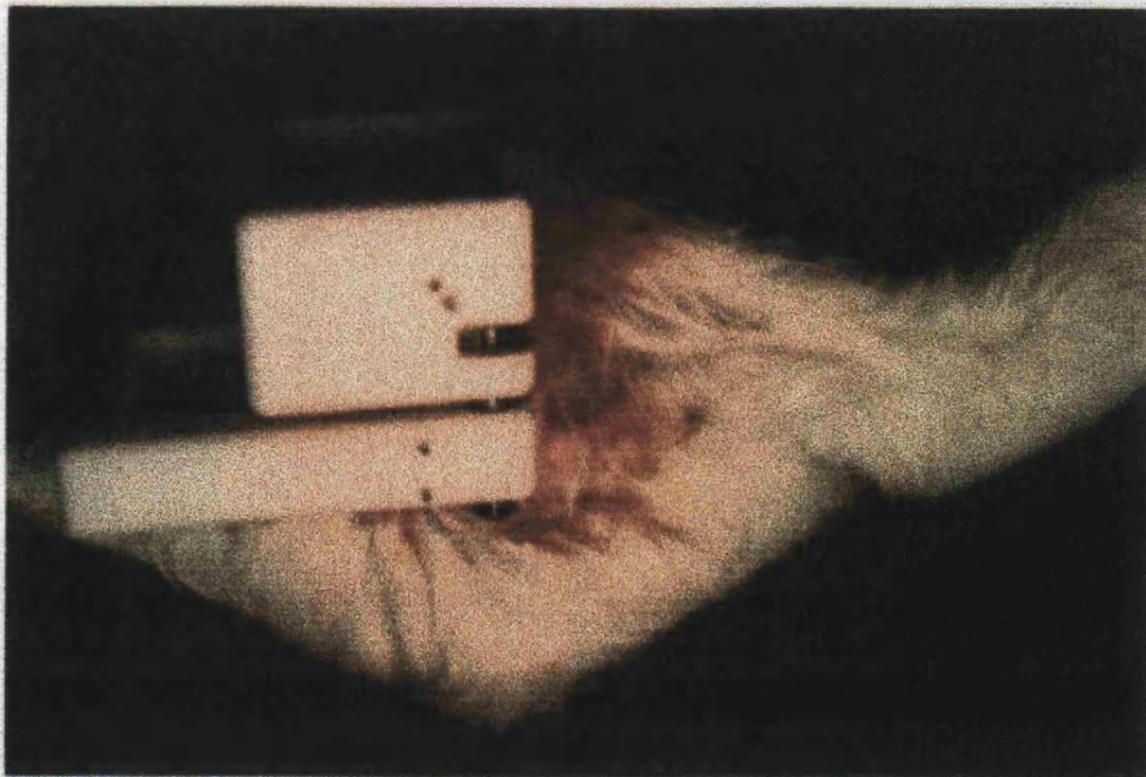


Figura 10. Estabilización del sistema. 69

2.5.- Postoperatorio.

Para prevenir la agitación psicomotriz del animal durante el despertar anestésico, se administraba en estos momentos una dosis de 0,5 ml de LARGACTIL (R) (Clorpromazina 25 mg. en 5 c.c.) depositando el animal en decúbito lateral y controlandolo periódicamente al menos durante dos horas, hasta que era capaz de andar (Fig. 11).

Durante este intervalo de tiempo se realizaban los controles radiológicos en antero-posterior y lateral para la detección precoz de alguna posible fractura peroperatoria o la colocación incorrecta del fijador externo.

Completadas todas estas fases se permitía la deambulación en el interior de las jaulas, siguiendo con curas periódicas de las heridas hasta el final de la distracción fisaria.

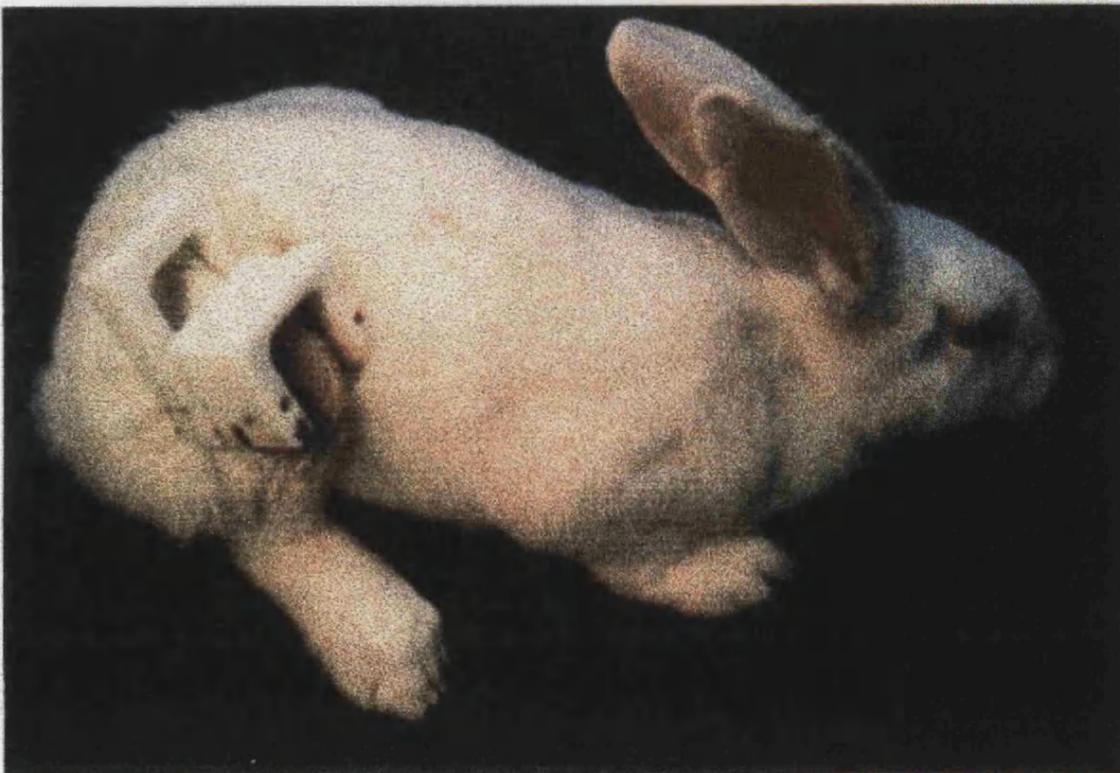


Figura 11. Inicio de la deambulación del animal. 70

2.6.- Técnica para el sacrificio del animal.

Para el sacrificio del animal se procedía a la anestesia del mismo, según la técnica descrita, practicándose a continuación una punción intracardiaca de una dosis letal de Pentotal Sódico 2 ml.

2.7.- Estudio radiológico.

Para la comprobación de la correcta colocación del fijador externo se realizaron radiografías en proyección ántero-posterior y lateral del fémur derecho tras finalizar la intervención.

Para la medición radiológica de la longitud femoral total se realizaban radiografías en proyección antero-posterior, tomando como medida la distancia entre el trocanter mayor y el cóndilo medial. (Fig. 12).

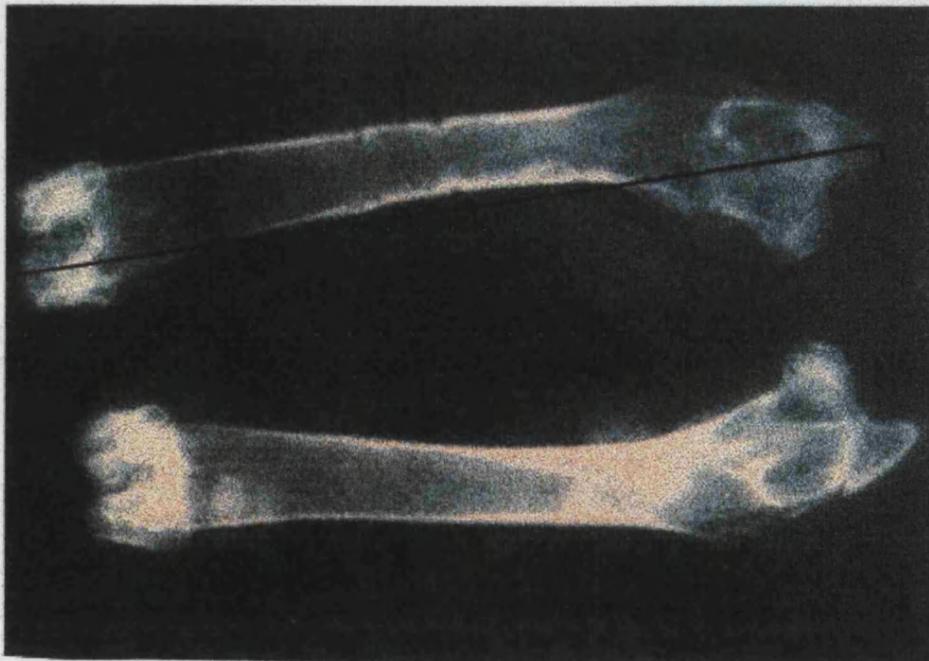


Figura 12. Medición radiológica desde trocanter mayor hasta condilo medial.

2.8.- Estudio histológico.

Para el estudio de microscopía óptica se procesaron las muestras del cartílago de crecimiento fisario distal del fémur.

Tras su disección cuidadosa el fémur se incluía, convenientemente identificado, en formol al 10% durante 15 días. Posteriormente se realizaba un corte central en el plano axial mediante una sierra mecánica. Después se procedía a su decalcificación con ácido nítrico al 5 % durante una semana, y tras reducir la pieza hasta un grosor aproximado de 3 milímetros, se realizaba la deshidratación, sumergiendo las piezas tres veces en alcohol de 96° durante 20 minutos, a 40°C. Se repetía el procedimiento con alcohol absoluto durante 20 minutos y por tres veces a 40°C y una vez durante 30 minutos a la misma temperatura.

A continuación, se incluían las muestras en parafina a 60° durante 90 minutos, y después, tras preparar los bloques correspondientes, se realizaban cortes seriados de 5 micras con un microtomo.

Mediante pases sucesivos por xilol durante 10 minutos, alcohol absoluto durante 5 minutos, alcohol de 96°, 80° y 70° durante 5 minutos en cada uno de ellos y agua destilada, se conseguía la desparafinización, realizándose a continuación las tinciones histológicas de Hematoxilina-Eosina, Tricrómico de Masson y Reticulina de Jones. Esta última técnica se incluyó en el estudio al ofrecer un mayor contraste en el estudio histomorfométrico.

2.9.- Estudio Histomorfométrico.

La mayor parte de artículos en los que se realizaban estudios comparativos entre dos o más placas fisarias, desde el punto de vista histológico, soportaban sus conclusiones a partir de diferencias

cualitativas (64). Sin embargo, el error de observación puede ser tan elevado que los mismos resultados podrían ser interpretados de forma totalmente opuesta por distintos investigadores. Es por ello, que la metodología científica actual obliga a cuantificar los datos, que sustentan las conclusiones obtenidas a partir de la comparación de dos grupos experimentales distintos. Con este propósito realizamos el estudio histomorfométrico estableciendo las siguientes mediciones a 100 aumentos:

- Altura del cartílago de crecimiento
- Área de cartílago de crecimiento incluida en el campo microscópico
- Número de columnas en una anchura de 30 Um (Unidades de máquina)

Aunque en otros estudios realizados previamente (126,128,185,224,225), se presentan mediciones de la fisis teniendo en cuenta las distintas capas individualmente; la gran irregularidad morfológica de la zona germinal, sobre todo a nivel femoral, hace que los datos obtenidos con las mediciones por capas ofrezcan poca fiabilidad a la hora de comparar datos, por lo que nosotros optamos por realizar la medición de forma conjunta de todo el cartílago de crecimiento (Fig. 13).

Con el fin de obtener una muestra suficientemente representativa del conjunto de la fisis, de cada muestra histológica estudiamos 5 campos microscópicos a 10 aumentos. En cada campo se realizaron 5 mediciones de Altura, 1 medición de Área y 1 medición de número de columnas, obteniendo un total de 25 alturas, 5 áreas y 5 "nº de columnas".

La correspondencia entre Unidades de Máquina (Um) y Micras a 10 aumentos era:

$$1 \text{ Um} = 5 \text{ micras}$$

La irregularidad del cartílago fisario hace difícil homogeneizar la

selección de las zonas de medición (126), por lo que en nuestro trabajo estandarizamos el estudio histomorfométrico a partir de la primera incurvación dorsal de la fisis en el plano lateral (Fig. 14), contando a partir de este punto 5 campos microscopicos a 10 aumentos.

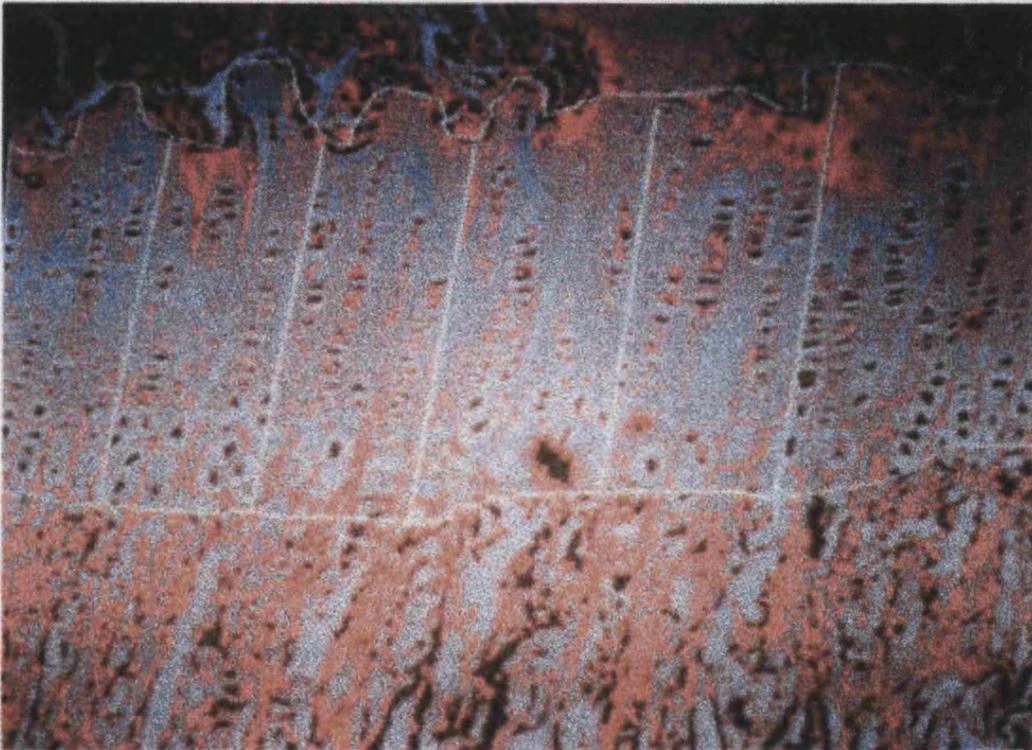


Figura 13. Estudio histomorfométrico, mediciones área y alturas de la fisis.



Figura 14. Localización de la primera incurvación dorsal de la fisis.

2.10.- Análisis estadístico.

Para el análisis estadístico de los resultados del estudio radiológico e histomorfométrico se utilizó un dato de cada sujeto debido a que, en los sujetos intervenidos, el lado no operado no era comparable al de los conejos no sometidos a distracción fisaria. Por lo tanto, se optó por una estrategia de análisis de datos independientes.

La evaluación del efecto de la tiroxina se llevó a cabo comparando los niveles medios de cada una de las variables en los conejos con y sin tiroxina. Al tratarse de un diseño experimental, en el que la asignación a un grupo u otro es aleatoria, podemos presuponer que las diferencias encontradas no están confundidas por otras variables no medidas. En la evaluación del efecto de la distracción fisaria, el análisis se realizó con las mismas pruebas con las que se evaluó el efecto de la tiroxina.

Los promedios de las variables en ambos grupos fueron comparadas mediante una prueba paramétrica, la t de Student, tras comprobar la gaussianidad de la distribución de los valores analizados (prueba de Kolmogorov-Smirnov). No obstante, y debido al reducido número de sujetos, se comprobó el nivel de significación mediante una prueba equivalente no paramétrica (prueba U de Mann-Whitney).

En la serie I, las comparaciones se realizaron para todos los conejos reclutados y también por los diferentes periodos de evolución y observación (un mes, un mes y medio, y dos meses). En la serie II, comparamos las diferentes variables en los conejos con y sin tiroxina de forma global, a los diez días, a los trece días (tres con distracción fisaria) y a los diecisiete días (siete con distracción fisaria).

Se exploró también la posible interacción entre las variables independientes, distracción fisaria y tiroxina, introduciendo en un modelo de regresión lineal múltiple, además de dichas variables un término

multiplicativo de ambas (término de interacción). La presencia de una modificación de efecto significativa se valoró observando la significación estadística del término de interacción. Esta prueba es idéntica a la resultante de un análisis de la varianza con dos factores (tiroxina y distracción física) en el que se evalúa la interacción entre ambas variables. De la misma forma se exploró la posible interacción entre las variables tiroxina y mes de observación, en la evaluación del efecto de la tiroxina sobre la longitud femoral total.

Resultados

1.- ESTUDIO RADIOLÓGICO

1.1.- Serie 1ª

A) Conejos no intervenidos quirúrgicamente.

En los conejos no intervenidos quirúrgicamente (Grupo A, B), realizamos un estudio comparativo entre los no tratados hormonalmente (Grupo A); y los que sí habían recibido tratamiento hormonal con tiroxina (Grupo B).

Con un tiempo de seguimiento de un mes, observamos que la LFT media no difería entre ambos grupos, en el grupo no tratado hormonalmente era de 97,25 mm (rango 95-101), mientras que en el grupo tratado con tiroxina era de 97 mm (rango 93-101).

Los resultados de las mediciones de ambos grupos quedan reflejados en la tabla IV.

Tabla IV

SIN TIROXINA		CON TIROXINA	
CONEJO	LFT(mm)	CONEJO	LFT(mm)
2178	101	8887	97
1984	98	8501	97
2055	95	1221	93
1878	95	8851	101
MEDIA:97,25 DE: 2,87		MEDIA:97 DE:3,27	

Después de un mes y medio de experimentación, la LFT media era superior en el grupo que no había recibido tratamiento con tiroxina. La LFT media era de 100,5 mm (rango 98-102) en dicho grupo, mientras que en el tratado hormonalmente era de 97,25 mm (rango 96-98). Los resultados de las mediciones de ambos grupos a un mes y medio de experimentación quedan reflejados en la tabla V.

Tabla V

SIN TIROXINA		CON TIROXINA	
CONEJO	LFT(mm)	CONEJO	LFT(mm)
1585	102	10	96
281	101	5417	98
3419	101	8465	97
3241	98	4358	98
MEDIA: 100,5 DE: 1,73		MEDIA: 97,25 DE: 0,96	

A los 2 meses de experimentación, la LFT media era superior en el grupo no tratado con tiroxina, con una LFT media de 103 mm (rango 98-109) mientras que el grupo tratado con tiroxina presentaba una LFT media de 99 mm (rango 95-102): La diferencia entre ambos grupos era de 4 milímetros. El incremento producido desde el primer al segundo mes fue de 5,75 milímetros en el grupo no tratado hormonalmente, mientras que el grupo tratado con tiroxina mostraba un incremento tan sólo de 2 milímetros.

Los resultados de ambos grupos a los 2 meses de experimentación quedan recogidos en la tabla VI.

Tabla VI

SIN TIROXINA		CON TIROXINA	
CONEJO	LFT(mm)	CONEJO	LFT(mm)
3669	102	977	99
905	109	100	95
299	103	0	100
4447	98	978	102
MEDIA: 103 DE: 4,446		MEDIA:99 DE:2,944	

B) Conejos intervenidos quirúrgicamente.

En este grupo incluimos los fémures derechos de los conejos de los grupos C (en los que se realizó distracción fisaria) y D (en los que se realizó distracción fisaria asociada a tratamiento hormonal con L- Tiroxina)

En el primer mes de experimentación la LFT media era superior en el grupo tratado con tiroxina, 99,75 mm (rango 96-102), frente a los 96 mm (rango 94-97) en el grupo no tratado hormonalmente (Tabla VII).

Por el contrario, con un tiempo de experimentación de un mes y medio, la LFT media era superior en el grupo no tratado hormonalmente, 101,25 mm (rango 98-104), frente a los 100,25 mm (rango 97-103)

alcanzados en el grupo tratado con tiroxina (Tabla VIII).

Tabla VII

SIN TIROXINA (C)		CON TIROXINA (D)	
CONEJO	LFT (mm)	CONEJO	LFT (mm)
886	96	4018	102
413	97	362	102
199	97	4472	99
457	94	1266	96
MEDIA : 96 DE: 1,414		MEDIA : 99,75 DE: 2,872	

Tabla VIII

SIN TIROXINA (C)		CON TIROXINA (D)	
CONEJO	LFT (mm)	CONEJO	LFT (mm)
4509	98	4508	103
1762	104	4217	100
302	99	281	97
4192	104	593	102
MEDIA : 101,25 DE: 3,202		MEDIA : 100,25 DE: 2,363	

Para valorar el alargamiento obtenido tras la distracción fisaria comparamos el fémur intervenido (derecho) con el contralateral, tanto en el Grupo C (distracción fisaria sin tiroxina), como en el Grupo D (distracción fisaria con tiroxina) (Fig. 15,16).

