

DEPARTAMENT DE CIÈNCIES CLÍNiques  
CAMPUS DE BELLVITGE  
FACULTAT DE MEDICINA  
UNIVERSITAT DE BARCELONA

***ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA CICATRIZACIÓN EN  
LA ARTROPLASTIA DE RESECCIÓN DE LA CADERA.***

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR EN MEDICINA Y  
CIRUGÍA.

DOCTORANDO: J.L. AGULLÓ FERRE.

DIRECTORES: A. FERNÁNDEZ SABATÉ y X. CABO CABO.  
Profesores del departamento de ciencias clínicas de la  
Universidad de Barcelona.

Barcelona. Septiembre 2007

MATERIAL Y MÉTODO.



## **4. MATERIAL Y MÉTODO**

### **4.1. MODELO EXPERIMENTAL**

El presente estudio experimental fue presentado y aprobado por el CEEA (Comité de Ética en Experimentación Animal) de la Universidad de Barcelona (ley 5/1995 con posterior modificación en el Decreto 214/1997 del departamento de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Generalitat de Cataluña) que está relacionado con la FELASA (Federation European of Laboratory Animal Sciences Associations).

Se trata de un trabajo de investigación de tipo experimental, longitudinal y prospectivo, teniéndose en cuenta los tres principios básicos que Hinkelmann y Kempthorne establecieron para mejorar la validez del análisis estadístico e incrementar la sensibilidad del experimento<sup>223</sup>.

#### **4.1.1. ANIMAL DE EXPERIMENTACIÓN**

En todos los casos se utiliza el conejo albino de Nueva Zelanda, del sexo macho, con edad comprendida entre los 4 y los 5 meses (el final de la vida de crecimiento) y peso entre 3,5 y 4,5 Kg.

La utilización del conejo (lagomorfo) como animal de experimentación en estudios del aparato locomotor es muy frecuente<sup>224</sup>, dado que el tamaño del animal es adecuado para realizar intervenciones quirúrgicas y administración sistémica de fármacos, el coste de estabulación es moderado y el proceso de cicatrización (aceptando las diferencias entre las diferentes especies) sigue los principios básicos del ser humano<sup>225,226</sup>.

#### 4.1.2. MACROAMBIENTE

Los animales están ubicados en el estabulario de la *Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge* de la Universidad de Barcelona (figura 17) y en las siguientes condiciones:

**Jaulas** individuales de suelo perforado con espacio sólido donde apoyarse (específicas para el conejo).

**Temperatura:** entre 15° y 21°C.

Humedad Relativa: 50-60.

Ciclo **Luz / Oscuridad:** 12/12 (blanca artificial).

**Comida racionada** para evitar la obesidad, con un contenido en fibra entre el 10-20%, 1.25% de calcio y 0.65% de fósforo, con un complemento de heno para prevenir trastornos intestinales por ingesta de bolas de pelo.

Acceso *AD LIBITUM* a **agua** potable no contaminada.



Figura 17: conejo albino de Nueva Zelanda (*Oryctolagus cuniculus*) estabulado en la jaula.

### 4.1.3. MANIPULACIÓN DE LOS ANIMALES

**Anestesia:** *Ketamina* (35mg /Kg.) y *Xilacina* (5mg/Kg.) por vía intramuscular.

**Analgesia:** *Buprex* (0.05mg/Kg.)/ 12h durante primeras 48h. Primera dosis intraoperatoria. *Meloxicam* (0.3ml /24h) vía Subcutánea durante 1 semana.

**Antibióterapia:** *Penicilina/Estreptomina* 1ml/conejo/48h por vía intramuscular durante 10 días a partir del postoperatorio inmediato como profilaxis.

### 4.1.4. CONTROL CLÍNICO POSTOPERATORIO

SEGÚN LA ESCALA DE GRAVEDAD DEL SISTEMA HOLANDÉS: Se trata de un estudio de gravedad intermedia<sup>227</sup>.

Debido al tipo de intervención quirúrgica, que priva al animal de la anatomía unilateral de la cadera y aparte del problema álgico que ya se trata médicamente, el conejo no podrá deambular correctamente. Además pueden existir problemas en la herida quirúrgica (infección, déficit de cicatrización...)