En el Grupo C observamos en el primer mes de experimentación que la diferencia media entre ambos fémures era de 3,75 milímetros (mayor el intervenido); mientras que en el grupo D esta diferencia entre fémur derecho e izquierdo era superior, 5,25 milímetros (mayor el intervenido) (Tabla IX):

Tabla IX

SIN TIROXINA (C)			CON TIROXINA (D)		
CONEJO	LFT D (mm)	LFT I (mm)	CONEJO	LFT D (mm)	LFT I (mm)
886	96	91	4018	102	97
413	97	95	362	102	97
199	97	93	4472	99	94
457	94	90	1266	96	90
MEDIA :	96	92,25	MEDIA :	99,75	94,5
DE:	1,414	2,217	DE:	2,872	3,3317

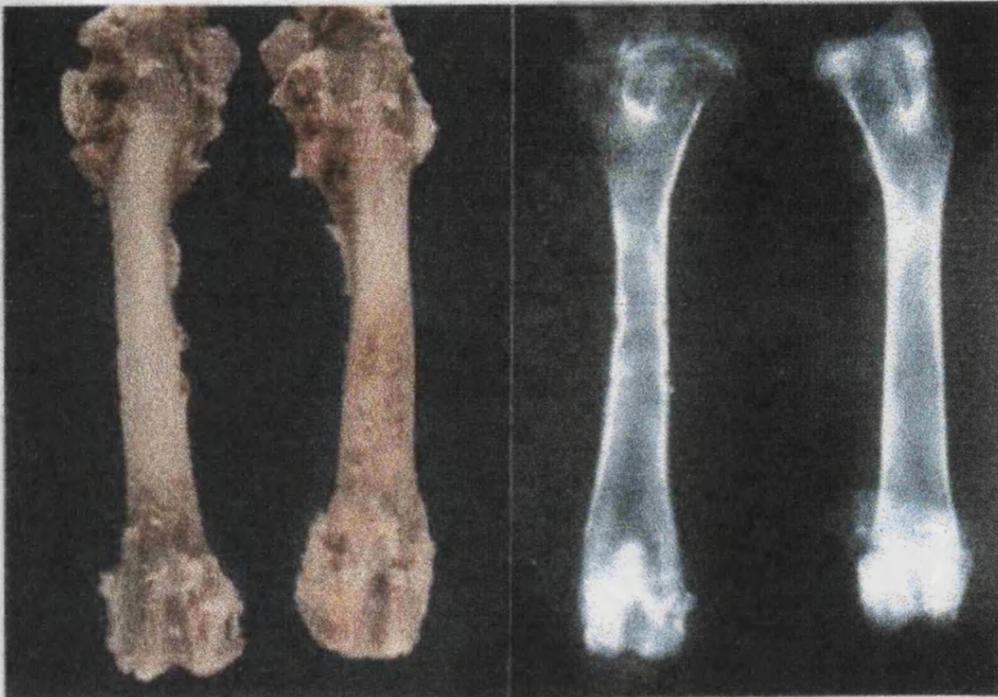


Figura 15. Comparación lado derecho intervenido con el contralateral.



Figura 16. Comparación lado derecho intervenido con el contalateral.

Con un tiempo de experimentación de un mes y medio, la diferencia entre ambos fémures era igual en los dos grupos (2,5 mm) tanto en el grupo tratado con tiroxina (Grupo D), como en el no tratado (Grupo C) (Tabla X).

Tabla X

SIN TIROXINA (C)			CON TIROXINA (D)		
CONEJO	LFT D (mm)	LFT I (mm)	CONEJO	LFT D (mm)	LFT I (mm)
4509	98	96	4508	103	102
1762	104	102	4217	100	94
302	99	96	281	97	93
4192	104	101	593	102	101
MEDIA :	101,25	98,75	MEDIA :	100,25	97,75
DE:	3,202	3,202	DE:	2,363	9,992

1.2.- Serie 2ª

En la 2ª serie experimental realizamos la medición de la LFT en el fémur derecho, en ambos grupos de la serie, un grupo tratado con tiroxina y el otro sin tratamiento hormonal.

La LFT media fue similar en ambos grupos, no existiendo diferencias entre el grupo tratado hormonalmente y el que no recibió tratamiento con tiroxina, después de 10 días de evolución (Tabla XI).

Tabla XI

SIN TIROXINA			CON TIROXINA		
CONEJO	LFT D (mm)	LFT I (mm)	CONEJO	LFT D (mm)	LFT I (mm)
2729	90	90	2734	91	91
626	88	99	558	82	83
235	86	86	399	94	95
175	88	88	32	90	90
MEDIA :	91	90,75	MEDIA :	89,25	89,75
DE:	6,218	5,737	DE:	5,123	4,992

A partir de los 13 días (3 días de alargamiento con distracción fisaria), en el primer grupo (sin tiroxina) la diferencia entre ambos fémures era de 1,25 mm., mayor el lado derecho (intervenido). En el 2º grupo (con tiroxina), la diferencia era de 1 mm., mayor el lado derecho. (Tabla XII)

Tabla XII

SIN TIROXINA			CON TIROXINA		
CONEJO	LFT D (mm)	LFT I (mm)	CONEJO	LFT D (mm)	LFT I (mm)
2198	92	91	2191	92	90
351	88	87	1746	92	90
985	91	90	989	92	92
4545	92	90	2527	88	88
MEDIA :	90,75	89,5	MEDIA :	91	90
DE:	1,893	1,732	DE:	2	1,633

A los 7 días de alargamiento óseo, se observaba una diferencia de 1,66 mm entre ambos fémures (mayor en el lado derecho), en el primer grupo (sin tiroxina); y una diferencia de 2,25 mm. en el 2º grupo (tratado con tiroxina), mayor en el lado derecho. (Tabla XIII).

Tabla XIII

SIN TIROXINA			CON TIROXINA		
CONEJO	LFT D (mm)	LFT I (mm)	CONEJO	LFT D (mm)	LFT I (mm)
2086	93	90	2089	95	92
2080	94	92	2085	96	94
2723	94	92	2726	90	88
2192	96	94	2194	96	94
MEDIA :	93,667	92	MEDIA :	94,25	92
DE:	0,577	1,633	DE:	2,872	2,828

1.3.- Evaluación del efecto de la tiroxina.

En el análisis estadístico y en relación a la longitud femoral total, estudiamos de forma global el efecto de la tiroxina, y observamos en la fase I que el efecto de ésta inicialmente en sentido positivo, fue anulado, e incluso revertido, a partir del mes y medio de evolución; es decir, que la tiroxina que en el primer mes de evolución provocaba en general un incremento de la LFT sobre los fémures estudiados, a partir de un mes y medio de evolución invertía su efecto provocando una disminución de la LFT (Tabla XIV).

Tabla XIV

	<i>Sin Tiroxina</i>	<i>Con Tiroxina</i>	<i>Diferencia (IC 95%)</i>	<i>p</i>
Todos	9,96	9,87	-0,09 (-0,3 a 0,11)	NS
1 mes	9,66	9,84	0,18 (-0,12 a 0,47)	NS
1,5 meses	10,09	9,88	-0,21 (-0,47 a 0,04)	0,09
2 meses	10,30	9,90	-0,40 (-1,06 a 0,26)	NS

Mediante un modelo de regresión múltiple se exploró este fenómeno con la introducción de un término multiplicativo (término de interacción) entre la variable tiroxina y la variable mes de observación. Este término fue de signo negativo y estadísticamente significativo ($p=0,01$), lo cual indica que la influencia de la tiroxina en la longitud femoral total, está claramente matizada por el tiempo transcurrido desde su administración.

En la fase II no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla XV).

Tabla XV

	<i>Sin Tiroxina</i>	<i>Con Tiroxina</i>	<i>Diferencia (IC 95%)</i>	<i>p</i>
Todos	9,18	9,15	-0,03 (-0,36 a 0,29)	NS
10 días	9,10	8,93	-0,17 (-1,16 a 0,81)	NS
Grupo con df	9,23	9,26	0,03 (-0,23 a 0,31)	NS
13 días (3 con df)	9,08	9,10	0,02 (-0,31 a 0,36)	NS
17 días (8 con df)	9,38	9,42	0,04 (-0,31 a 0,41)	NS

1.4.- Evaluación del efecto de la distracción fisaria.

En la fase experimental I, no se observaron diferencias estadísticamente significativas respecto a la LFT (Tabla XVI), en cambio, en la fase II, la LFT fue mayor en el grupo sometido a distracción fisaria, siendo esta diferencia máxima y ES a los 17 días (8 días con DF) ($p=0,05$) (Tabla XVII).

Tabla XVI

	<i>Sin DF</i>	<i>Con DF</i>	<i>Diferencia (IC 95%)</i>	<i>p</i>
Todos	9,90	9,93	0,03 (-0,18 a 0,25)	NS
1 mes	9,71	9,79	0,08 (-0,23 a 0,38)	NS
1,5 meses	9,89	10,08	0,19 (-0,07 a 0,45)	NS

Tabla XVII

	<i>Sin DF</i>	<i>Con DF</i>	<i>Diferencia (IC 95%)</i>	<i>P</i>
Todos	9,01	9,24	0,23 (-0,09 a 0,56)	NS
3 días (3 con df)	9,01	9,09	0,08 (-0,35 a 0,50)	NS
7 días (8 con df)	9,01	9,40	0,39 (-0,04 a 0,82)	0,05

2.- ESTUDIO HISTOLÓGICO

2.1.- Primera serie experimental

A) Cierre fisario.

Se considera cierre fisario cuando se produce un daño irreversible en la fisis que impide su crecimiento.

Analizando las preparaciones de los conejos intervenidos en la primera serie, grupos C y D (16 conejos) encontramos cierre fisario en 5 casos (31,2%) (Fig. 17,18), la mayoría de ellos (4 casos) en el grupo en el que se realizó el alargamiento óseo mediante distracción fisaria sin tratamiento hormonal con tiroxina. Es decir, el 50% de los conejos a los que no se les administró tiroxina habían evolucionado hacia el cierre fisario, mientras que en el grupo tratado con tiroxina, sólo el 12,5% evolucionaron a cierre fisario (Tabla XVIII).

Tabla XVIII

CIERRE FISARIO

- Distracción fisis: 4 casos
 - Un mes..... 1 caso
 - Un mes y medio..... 3 casos
- Distracción fisaria + Tiroxina: 1 caso
 - Un mes..... 1 caso

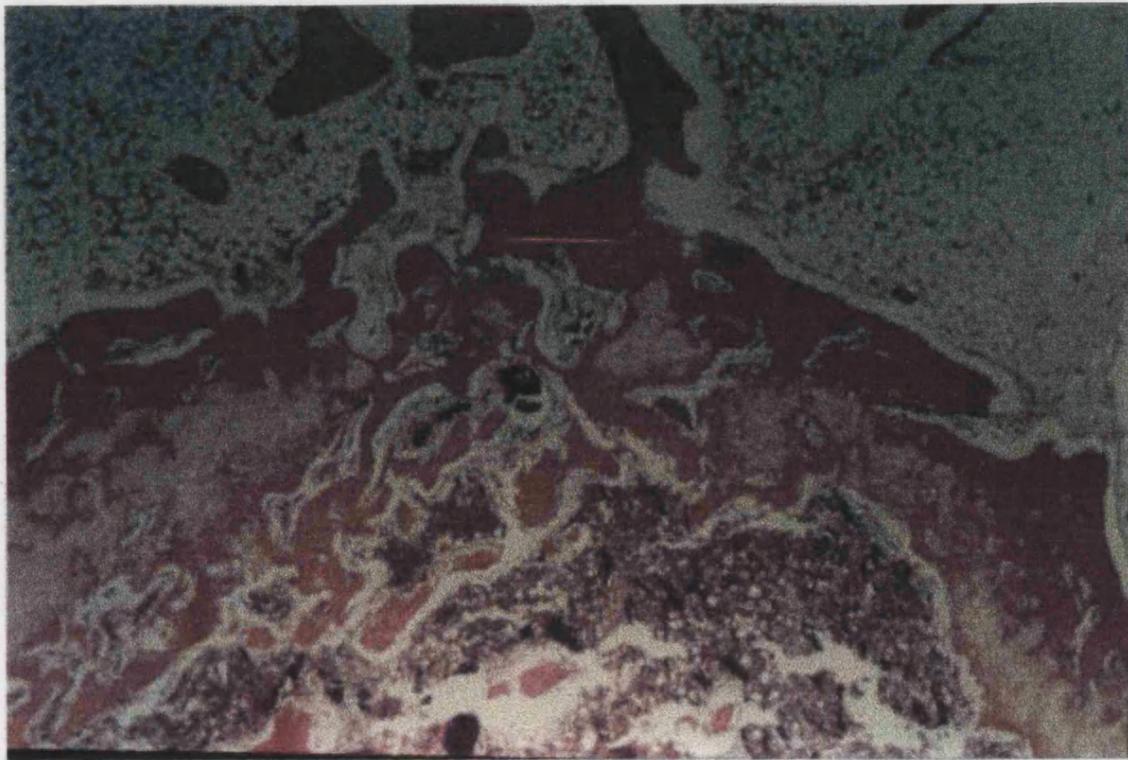


Figura 17. Cierre fisario

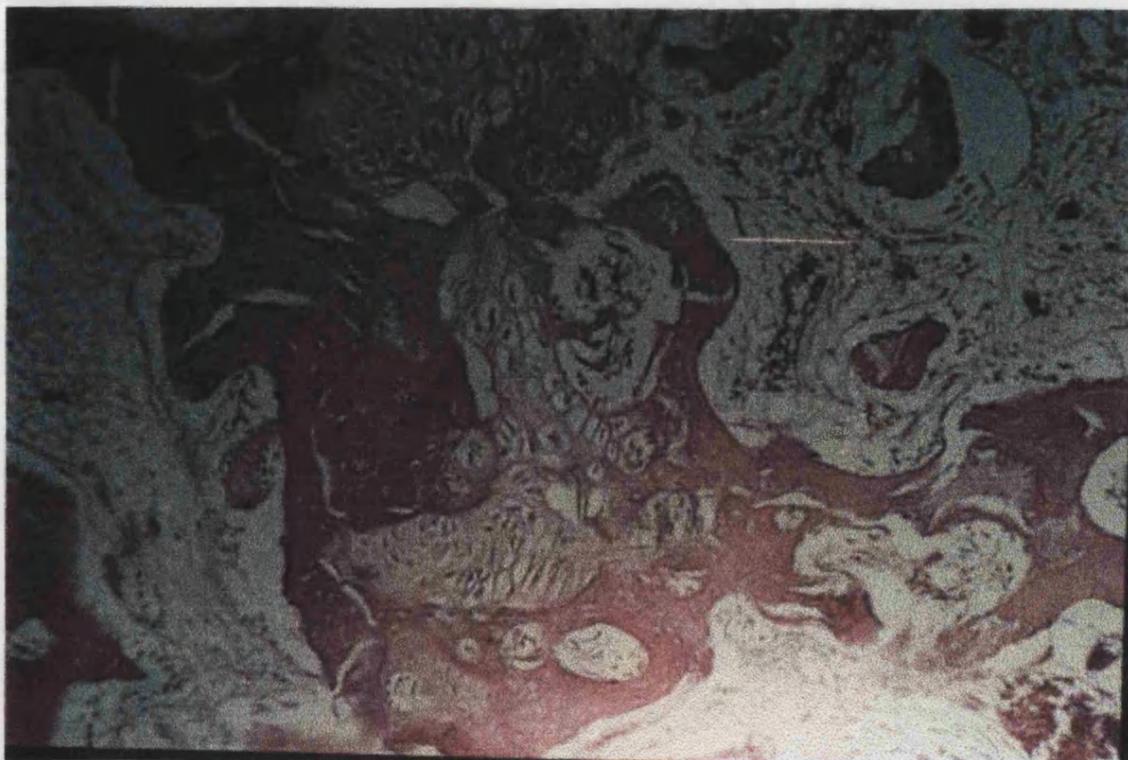


Figura 18. Cierre fisario.

B) Puentes Óseos.

En cuanto a la existencia de puentes óseos en cartílagos de crecimiento fértiles, observamos su presencia en 5 casos (31,2%) (Fig. 19,20).

A diferencia de los cierres fisarios, los puentes óseos fueron más frecuentes en conejos tratados con tiroxina; de forma que el 50% de conejos (4 casos) intervenidos y tratados con tiroxina presentaban puentes óseos; por el contrario, sólo el 12,5% de los conejos no tratados (1 caso) presentó puentes óseos. (Tabla XIX).

Tabla XIX

PUNTES ÓSEOS

- Distracción fisis: 1 caso
 - Un mes..... 1 caso
- Distracción fisis + tiroxina: 4 casos
 - Un mes..... 2 casos
 - Un mes y medio..... 2 casos

La presencia de puentes oseos fue relacionada con la distancia de la aguja de Kirschner a la fisis, de modo que, pudimos asociar la aparición de un puente óseo cuando la colocación de la aguja se había realizado muy próxima a la fisis, en tres casos (Fig. 21,22).



Figura 19. Puentes óseos en cartílago de crecimiento.

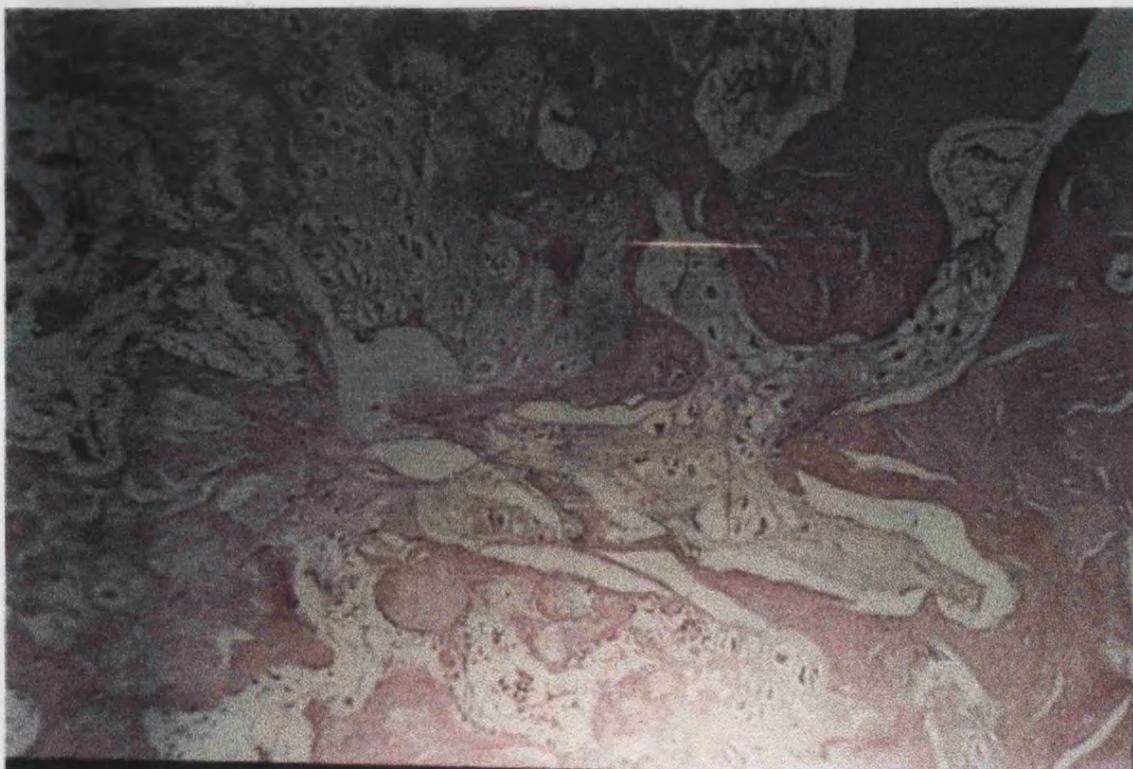


Figura 20. Puentes óseos en cartílago de crecimiento.

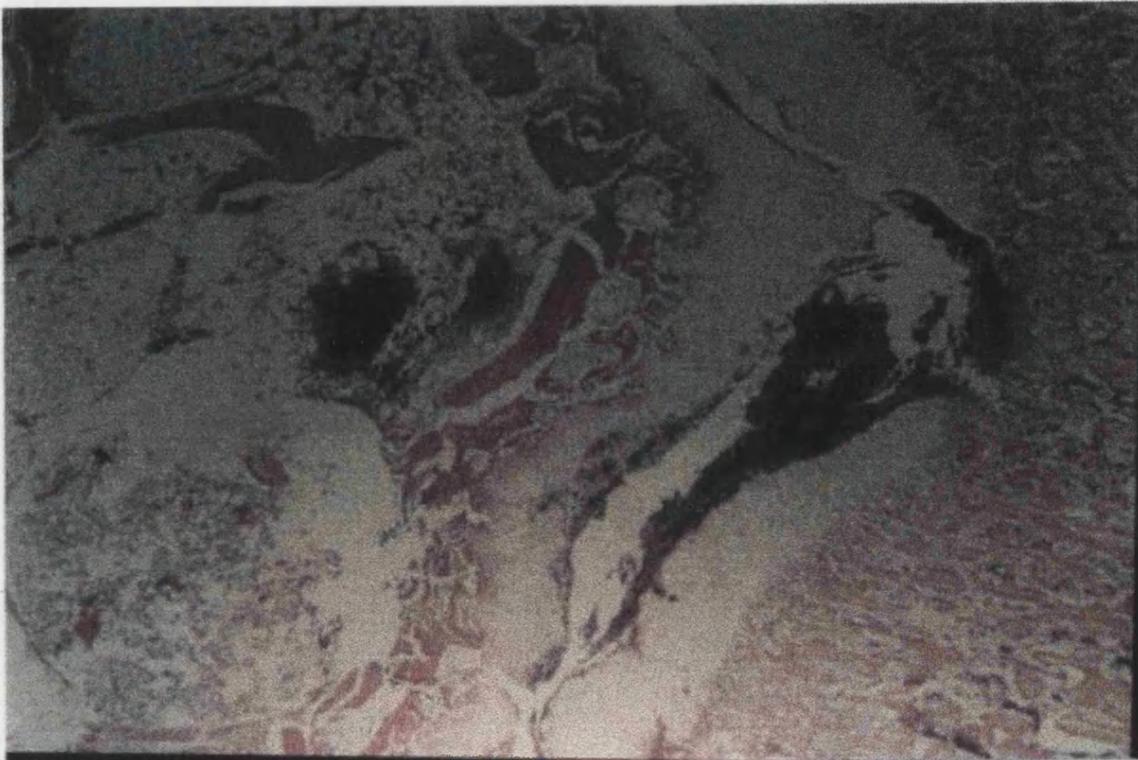


Figura 21. Colocación aguja de Kirschner próxima a la fisis, que provoca un mayor hematoma a dicho nivel.



Figura 22. Colocación aguja de Kirschner próxima a la fisis, que provoca un mayor hematoma a dicho nivel.

2.2.- Segunda serie experimental

A) Hiperplasia celular.

Estudiamos la existencia de hiperplasia celular a nivel fisario en conejos de la serie 2ª (Fig. 23,24). En un total de 16 conejos intervenidos, observamos la presencia de una gran hiperplasia de las células de la capa proliferativa en nueve casos (56,2%), con una distribución similar en ambos grupos, tanto en el grupo tratado previamente con tiroxina, como en el grupo que no recibió dicho tratamiento.

De los 9 casos observados, la mayor parte de ellos (8 casos), la hiperplasia celular estaba presente a los 7 días de iniciado el alargamiento del cartílago de crecimiento. (Tabla XX).

Tabla XX

HIPERPLASIA CELULAR

- Grupo sin tiroxina: 5 casos
 - 3 días de alargamiento 1 caso
 - 7 días de alargamiento 3 casos
- Grupo con tiroxina: 4 casos
 - 7 días de alargamiento 4 casos



Figura 23. Hiperplasia celular a nivel fisario.

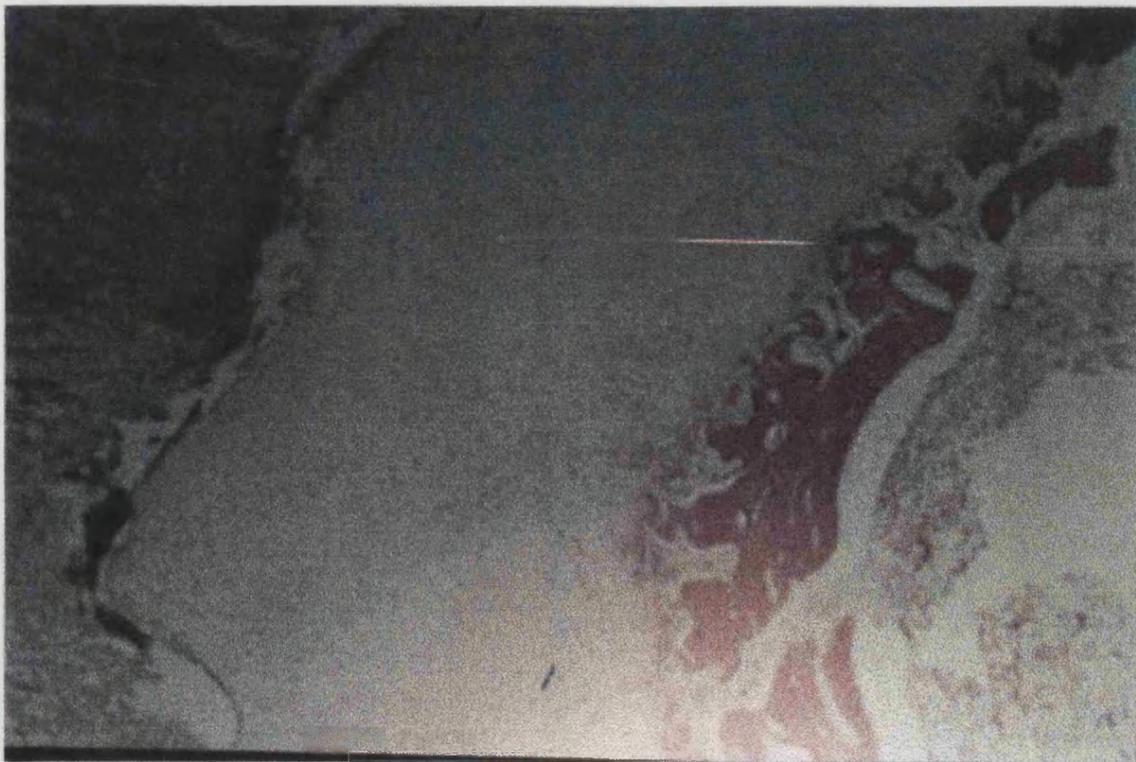


Figura 24. Hiperplasia celular a nivel fisario.

B) Punto de fractura.

También en la 2ª serie estudiamos el punto de fractura tras iniciar la distracción de la fisis, de modo que, de los 16 conejos intervenidos, en 7 (43,75%) la epifisiolisis se produjo a nivel de la zona hipertrófica (Fig. 25); en 5 casos (31,25%) a nivel de la zona proliferativa (Fig. 26) y en 4 casos (25%) a nivel de la zona metafisaria (Fig. 27).

Por grupos, en los conejos que no fueron tratados con tiroxina, la epifisiolisis se producía con mayor frecuencia (en 5 casos) a nivel de la zona hipertrófica (62,5%), en 2 casos (25%) a nivel de la zona metafisaria y en un caso (12,5%) a nivel de la zona proliferativa.

En el grupo de conejos que recibió tratamiento hormonal durante 10 días antes de iniciar la distracción fisaria, la epifisiolisis se produjo con mayor frecuencia en la zona proliferativa (4 casos); en 2 casos a nivel de la zona hipertrófica y en 2 casos a nivel de la zona metafisaria. (Tabla XXI).

Tabla XXI

PUNTO DE FRACTURA

- Grupo sin tiroxina (8 conejos)
 - Zona proliferativa..... 1 caso
 - Zona hipertrófica..... 5 casos
 - Zona metafisaria..... 2 casos
- Grupo con tiroxina (8 conejos)
 - Zona proliferativa..... 4 casos
 - Zona hipertrófica..... 2 casos
 - Zona metafisaria..... 2 casos

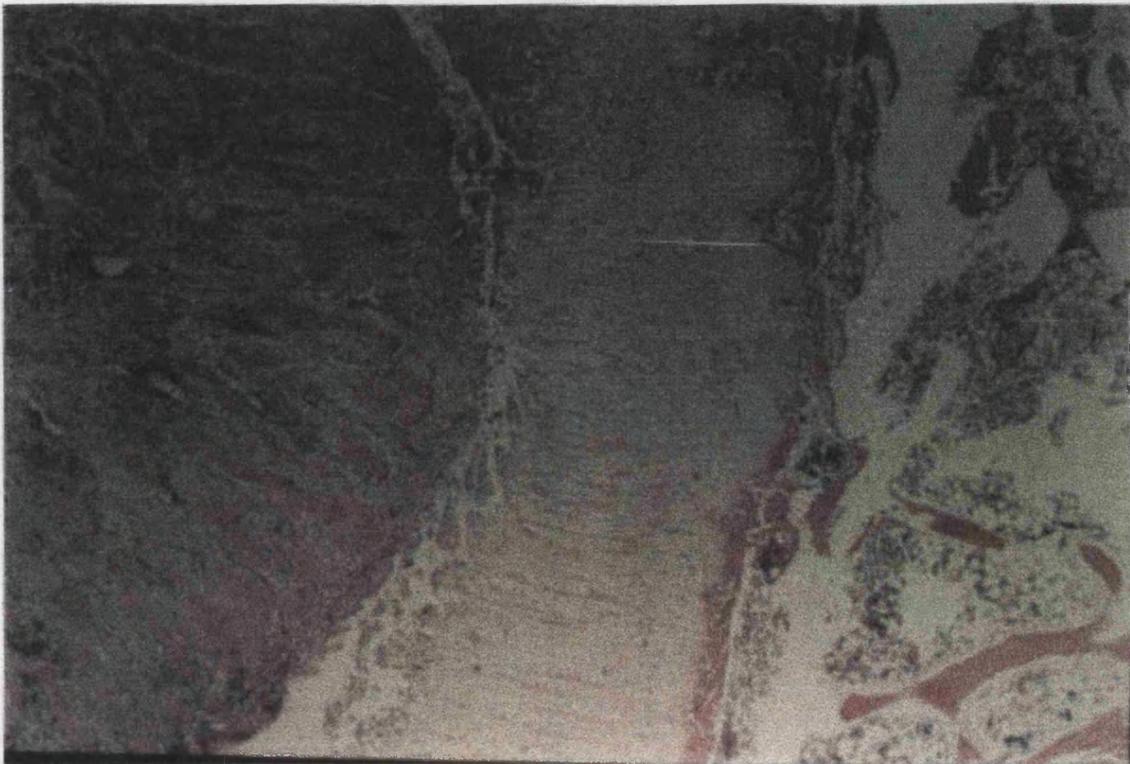


Figura 25. Epifisiolisis a nivel de la zona hipertrófica.

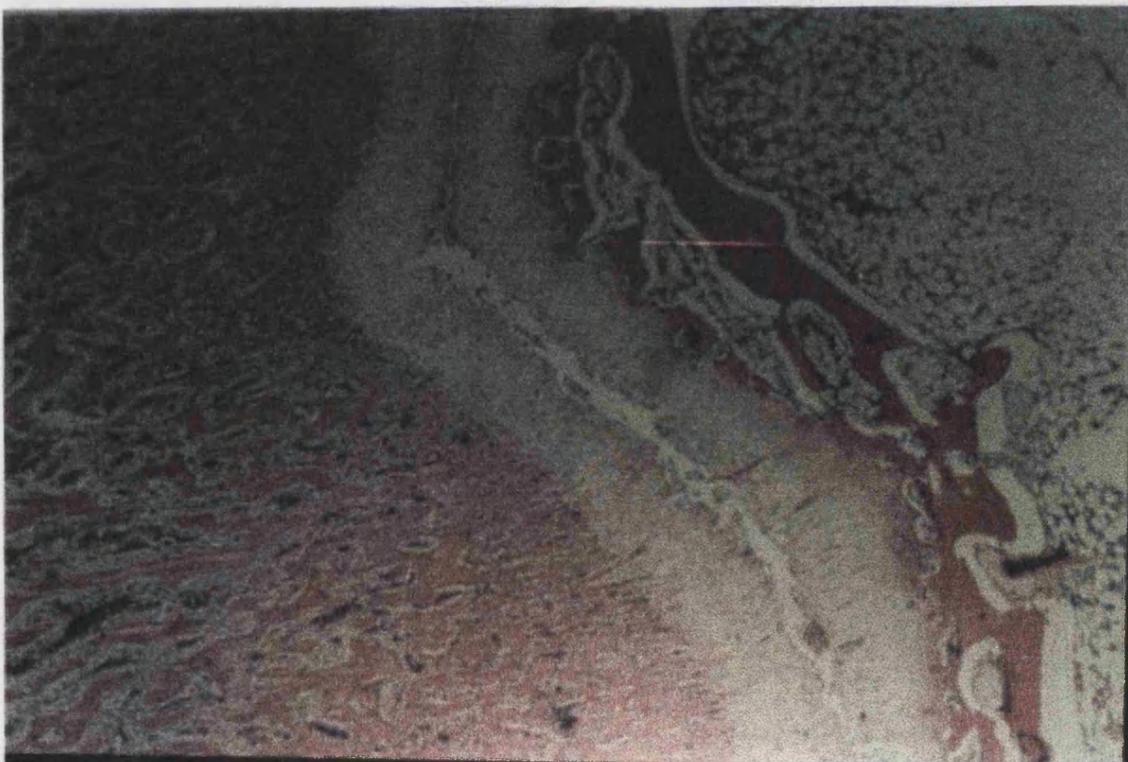


Figura 26. Epifisiolisis a nivel de la zona proliferativa.

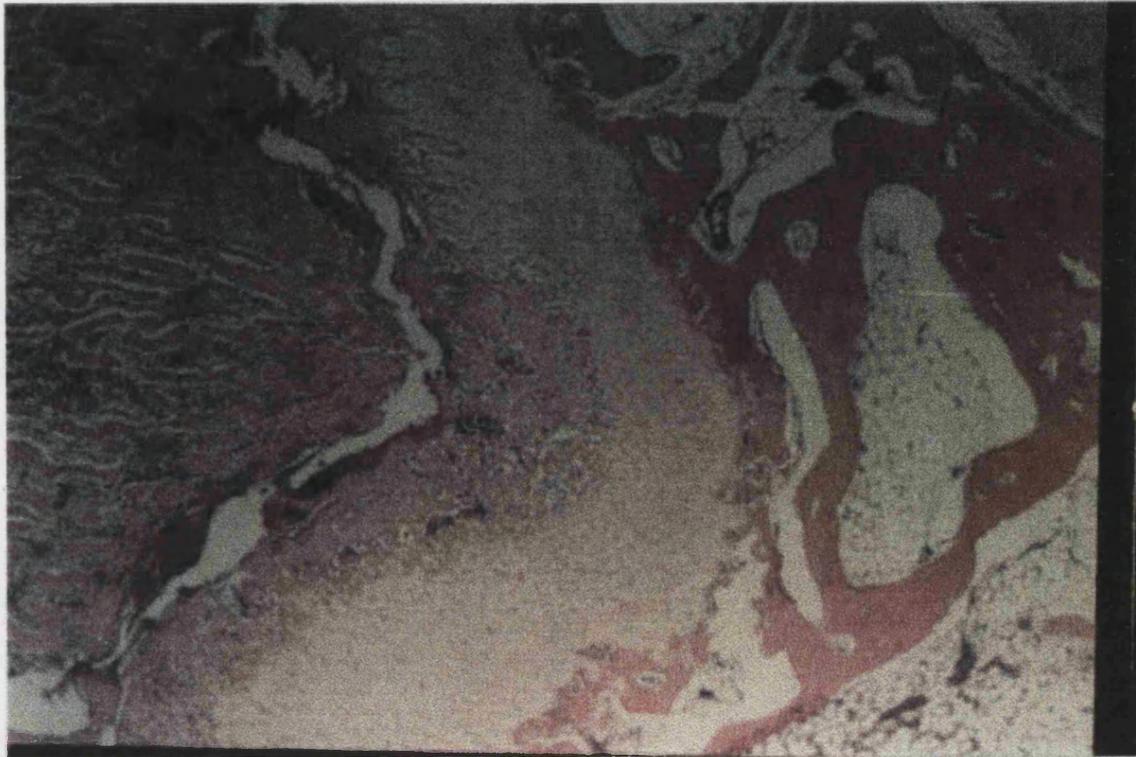


Figura 27. Epifisiolisis a nivel de la zona metafisaria.

C) Tipos de epifisiolisis.

En la 2ª Serie experimental observamos que, según la clasificación de Salter y Harris, la mayoría de casos (12 casos), el tipo de epifisiolisis se correspondía con el tipo I, pero en 4 casos la epifisiolisis observada era del tipo 2 de Salter y Harris. (Fig. 28,29).

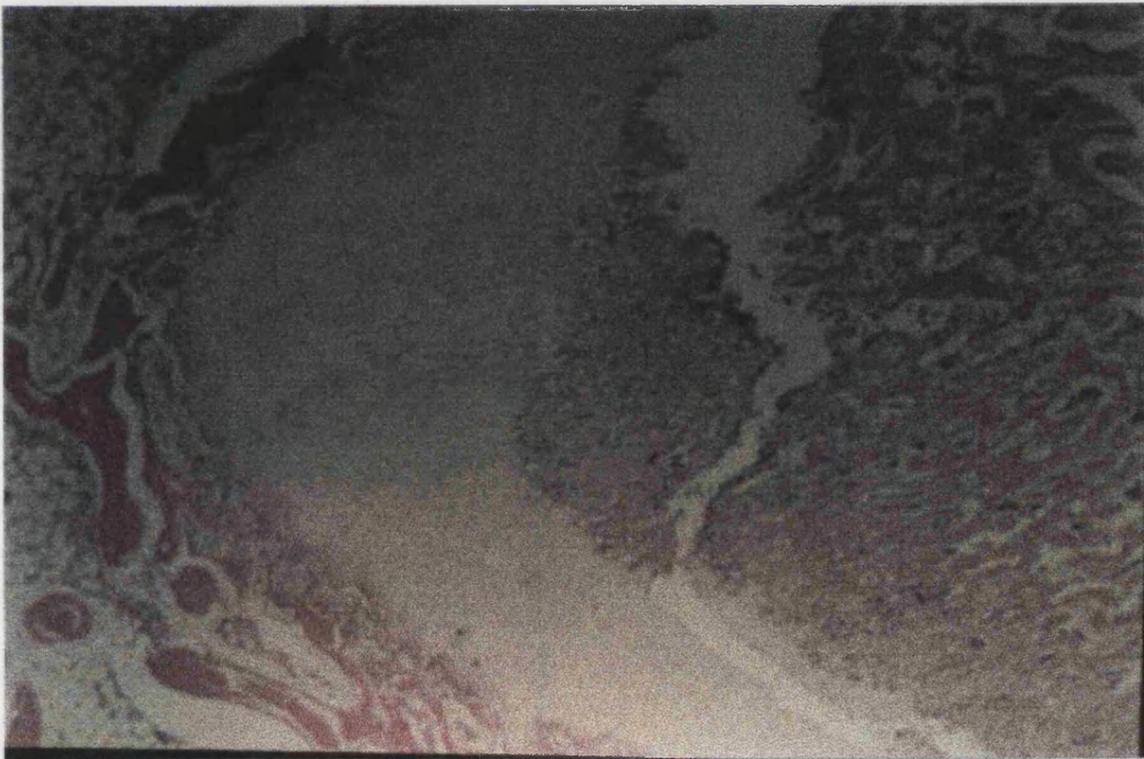


Figura 28. Epifisiolisis tipo II de Salter y Harris.



Figura 29. Epifisiolisis tipo II de Salter y Harris.

3.-ESTUDIO HISTOMORFOMÉTRICO.

3.1 Serie1ª.

A) Conejos no intervenidos quirúrgicamente.

En el análisis de los datos obtenidos comparamos los fémures de conejos no tratados hormonalmente (grupo A) con los fémures de los tratados con tiroxina (grupo B), a tres tiempos de evolución diferentes (un mes, un mes y medio y dos meses).

Al comparar ambos grupos en el primer mes de evolución, observamos que el área y altura media así como el nº de columnas del cartílago de crecimiento era mayor en el grupo no tratado hormonalmente. Por el contrario, cuando el tiempo de experimentación era de un mes y medio, las cifras obtenidas en las mediciones de altura y área media eran superiores en el grupo tratado con hormona tiroidea; siendo el número de columnas similar en ambos grupos.

Finalmente, cuando se alcanzaban los dos meses de experimentación, tanto la altura y área media como el nº de columnas eran similares en ambos grupos.

Los resultados de las mediciones de ambos grupos quedan recogidos en las tablas XXII,XXIII,XXIV.

Tabla XXII

SIN TIROXINA GRUPO A				CON TIROXINA GRUPO B			
CONEJO	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M	CONEJO	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M
2178	11545,54	72,14	7,3	8887	14137,39	85,46	6
1984	15188,33	97,81	9	8501	9254,1	58,63	7
2055	12024,29	77,5	7	1211	14774,15	95,27	7
1878	15601,31	111,23	7,6	8851	13359,6	94,4	6,6
MEDIA	13589,87	89,67	7,72	MEDIA	12881,31	83,44	6,65
D.E.	2100,08	18,134	0,85	D.E.	2486,36	17,124	0,73

Tabla XXII: Estudio histomorfométrico en conejos no intervenidos quirúrgicamente, después de un mes de experimentación.

Tabla XXIII

SIN TIROXINA GRUPO A				CON TIROXINA GRUPO B			
CONEJO	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M	CONEJO	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M
1585	9938,27	67,92	7,3	10	8739,58	76,29	6
281	10344,35	63,64	6,3	5417	9698,58	60,66	6
3419	11112,77	68,61	6,6	8465	12971,14	88,02	6,1
3241	8557,61	61,53	6	4358	12174,5	71,72	7,6
MEDIA	9988,25	65,42	6,55	MEDIA	10895,95	74,17	6,42
D.E.	1070,91	3,4	0,55	D.E.	2002,06	11,32	0,78

Tabla XXIII: Estudio histomorfométrico en conejos no intervenidos quirúrgicamente, después de un mes y medio de experimentación.

Tabla XXIV

SIN TIROXINA GRUPO A				CON TIROXINA GRUPO B			
CONEJO	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M	CONEJO	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M
3669	8582,58	57,17	5,1	977	9081,63	53,28	6,9
905	9999,38	48,42	6,1	100	8159,57	56,43	6
299	6941,27	48,11	6,3	0	7495,17	47,67	7
4447	8762,7	49,72	6,3	978	9845,83	65,44	7,8
MEDIA	8563,98	50,85	5,95	MEDIA	8645,55	55,7	6,87
D.E.	1244,74	4,26	0,57	D.E.	1031,24	7,43	0,66

Tabla XXIV: Estudio histomorfométrico en conejos no intervenidos quirúrgicamente, después de dos meses de experimentación.

B) Conejos intervenidos quirúrgicamente.