Es por eso que se crea un protocolo de supervisión y se establece un **criterio de punto final**: si en algún momento se alcanzase la puntuación indicada se procedería al sacrificio inmediato del animal.

Todos los animales son revisados físicamente cada día y pesados cada tres.

Si la puntuación obtenida en el protocolo de supervisión supera los 12 puntos se establecerá el criterio de punto final y el animal será sacrificado.

	Frecuencia	Puntuación
Peso	72h	Perdidas del 10%= <b>1</b> ; 20%= <b>2</b> ; > 20%= <b>3</b>
Secreciones	24h	0-1-2-3
Pelaje	24h	0-1-2-3
Automutilación	24h	6 puntos
Herida quirúrgica	24h	Bien <b>0</b> ; inflamada <b>1</b> , supuración <b>2</b> .
Chillidos	24h	0-1-2
Postura de ocultación	24h	0-1-2

Tabla 2: *protocolo de supervisión*, con los parámetros utilizados y la frecuencia de realización, así como la puntuación. El criterio de punto final se estableció para una puntuación mayor a 12.

#### **4.1.5. SACRIFICIO DE LOS ANIMALES**

La eutanasia se hace mediante sobredosis de *pentobarbital sódico* vía intravenosa (100 mg. / Kg. peso). Este fármaco se disuelve en concentraciones menores al 5%, pues de lo contrario precipita y requeriría alcalinizar más el medio, siendo más irritante y doloroso para el animal. Para reducir las molestias de la venopunción en la vena auricular marginal, se aplica crema de lidocaina al 25% de forma tópica. Las muestras para el estudio de tensión y para el estudio histológico, así como para el radiográfico, se tomarán una vez se haya sacrificado al animal.

#### 4.1.6. GRUPOS DE TRABAJO

Se han intervenido 48 conejos, divididos en 4 grupos de 12 animales, en función de la intervención realizada y el tiempo de estabulación antes del sacrificio. El cálculo del tamaño de la muestra se explica en el apartado 4.4.1.

	<b>CTI</b> - Coaptación Trocantereoilíaca	<b>G</b> - Girdlestone
<b>6</b> semanas	12n	12n
<b>12</b> semanas	12n	12n

Tabla 3: tabla resumen de los grupos de trabajo.

Los grupos son nombrados con el número de semanas estabulados y la intervención realizada:

**Grupo - 6-CTI:** 12 conejos intervenidos con la técnica de coaptación trocantereoilíaca y sacrificados a las **6** semanas.

**Grupo - 12-CTI:** 12 conejos intervenidos con la técnica de coaptación trocantereoilíaca y sacrificados a las **12** semanas.

**Grupo - 6-G:** 12 conejos intervenidos con la técnica de resección artroplastia sin coaptación y sacrificados a las **6** semanas.

**Grupo - 12-G:** 12 conejos intervenidos con la técnica de resección artroplastia sin coaptación y sacrificados a las **12** semanas.

**Grupo Control:** utilizamos 12 cápsulas articulares no operadas que se obtiene de la cadera contralateral (izquierda) de 12 animales intervenidos escogidos al azar (3 de cada grupo) y que sirven como referencia de normalidad tanto en el estudio de tracción como en el histológico.

Dado que la muestra no es excesivamente grande, para nombrar a los conejos individualmente hemos preferido asignar la



intervención realizada seguida de un número del 1 al 24, teniendo en cuenta que los 12 primeros (del 1 al 12) son los sacrificados a las 6 semanas y los otros 12 (del 13 al 24) a las 12 semanas (figura 18). De este modo tenemos a cada animal asignado de la siguiente manera:

**G1,G2,G3,G4,G5,G6,G7,G8,G9,G10,G11,G12:** son los conejos intervenidos con la técnica de resección artroplastia sin coaptación y sacrificados a las **6** semanas.

**G13,G14,G15,G16,G17,G18,G19,G20,G21,G22,G23,G24:** conejos intervenidos con la técnica de resección artroplastia sin coaptación y sacrificados a las **12** semanas.

**CTI1, CTI2, CTI3, CTI4, CTI5, CTI6, CTI7, CTI8, CTI9, CTI10, CTI11, CTI12:** conejos intervenidos con la técnica de coaptación trocantereoilíaca y sacrificados a las **6** semanas.