En los fémures intervenidos quirúrgicamente (fémur derecho de conejos del grupo C y D), observamos en el primer mes de experimentación una mayor área y altura media en el grupo que había recibido tratamiento hormonal con tiroxina (grupo D), siendo el nº de columnas similar en ambos grupos (Tabla XXV).

Al mes y medio de experimentación, el área media era superior en el grupo no tratado hormonalmente, siendo la altura media similar en ambos grupos (Tabla XXVI).

Para valorar el efecto de la distracción fisaria en los dos grupos en los que se realizó alargamiento óseo (grupos C y D), fueron comparados ambos fémures entre sí, el derecho intervenido con el izquierdo como control.

El grupo intervenido con distracción fisaria sin tiroxina (grupo C), presentaba al mes de experimentación una mayor altura y área media así como nº de columnas, en el lado no intervenido, siendo las diferencias en altura media E.S. ($p=0,019$) (Tabla XXVII).

Tras un mes y medio de experimentación tanto el área y altura media como el nº de columnas era superior en el lado no intervenido, siendo las diferencias E.S. en las tres (área M $p=0,022$; altura M $p=0,006$; nº columnas $p=0,008$) (Tabla XXVIII).

El grupo tratado con tiroxina además de la distracción fisaria (grupo D), presentaba en el primer mes de experimentación una mayor altura y área media, y nº de columnas en el lado no intervenido (Tabla XXIX). Al mes y medio continuaban siendo superiores los tres parámetros, siendo las diferencias en altura media E.S. ($p=0,04$) (Tabla XXX).

Tabla XXV

SIN TIROXINA Fémur der. del Grupo C				CON TIROXINA Fémur der. del Grupo D			
CONEJO	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M	CONEJO	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M
888	9853,21	71,43	5	4018	10823,48	79,02	5
413	10003,21	80,73	6,1	362	9663,33	75,46	5
199	4909,56	31,79	5	4472	10208,39	81,63	5,9
457	9882,03	44,04	4,1	1266	8180,34	38,5	4,8
MEDIA	8662	58,99	5,05	MEDIA	9718,88	68,65	4,9
D.E.	2502,7	22,91	0,81	D.E.	1129,89	20,28	0,2

Tabla XXV: Estudio histomorfométrico en fémur derecho de conejos intervenidos quirúrgicamente, después de un mes de experimentación.

Tabla XXVI

SIN TIROXINA Fémur der. del Grupo C				CON TIROXINA Fémur der. del Grupo D			
CONEJO	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M	CONEJO	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M
4509	11020,74	72,47	6,1	4508	7371,76	47,94	4,9
1762	7277,42	42,84	4,6	4217	11043,45	112,54	5,6
302	11996,47	81	5	281	12160,46	110,17	4,1
4192	8499,84	48,53	6	593	5008,26	27,23	5
MEDIA	9698,61	61,21	5,42	MEDIA	8895,96	74,47	4,9
D.E.	2185,36	18,4	0,74	D.E.	3301,82	43,43	0,81

Tabla XXVI: Estudio histomorfométrico en fémur derecho de conejos intervenidos quirúrgicamente, después de un mes y medio de experimentación.

Tabla XXVII

GRUPO C	FÉMUR DERECHO			FÉMUR IZQUIERDO		
	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M
866	9853,21	71,43	5	16617,09	102,23	6,1
413	10003,21	80,73	6,1	12745,07	105,15	6,1
199	4909,58	31,79	5	10998,5	85,08	6
457	9882,03	44,04	4,1	14823,38	99,06	6
MEDIA	8662	58,99	5,05	13795,51	97,88	6,05
D.E.	2502,47	22,91	0,81	2448,47	8,89	0,05

Tabla XXVII: Estudio histomorfométrico en fémur derecho e izquierdo de conejos sometidos a distracción fisaria sin tiroxina (grupo C), estudio a un mes de experimentación.

Tabla XXVIII

GRUPO C	FÉMUR DERECHO			FÉMUR IZQUIERDO		
	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M
4509	11020,74	72,47	6,1	11317,06	71,27	6
1762	7277,42	42,84	4,6	10187,65	69,96	6,1
302	11996,47	81	5	10012,61	84,2	6,6
4192	8499,84	48,53	6	11912,83	77,44	6,1
MEDIA	9698,61	61,21	5,42	10857,53	75,21	6,2
D.E.	2185,36	18,4	0,74	910,57	6,52	0,27

Tabla XXVIII: Estudio histomorfométrico en fémur derecho e izquierdo de conejos sometidos a distracción fisaria sin tiroxina (grupo C), estudio a un mes y medio de experimentación.

Tabla XXIX

GRUPO D	FÉMUR DERECHO			FÉMUR IZQUIERDO		
	AREA M	ALTURA M	Nº COL M	AREA M	ALTURA M	Nº COL M
4018	10823,48	79,02	5	12633,62	83,68	5,3
362	9663,33	75,46	5	13364,76	96,69	5
4472	10208,39	81,63	5,9	14608,47	102,41	6,6
1266	8180,34	38,5	4,6	11859,71	93,04	6,3
MEDIA	9718,88	68,65	4,9	13116,64	94,45	5,8
D.E.	1129,89	20,26	0,2	1169,08	8,15	0,77

Tabla XXIX: Estudio histomorfométrico en fémur derecho e izquierdo de conejos sometidos a distracción fisaria con tiroxina (grupo D), estudio a un mes de experimentación.

Tabla XXX

GRUPO D	FÉMUR DERECHO			FÉMUR IZQUIERDO		
	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M
4508	7371,76	47,94	4,9	13067,49	116,82	6,3
4217	11043,45	112,54	5,6	11299,52	81,81	6
281	12160,46	110,17	4,1	10914,57	72,28	5,1
593	5008,26	27,23	5	8662,98	64,54	5,3
MEDIA	8895,98	74,47	4,9	10986,14	83,86	5,67
D.E.	3301,82	43,43	0,81	1810,37	23,07	0,56

Tabla XXX: Estudio histomorfométrico en fémur derecho e izquierdo de conejos sometidos a distracción fisaria con tiroxina (grupo D), estudio a un mes y medio de experimentación.

3.2 Serie 2ª.

A) Efecto de la Tiroxina en conejos no intervenidos.

En este estudio incluimos el fémur derecho de los conejos a 10 días de experimentación.

Para valorar el efecto de la tiroxina sobre el cartílago de crecimiento, comparamos los fémures de conejos sometidos a tratamiento hormonal con los que no recibieron tiroxina.

Observamos que a los 10 días, una vez finalizada la administración de tiroxina el área y altura media eran superiores en el grupo tratado con tiroxina (Tabla XXXI).

B) Efecto de la Tiroxina en conejos intervenidos.

Después de administrar durante 10 días Tiroxina en uno de los grupos (grupo B), e iniciado el alargamiento a partir del undécimo día en ambos grupos (A y B) estudiamos el fémur alargado durante tres días, comparando ambos grupos.

Observamos que la altura y área media del cartilado de crecimiento era superior en el grupo que no había sido tratado hormonalmente, en cambio, el número de columnas era similar en ambos grupos (Tabla XXXII).

También, cuando comparamos ambos grupos después del alargamiento óseo durante 7 días, observamos que el área y altura media de la fisis era mayor en el grupo de conejos no tratado con tiroxina, siendo el área M E.S.($p=0,000$) (Tabla XXXIII).

Tabla XXXI

SIN TIROXINA				CON TIROXINA			
CONEJO	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M	CONEJO	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M
2729	12358,9	90,27	6	2734	14822,78	105,98	6,9
626	14233,64	118,15	6,6	558	17704,58	93,65	6,6
235	13749,89	92,7	5,6	339	14971,55	132,02	6,1
175	10997,4	71,29	6,3	32	14097	112,72	6,6
MEDIA	12834,96	93,10	6,13	MEDIA	15398,98	111,09	6,55
D.E.	1460,21	19,25	0,43	D.E.	1583,84	16,03	0,33

Tabla XXXI: Estudio histomorfométrico en conejos no intervenidos quirúrgicamente, después de 10 días de experimentación.

Tabla XXXII

SIN TIROXINA				CON TIROXINA			
CONEJO	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M	CONEJO	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M
2198	29698,37	184,23	6	2191	24913,63	171,67	5
351	36621,14	326,89	4	1746	19096,44	107,94	4
985	36274,43	314,71	5,1	989	15302,25	129,52	4,3
4545	34320,25	276,12	4,6	2527	18380,9	102,32	6
MEDIA	34228,54	275,48	4,92	MEDIA	19423,3	127,86	4,62
D.E.	3185,43	64,57	0,84	D.E.	4013,32	31,47	0,88

Tabla XXXII: Estudio histomorfométrico en conejos intervenidos quirúrgicamente, después de 13 días de experimentación (fémur derecho).

Tabla XXXIII

SIN TIROXINA				CON TIROXINA			
CONEJO	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M	CONEJO	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M
2086	61953,13	448,21	6,3	2089	31990,83	310,67	6,3
2080	20039,15	255,37	6	2085	36541,24	297,34	6,1
2723	58559,85	399,54	6,3	2728	30470,94	252,47	6
2192	25843,08	153,17	6,3	2194	37083,6	310,66	6,6
MEDIA	46850,71	367,7	6,22	MEDIA	34016,85	292,78	6,25
D.E.	23281,39	100,28	0,15	D.E.	3282,95	27,6	0,26

Tabla XXXIII: Estudio histomorfométrico en conejos intervenidos quirúrgicamente, después de 17 días de experimentación (fémur derecho).

C) Efecto de la distracción fisaria sobre el cartílago de crecimiento.

Para estudiar el efecto de la distracción fisaria sobre el cartílago de crecimiento en el inicio del alargamiento óseo, comparamos el fémur derecho (intervenido) con el contralateral, tanto en el grupo tratado hormonalmente como en el no tratado. A los 3 días de iniciado el alargamiento, en ambos grupos, el lado intervenido mostraba a nivel fisario una mayor área y altura media, siendo la altura M E.S. ($p=0,045$) en el grupo tratado hormonalmente (Tablas XXXIV,XXXV).

Después de 7 días de alargamiento óseo, en ambos grupos existían diferencias E.S. entre el lado intervenido y el contralateral, siendo mayor la altura y área media en el lado intervenido (Con tiroxina: altura M $p=0,035$; área M $p=0,005$. Sin tiroxina: altura M $p=0,005$; área M $p=0,000$) (Tablas XXXVI,XXXVII).

Tabla XXXIV

CONEJO	FÉMUR IZQUIERDO			FÉMUR DERECHO		
	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M
2198	10041,76	48,6	5,3	29698,37	184,23	6
351	15427,86	150,92	4,1	36621,14	326,89	4
985	9694,4	57,39	5	36274,43	314,71	5,1
4545	15099	113,99	5,1	34320,25	276,12	4,6
MEDIA	12565,75	92,72	4,87	34228,54	275,48	4,92
D.E.	3121,12	48,42	0,53	3185,43	64,57	0,84

Tabla XXXIV: Estudio histomorfométrico en conejos intervenidos quirúrgicamente, sin tratamiento hormonal con tiroxina, después de 3 días de alargamiento en fémur derecho.

Tabla XXXV

	FÉMUR IZQUIERDO			FÉMUR DERECHO		
CONEJO	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M
2191	7455,94	53,05	4,3	24913,63	171,67	5
1748	7674,49	54,7	5	19096,44	107,94	4
989	8665,5	52,81	4,1	15302,25	129,52	4,3
2527	9302,53	54,25	6	18380,9	102,32	6
MEDIA	8274,61	53,7	4,85	19423,3	127,86	4,82
D.E.	864,05	0,91	0,85	4013,32	31,47	0,88

Tabla XXXV: Estudio histomorfométrico en conejos intervenidos quirúrgicamente y tratados con tiroxina, después de 3 días de alargamiento en fémur derecho.

Tabla XXXVI

CONEJO	FÉMUR IZQUIERDO			FÉMUR DERECHO		
	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M
2086	14528,94	109,9	6,1	61953,13	448,21	6,3
2080	12184,24	101,2	5,9	20039,15	255,37	6
2723	15917,92	94,75	6,1	58559,85	399,54	6,3
2192	14143,81	83,3	5,9	25843,08	153,17	6,3
MEDIA	14193,72	97,28	6	46850,71	367,7	6,22
D.E.	1541,18	11,2	0,11	23281,39	100,28	0,15

Tabla XXXVI: Estudio histomorfométrico en conejos intervenidos quirúrgicamente, sin tratamiento hormonal con tiroxina, después de 7 días de alargamiento en fémur derecho.

Tabla XXXVII

	FÉMUR IZQUIERDO			FÉMUR DERECHO		
CONEJO	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M	AREA M	ALTURA M	Nº COL. M
2089	10268,21	62,17	6,3	31990,83	310,67	6,3
2085	10163,88	78,14	5,9	38541,24	297,34	6,1
2728	8086,43	57,38	6	30470,94	252,45	6
2194	10845,51	73,24	6	37083,6	310,66	6,6
MEDIA	9791	67,73	6,05	34016,65	292,78	6,25
D.E.	1155,08	9,6	0,17	3282,95	27,6	0,26

Tabla XXXVII: Estudio histomorfométrico en conejos intervenidos quirúrgicamente y tratados con tiroxina, después de 7 días de alargamiento en fémur derecho.

3.3.- Análisis Estadístico

3.3.1.-Evaluación del efecto de la tiroxina.

En la fase I no se encontraron diferencias entre ninguno de los grupos estudiados, sin embargo en la fase II, el efecto de la tiroxina sobre el área y altura media fue diferente (de signo opuesto) según los conejos habían sido sometidos o no a distracción fisaria, es decir, después de 10 días de evolución, el área y altura media eran superiores en el grupo tratado con tiroxina. Sin embargo, cuando se iniciaba la distracción fisaria, tanto el área como la altura media eran superiores en el grupo no tratado hormonalmente. El efecto más significativo se constató a los tres días de iniciada la distracción fisaria, disminuyendo y siendo no significativo a los siete días (Tablas XXXVIII,XXXIX).

Tabla XXXVIII

Área media

	<i>Sin Tiroxina</i>	<i>Con Tiroxina</i>	<i>Diferencia (IC 95%)</i>	<i>p</i>
Todos	29554,1	22946,3	-6607,8 (-18156,8 a 4941,3)	NS
10 días	12834,9	15398,9	2564,0(-71,6 a 5199,6)	0,04
Grupo con df	37913,7	26719,9	-11193,7 (-24204,3 a 1816,9)	NS
13 días (3 con df)	34228,5	19423,3	-14805 (-21153,2 a -8457,3)	0,02
17 días (8 con df)	41598,8	34016,7	-7582 (-41685,2 a 26520)	NS

Tabla XXXIX

Altura media

	<i>Sin Tiroxina</i>	<i>Con Tiroxina</i>	<i>Diferencia (IC 95%)</i>	<i>p</i>
Todos	227,5	177,2	-50,3 (-143,5 a 42,9)	NS
10 días	93,1	111,1	18,0 (-12,7 a 48,6)	NS
Grupo con df	294,8	210,3	-84,5 (-187,7 a 18,8)	0,07
13 días (3 con df)	275,5	127,9	-147,6 (-235,5 a -59,7)	0,02
17 días (8 con df)	314,1	292,8	-21,3 (-189,8 a 147,2)	NS

3.3.2.- Evaluación del efecto de la distracción fisaria.

En la fase I, el efecto de la distracción fisaria se hacía evidente y significativo al mes, con una mayor área y altura media en los fémures no intervenidos quirúrgicamente ($p=0,006$ y $p=0,04$ respectivamente); y disminuye, se hacía no significativo al mes y medio, tanto para la altura como para el área media (Tablas XXXX,XXXXI). En la fase II, tanto el área como la altura media eran mayores en los fémures sometidos a distracción fisaria, con diferencias ES ($p=0,02$ y $p=0,015$ respectivamente, a los trece días), siendo esta diferencia máxima a los diecisiete días ($p=0,0001$ y $p=0,0001$) (Tablas XXXXII,XXXXIII).

Área media

Tabla XXXX

	<i>Sin DF</i>	<i>Con DF</i>	<i>Diferencia (IC 95%)</i>	<i>p</i>
Todos	10760,8	9243,9	-1516,9 (-3081,7 a 47,9)	NS
1 mes	13235,6	9190,4	-4045,2 (-1869,3 a -6220,9)	0,006
1,5 meses	10442,1	9297,3	-1144,8(- 3513,7 a 1224,1)	NS

Altura media

Tabla XXXXI

	<i>Sin DF</i>	<i>Con DF</i>	<i>Diferencia (IC 95%)</i>	<i>p</i>
Todos	69,9	65,3	-4,5 (-18,5 a 9,4)	NS
1 mes	86,6	62,8	-23,7(-3,420 a -44,0)	0,04
1,5 meses	69,8	67,8	2,0 (-28,7 a 24,8)	NS

Área media

Tabla XXXXII

	<i>Sin DF</i>	<i>Con DF</i>	<i>Diferencia (IC 95%)</i>	<i>p</i>
Todos	14116,9	32316,8	18199,9 (11129,8 a 25269,9)	0,0001
13 días (3 con df)	14116,9	26825,9	12709,0 (2294,6 a 23123,3)	0,02
17 días (8 con df)	14116,9	37807,7	23690,8 (13276,4 a 34105,1)	0,0001

Altura media

Tabla XXXXIII

	<i>Sin DF</i>	<i>Con DF</i>	<i>Diferencia (IC 95%)</i>	<i>P</i>
Todos	102,1	252,6	150,5 (94,4 a 206,5)	0,0006
13 días (3 con df)	102,1	201,7	99,6 (21,2 a 178,0)	0,015
17 días (8 con df)	102,1	303,4	201,3 (122,9 a 279,7)	0,0001

3.3.3.- Evaluación de una posible interacción o modificación de efecto entre la distracción fisaria y la tiroxina.

Las estimaciones de los efectos de la tiroxina y de la distracción fisaria realizadas hasta el momento no pudieron estar confundidas al haber sido controlada su distribución en el diseño del estudio. En otras palabras, los efectos encontrados no eran debidos a una distribución diferente en la proporción de conejos sometidos a distracción fisaria en los grupos con y sin tiroxina y viceversa.

Sin embargo, no se descartó la presencia de un fenómeno de interacción o modificación de efecto. Por ello, se trató de comprobar con un modelo de regresión lineal múltiple, si el efecto de la tiroxina era diferente en los conejos sometidos a distracción fisaria respecto a los no intervenidos; o si la distracción fisaria tenía un efecto diferente según los conejos habían sido tratados hormonalmente o no.

En la fase I, el resultado final fue que no existía una interacción significativa entre la tiroxina y la distracción fisaria para ninguna de las variables.

En la fase II, tampoco se constató un efecto de interacción significativo entre la tiroxina y la distracción fisaria. Sin embargo, y como se comentó anteriormente, para el área y altura media, se constató que el efecto de la tiroxina, que en un principio era positivo (grupo sin distracción fisaria) se volvía negativo y significativo a los trece días (tres con DF). Este cambio en el efecto de la tiroxina se detectó como estadísticamente significativo para la altura media ($p=0,02$) y casi significativo para el área media ($p=0,077$). En resumen, la DF y la tiroxina interaccionan de forma negativa sobre todo en la fase más cercana a la intervención quirúrgica. Se podría interpretar de dos formas diferentes: o bien la tiroxina ve frenado su

efecto por la intervención, sobre todo en los primeros días después de la misma, o bien el efecto de la intervención se ve de alguna manera contrarrestado por la tiroxina en los primeros días postcirugía.

4.- COMPLICACIONES

Se eliminaron del estudio 17 animales (21%):

- 8 por muerte del animal
- 4 por colocación errónea de las agujas de Kirschner
- 3 por fractura del fémur en el momento de la colocación del fijador
- 2 por artritis séptica de la rodilla.

En los cuatro casos en los que se colocaron erróneamente las agujas de Kirschner distales, en dos de ellos se había introducido una aguja a cada lado de la fisis (Fig. 30), mientras que en los otros dos, se había fijado una aguja distal sobre la misma fisis (Fig. 31,32).

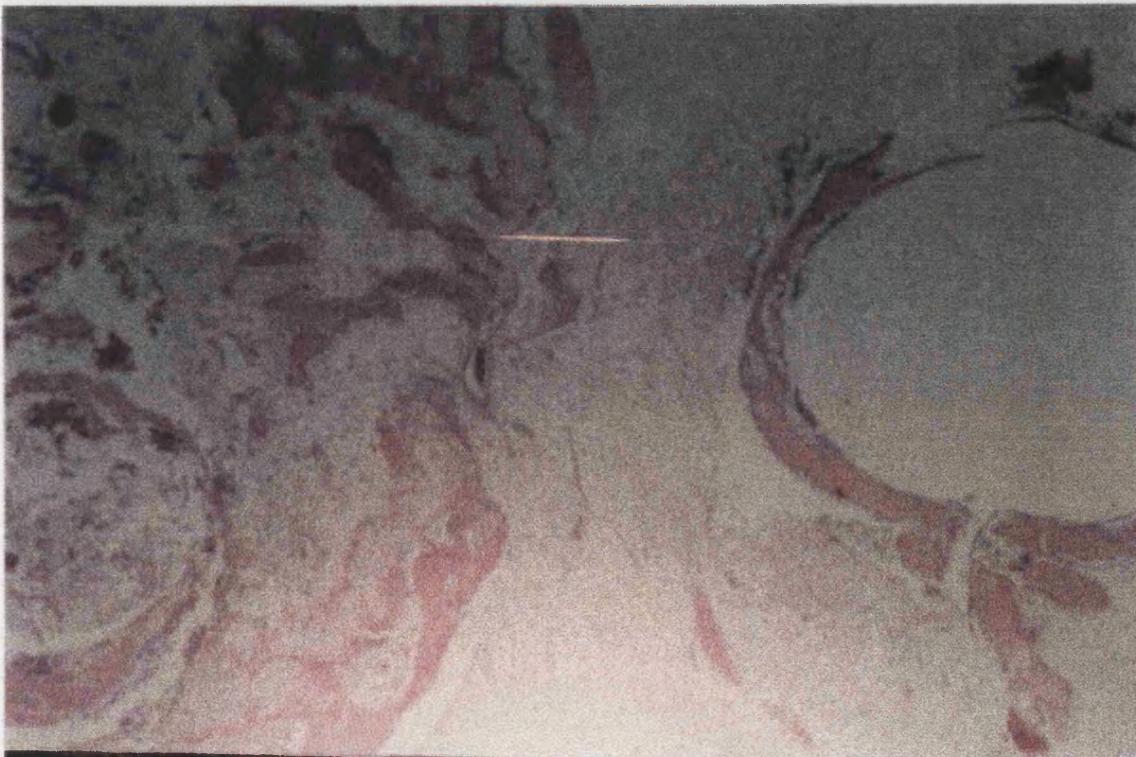


Figura 30. Colocación errónea de las agujas de Kirschner, una a cada lado de la fisis.

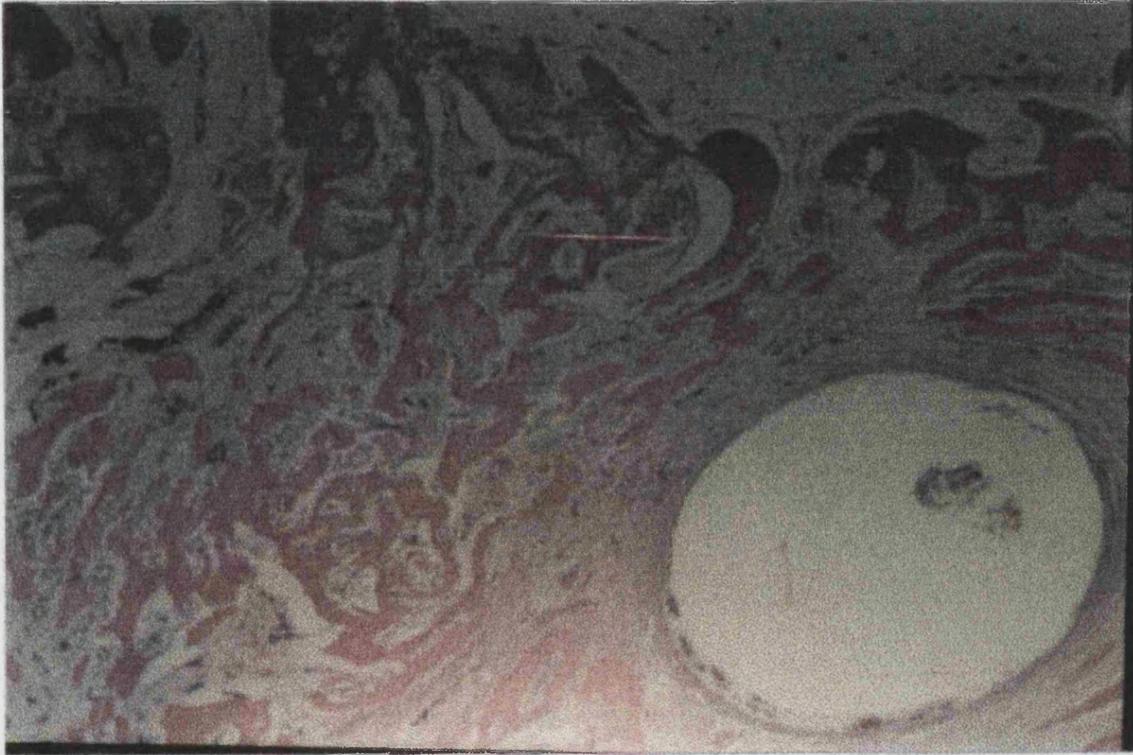


Figura 31. Colocación errónea de las agujas de Kirschner, sobre la misma fisis.

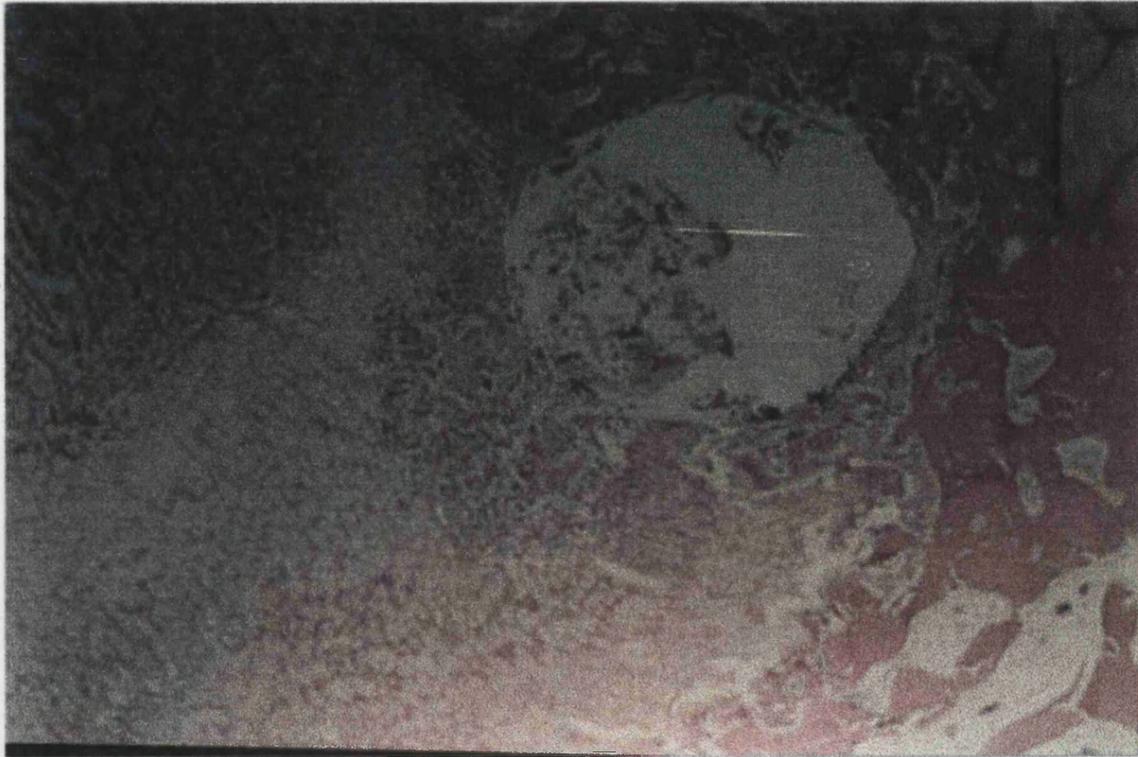


Figura 32. Colocación errónea de las agujas de Kirschner sobre la misma fisis.

Los tres casos de fractura de fémur se produjeron en la fase experimental previa (Fig. 33), ya que en principio introducíamos las agujas de forma manual. Cuando utilizamos el motor en este paso quirúrgico no se volvió a producir ninguna fractura.

Tuvimos dos casos de artritis séptica de rodilla, los cuales eliminamos del estudio, no obstante, procesamos las muestras y pudimos observar la completa destrucción de la fisis (Fig. 34).



Figura 33. Fractura de fémur a nivel diafisario.

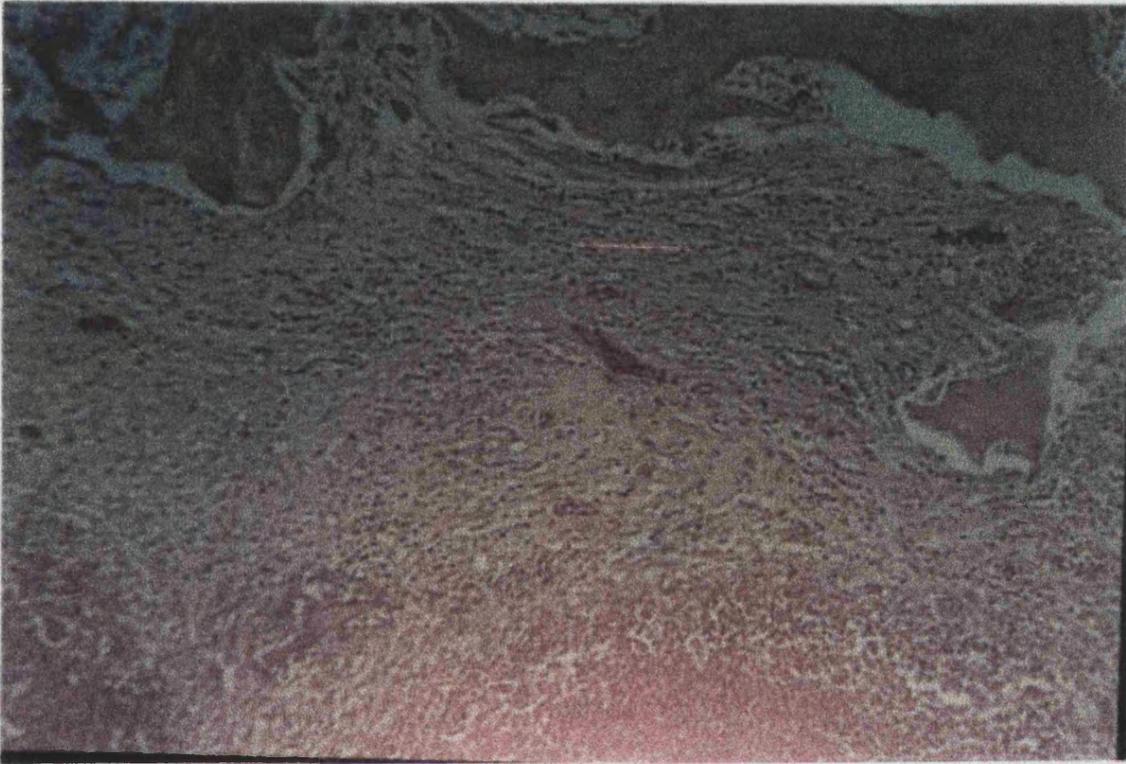


Figura 34. Artritis séptica.

Discusión

1.- DISCUSION

El interes por realizar este trabajo nació a partir de la observación de un problema que ocurría con frecuencia en los alargamientos óseos mediante la técnica de distracción fisaria. El cierre fisario prematuro como consecuencia del proceso de distracción, supone un riesgo elevado que obliga a limitar su aplicación en pacientes cercanos a la madurez esquelética (3,4,66,67,82,117,121,228-230,249,300).

Existe una gran controversia acerca del efecto de la distracción fisaria sobre el futuro desarrollo del cartílago de crecimiento sometido al alargamiento.

Eydelsteyn et al (106) en 1973, en sus estudios clínicos, no observó alteraciones en el crecimiento posterior de las extremidades alargadas, después de 5 años de seguimiento. Otros autores han publicado escasos o nulos efectos en el crecimiento residual tras el alargamiento óseo mediante distracción fisaria, tanto en estudios clínicos (91) como experimentales (113,254,294).

Por el contrario, en numerosos trabajos experimentales (77,139,169,207,221,228,229,274) y clínicos (33,221,230), los autores refieren reducción del crecimiento longitudinal tras finalizar el alargamiento.

Entre los factores relacionados con la viabilidad del cartílago de crecimiento sometido a distracción se incluyen: la edad del paciente (171,299), la localización del cartílago de crecimiento (82), la magnitud de las fuerzas de distracción (189,230) el porcentaje de alargamiento y ritmo de distracción (90,94,230), así como la brusquedad de la fractura inicial (96). No obstante, para algunos autores el posible retraso en el crecimiento de la fisis sometida a distracción es impredecible, por lo que

consideran que toda extremidad tratada mediante distracción fisaria puede sufrir una pérdida de la longitud conseguida.

Por otra parte, entre los factores hormonales que influyen sobre el cartílago de crecimiento, observamos que autores como Tapp (305) y Guang Ren y col. (271) obtenían retrasos del crecimiento, con disminución de la anchura y longitud del cartílago de crecimiento cuando administraban tiroxina a dosis elevadas (50 microgramos / día), dicho retraso del crecimiento podría traducirse en una mayor debilidad de la zona fisaria, que facilitaría el proceso de alargamiento mediante su distracción.

Por todo ello, decidimos realizar un estudio experimental asociando la administración de tiroxina al proceso de distracción fisaria, con el objetivo de intentar disminuir el citado riesgo de cierre prematuro del cartílago de crecimiento.

La distracción fisaria es una técnica de elongación progresiva basada en la utilización del cartílago de crecimiento como zona de menor resistencia del hueso, a través de la cual, y mediante una distracción a ambos lados del mismo, se consigue separar la epífisis de la metáfisis.

Este método fué introducido experimentalmente por Ring en 1958 (274). Más tarde, Ilizarov y Soybelman (161) en 1969 repitieron el experimento en ovejas, obteniendo un resultado similar. En ambos estudios, así como en estudios posteriores (96,112,113,161,214,229,274,334,335) se comparó el tipo de fractura ocasionado, entre la zona hipertrófica y las capas calcificadas del cartílago de crecimiento, con una epifisiolisis tipo I de Salter y Harris (162,278,279).

Nosotros en nuestro trabajo hemos podido observar como no

siempre el tipo de fractura se corresponde con una epifisiolisis tipo I de Salter y Harris, sinó que, en algunas ocasiones la fractura se producía a nivel fisario y se extendía hacia la zona metafisaria, en lo que correspondería a un tipo II de Salter y Harris (Tabla). Además el punto de separación no se producía siempre a nivel de la zona hipertrófica, teóricamente más débil, sinó que en algunos casos se producía a nivel de la zona proliferativa o metafisaria(Fig.15,16).

También pudimos observar como el punto de fractura variaba según el grupo experimental, de forma que en los conejos tratados con tiroxina, predominaban las epifisiolisis en la zona proliferativa, a diferencia de los no tratados hormonalmente, en los que la epifisiolisis era más frecuente a nivel de la zona hipertrófica. Este fenómeno podría deberse a una mayor fragilidad de la zona proliferativa provocada por la tiroxina.

El momento exacto de producción de la fractura no ha sido definido, Apte y Kenwright (15) lo sitúan entre el 4 y 5 día de iniciada la distracción. En nuestro estudio, el momento de la fractura se encontraba entre el 3 y 7 día de experimentación. Éste depende, fundamentalmente, de la rigidez del sistema fijador-distractor (96), de modo que, cuando más flexible es el sistema, la fractura se produce más tardíamente, ya que el tiempo necesario para alcanzar la máxima tensión es mayor.

Monticelli, Spinelli y Bonucci (228-231) describieron los cambios histológicos que se producen tras el proceso de distracción fisaria, dividiéndolos en 3 estadios:

1. Epifisiolisis y formación del hematoma.
2. Reabsorción del hematoma y formación de tejido fibroso que se incrementa en longitud de acuerdo con las fuerzas de distracción aplicadas.

3. Osificación del tejido fibroso y reconstitución del hueso periosteal.

El mecanismo de producción en el primer estadio es el mismo que en la epifisiolisis traumática, produciéndose una fractura a lo largo de la línea que divide la zona de maduración y la de los condrocitos hipertróficos del cartílago de crecimiento; con la formación de un hematoma en dicha área, con un pericondrio conservado. Las fuerzas de distracción aumentan progresivamente la distancia entre las dos superficies de la fractura, y es probable que, al menos durante los primeros días, el volumen del hematoma también aumente progresivamente.

Nosotros estudiamos el estadio inicial del alargamiento en nuestra 2ª fase experimental, observando el cartílago de crecimiento después de 3 y 7 días de distracción fisaria, y pudimos observar que con un ritmo de alargamiento de 0,5 milímetros/día, existe una fase previa al estadio 1 descrito por Monticelli y colaboradores (228-231), anterior a la producción de la fractura, en el cual se produce una gran hiperplasia celular a expensas de las células de la zona proliferativa (Fig.13), lo que se podría corresponder con las observaciones realizadas por De Bastiani, Aldegheri y Renzi-Brivio (89), quienes en 1979 introdujeron el término "Condrodiatasis" para definir una lenta, controlada y simétrica distracción de la fisis, sin ruptura ni fractura, con un ritmo de alargamiento de 0,25 milímetros cada 12 horas. En sus experiencias, describían la hiperplasia celular a nivel de la zona hipertrófica, con un incremento de la producción de matriz; en cambio la zona de reserva y las columnas celulares de la zona proliferativa quedaban histológicamente iguales.

En nuestro trabajo observamos hiperplasia celular a nivel de la zona proliferativa, tanto en los conejos tratados con tiroxina como en los

no tratados hormonalmente. El hecho de observar dicha hiperplasia celular con mayor frecuencia en los conejos alargados durante 7 días, y en menor cuantía en los alargados durante 3 días (un caso), podemos atribuirlo a que durante los primeros días del alargamiento se establece la tensión en el dispositivo fijador-distractor a través de las agujas de Kirschner, sin efecto sobre la fisis, siendo a partir del tercer día cuando se produce la hiperplasia celular, hasta el momento de producirse la fractura o epifisiolisis, antes del séptimo día.

Existe controversia también respecto a la posibilidad de realizar un alargamiento óseo sin producir fractura. La mayoría de autores (95,96,112,113,115,146,161,168,207,227,229,230,245,274,300,334,335) están de acuerdo en que de forma constante e independientemente del tipo de distracción realizado (en cuanto a ritmo de alargamiento y fuerzas aplicadas) se produce una fractura a nivel de la fisis.

De Bastiani y colaboradores (89) en 1979 sugerían que con pequeñas fuerzas de distracción y con un ritmo lento, se podía conseguir el alargamiento óseo provocando una hiperplasia del cartílago de crecimiento sin producir fractura.

Kenwright y Springings (188-91) en su trabajo experimental en tibias de conejo, también concluyen que es posible obtener el alargamiento óseo por medio de distracción fisaria sin producir fractura. Paley's (248) establece una división entre la distracción fisaria con epifisiolisis y distracción fisaria sin epifisiolisis.

Sin embargo, con el propósito de conseguir este objetivo, este tipo de distracción sin epifisiolisis hace que el alargamiento obtenido sea nulo a efectos prácticos (96).

Para De Pablos (96) el término Condrodiatasis (90) (distracción

fisaria sin epifisiolisis) no expresa realmente lo que ocurre. En primer lugar, porque siempre se produce epifisiolisis según él, y en segundo lugar, porque ésta no puede controlarse, ni por medio de una distracción rígida o elástica.

Nosotros empleamos un sistema elástico de distracción con un fijador-distractor montado sobre agujas de Kirschner, realizando el alargamiento a un ritmo de 0,5 mm/día; y, si bien observamos hiperplasia celular en el estadio inicial, cuando estudiamos los fémures alargados durante 7 días, la presencia de fractura era constante.

La distracción fisaria reúne una serie de ventajas con respecto a otras técnicas expuestas y comentadas anteriormente:

- simplicidad y rapidez de aplicación, todavía mayores que las de la elongación mediante osteotomía percutánea,
- realización en un sólo tiempo quirúrgico,
- no se necesita la sección quirúrgica de la piel, periostio ni hueso,
- gran facilidad de consolidación, sin necesitar cirugías complementarias como aporte de injerto óseo o fijación interna,
- ausencia de grandes secuelas estéticas debidas a grandes incisiones cutáneas.

Sin embargo, entre los inconvenientes atribuidos a esta técnica podemos destacar:

- particular tendencia a la aparición de rigideces articulares a nivel de rodilla y tobillo, cuando la distracción se aplica sobre las fisis distal femoral y tibial distal, respectivamente,
- larga duración del tratamiento (319-323)
- riesgo de producción de artritis sépticas a causa de la vecindad a la articulación de los tornillos o de las agujas epifisarias (69,70,121),

- y finalmente , merece la pena hacer un comentario sobre la viabilidad futura del cartílago de crecimiento sometido a distracción. Lógicamente en caso de producirse un daño permanente de la fisis (cierre prematuro), las repercusiones no sólo serían funcionales (cese del crecimiento), sino que, además, sería imposible repetir la distracción fisaria más adelante en caso de necesitarla.

En nuestro estudio encontramos al igual que otros autores como Ring (274), Jani (168-170) Letts y Meadows (207), alteraciones en las fisis sometidas a distracción, con la presencia de puentes óseos y cierres fisarios. Observamos cierre fisario con mayor frecuencia en los fémures intervenidos de conejos que no habían sido tratados hormonalmente, en cambio, en los tratados con tiroxina existían con mayor frecuencia puentes óseos. El efecto de la tiroxina en cuanto a la prevención de cierre fisario podría ser atribuido a que el retraso de crecimiento provocado se, asocia realmente a una mayor debilidad de la fisis, la cual sometida a distracción sufre un menor daño residual tras finalizar el alargamiento; aunque no previene del riesgo de aparición de puentes óseos.

Elmer, en 1992 (102), observó daños histológicos en las zonas próximas a las agujas de Kirschner del fijador-distractor. Nosotros también hemos asociado el hecho de encontrar puentes óseos cuando la distancia de la aguja de Kirschner a la fisis era reducida, probablemente por el acúmulo o concentración de fuerzas alrededor de dicho punto en el momento de la distracción.