**CTI13, CTI14, CTI15, CTI16, CTI17, CTI18, CTI19, CTI20, CTI21, CTI22, CTI23, CTI24:** conejos intervenidos con la técnica de coaptación trocantereoilíaca y sacrificados a las **12** semanas.



Figura 18: Los animales son identificados mediante una ficha colocada en la puerta de la jaula. En la ficha se anota: fecha, tipo de IQ, puntuación en la escala de gravedad del sistema holandés. Medicación administrada.

## **4.2 CIRUGÍA EXPERIMENTAL**

Siguiendo la normativa vigente, los animales llegan al estabulario como mínimo una semana antes de la intervención quirúrgica. Durante este periodo de tiempo permanecen en cuarentena.

Se estudia la cicatrización en la artroplastia de resección de cadera, comparando la técnica clásica de Girdlestone (G) y la técnica de coaptación trocantereoilíaca (CTI), valorando en ambas técnicas las resistencias mecánicas, las diferencias hísticas y las diferencias radiográficas.

También nos proponemos ver si existe alguna diferencia en el tiempo, es decir, si hay cambios evidentes entre la sexta y la duodécima semana (tiempo en que son sacrificados los animales para la toma de muestras).

### **4.2.1. TÉCNICA QUIRÚRGICA**

Se realiza en condiciones de máxima esterilidad, en el quirófano del estabulario (figura 19).

Las intervenciones son UNILATERALES (cadera derecha) para cada animal, y se realizan de forma aleatoria (G-CTI-G-CTI-G-CTI...)

El material quirúrgico utilizado es el básico, y consta de: bisturí frío, pinzas, tijeras de disección, porta, separadores manuales y autoestáticos, gubia, cuchara y periostotomo, todos ellos acordes con el tamaño de la articulación que abordamos y esterilizados en autoclave.

#### **4.2.1.1. LA ANESTESIA**

La anestesia de los animales se realiza con *Ketamina* (35mg /Kg.) y *Xilacina* (5mg/Kg.) por vía intramuscular. (Ketolar® y Rompun® respectivamente)

Con estas dosis se consigue una buena relajación del animal al cabo de unos 15 minutos. El efecto dura aproximadamente 60 minutos<sup>228</sup>.

Durante el acto quirúrgico se administra oxígeno con una mascarilla (para prolongar el efecto sedante), a la vez que se mantiene una vía venosa permeable localizada en la oreja que permite el mantenimiento de un aporte de fluidos durante la anestesia del orden de 10 ml/Kg/h de una solución de suero salino al 0,9%. Este aporte de líquido también permite contrarrestar parcialmente la depresión cardiovascular provocada por los anestésicos. Además brinda la posibilidad de administrar fármacos por esta vía si fuese necesario).

#### **4.2.1.2. PREPARACIÓN DE LA ZONA QUIRÚRGICA**

Se coloca el animal sobre una mesa quirúrgica en decúbito lateral. Se rasura la zona a intervenir con máquina eléctrica, se pinta con una solución de alcohol yodado y se procede al aislamiento estéril del campo quirúrgico.

#### **4.2.1.3 INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA**

Como hemos mencionado anteriormente, la intervención quirúrgica se realiza con material estéril y en la sala de quirófano del estabulario.

##### **4.2.1.3.1. INTERVENCIÓN DE GIRDLESTONE.**

Se aborda la articulación de la cadera por vía anterolateral<sup>229</sup>. Se realiza una incisión cutánea longitudinal de unos 3 cm. de longitud (un cm. por encima del trocánter mayor y dos por debajo del trocánter menor). Se incide sobre la fascia lateral y se realiza una disección roma entre el músculo glúteo superficial, medio y profundo por un lado y el abductor rural por otro lado.

Los músculos dotadores internos son separados con la ayuda de un periostotomo, dejando expuesta la cápsula articular. Seguidamente se realiza la capsulotomía y la luxación de la cabeza femoral. Procedemos a realizar la resección de la cabeza y del cuello femoral a nivel de la línea intertrocantérica y la cruentación de la cavidad cotiloidea. Finalmente realizamos el cierre de la herida por planos con Dexon® 3-0 (obviando el cierre de la cápsula, intencionadamente, para que no distorsione el resultado de la futura cicatriz). Para la piel se utiliza una sutura intradérmica reabsorbible (Dexon® 3-0).