En cuanto al efecto de la tiroxina sobre la fisis, Tapp (305) y So Guang Ren y cols. (271) observaron que la tiroxina administrada a altas dosis (400 microgramos/día) produce un retraso del crecimiento fisario. En nuestro trabajo pudimos constatar estadísticamente, que el efecto de

la tiroxina dependía del tiempo transcurrido desde su administración; es decir, durante los diez días en que se administraba la tiroxina, se producía un incremento tanto de la altura como el área media, sin embargo, por un posible efecto rebote, a un mes de evolución se observaba una disminución de dichos parámetros histomorfométricos en las fisis sometidas a tratamiento hormonal; y de nuevo, cuando estudiábamos las fisis con un tiempo de experimentación de un mes y medio, estas diferencias se invertían, aumentando la altura media de la fisis con respecto al grupo no tratado hormonalmente, aunque el área media y el número de columnas tendían a igualarse. A los dos meses, ya no se observaban diferencias entre ambos grupos.

Radiológicamente se observaba un retraso del crecimiento con una longitud femoral total (LFT) menor (3,25 mm) en el grupo tratado con tiroxina a un mes y medio de evolución, diferencia que se incrementaba hasta 4 milímetros a los dos meses de evolución, a pesar de que a nivel fisario tanto la altura y área media como el número de columnas eran similares en ambos grupos; es decir, que con el tiempo la fisis recuperaba su crecimiento normal, aunque no llegaba a compensar las diferencias establecidas en la longitud total del hueso.

Cuando estudiábamos el efecto de la tiroxina sobre los fémures sometidos a distracción fisaria, pudimos observar como en los 7 primeros días, la distracción fisaria provocaba un mayor incremento del área y altura media en el grupo no tratado con tiroxina, sin embargo, después de un mes de evolución, en el grupo tratado con tiroxina asociada a la distracción fisaria el área y altura media de la fisis era mayor.

El alargamiento observado radiológicamente también era superior en dicho grupo (3,75 mm) en el primer mes de evolución, por el contrario,

tras un mes y medio se producía un efecto inverso, con una mayor longitud femoral en el grupo no tratado hormonalmente. Este mayor alargamiento en los fémures sometidos a tratamiento hormonal podría ser debido a la mayor fragilidad del cartílago de crecimiento, que haría más efectiva la distracción fisaria, por lo que pasado un mayor tiempo de evolución, las fisis de los conejos no tratados con tiroxina recuperaban sus diferencias respecto al otro grupo.

Otro dato que justificaría el mayor efecto de la distracción fisaria en los fémures tratados con tiroxina, es el hecho de que al comparar el fémur intervenido con el contralateral, la longitud femoral alargada en el primer mes era superior en los grupos tratados hormonalmente, efecto que se perdía al mes y medio.

En las fases precoces (serie II) este efecto se empezaba a constatar a partir del 7º día, cuando las diferencias entre el fémur intervenido y el contralateral eran superiores en el grupo tratado con tiroxina.

El efecto de la distracción fisaria en las fases iniciales del alargamiento (3-7 día), se tradujo en un estímulo del crecimiento, con un aumento del área y altura de la fisis, tanto en los conejos tratados hormonalmente como en los que no lo habían sido (con diferencias estadísticamente significativas).

Sin embargo, con un seguimiento mayor, después de un mes de evolución, se producía una disminución de la altura y área del cartílago de crecimiento en fémures alargados, siendo la longitud conseguida con respecto al fémur contralateral de 5,25 milímetros en el grupo tratado con tiroxina y de 3,75 mm en el no tratado hormonalmente. Se había reducido

por tanto, el potencial de crecimiento en las fisis alargadas como probable compensación del sobrecrecimiento inicial. Después de un mes y medio de evolución se reducían las diferencias entre ambos fémures, al crecer en mayor proporción el lado no intervenido.

Por último, se observó una posible interacción entre la distracción fisaria y la tiroxina, de modo que en la segunda fase experimental, se constató un cambio de efecto de la tiroxina sobre la altura y area media del cartílago de crecimiento, antes y después de iniciada la distracción fisaria; es decir, el efecto de la tiroxina de incrementar el tamaño de la altura y área media durante los diez días de su administración, se ve frenado o contrarrestado por la distracción fisaria, o también, como en esta fase precoz del alargamiento, la distracción fisaria produce menor desarrollo fisario en los conejos tratados hormonalmente.

Conclusiones

1.- CONCLUSIONES

El tipo de fractura ocasionado a través del proceso de distracción fisaria no siempre se corresponde con una epifisiolisis tipo I de Salter y Harris. Y la localización de la fractura varía bajo el influjo hormonal de la tiroxina, siendo más frecuente en estos casos a nivel de la zona proliferativa.

Existe un estadio previo al descrito por Monticelli y cols. como estadio uno, en el que se produce una gran hiperplasia celular a expensas de la zona proliferativa, hasta el momento en que se produce la fractura o epifisiolisis.

En todos los casos intervenidos mediante la técnica de distracción fisaria observamos la presencia de fractura en el cartílago de crecimiento.

La existencia de puentes óseos podría relacionarse con una mayor proximidad de las agujas del fijador-distractor a la fisis, que provocarían una concentración de fuerzas capaces de lesionar el cartílago de crecimiento.

La administración de tiroxina asociada a alargamiento óseo mediante distracción fisaria disminuye el riesgo de cierre fisario.

El efecto de la tiroxina sobre la fisis distal del fémur del conejo viene determinado por el tiempo transcurrido desde su administración.

La tiroxina administrada a altas dosis produce una disminución en la longitud femoral a partir de un mes y medio desde su administración,

efecto que se mantiene hasta dos meses después, momento en que la fisis recupera su tamaño normal.

El alargamiento femoral mediante distracción fisaria es superior en los conejos tratados con tiroxina a altas dosis, hasta un mes después de su administración; aunque en su fase inicial, la distracción fisaria produce en éstos conejos un menor desarrollo de su cartílago de crecimiento.

Bibliografía

BIBLIOGRAFIA

1. Abbott LC. The operative lengthening of the tibia and fibula. *J Bone Joint Surg* 1927;9:128-52.
2. Adamson LF, Anast CS. Amino acid, potassium, and sulfate transport and incorporation by embryonic chick cartilage: The mechanism of stimulatory effects of serum. *Biochim Biophys Acta* 1966;121:10-20.
3. Alberty A. Effects of physal distraction on the vascular supply of the growth area: a microangiographical study in rabbits. *J Pediatr Orthop* 1993;13:373-7.
4. Alberty A, Peltonen J. Proliferation of the hipertrophic chondrocytes of the growth plate afther physal distraction. An experimental study in rabbits. *Clin Orthop* 1993;297:7-11.
5. Aldegheri R, Trivella G, Renzi-Brivio L, Tessari G, Agostini S, Lavini F. Lengthening of the lower limbs in achondroplastic patients: A comparative study of four techniques. *J Bone Joint Surg* 1988;70B:69-73.
6. Aldegheri R, Trivella G, Lavini F. Epiphyseal distraction. Chondrodiatasis. *Clin Orthop* 1989;241:117-27.
7. Aldegheri R, Trivella G, Lavini F. Epiphyseal distraction. Hemichondrodiatasis. *Clin Orthop* 1989;241:128-36.
8. Aldegheri R, Renzi-Brivio L, Agostini S. The callostasis method of limb lengthening. *Clin Orthop* 1989;241:137-45.
9. Ali SY, Sajdera SW, Anderson HC. Isolation and characterization of calcifying matrix vesicles from epiphyseal cartilage. *Proc Natl Acad Sci* 1970;67:1513-20.
10. Ali SY. Analysis of matrix vesicles and their role in calcification of epiphyseal cartilage. *Fed Proc* 1976;35:135-42.
11. Allan FG. Bone lengthening. *J Bone Joint Surg* 1948;30B:490-505.
12. Anderson CE, Parker J. Invasion and resorption in endochondral

ossification: An electron microscopic study. *J Bone Joint Surg* 1966;48A:899-914.

13. Anderson HC. Vesicles associated with calcification in the matrix of epiphyseal cartilage. *J Cell Biol* 1969;41:59-72.

14. Anderson WB. Leg lengthening. *J Bone Joint Surg* 1952;34B:150.

15. Apte SS, Kenwright J. Physeal distraction and cell proliferation in the growth plate. *J Bone Joint Surg* 1994;76B:837-43.

16. Aquerreta D, Forriol F, Cañadell J. Estudio prospectivo de la elongación de los segmentos óseos y de sus complicaciones. *Rev Ortop Traum* 1994;38:1-11.

17. Armstrong PF, Brighton CT. Failure of the rabbit tibial growth plate to respond to the longterm application of a capacitively-coupled electric field. *J Orthop Res* 1986;4:446-51.

18. Armstrong PF, Brighton CT, Star AM. Capacitively coupled electrical stimulation of bovine growth plate chondrocytes grown in pellet form. *J Orthop Res* 1988;6:265-71.

19. Aronson J, Harrison B, Boyd CM, Cannon DJ, Lubansky HJ. Mechanical induction of osteogenesis: the importance of pin rigidity. *J Pediatr Orthop* 1988;8:396-401.

20. Aronson J, Harrison BH, Stewart CL, Harp JH. The histology of distraction osteogenesis using different external fixators. *Clin Orthop* 1989;241:106-16.

21. Arrien A. Estudio comparativo de las osteotomias a cielo abierto y percutáneas en la elongación ósea. (Tesis doctoral). Pamplona. Univ. de Navarra. 1986.

22. Atkin I, Pita JC, Ornoy A, Agundez A, Castiglione G, Howell DS. Effects of vitamin D metabolites on healing low phosphate vitamin D deficient induced rickets in rats. *Bone* 1985;6:113-23.

23. Ballock RT, Reddi AH. Thyroxine in the serum factor that regulates

morphogenesis of columnar cartilage from isolated chondrocytes in chemically defined medium. *J Cell Biol* 1994;126:1311-8.

24. Barnard R, Haynes KM, Werther GA, Walters MJ. The ontogeny of growth hormone receptors in the rabbit tibia. *Endocrinology* 1988;122:2562-9.

25. Barton DE, Foellmer B, Wood WI, Francke U. Chromosome mapping of the growth hormone receptor gene in man and mouse. *Cytogenet Cell Genet* 1989;50:137-41.

27. Baumann F, Harms J. The extension nail. A new method for the lengthening of the femur and tibia. *Arch Orthop Unfall Chir* 1977;90:139-46.

28. Becker RD, Spadaro JA, Marino AA. Clinical experiences with low intensity direct current stimulation of bone growth. *Clin Orthop* 1977;124:75-83.

29. Bensahel H, Huguerin PH, Brard JL. L'allongement trans-épiphysaire du tibia. A propos d'un cas. *Rev Chir Orthop* 1983;69:245-7.

30. Berchiche R, Wittek F. Allongement du squelette jambier par épiphysiolyse-dystraction. Traitement des inégalités des membres inférieurs. *Acta Orthop Belg* 1983;49:321-31.

31. Bertrand P, Trillat A. Le traitement des inégalités de longueur des membres inférieurs pendant le croissance. *Rev Chir Orthop* 1948;34:264-82.

32. Billestrup N, Moldrup A, Serup P, Mathews L, Norstedt G, Nielsen J. Introduction of exogenous growth hormone receptors augments growth hormone responsive insulin biosynthesis in rat insulinoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87: 7210-4.

33. Bjerkheim J. Limb lengthening by physal distraction. *Acta Orthop Scand* 1989;60:140-42.

34. Bliskunov AI. Intramedullary distraction of the femur. *Orthop Traumatol*

Protez 1983;10:59-62.

35. Blount WP, Clarke GR. Control of bone growth by epiphyseal stapling: A preliminary report. *J Bone Joint Surg* 1949;31A:464-78.

36. Bonucci E. Fine structure of early cartilage calcification. *J Ultrastruct Res* 1967;20:33-50.

37. Bonucci E. Fine structure and histochemistry of calcifying globules in epiphyseal cartilage. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 1970;103:192-217.

38. Bonucci E. The locus of initial calcification in cartilage and bone. *Clin Orthop* 1971;78:108-39.

39. Bonucci E, Dearden LC, Mosier HDJr. Effects of glucocorticoid treatment on the ultrastructure of cartilage and bone. *Adv Exp Med Biol* 1984;171:269-78.

40. Boskey AL. Current concepts of the physiology and biochemistry of calcification. *Clin Orthop* 1981;157:225-57.

41. Bost FL, Larson LJ. Experiences with lengthening of the femur over and intramedullary rod. *J Bone Joint Surg* 1956;38A:567-84.

42. Bourguignon JP. Linear growth as a function of age onset of puberty and sex steroid dosage. Therapeutical implications. *Endocr Rev* 1988;9:467-88.

43. Brighton CT, Ray RD, Soble LW, Kuettner KE. In vitro epiphyseal plate growth in various oxygen tensions. *J Bone Joint Surg* 1969;1A:1383-96.

44. Brighton CT, Heppenstall RB. Oxygen tension in zones of the epiphyseal plate, the metaphysis and diaphysis: An in vitro and in vivo study in rats and rabbits. *J Bone Joint Surg* 1971;53A:719-28.

45. Brighton CT, Sugioka Y, Hunt R. Cytoplasmic structures of epiphyseal plate chondrocytes. Quantitative evaluation using electron micrographs of rat costochondral junctions with special reference to the fate of hypertrophic cells. *J Bone Joint Surg* 1973;55A:771-84.

46. Brighton CT, Hunt RM. Histochemical localization of calcium in electron

micrographs of the epiphyseal growth plate with K-pyroantimonate. Clin Orthop 1974;100:406-16.

47. Brighton CT, Hunt RM. Histochemical localization of calcium in growth plate mitochondria and matrix vesicles. Fed Proc 1976;35:143-7.

48. Brighton CT, Hunt RM. The role of mitochondria in growth plate calcification as demonstrated in a rachitic model. J Bone Joint Surg 1978;60A:630-9.

49. Brighton CT. Structure and function of the growth plate. Clin Orthop 1978;136:22-32.

50. Brighton CT, Lackman RD, Cuckler JM. Absence of the glycerol phosphate shuttle in the various zones of the growth plate. J Bone Joint Surg 1983;65A:663-6.

51. Brighton CT, Pfeffer GB, Pollack SR. In vivo growth plate stimulation in various capacitively coupled electric fields. J Orthop Res 1983;1:42-9.

52. Brighton CT. The growth plate. Orthop Clin North Am 1985;5:571-95.

53. Brighton CT, Hunt RM. Ultrastructure of electrically induced osteogenesis in the rabbit medullary canal. J Orthop Res 1986;4:27-36.

54. Brookes M, Landon DN. The juxta-epiphyseal vessels in the long bones of fetal rats. J Bone Joint Surg 1963;46B:336-45.

55. Buckwalter JA. Proteoglycan structure in calcifying cartilage. Clin Orthop 1983;172:207-32.

56. Buckwalter JA, Mower D, Scheefer J, Ungar R, Ginsberg B, Mooere K. Growth plate chondrocyte profiles and their orientation. J Bone Joint Surg 1985;67A:942-55.

57. Buckwalter JA, Mowers D, Ungar R, Schaeffer J, Ginsberg B. Morphometric analysis of chondrocyte hypertrophy. J Bone Joint Surg 1986;68A:243-55.

58. Buckwalter JA, Mower D, Schaeffer J. Differences in matrix vesicle concentration among growth plate zones. J Orthop Res 1987;5:157-63.

59. Burch WM, Lebovitz HE. Triiodothyronine stimulates maturation of porcine growth plate cartilage in vitro. *J Clin Invest* 1982;70:496-504.
60. Burch WM, Lebovitz HE. Triiodothyronine stimulation of in vitro growth and maturation of embryonic chick cartilage. *Endocrinology* 1982;111:462-504.
61. Cañadell J, Ponces J, Blanquet A, Escayola JL, Figueras JM, Tresserra J, Hernandez A. Nuestra experiencia en el tratamiento de las diferencias de longitud de las extremidades inferiores. *An Med* 1962;48:3-27.
62. Cañadell J. Verificación de los factores que influyen sobre la actividad del cartílago de crecimiento. *Med Clin* 1969;4:315-21.
63. Cañadell J. Sobre el aumento de versatilidad y ampliación de las posibilidades de un fijador externo monolateral en traumatología y ortopedia. *Rev Ortop Traum* 1986;30:477-80.
64. Cañadell, De Pablos J. Lesiones del cartílago de crecimiento. Salvat SA: Barcelona, 1988.
65. Cañadell J, De Pablos J, Azcarate JR. Modificaciones del aparato de Wagner para elongaciones de tipo fisario y metafisario. *Rev Soc y And Ortop Traum* 1988;8:139-50.
66. Cañadell J, De Pablos J. Los métodos de elongación ósea y sus aplicaciones. *Rev Ortop Traum* 1990;34:327-44.
67. Cañadell J, Cara JA, Ganoza C. Physeal distraction and bone lengthening in the conservative treatment of malignant bone tumors in children. Cañadell J ed. *Treatment of malignant bone tumors in children and adolescents*. Pamplona: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Navarra 1991:293-305.
68. Cañadell J, De Pablos J. Correction of angular deformities by physeal distraction. *Clin Orthop* 1992;283:98-105.
69. Cañadell J, Aquerreta D, Forriol F. Prospective study of bone

- lengthening. *J Pediatr Orthop Part B* 1993;2:1-7
70. Cañadell J. Bone lengthening: experimental results. *J Pediatr Orthop Part B* 1993;2:8-10.
71. Carter DR, Wong M. Mechanical stresses and endochondral ossification in the chondroepiphysis. *J Orthop Res* 1988;6:148-54.
72. Carrascosa A, Audi L, Ferrandez A, Ballabriga A. Biological effects of androgens and identifications of specific dihydrotestosterone-binding sites in cultured human fetal epiphyseal chondrocytes. *J Clin Endocr Metab* 1990;70:136-40.
73. Chatelain P, Lejeune H, Avallet O, Saez JM. Régulation hormonale de la croissance au moment de la puberté. *Arch Fr Pediatr* 1992;49:271-86.
74. Chung SM, Batterman SC, Brighton CT. Shear strength of the human femoral capital epiphyseal plate. *J Bone Joint Surg* 1975;58A:94-103.
75. Codivilla A. On the means of lengthening in the lower limbs, the muscles and tissues which are shortened through deformity. *Am J Orthop Surg* 1905;2:353-69.
76. Compere EL. Indications for and against the leg lengthening operation. *J Bone Joint Surg* 1936;18:692-701.
77. Connolly JF, Hurman WW, Pankaj R. Long term effect of physal distraction. *Orthop Res* 1982;6:267.
78. Cooper RR, Ponseti IV, Maynard JA. Pseudoachondroplastic dwarfism a rough-surfaced endoplasmic reticulum storage disorder. *J Bone Joint Surg* 1973;55A:475-84.
79. Copenhaver WM. *Bailey's textbook of histology*. Williams and Wilkins ed. Baltimore, 1964.
80. Coiro V, Braverman L, Christianson D, Fang SL, Goodman M. Effect of hypothyroidism and thyroxine replacement on growth hormone in the rat. *Endocrinology* 1979;105:641-6.
81. Conejero JA, Flórez MT, Salcedo J, Amaya J. Elongaciones óseas en

malformaciones congénitas de las extremidades inferiores. *An Esp Pediatr* 1991;34:239-8.

82. Dale GG, Harris WR. Prognosis of epiphyseal separation. An experimental study. *J Bone Joint Surg* 1958; 40B:116-22.

83. Daughaday WH, Mariz IK. Conversion of proline-U-C14 to labeled hydroxyproline by rat cartilage in vitro: Effects of hypophysectomy, growth hormone, and cortisol. *J Lab Clin Med* 1962;59:741-52.

84. Daughaday WH, Reeder C. Synchronous activation of DNA synthesis in hypophysectomized rat cartilage by growth hormone. *J Lab Clin Med* 1966;357-68.

85. Daughaday WH, Hall K, Raben MS, Salmon WDJr, Brande JL van den, Wyk JJ van. Somatomedin: Proposed designation for sulphation factor. *Nature* 1972;235:107.

86. Daughaday WH, Rotwein P. Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations. *Endocr Rev* 1989;10:69-91.

87. De Bastiani G, Pizzoli A. External fixation devices in children. *Chir Organi Mov* 1970;64:301-4.

88. De Bastiani G, Aldegheri R, Renzi-Brivio L. Fisatore esterno assiale. *Chi Organi Mov* 1979;65:287-93.

89. De Bastiani G, Aldegheri R, Renzi-Brivio L. The treatment of fractures with a dynamic axial fixator. *J Bone Joint Surg* 1984;66B:538-45.

90. De Bastiani G, Aldegheri R, Renzi-Brivio L, Trivella G. Limb lengthening by distraction of the epiphyseal plate. A comparison of two techniques in the rabbit. *J Bone Joint Surg* 1986;68B:545-9.

91. De Bastiani G, Aldegheri R, Renzi-Brivio L, Trivella G. Chondrodystasia controlled symmetrical distraction of the epiphyseal plate. Limb lengthening in children. *J Bone Joint Surg* 1986;68B:550-6.