#### **4.2.1.3.2. COAPTACIÓN TROCANTEROILÍACA.**

Sigue los pasos que referimos:

Abordaje de la articulación de la cadera por vía anterolateral (igual que en el anterior), capsulotomía, luxación de la cabeza femoral, resección de la cabeza y del cuello femoral a nivel de la línea intertrocantérica, cruentación de la cavidad cotiloidea e introducción del muñón femoral en el acetábulo; fijación del fémur al ilíaco, mediante un cerclaje (Ethibond® de 1.) entre el trocánter mayor y la región supra-acetabular; Cierre por planos del mismo modo que se ha descrito para la intervención de Girdlestone.

#### **4.2.1.4. CUIDADOS POSTOPERATORIOS**

No se utiliza ningún medio de inmovilización postoperatoria de la extremidad. La herida se cubre con un apósito y el animal se coloca en la jaula inmediatamente después de la intervención. Se identifica la jaula con una *ficha* en la que se anota: el número de conejo, la fecha y el tipo de intervención, puntuación del protocolo de supervisión para valorar el *criterio de punto final*, medicación y el día previsto de sacrificio.

La analgesia se realiza con *Buprex* (0.05mg/Kg.) / 12h durante las primeras 48h. (Primera dosis intraoperatoria) y *Meloxicam* (0.3ml /24h) vía Subcutánea durante 1 semana.

También se administra antibioterapia como profilaxis con *Penicilina/Estreptomina* (1ml/conejo/48h) por vía intramuscular durante 10 días a partir del postoperatorio inmediato.

#### **4.2.1.5. LA EUTANASIA DE LOS ANIMALES**

El sacrificio de los animales se realiza mediante la administración de una sobredosis de *pentobarbital sódico* vía intravenosa (100 mg/Kg). Los barbitúricos son los eutanásicos más empleados porque producen la muerte sin sufrimiento, siendo además baratos. Producen la muerte en pocos segundos por depresión del SNC y de los sistemas cardiovascular y respiratorio.

#### **4.2.1.6. RECOGIDA DE LAS MUESTRAS**

Una vez sacrificado el animal, se reinterviene realizando una disección cuidadosa de los tejidos y extrayendo una única pieza que contenga la articulación de la cadera: extracción en bloque del fémur entero y hemipelvis con integridad de la neoarticulación coxofemoral.

Inmediatamente se realiza la radiografía de la pieza extraída.

Seguidamente se procede a la obtención, mediante cortes sagitales, de dos tiras del tejido cicatricial formado en la neoartrodia.

Así conseguimos dos muestras de tejido cicatricial de 1cm de ancho y 1.5 cm. de largo con todo su espesor.

Las muestras son identificadas con el número del conejo al que pertenecen.

Una de las muestras es congelada y guardada a -20°C hasta su utilización en el estudio mecánico<sup>230</sup>.

La otra muestra se coloca con formol tamponado al 10% para su preparación histológica.

#### 4.2.1.7. COMPLICACIONES

No hemos tenido ningún tipo de complicaciones ni intraoperatorias ni postoperatorias, durante el tiempo que los animales han estado en el estabulario hasta su sacrificio.

No hemos tenido infecciones de la herida (figura 20) y tampoco lesiones vasculonerviosas ni muertes.

En ningún caso se ha llegado a una puntuación superior de 12 en el protocolo de supervisión realizado, por lo que nunca hemos tenido que aplicar el *criterio de punto final*.



Figura 19: Sala de quirófano, con el animal anestesiado. Las intervenciones se realizan con la máxima esterilidad posible. En la mesa auxiliar se encuentra el material que se utilizó.



Figura 20: aspecto de la cicatriz a los 9 días de la intervención.

## **4.3. MÉTODOS DE VALORACIÓN**

Para el estudio de la estabilidad de la artroplastia, valoramos las caderas intervenidas mediante método radiográfico. La cicatriz es estudiada mediante prueba de tipo mecánico y de tipo histológico.

### **4.3.1. MÉTODO RADIOGRÁFICO**

Practicamos una radiografía en proyección AP de la cadera operada, la pieza extraída que contiene el hueso iliaco y el fémur con la neoarticulación intacta (figura 21).

En ella se mide la distancia entre fémur e ilíaco a partir de dos líneas: entre la línea intertrocantérica de corte y la línea del reborde acetabular.