92. De Bastiani G; Aldegheri R, Renzi-Brivio L, Trivella G. Limb

- lengthening by callus distraction (Callotasis). *J Pediatr Orthop* 1987;7:129-34.
93. Deguchi T, Mori M. Histochemical observations on bone and periodontal tissues in the rat administered with cortisone and parathyroid hormone. *Histochemie* 1969;20:234-43.
94. De Pablos J, Villas C, Cañadell. Bone lengthening by physal distraction. An experimental study. *Int Orthop* 1986;10:163-70.
95. De Pablos J, Cañadell J. Experimental physal distraction in immature sheep. *Clin Orthop* 1989;250:73-80.
96. De Pablos J. Biology of bone lengthening by means of physal distraction. *Mapfre Med* 1993;4:77-82.
97. Delgado E, Miralles C. The growth plate. *Mapfre Med* 1993;4:1-5.
98. Deshmukh K, Kline WG, Sawyer BD. Effects of calcitonin and parathyroid hormone on the metabolism of chondrocytes in culture. *Biochim Biophys Acta* 1977;499:28-35.
99. Dziwiatowski DD. Synthesis of sulfomucopolysaccharides in thyroidectomized rats. *J Exp Med* 1957;105:69-74.
100. Egli PS, Herrmann W, Hunziker EB, Shenk RK. Matrix compartments in the growth plate of the proximal tibia rats. *Anat Rec* 1985;211:246-57.
101. Elders MJ, Wingfield BS, McNatt ML, Clarke JS, Hughes ER. Glucocorticoid therapy in children. Effect of somatomedin secretion. *Am J Dis Child* 1975;129:1393-6.
102. Elmer EB, Ehrlich MG, Zaleske DJ, Polsky C, Mankin HJ. Chondrodiatasis in rabbits: a study of the effect of transphysal bone lengthening on cell division, synthetic function, and microcirculation in the growth plate. *J Pediatr Orthop* 1992;12:181-90.
103. Emtner M, Mathews LS, Norstedt G. Growth hormone (GH) stimulates protein synthesis in cells transfected with GH receptor complementary DNA. *Mol Endocrinol* 1990;4:2014-20.

104. Ernst M, Heath JM, Rodan GA. Estradiol effects on proliferation messenger ribonucleic acid for collagen and insulin-like growth factor-I, and parathyroid hormone-stimulated adenylate cyclase activity in osteoblastic cells from calvariae and long bones. *Endocrinology* 1989;125:825-33.
105. Evans ES, Rosenberg LL, Simpson ME. Relative sensitivity of different biological response to thyroxine. *Endocrinology* 1960;66:433.
106. Eydelshteyn BM, Udalova NF, Bochkarev GF. Dynamics of reparative regeneration after lengthening by the method of distraction epiphysiolysis. *Acta Chir Plast* 1973;15:149-54.
107. Farnum CE, Wilsman NJ. Lectin-binding histochemistry of intracellular and extracellular glyco-conjugates of the reserve cell zone of growth plate cartilage. *J Orthop Res* 1988;6:166-79.
108. Felix R, Felisch H. Role of matrix vesicles of calcification. *Fed Proc* 1976;35:169-71.
109. Fink B, Krieger M, Strauss JM, Opheys C, Fischer J. Osteoneogenesis in callus and epiphyseal distraction. *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 1995;133:501-6. (Abstract).
110. Fischer DA. Practical points in managing the externally fixed extremity. *Orthop Rev* 1981;10:27-32.
111. Fischer J, Dufek P, Stachel P. Limb lengthening with epiphyseal and callus distraction using the wiesbaden ring fixator. *Orthopade* 1992;21:210-20. (Abstract).
112. Fishbane BM, Riley LH Jr. Continuous tranphyseal traction. A simple method of bone lengthening. *Johns Hopkins Med J* 1976;138:79-81.
113. Fishbane BM, Riley LH Jr. Continuous transphyseal traction: experimental observation. *Clin Orthop* 1978;136:120-4.
113. Fishchenko Pla, Karimova LF, Pilipenko NP. Distraction epiphysiolysis for congenital shortness of a lower extremity. *Ortop*

Travmatol Protez 1976;9:44-9.

114. Fishchenko Pla, Sadofeva VI, Karimova LF, Pilipenko NP. X-ray picture of regenerate formation following distraction epiphysiolysis. Ortop Travmatol Protez 1976;11:29-33.

115. Fjeld TO, Steen H. Limb lengthening by low rate epiphyseal distraction. An experimental study in the caprine tibia. J Orthop Res 1988;6:360-8.

116. Fjeld TO, Steen H. Limb lengthening by epiphyseal distraction in chondrodystrophic bone: an experimental study in the canine femur. J ortop Res 1989;7:184-91.

117. Fjeld TO, Steen H. Growth retardation after experimental limb lengthening by epiphyseal distraction. J Pediatr Orthop 1990;10:463-6.

118. Fleisch H, Neuman WF. Mechanism of calcification: role of collagen polyphosphates, and phosphatase. Am J Physiol 1962;20:671-75.

119. Floyd WE, Zaleske DJ, Schiller AL, Trahan C, Mankin HJ. Vascular events associated with the appearance of the secondary center of ossification in the murine distal femoral epiphysis. J Bone Joint Surg 1987;69A:185-90.

120. Forgon M, Vamhidy V, Kellenyi L. Bone growth accelerated by stimulation of the epiphyseal plate with electric current. Arch Orthop Trauma Surg 1985;104:121-4.

121. Franke J, Hein G, Simon M, Hanch S. Comparasion of distraction epiphysiolysis and partial metaphyseal corticotomy in leg lengthening. Int Orthop 1990;14:405-13.

122. Frantz AG, Rabkin MT. Effects of estrogens and sex difference on secretion of human growth hormone. J Clin Endocrinol Metab 1965;25:1470-80.

123. Friedman M, Strang LB. Effect of long-term corticoids and corticotropin on the growth of children. Lancet 1966;2:568-72.

124. Garabedian M, Dubois MB, Corvol MT, Pezant E, Balsan S. Vitamin D and cartilage. I in vitro metabolism of 25-hydroxycholecalciferol by cartilage. *Endocrinology* 1978;102:1262-8.
125. Garces G. Modificaciones en el cartílago de crecimiento del fémur tras fractura diafisaria. Estudio experimental. *Rev Ortop Traum* 1988;32:57-62.
126. Garces GL, Garcia JM, Guerado E, Bradley J. Medición de la altura fisaria y sus capas: influencia del error de observación. *Rev Ortop Traum* 1990;34:316-18.
127. Garces GL, Bradley J. Relationship between growth plate height and bone length. *Med Sci Res* 1988;16:679-80.
128. Garces GL, Jimenez-Diaz JF. Estudio histomorfométrico de la fisis proximal tibial en ratas sometidas a "stress" emocional crónico. *Rev Ortop Traumatol* 1990;34:81-3.
129. Gaspard KJ, Klitgaard HM, Wondergem R. Somatomedin and thyroid hormone in the developing chick embryo (41018). *Proc Soc Exp Biol Med* 1981;166:24-7.
130. Gerstenfeld LC, Kelly CM, Dek M, Lian J. Effect of 1,25 dihydroxyvitamin D3 on induction of chondrocyte maturation in culture: extracellular matrix gene expression and morphology. *Endocrinology* 1990;126:1599-600.
131. Godowski PJ, Leung DW, Meacham LR, Galgani JP, Hellmiss R, Keret R, Rotwein PS, Parks JS, Laron Z, Wood WI. Characterization of the human growth hormone receptor gene and demonstration of a partial gene deletion in two patients with Laron-type dwarfism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:8083-7.
132. Götz J, Schellmann WD. Continuous lengthening of the femur with intramedullary stabilization. *Arch Orthop Unfallchir* 1975;82:305-10.
133. Grant WT, Sussman MD, Balian C. A disulfide bonded short chain

collagen synthesized by degenerative and calcifying zones of bovine growth plate cartilage. *J Biol Chem* 1985;260:3798-803.

134. Greer RB, Janicke GH, Mankin HJ. Protein polysaccharide synthesis at three levels of the normal growth plate. *Calcif Tissue Res* 1968;2:157-64.

135. Habuchi h, Conrad HE, Glaser JH. Coordinate regulation of collagen and alkaline phosphatase levels in chick embryo chondrocytes. *J Biol Chem* 1985;260:13029-34.

136. Harsha WN. Distracting effects placed across the epiphysis of long bones. *J Am Med Assoc* 1962;179:776-80.

137. Havelka S, Babicky A, Musilova J, Rohorkova D, Tesarek B. Effect of osteotropic hormones on cartilage metabolism. *Horm Metab Res* 1979;11:83-4.

138. Heikel HVA. On ossification and growth of certain bones of the rabbit, With a comparison of the skeletal age in the rabbit and in man. *Acta Orthop Scand* 1960;29:171.

139. Hert J. Growth of the epiphyseal plate in circumference. *Acta Anat* 1972;82:420-36.

140. Hervas F, Escobar GM, Escobar Del Ray T. Rapid effects of single small dosis of L-thyroxin and triiodothyronine on growth hormone, as studied in the rat by radioimmunoassay. *Endocrinology* 1975;97:91-101.

141. Hoffmann R. Rotules à os pour la reduction dirigée, non sanglante des fractures (osteoraxis). *Helv Med Acta* 1938;5:844-50.

142. Holder AT, Wallis M, Biggs P, et al. Effects of growth hormone, prolactin and thyroxine on body weight, somatomedin-like activity and in vivo sulphation of cartilage in hypopituitary dwarf mice. *J Endocrinol* 1980;85:35-41.

143. Holtrop ME. The ultrastructure of the epiphyseal plate. II. The hypertrophic chondrocyte. *Calcif Tissue Res* 1972;9:140-51.

144. Horton WA, Machado MM. Extracellular matrix alterations during endochondral ossification in humans. *J Orthop Res* 1988;6:793-803.
145. Hoskins WE, Asling CW. Influence of growth hormone and thyroxine on endochondral osteogenesis in the mandibular condyle and proximal tibial epiphysis. *J Dent Res* 1977;56:509-17.
146. Houghton GR, Duriez J. Allongement tibial par élongation du cartilage de croissance tibial supérieur. Etude expérimentale chez le lapin. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot* 1980;66:351-6.
147. Howell DS, Pita JC, Marquez JF, Gatter RA. Demonstration of macromolecular inhibitors of calcification and nucleation factors in fluid from calcifying sites in cartilage. *J Clin Invest* 1969;48:630-41.
148. Howell DS. Current concepts of calcification. *J Bone Joint Surg* 1971;53A:250-7.
149. Hubbard JR, Liberti JP. Enhancement of cartilage protease activity during age and growth hormone-dependent growth. *Biochim Biophys Acta* 1981;673:332-8.
150. Hull KL, Janssens WCJ, Baumbach WR, Harvey S. Thyroid glands: novel sites of growth hormone action. *J Endocrinology* 1995;146:449-58.
151. Hulth A, Nylander G. Effect of thyroxine and propyl thiouracil on the epiphyseal cartilage in growing rats. *Acta Societatis Medicorum Upsaliensis* 1962;67:273.
152. Hunziker EB, Shenk RK, Cruz-Orive L. Quantitation of chondrocyte performance in growth plate cartilage during longitudinal bone growth. *J Bone Joint Surg* 1987;69A:167-73.
153. Iannacone WM, Pienkowski D, Pollack SR, Brighton CT. Pulsing electromagnetic field stimulation of the in vitro growth plate. *J Orthop Res* 1988;6:239-47.

154. Iannotti JP, Brighton CT, Stambaugh JL, Storey BT.. Calcium flux and endogenous calcium content in isolated mammalian growth plate chondrocytes, hyaline cartilage chondrocytes, and hepatocytes. *J Bone Joint Surg* 1985;67A:113-20.
155. Iannotti JP, Brighton CT. Cytosolic ionized calcium concentration in isolated chondrocytes from each zone of the growth plate. *J Orthop Res* 1989;7:511-8.
156. Iannotti JP, Brighton CT, Stambough JE. Subcellular regulation of the ionized calcium pool in isolated growth plate chondrocytes. *Clin Orthop* 1989;242:285-93.
157. Iannotti JP. Growth plate physiology and pathology. *Orthop Clin North Am* 1990;21:1-17.
158. Iannotti JP, Naidu S, Noguchi Y, Hunt RM, Brighton CT. Growth plate matrix vesicle biogenesis. The role of intracellular calcium. *Clin Orthop* 1994;306:222-9.
159. Ikeda T, Fujiyama K, Takeuchi T, Honda M, Mokuda D, Tominaga M, Mashiba H. Effect of thyroid hormone on somatomedin C release from perfused rat liver. *Experientia* 1989;45:170-1.
160. Ilizarov GA, Deviatov AA. Surgical lengthening of the shin with simultaneous correction of deformities. *Ortop Travmatol Protez* 1969;30:32-7.
161. Ilizarov GA, Soybelman LM. Clinical and experimental data on bloodless lengthening of lower extremities. *Eksp Khir Anesteziol* 1969;4:27-32.
162. Ilizarov GA, Soybelman LM, Chirkova AM. Some roentgenographic and morphological data on regeneration of bone tissue in experimental distraction epiphysiolysis. *Orthop Travmatol Protez* 1970;31:26-30.
163. Ilizarov GA, Deviatov AA. Surgical elongation of the leg. *Ortop Travmatol Protez* 1971;32:20-6.

164. Ilizarov GA. Basic principles of transosseous compression and distraction osteosynthesis. *Ortop Travmatol Protez* 1971;11:7-15.
165. Illing R, Prader A. Effects of testosterone on growth hormone secretion in patients with anorchia and delayed puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1970;30:615-8.
166. Irving JT, Wurthier RE. Histochemistry and biochemistry of calcification with special reference to the role of lipids. *Clin Orthop* 1968;56:237-60.
167. Isaksson OGP, Jansson JO, Gause IAM. Growth hormone stimulates longitudinal bone growth directly. *Science* 1982;216:1237-9.
168. Jani L. Experimental animal study on tibia lengthening using distraction epiphyseolysis. *Z Orthop* 1973;111:627-30.
169. Jani L. Distraction epiphyseolysis. An experimental study for bone lengthening. Part II. *Z Orthop* 1975;113:199-208. (Abstract).
170. Jani L. Distraction epiphyseolysis. An experimental study for bone lengthening. Part I. *Z Orthop* 1975;113:189-98. (Abstract).
171. Janovec M, Jochymek J. The importance of age in patients for the subsequent state of the growth cartilage lengthened by distraction epiphysiolysis. *Acta Chir Orthop Traumatol Cech* 1993;60:306-10. (Abstract).
172. Jansson JO, Eden S, Isaksson OGP, Eden S. Influence of gonadal steroid on age and sex related secretory patterns of growth hormone in the rat. *Endocrinology* 1984;114:1287-94.
173. Jenkins DH, Cheng DH, Hodgson AR. Stimulation of bone growth by periosteal stripping. *J Bone Joint Surg* 1975;57B:482-4.
174. Jones CB, Dewar ME, Aichroth PM, Crawford EJP, Emery R. Epiphyseal distraction monitored by strain gauges. *J Bone Joint Surg* 1989;71B:651-6.
175. Kallio TJ, Vauhkonen MV, Peltonen JI, Karaharju EO. Early bone

matrix formation during distraction. A biochemical study in sheep. *Acta Orthop Scand* 1994;65:467-71.

176. Karaharju EO, Aalto K, Kahri A, Lindberg LA, Kallio T, Karaharju-Suvanto T et al. Distraction bone healing. *Clin Orthop* 1993;297:38-43.

177. Katakami H, Downs TR, Frohman LA. Decreased hypothalamic growth hormone-releasing hormone content and pituitary responsiveness in hypothyroidism. *J Clin Invest* 1986;77:1704-11.

178. Kawamura B, Hosono S. Leg lengthening. *Seikei Geka* 1966;17:872-81.

179. Kawamura B, Honoso S, Takahashi T, Yano T, Kobayashi Y, Shibata N, Shinoda Y. Limb lengthening by means of subcutaneous osteotomy. *J Bone Joint Surg* 1968;50A:851-78.

180. Kawashima K, Iwata S, Endo H. Growth stimulative effect of parathyroid hormone, calcitonin and N6, O2-dibutyryl adenosin 3'5'-cyclic monophosphoric acid on chick embryonic cartilage cultivated in a chemically defined medium. *Endocrinology Jpn* 1980;27:349-56.

181. Kawashima K, Iwata S, Endo H. Selective activation of diaphyseal chondrocytes by parathyroid hormone, calcitonin and N6, O2-dibutyryl adenosin 3'5'-cyclic monophosphoric acid in proteoglycan synthesis of chick embryonic femur cultivated in vitro. *Endocrinology Jpn* 1980;27:357-61.

182. Kaweblum M, Aguilar MC, Blancas E, Kaweblum J, Lehman WB, Grant AD, Strongwater AM. Histological and radiographic determination of the age of physeal closure of the distal femur, proximal tibia, and proximal fibula of the New Zealand white rabbit. *J Orthop Res* 1994;12:747-9.

183. Kember NF. Cell division in endochondral ossification. A study of cell proliferation in rat bones by the method of tritiated thymidine autoradiography. *J Bone Joint Surg* 1960;42B:824-39.

184. Kember NF. Cell population kinetics of bone growth: the first ten years

of autoradiographic studies with tritiated thymidine. Clin Orthop 1971;76:213-30.

185. Kember NF. Comparative patterns of cell division in epiphyseal cartilage in the rat. J Anat 1972;111:137-42.

186. Kember NF. Aspects of the maturation process in growth cartilage in the rat tibia. Clin Orthop 1973;95:228-94.

187. Kember NF. Cell kinetic and the control of growth in long bones. Cell Tissue Kinet 1978;11:477-85.

188. Kenwright J, Bentley G, Morgan JD. Leg lengthening. Acta Orthop Scand 1970;41:454-75.

189. Kenwright J, Spriggins AJ. Effects of distraction on the growth plate of the tibia. An experimental study. En: Recent advances of external fixation. Riva de Garda, Italy 1986;166. (Abstract).

190. Kenwright J, Spriggins AJ. Response of the growth plate to distraction close to skeletal maturity. Is fracture necessary?. Clin Orthop Rel Res 1990;250:61-72.

191. Kenwright J, Apte S. Physeal distraction: review of experimental evidence. What is the response of the cells on the growth plate?. Maphre Medicina 1993;4:73-6.

192. Kershaw CJ, Kenwright J. Epiphyseal distraction for bony bridges: a biomechanical and morphologic study. J Pediatr Orthop 1993;13:46-50.

193. Klagsbrun M, Smith S. Purification of a cartilage derived growth factor. J Biol Chem 1980;255:10859-66.

194. Klaus G, Merke J, Eing H, Hugel V, Milde P, Reichel H, Ritz E, Mehls O. 1,25(OH)₂D₃ receptor regulation and 1,25(OH)₂D₃ effects in primary cultures of growth cartilage cells of the rat. Calcif Tissue Int 1991;49:340-8.

195. Kompf B, Krzykawski R. Lengthening of long bones by the method of slow lysis of the epiphysis. Preliminary report. Chir Narzadow Ruchu Ortop Pol 1989;54:318-22. (Abstract)

196. Kowalski W, Zwierzchowski H, Kortysz R. Histologic examination of slow epiphyseal distraction in the femur of rabbits. *Chir Narzadow Ruchu Ortop Pol* 1994;59:435-9. (Abstract).
197. Kronner H. The Kronner device. Memphis. Richards Co, 1978:13.
198. Kuettner KE, Soble LW, Eisenstein R, Yaeger JA. The influence of lysozyme on the appearance of epiphyseal cartilage in organ culture. *Calcif Tissue Res* 1968;2:93-105.
199. Kuettner KE, Guenther HL, Ray RD, Schumacher GF. Lysozyme in preosseous cartilage. *Calcif Tissue Res* 1968;1:298-305.
200. Kuhlman RE, Miller JA. The initial postmortem biochemical changes that occur in epiphyseal plate. *Clin Orthop* 1965;42:191-5.
201. Lacroix P. The organization of bones. Churchill Livingstone. Londres, 1951.
202. Landis WJ, Glimcher MJ. Electron optical and analytical observations of rat growth plate cartilage prepared by ultracryomicrotomy: The failure to detect a mineral phase in matrix vesicles and initial solid phase of calcium phosphate deposited in the extracellular matrix. *J Ultrastruct Res* 1982;78:227-68.
203. Landis WJ, Paine MC, Glimcher MJ. Electron microscopic observations of bone tissue prepared anhydrously in organic solvents. *J Ultrastruct Res* 1977;59:1-30.
204. Laron Z, Pertzalan A, Karp M, Kowadlo-Silbergeld A, Daughaday WH. Administration of growth hormone to patients with familial dwarfism with high plasma immunoreactive growth hormone: measurement of sulfation factor, metabolic and linear growth responses. *J Clin Endocrinol Metab* 1971;33:332-42.
205. Leach RM, Twal WO. Autocrine, paracrine, and hormonal signals involved in growth plate chondrocyte differentiation. *Poult Sci* 1994;73:883-8.

206. Lebovitz HE, Eisenbarth GS. Hormonal regulation of cartilage growth and metabolism. *Vitam Horm* 1975;33:575-648.
207. Letts RM, Meadows L. Epiphysiolyse as a method of limb lengthening. *Clin Orthop* 1978;133:230-7.
208. Leung DW, Spencer SA, Cachianes G, Hammonds RG, Collins C, Henzel WJ, Barnard R, Waters MJ, Wood WI. Growth hormone receptor and serum binding protein: purification, cloning and expression. *Nature* 1987;330:537-43.
209. Lewinson D, Harel Z, Shenzer P, Silbermann M, Hochberg Z. Effect of thyroid hormone and growth hormone on recovery from hypothyroidism of epiphyseal growth plate cartilage and its adjacent bone. *Endocrinology* 1989;124:937-45.
210. Lindenbaum A, Kuettner KE. Mucopolysaccharides and mucoproteins of calf scapula. *Calcif Tissue Res* 1967;1:153-65.
211. Loveridge N, Noble BS. Control of longitudinal growth: The role of nutrition. *Eur J Clin Nutr* 1994;48:75-84.
212. Martinez JL, Mediero I, Ferrer M, Blanco E, Benito F. Ritmo de distracción epifisaria: estudio experimental. *Rev Ortop Traum* 1992;36:483-7.
213. Masoud I, Shapiro F, Moses A. Tibial epiphyseal development: a cross-sectional histologic and histomorphometric study in the New Zealand white rabbit. *J Orthop Res* 1986;4:212-20.
214. Masoud I, Shapiro F, Kent R, Moses A. A longitudinal study of the growth of the New Zealand white rabbit: cumulative and biweekly incremental growth rates for body length, body weight, femoral length and tibial length. *J Orthop Res* 1986;4:221-31.
215. Matthews JL, Martin JH, Sampson HW, Kunin AS, Roan JH. Mitochondrial granules in the normal and rachitic rat epiphysis. *Calcif Tissue Res* 1970;5:91-9.