Para dar tensión a la cicatriz y poder valorar la distancia máxima de separación entre las dos superficies cruentadas, sometemos a la cicatriz a una tensión de 1Kg de peso, fijando por un extremo el hueso ilíaco a un punto fijo y por otro lado colocando un peso de 1Kg a la porción distal del fémur.

Para mejorar la calidad de la imagen, las radiografías se realizan con placas de grano fino. Hemos utilizado unas características de 45KV, 5 mAs y 1 metro de distancia foco-placa. La imagen radiográfica se digitaliza.



Figura 21: pieza extraída en bloque con el hueso iliaco y el fémur y la neoarticulación intacta. La pieza es llevada inmediatamente después de ser obtenida para la realización de la radiografía. Seguidamente se extraen dos tiras de tejido cicatricial, una para el estudio biomecánico y otra para el histológico.

### 4.3.2. MÉTODO MECÁNICO

Después de realizar la radiografía se obtienen dos tiras de tejido cicatricial de la neoarticulación de 1x1,5 cm. Una de estas muestras se congela a una temperatura de  $-20^{\circ}$  y se mantiene así hasta ser sometida a la prueba de tracción. Justo antes de hacer el estudio de fuerza de resistencia a la rotura, la muestra se sumerge en una solución de suero salino a  $37^{\circ}\text{C}$  hasta obtener la descongelación completa

Cuantificamos la resistencia de la cicatriz mediante tracción progresiva hasta la rotura de la misma.

Se utiliza una máquina de ensayos de tracción-compresión *Adamel Lomargy*<sup>®</sup> modelo *DY34*, equipada con una célula de carga de 10KN. El equipo se controla por medio de la conexión a un PC equipado con un paquete de software *Autotrac*<sup>®</sup>.

Los ensayos se realizan a una temperatura de  $24^{\circ}\text{C}$  y se impone una velocidad de deformación de 2mm/min.

Este estudio mecánico se ha realizado en el Centre de Recerca en Enginyeria Biomèdica (CREB) de la Universitat Politècnica de Catalunya (figura 22).



Figura 22: máquina de ensayos de tracción-compresión *Adamel Lomargy*<sup>®</sup> modelo *DY34*, equipada con una célula de carga de 10KN y conectada a un PC con software *Autotrac*<sup>®</sup>.



### 4.3.3. MÉTODO HISTOLÓGICO

Como hemos mencionado anteriormente, después de realizar la radiografía se obtienen dos tiras de tejido cicatricial de la neoarticulación de 1x1,5 cm. Una de estas muestras es congelada para el estudio de resistencia mecánica y la otra muestra es utilizada para el estudio histológico (figura 23).

Los extremos de la tira se fijan mediante dos puntos a los extremos de un rectángulo de plástico rígido, evitando de esta forma retracciones que distorsionen la preparación histológica.

Las muestras se mantienen en una solución de formol al 10% tamponado durante 4 días, para que mantengan la forma y adquieran rigidez.

El estudio histológico se ha realizado en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Bellvitge.

Por un lado, se ha realizado un estudio descriptivo de la celularidad, características de la matriz extracelular, orientación de las fibras de colágeno, vascularización y hallazgos no esperados. Por otro lado, se ha realizado un estudio histomorfométrico para cuantificar el colágeno, los sinoviocitos y las áreas de metaplasia cartilaginosa en los casos en que ésta ha aparecido.

A continuación describimos las tinciones utilizadas para el estudio descriptivo y posteriormente resaltamos el método utilizado para el estudio histomorfométrico.



Figura 23: las dos tiras de tejido cicatricial obtenidas después de realizar las radiografías. Una se utilizará para el estudio biomecánico y la otra para el estudio histológico.

### **4.3.3.1. TINCIONES**

#### **4.3.3.1.1. HEMATOXILINA EOSINA.**

La hematoxilina, un colorante natural, fue usada por primera vez en 1863. El agente colorante activo, la hemateína, se forma por la oxidación de la hematoxilina.

Utilizamos el método de Harris. Este método tiñe todas las estructuras tisulares, núcleos, citoplasma, tejidos conectivos... y continúa con una descolonización controlada y "azulamiento" hasta llegar a una tinción nuclear óptima.

*Fijación:* Formalina neutra al 10% estabilizada, fijadores de Bouin o de Zenker.

*Secciones:* en parafina de 3 a 20 micrones.

*Soluciones:* Alcohol ácido al 1%, agua amoniacal, solución saturada de carbonato de litio, solución de Eosina-Floxina, Hematoxilina de Harris (5g de hematoxilina, 50 ml de etanol al 100%, 100g de alumbre de potasio o de amonio, 1000 ml de agua destilada y 2,5g de óxido rojo de mercurio).

*Procedimiento:*

Desparafinización e hidratación de las láminas hasta llegar al agua destilada.

Tinción en hematoxilina de Harris.

Lavado en agua corriente.

Diferenciación en alcohol ácido al 1%.

Lavado en agua corriente.

Colocación de las láminas en una solución de agua amoniacal.

Lavado en agua corriente.

Colocación en etanol al 80%.

Contraste en la solución de eosina-floxina.

Deshidratación y aclaramiento con etanol y xileno.

Montaje en medio resinoso.

*Resultados:* núcleos en color azul, citoplasma y la mayoría de otros tejidos de rosado a rojo.

#### **4.3.3.1.2. TRICRÓMICO DE MASSON.**

Las fibras de colágeno constituyen el elemento predominante del tejido conectivo aunque son visibles con la tinción de hematoxilina eosina, la tinción de tricrómico de Masson las resalta con suma facilidad.

*Fijación:* Formalina neutra al 10% estabilizada, fijador de Bouin

*Secciones:* en parafina 6 micrones.

*Soluciones:* fijadora de Bouin, hematoxilina de hierro de Weigert, fucsina ácida y escarlata de Biebrich, ácido fosfomolibdico-fosfotungstico, azul de anilina, ácido acético al 1%.

Procedimiento:

Desparafinización e hidratación de las láminas hasta llegar al agua destilada.

Dejar enfriar durante 10 minutos.

Lavado en agua corriente y enjuague con agua destilada.

Coloración con la solución de hematoxilina de hierro de Weigert durante 10 minutos.

Lavado en agua corriente y enjuague con agua destilada.

Coloración con la solución fucsina ácida-escarlata de Biebrich.

Diferenciación con la solución de ácido fosfomolibdico-fosfotungstico.

Contrastar con la succión azul de anilina.

Deshidratación y aclaramiento con etanol y xileno.

Montaje en medio resinoso.

*Resultados:* Núcleos en color negro, músculo, citoplasma y queratina en rojo y colágeno en azul (o verde).

#### **4.3.3.2. HISTOMORFOMETRÍA**

Todas las medidas histomorfométricas han sido realizadas en la URE (Unitat de Recerca Experimental) del H.U. de Bellvitge.

El equipo de digitalización de imagen que hemos utilizado, acoplado a un microscopio óptico, está compuesto por:

Fotomicroscopio *LEICA LEITZ DMRB*, con cámara de video digital *SPOT CAMERA RT COLOR*.

Ordenador PC compatible con sistema Windows 2000.

Software: *SPOT CAMERA 3.4.5 (DIAGNOSTIC INSTRUMENTS INC)* y el *ANALYSIS* para las mediciones histomorfométricas.

El programa permite la digitalización directa de las imágenes de microscopía y, por tanto, las medidas se realizan directamente sobre el monitor del ordenador.

Hemos realizado las medidas histomorfométricas utilizando la tinción tricrómico de Masson para calcular el área de colágeno y la tinción de Hematoxilina Eosina para cuantificar las áreas de metaplasia cartilaginosa y sinoviocitos.

Antes de iniciar cada sesión de digitalización de imagen, es importante comprobar la correcta calibración del sistema mediante comandos internos del propio software, del mismo modo que cada vez que cambiamos el objetivo (los aumentos) del microscopio hay que recalibrarlo.

Para poder efectuar las medidas, hay que dividir cada muestra de tejido en 6 partes, con el objetivo de poderlas identificar fácilmente en el microscopio. Posteriormente, se digitaliza la imagen de uno de los campos y se obtienen los datos de medida histomorfométrica. Se efectúan todas las medidas de forma independiente en cada una de las 6 partes. Este método permite valorar la totalidad de la muestra.

Así se obtienen todas las mediciones histomorfométricas a partir de las cuales podemos realizar los cálculos estadísticos.