216. Melgosa M. Cambios morfológicos y funcionales de los tejidos blandos durante la elongación de las extremidades. Estudio experimental en corderos. (Tesis Doctoral). Pamplona: Univ. de Navarra. 1993.
217. Mendoza JL. Algunas consideraciones y experiencias sobre distracción ósea. El cálculo matemático en la reducción de las fracturas. *Cir Ap Loc* 1950;1:242-64.
218. Mercier P, Ehrlich M, Armstrong A, Mankin HJ. Elaboration of neutral proteoglyconase by growth plate tissue cultures. *J Bone Joint Surg* 1987;69A:76-82.
219. Merle D'Aubigne R, Dubousset J. Surgical correction of large length discrepancies in the lower extremities of children and adults. An analysis of twenty consecutive cases. *J Bone Joint Surg* 1971;53A:411-30.
220. Meyer WL, Kunin AS: Effects of cortisone, starvation, and rickets on oxidative enzyme activities of epiphyseal cartilage from rats. *Arch Biochem Biophys* 1973;156:122-33.
221. Mezhenina ER, Roulla EA, Pechersky AG, Babich VD, Shadrina EL, Mizhevich TV. Methods of limb elongation with congenital inequality in children. *J Pediatr Orthop* 1984;4:201-7.
222. Milgram JW, Jasty M. Osteopetrosis. A morphologic study of twenty-one cases. *J Bone Joint Surg* 1982;64A:912-29.
223. Milgram JW. The origin of osteochondroms and enchondroms. A histopathologic study. *Clin Orthop* 1983;174:264-84.
224. Miralles-Flores C, Delgado-Baeza E. Histomorphometric differences between the lateral region and central region of the growth plate in fifteen day olds rats. *Acta Anat* 1990;139:209-13.
225. Miralles C, Delgado E. Histomorphometric analysis of the epiphyseal growth plate in rats after prenatal alcohol exposure. *J Orthop Res* 1992;10:325-36.
226. Monticelli G, Spinelli R. Allongement des membres par distraction

- épiphysaire. Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot 1981;67:215-20.
227. Monticelli G, Spinelli R. Limb lengthening by epiphyseal distraction. Int Orthop 1981;5:85-90.
228. Monticelli G, Spinelli R. Distraction epiphysiolysis as a method of limb lengthening. I Experimental study. Clin Orthop 1981;154:254-61.
229. Monticelli G, Spinelli R, Bonucci E. Distraction epiphysiolysis as a method of limb lengthening. II Morphologic investigations. Clin Orthop 1981;154:262-73.
230. Monticelli G, Spinelli R. Distraction epiphysiolysis as a method of limb lengthening. III Clinical applications. Clin Orthop 1981;154:274-85.
231. Monticelli G, Spinelli R. Allungamento degli arti mediante corticotomia a cielo chiuso. Ital J Orthop Traumatol 1983;9:139-50.
232. Morcher E. Etiology and pathogenesis in leg length discrepancies. Progr Orthop Surg J 1952;104:308-12.
233. Morgan JD. Blood supply of the growing rabbit's tibia. J Bone Joint Surg 1959;41B:185-203.
234. Morris DC, Vaananen HK, Anderson HC. Matrix vesicle calcification in rat epiphyseal growth plate cartilage prepared anhydrously for electron microscopy. Metabol Bone Dis Relat Res 1983-84;5:131-7.
235. Moseley CF. Leg length discrepancy. Pediatr Clin North Am 1986;33:1385-94.
236. Moseley CF. Leg lengthening. A review of 30 years. Clin Orthop 1989;247:38-43.
237. Moseley CF. Leg lengthening: The historial perspective. Orthop Clin North Am 1991;22:555-61.
238. Moseley CF. Normal growth and patterns of growth. Mapfre Medicina 1993;4:6-7.
239. Murota SI, Kawashima H, Endo H. Effect of hormones on the chondroitin sulfated metabolism of chick embryo femora growing in vitro 2.

Differential effect of cortisol on chondroitin sulfate synthesis in the cartilagenous bones growing in various natural and synthetic media. *Endocrinol Jpn* 1969;16:190-4.

240. Nakamura K, Nagano A, Tobimatsu H, Korokawa T. Tibial lengthening by epiphyseal distraction. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi* 1988;62:37-41. (Abstract).

241. Nakamura K, Matsushita T, Okazaki H, Nagano A, Kurokawa T. Attempts limb lengthening by physeal distraction. *Clin Orthop* 1991;267:306-11.

242. Nilsson A, Isgaard J, Lindahl A, Dahlstrom A, Skottner A, Isaksson OG. Regulation by growth hormone of number of chondrocytes containing IGF-I in rat growth plate. *Science* 1986;233:571-4.

243. Nilsson A, Carlsson B, Mathews L, Isaksson OGP. Growth hormone regulation of the growth hormone receptor rRNA in cultured rat epiphyseal chondrocytes. *Mol Cell Endocrinol* 1990;70:237-46.

244. Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson OGP, Lindahl A, Isgaard J. Hormonal regulation of longitudinal bone growth. *Eur J Clin Nutr* 1994;48:150-60.

245. Noble J, Sledge CB, Walker PS, Diamond R, Stirratt CR, Sosman JL. Limb lengthening by epiphyseal distraction. *J Bone Joint Surg* 1978;60B:139-40.

246. Noble J, Diamond R, Stirrat CR, Sledge CB. Breaking force of the rabbit growth plate and its application to epiphyseal distraction. *Acta Orthop Scand* 1982;53:13-6.

247. Ohlsson C, Isgaard J, Törnell J, Nilsson A, Isaksson OGP, Lindahl A. Endocrine regulation of longitudinal bone growth. *Acta Paediatr* 1993;391(suppl):33-40.

248. Paley D. Current techniques of limb lengthening. *J Pediatr Orthop* 1988;8:73-92.

249. Paley D. Problems, obstacles and complications of limb lengthening

- by the Ilizarov technique. *Clin Orthop* 1990;250:81-104.
250. Paterson JM, Waller CS, Catterall A. Lower limb lengthening by a modified Wagner technique. *J Pediatr Orthop* 1989;9:129-33.
251. Pawelek JM. Effects of thyroxine and low oxygen tension on chondrogenic expression in cell culture. *Dev Biol* 1969;19:52-72.
252. Peinado A. Trasplantes de cartílago de crecimiento. Estudio experimental. (Tesis Doctoral) Pamplona: Universidad de Navarra. 1975.
253. Peltonen J, Alitalo I, Karaharju EO, Heliö H. Distraction of the growth plate: experiments in pigs and sheep. *Acta Orthop Scand* 1984;55:359-62.
254. Peltonen J, Karaharju EO, Alitalo I. Experimental epiphyseal distraction producing and correcting angular deformities. *J Bone Joint Surg* 1984;66B:598-602.
255. Peltonen J, Aalto K, Karaharju E, Alitalo I, Gronblad M. Experimental epiphyseal separation by torsional force. *J Pediatr Orthop* 1984;4:546-9.
256. Peltonen J, Karaharju E, Aalto K, Alitalo I, Hietaniemi K. Leg lengthening by osteotomy and gradual distraction: an experimental study. *J Pediatr Orthop* 1988;8:509-12.
257. Peltonen J, Kahri A, Karaharju E, Alitalo I. Regeneration after physeal distraction of the radius in sheep. *Acta Orthop Scand* 1988;59:675-80.
258. Peltonen J. Bone formation and remodelling after symmetric and asymmetric physeal distraction. *J Pediatr Orthop* 1989;9:191-6.
259. Peterson HA. Alargamiento femoral mediante aparatos de fijación-distracción intramedulares. De Pablos J, Cañadell J eds. *Elongación ósea. Estado actual y controversias*. Pamplona: Servicios de Publicaciones Universidad de Navarra 1990:33-45.
260. Phillips LS, Herington AC, Daughaday WH. Steroid hormone effects on somatomedin I. Somatomedin action in vitro. *Endocrinology* 1975;97:780-6.

261. Pines M, Hurwitz S. The role of the growth plate in longitudinal bone growth. *Poult Sci* 1991;70:1806-14.
262. Pita JC, Howell DS, Kuettner K. Evidence for a role of lysozyme in endochondral calcification during healing in rickets. En: Slavkin HC, Greulich RC, editors. *Extracellular matrix influences on gene expression*. New York: Academic Press 1975;721-6.
263. Poole AR, Pidoux I, Reiner A et al. Association of an extracellular protein (chondrocalcin) with the calcification of cartilage in endochondral bone formation. *J Cell Biol* 1984;98:54-65.
264. Posner AS. Crystal Chemistry of bone mineral. *Physiol Rev* 1969;49:760-92.
265. Pouliquen JC, Gorodischer S, Verneret C, Richard L. Femoral lengthening in children and adolescents. Comparative study of a series of 82 cases. *Rev Chir Orthop* 1989;75:239-51.
266. Price JS, Oyajobi BO, Russell RGG. The cell biology of bone growth. *Eur J Clin Nutr* 1994;48:131-49.
267. Pritchard JJ. A cytological and histochemical study of bone and cartilage formation in the rat. *J Anat* 1952;8:259-77.
268. Putti V. The operative lengthening of the femur 1921. *Clin Orthop* 1990;250:4-7.
269. Rang M. *The growth plate and its disorders*. Baltimore, Williams & Wilkins Co 1969:5,32,78,94.
270. Ray RD, Asling CW, Walker DG, Simpson ME, Li CH, Evans HB. Growth and differentiation of the skeleton in thyroidectomized hypophysectomized rats treated with thyroxine, growth hormone and the combination. *J Bone Joint Surg* 1954;36A:94-103.
271. Ren SG, Huang Z, Sweet DE, Malozowski S, Cassorla F. Biphasic response of rat tibial growth to thyroxine administration. *Acta Endocrinol* 1990;122:336-40.

272. Ricciardi L. Epifisiolisi distrazionale monocompartimentale. *Ita J Orthop Traumatol* 1984;10:57-60.
273. Rigal WM. The use of tritiated thymidine in studies of chondrogenesis. En: La Croix P, Budy AM, editors. *Radioisotopes and bone*. Oxford: Blackwell Scientific Publications 1962;197-225.
274. Ring PA. Experimental bone lengthening by epiphyseal distraction. *Br J Surg* 1958;49:169-73.
275. Robertson WW. Newest knowledge of the growth plate. *Clin Orthop* 1990;253:270-8.
276. Rosner IA, Manni A, Malelland CJ, Boja B, Moskowitz RW. Estradiol receptors in articular chondrocytes. *Biochim Biophys Res Commun* 1982;106:1378-82.
277. Salomon WD, Daughaday WH. A hormonally controlled serum factor with stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. *J Lab Clin Med* 1957;49:825-36.
278. Salter RB, Harris WR. Injuries involving the epiphyseal plate. *J Bone Joint Surg* 1963;45A:587-622.
279. Salter RB. Injuries of the epiphyseal plate. *Instr Course Lect* 1992;41:351-9.
280. Schenk RK, Wiener J, Spiro D. Fine structural aspects of vascular invasion of the tibial epiphyseal plate of growing rats. *Acta Anat* 1968;69:1-17.
281. Schmidt A, Rodergerdts V, Buddecke E. Correlation of lysozyme activity with proteoglycan biosynthesis in epiphyseal cartilage. *Calcif Tissue Res* 1978:163-72.
282. Schollner D. New possibilities in the surgical lengthening of the femur. *Z Orthop Ihre Grenzgel* 1972;110:971-4.
283. Schuind F, Cooney WP, Burny F, Kai-nan AN. Small external fixation devices for the hand and wrist. *Clin Orthop Rel Res* 1993;293:77-82.

284. Schwarz Z, Brooks B, Swain L, Del Tro F, Norman A, Boyan B. Production of 1,25 dihydroxyvitamin D3 and 24,25 dihydroxyvitamin D3 by growth zone chondrocytes is dependent on cell maturation and is regulated by hormones and growth factors. *Endocrinology* 1992;130:2495-504.
285. Seinsheimer F, Sledge CB. Parameters of longitudinal growth rate in rabbit epiphyseal growth plates. *J Bone Joint Surg* 1981;63A:627-30.
286. Sendino M, Manuzi MA, Jorge P, Gomez L, Lopez A. Nuevo fijador externo en cirugía experimental. *Rev Ortop Traum* 1989;33:551-4.
287. Shapiro F, Holtrop ME, Glimcher MJ. Organization and cellular biology of the perichondrial ossification groove of Ranvier. *J Bone Joint Surg* 1977;59A:703-23.
288. Shepard N, Mitchell N. Ultrastructural modifications of proteoglycans coincident with mineralization in local regions of rat growth plate. *J Bone Joint Surg* 1985;67A:455-64.
289. Silberberg R. Skeletal growth and ageing. *Acta Rheumatol* 1971;26:1-56.
290. Silberman FS, Sola CK, Cabrini RL. A study of the vascular distribution after periosteal stripping of the long bones. *Surg Gynecol Obstet* 1967;125:1311-5.
291. Silberman M, Kedar T. Quantitative changes in the cellular population in the growth plate of triamcinolone-treated mice. *Acta Anat* 1977;98:396-400.
292. Silbermann M, Mirsky N, von der Mark K, Bernheim J. Structural and histochemical study of the effect of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on long bone growth center in suckling mice. *Acta Anat* 1985;124:93-103.
293. Sledge CB. Growth hormone and articular cartilage. *Fed Proc Fed Am Soc Exp Biol* 1973;32:1503-5.
294. Sledge CB, Noble J. Experimental limb lengthening by epiphyseal

- distraction. Clin Orthop 1978;136:111-9.
295. Spriggins AJ, Bader DL, Cunningham JL, Kenwright J. Distraction physiolyis in the rabbit. Acta Ortop Scand 1989;60:154-8.
296. Stambough JL, Brighton CT, Iannotti JP, Storey BT. Characterization of growth plate mitochondria. J Orthop Res 1984;2:235-46.
297. Stambough JE, Brighton CT. Diffusion in the various zones of the normal and the rachitic growth plates. J Bone Joint Surg 1984;66A:817-36.
298. Stanescu V, Stanescu R, Maroteaux P. Pathogenic mechanisms in osteochondrocysplasias. J Bone Joint Surg 1984;66A,817-36.
299. Startseva IA, Gorbunova ZI. Effect of distraction epiphyseolysis on the growth of lengthening bone. Ortop Travmatol Protez 1982;6:36-41.
300. Steen H, Fjeld TO, Ronningen H, Langeland N, Gjerdet NR, Bjerkreim I. Limb lengthening by epiphyseal distraction. An experimental study in the caprine femur. J orthop Res 1987;5:592-9.
301. Stevenson S, Hunziker EB, Herrmann W, Schenk RK. Is longitudinal bone growth influenced by diurnal variation in the mitotic activity of chondrocytes of the growth plate. J Orthop Res 1990;8:132-5.
302. Suda S, Takahashi N, Shinki T, Horiuchi N, Yamaguchi A, Yoshiki S, Enomoto S, Suda T. 1 alpha,25 dihydroxyvitamin D3 receptors and their action in embryonic chick chondrocytes. Calcif Tissue Int 1985;37:82-90.
303. Sutfin KV, Holtrop ME, Ogilvie RE. Microanalysis of individual mitochondrial granules with diameters less than 1000 amgstroms. Science 1971;174:947-9.
304. Tang GM. Limb lengthening by way of slow distraction of the epiphysis. An experimental study. Chung Hua Wai Ko Tsa Chih 1989;27:177-9, 190. (Abstract).
305. Tapp E. The effects of hormones on bone in growing rats. J Bone Joint Surg 1966;48B:526-31.
306. Tarsoly E. Effect of testosterone administration on the epiphyseal

- cartilage of hypophysectomized rats. *Acta Histochem* 1976;5:176-86.
307. Téot J, Gilbert A, Katz D, Pons JG, Carlioz H, Bonnel F. Vascularisation épiphysaire pendant la croissance. Étude préliminaire à la transplantation. *Rev Chir Orthop* 1982; 68:357-64.
308. Thorngren KG, Hansson LI. Effect of thyroxine and growth hormone on longitudinal bone growth in the hypophysectomized rat. *Acta Endocrinol* 1973;74:24-40.
309. Tonna EA. The cellular complement of the skeletal system studied autoradiographically with tritiated thymidine (H3TDR) during growth aging. *J Biophys Biochem Cytol* 1961;9:813-24.
310. Trueta J. The normal vascular anatomy of the human femoral head during growth. *J Bone Joint Surg* 1957;39B:358.
311. Trueta J. La vascularisation de l'os et l'ostéogénèse. *Rev Chir Orthop* 1958;44:3-23.
312. Trueta J, Morgan JD. The vascular contribution to osteogenesis. I. Studies by the injection method. *J Bone Joint Surg* 1960;42B:97-109.
313. Trueta J, Little K. The vascular contribution to osteogenesis. II. Studies with the electron microscope. *J Bone Joint Surg* 1960;42B:367.
314. Trueta J, Amato VP. The vascular contribution to osteogenesis. III changes in the growth cartilage caused by experimentally induced ischaemia. *J Bone Joint Surg* 1960;42B:571-87.
315. Trueta J. Importancia de la circulación en la osteogénesis. *Soc Esp Ortop Actas* 1969;15:93-106.
316. Trueta J. Bone growth. *Mod Trends Orthop* 1972;5:196-218.
317. Uthne K, Uthne T. Influence of liver resection and regeneration of somatomedin (sulphation factor) activity in sera from normal and hypophysectomized rats. *Acta Endocrinol* 1972;71:255-64.
318. Van Buul S, Van den Brande JL. The snell-dwarf mouse. II. Sulfate and thymidine incorporation in costal cartilage and somatomedin levels

before and during growth hormone and thyroxine therapy. *Acta Endocrinol* 1978;89:646-58.

319. Van Roermund PM, Ter Haar Romeny BM, Schoonderwoert GJ, Brandt CJ, Sijbrandij S, Rennoij W. The use of computed tomography to quantitate bone formation after distraction epiphysiolysis in the rabbit. *Skeletal Radiol* 1987;16:52-6.

320. Van Roermund PM, Hoekstra A, Ter Haar Romeny BM, Rennoij W. Bone healing during lower limb lengthening by distraction epiphysiolysis. *J Nucl Med* 1988;29:1259-63.

321. Van Roermund PM, Hoekstra A, Visser WJ, Rennoij W. Effect of direct current stimulation on bone growth afther distraction epiphysiolysis of the rabbit tibia. *J Orthop Res* 1990;8:769-75.

322. Van Roermund PM, Ter Haar Romeny BM, Hoekstra A, Schoonderwoert GJ, Brant CJ, Van Der Steen SP, et al. Bone growth remodeling after distraction epiphysiolysis of the proximal tibia of the rabbit. Effect of electromagnetic stimulation. *Clin Orthop* 1991;266:304-12.

323. Van Roermund PM, Wijlens RA, Rennoij W. Continuous monitoring of forces during tibial lengthening by distraction epiphysiolysis. *Acta Orthop Belg* 1992;58:63-8.

324. Vikman K, Carlsson B, Billig H, Edén S. Expression and regulation of growth hormone (GH) receptor messenger ribonucleic acid (mRNA) in rat adipose tissue, adipocytes, and adipocyte precursor cells: Regulation of GH receptor mRNA. *Endocrinology* 1991;129:1155-61.

325. Wagner H. Surgical leg prolongation. *Chirurg* 1971;42:260-6. (Abstract).

326. Wagner H. Operative lengthening of the femur. *Clin Orthop* 1978;136:125-42.

327. Wasserstein I. Distraction-compression method of elongation of the lower extremity with use of bone tubular homograft. *Ortop Travmatol Protez*

1968;29:44-9.

328. Wasserstein I, Schewior TH. L'allongement des membres inférieurs par épiphysiolyse au moyen d'un fixateur externe. *Méd et Hyg* 1983;41:1629-34.

329. Wilson-MacDonald J, Houghton GR, Bradley J, Morscher E. The relationship between periosteal division and compression or distraction of the growth plate: an experimental study in the rabbit. *J Bone Joint Surg* 1990;72B:303-8.

330. William W, Robertson JR. Newest knowledge of the growth plate. *Clin Orthop and Rel Res* 1990;253:270-8.

331. Witt AN, Jager M, Bruns H, Kusswetter W. An implantable femur distractor for operative length lengthening. *Arch Orthop Traumat Surg* 1978;92: 291-6.

332. Wolf M, Ingbar SH, Mose A. Thyroid hormone and growth hormone interact to regulate insulin-like growth factor-I messenger ribonucleic acid and circulating levels in the rat. *Endocrinology* 1989;125:2905-14.

333. Wuthier RE. A zonal analysis of inorganic and organic constituents of the epiphysis during endochondral calcification. *Calcif Tissue Res* 1969;4:20-38.

334. Zavijalov PV, Plaskin JT. Elongation of crural bones in children using a method of distraction epiphysiolysis. *Vesth Khir Grekova* 1967;103:67-82.

335. Zavijalov PV, Plaskin JT. Distraction epiphysiolysis in lengthening of the lower extremity in children. *Khirurgija* 1968;44:121-37.