## **4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS**

### **4.4.1. CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA**

Para el cálculo del tamaño muestral, como no existen estudios previos similares a nuestro experimento, hemos realizado previamente un ESTUDIO PILOTO para determinar la *magnitud del efecto de interés biológico*. Intervenimos a cuatro animales (2 con cada técnica) y observamos que la cicatriz es **2 veces más resistente** a las fuerzas tensiles en el grupo de la coaptación trocantereoilíaca. Para romper la cicatriz en el grupo de Girdlestone se precisaron una media de 127 Newton mientras que para romperla en el grupo de la coaptación trocantereoilíaca se necesitaron 261 Newton.

Así pues tomando el experimento con una **RELEVANCIA DE 2** y con una **DESVIACIÓN TÍPICA DE 2.6**, con un **nivel de significación del 5%** y una **potencia del 90%**, se calcula el tamaño muestral con el programa estadístico PC-SIZE. Siendo el resultado:

**$n = 48$**  con una potencia de 89,965.

### **4.4.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS**

Hemos realizado el estudio estadístico analizando cuatro apartados diferenciados:

Los **resultados obtenidos según el tiempo de estabulación** de los animales relacionándolos con el tipo de cirugía a los que han sido sometidos.

b. Los **resultados obtenidos en cada tipo de cirugía** en relación con el tiempo de estabulación. Es decir:

*Estudio de las 6 semanas:* comparamos el **Grupo 6-CTI** (conejos intervenidos con la técnica de coaptación trocanteroilíaca y sacrificados a las 6 semanas) con el **Grupo 6-G** (conejos intervenidos con la técnica de resección artroplastia sin coaptación y sacrificados a las 6 semanas).

*Estudio de las 12 semanas:* comparamos el **Grupo 12-CTI** (conejos intervenidos con la técnica de coaptación trocanteroilíaca y sacrificados a las 12 semanas) con el **Grupo 12-G** (conejos intervenidos con la técnica de resección artroplastia sin coaptación y sacrificados a las 12 semanas).

*Estudio de la coaptación trocanteroilíaca:* comparamos el **Grupo 6-CTI** con el **Grupo 12-CTI**.

*Estudio de la artroplastia de resección sin coaptación (Girdlestone):* comparamos el **Grupo 6-G** con el **Grupo 12-G**.

Esquematizando, los distintos grupos objeto de análisis, quedaría de la siguiente manera:

6 semanas: 6-CTI advs 6-G.

12 semanas: 12-CTI advs 12-G.

CTI: 6-CTI advs 12-CTI.

Girdlestone: 6-G advs 12-G.

Hemos fijado un grado de significación de 0,05, que corresponde a un intervalo de confianza del 95%. Los datos han sido analizados en el programa estadístico informático SPSS.

$P < 0,05$  = hay diferencias.

$P > 0,05$  = no hay diferencias.

#### **4.4.2.2. ANÁLISIS DESCRIPTIVO**

Se han estudiado las siguientes variables:

Variable RX.

Variable fuerza.

Variable colágena.

Variable sinoviocitos.

Variable metaplasia cartilaginosa.

Variable centros de osificación.

Los parámetros analizados han sido: media (mediana en las no paramétricas), desviación estándar, mínimo y máximo.

#### **4.4.2.3. ANALISIS DE LA NORMALIDAD**

Al realizarse el estudio en grupos pequeños ( $n < 30$ ) debemos comprobar (en cada variable estudiada) si los datos provienen de una variable normal para decidir la prueba a realizar. La prueba que comprueba la normalidad de los datos es la de *Kolmogorov-Smirnov*, en la que se considera  $\alpha = 0,05$ . Si el p-valor es mayor que  $\alpha$  se puede considerar que los datos provienen de una distribución normal y utilizaremos pruebas paramétricas. Si por el contrario el p-valor es menor que  $\alpha$  consideramos que esos datos no provienen de una distribución normal por lo que utilizaremos pruebas no paramétricas.

Las pruebas estadísticas utilizadas son:

*U de Mann-Whitney* (prueba no paramétrica para comparar los valores de los grupos).

*T de Student* (prueba paramétrica utilizada cuando los datos provienen de una distribución normal).

*Chi-cuadrado* (para comparar frecuencias independientes).