



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

**Pseudoartrosis. Actualización en su etiología y
tratamiento. Avances biomoleculares**

Nonunions. Update on its etiology and
treatment. Biomolecular advances

Autora: Beatriz Ríos Ruiz

Directoras:

Prfa. Dra. Flor María Pérez Campo

Dra. Ana Alfonso Fernández

Santander, junio 2023

ÍNDICE

RESUMEN/ABSTRACT	5
OBJETIVOS.....	6
METODOLOGÍA.....	6
1 INTRODUCCIÓN	7
1.1 <i>TEJIDO ÓSEO</i>	7
1.1.1 Organización del tejido óseo.....	7
1.1.2 Composición del tejido óseo	8
1.1.3 Remodelado óseo	12
1.2 <i>CONSOLIDACIÓN DE FRACTURAS</i>	13
1.2.1 Fases de la regeneración ósea	13
1.2.2 Consolidación primaria	15
1.2.3 Factores fundamentales en la consolidación de fracturas.....	15
2 PSEUDOARTROSIS	15
2.1 <i>DEFINICIÓN</i>	15
2.2 <i>EPIDEMIOLOGÍA</i>	16
2.3 <i>CLASIFICACIÓN</i>	17
2.4 <i>CLÍNICA</i>	19
3 ETIOLOGÍA.....	19
3.1 <i>CARACTERÍSTICAS DE LA FRACTURA</i>	19
3.1.1 Localización de la fractura	19
3.1.2 Mecanismo de producción.....	19
3.1.3 Tipo de fractura.....	20
3.1.4 Exposición	20
3.1.5 Infección.....	21
3.2 <i>CARACTERÍSTICAS DEL PACIENTE</i>	21
3.2.1 Características generales	21
3.2.2 Predisposición genética	22
3.2.3 Alcohol	23
3.2.4 Tabaco.....	24
3.2.5 Fármacos.....	25
3.2.6 Enfermedades sistémicas.....	27
3.3 <i>CARACTERÍSTICAS DEL TRATAMIENTO</i>	27
3.3.1 Inestabilidad mecánica	27
3.4 <i>NON-UNION SCORING SYSTEM</i>	28
4 DIAGNÓSTICO.....	30
5 TRATAMIENTO	32
5.1 <i>TRATAMIENTO SEGÚN EL TIPO DE PSEUDOARTROSIS</i>	32
5.1.1 Tratamiento de pseudoartrosis asépticas.....	32
5.1.2 Tratamiento de pseudoartrosis sépticas.....	34
5.2 <i>NUEVOS AVANCES EN LOS TRATAMIENTOS SEGÚN PROCESOS AFECTADOS</i>	35
5.2.1 Osteogénesis y condrogénesis	35

5.2.2	Inflamación	37
5.2.3	Osteoclastogénesis	38
5.3	<i>TERAPIA CON PLASMA RICO EN PLAQUETAS</i>	39
5.4	<i>INGENIERÍA TISULAR</i>	39
5.4.1	Tipos celulares utilizados en ingeniería tisular para el tratamiento de pseudoartrosis	40
5.4.2	Biosoportes utilizados en ingeniería tisular para el tratamiento de la pseudoartrosis	42
5.5	<i>TERAPIAS NO INVASIVAS</i>	44
5.5.1	Estimulación eléctrica	44
5.5.2	Ultrasonidos de bajo pulso	44
CONCLUSIONES		46
AGRADECIMIENTOS		47
ÍNDICE DE ABREVIATURAS		48
BIBLIOGRAFÍA		52

RESUMEN/ABSTRACT

RESUMEN

Una de las principales propiedades del hueso es la capacidad de regeneración. El proceso de reparación ósea ante una fractura se puede ver alterado debido a determinadas características de la fractura, del propio paciente y del tratamiento realizado. Cuando la fractura no ha consolidado en los primeros nueve meses tras la lesión y no ha presentado signos progresivos de curación en las radiografías seriadas en tres meses consecutivos se denomina pseudoartrosis. La incidencia de pseudoartrosis ocurre en el 1,9-4,9% de las fracturas. La pseudoartrosis representa una condición médica crónica compleja caracterizada por dolor y discapacidad tanto funcional como psicosocial. El pilar principal del tratamiento es el tratamiento quirúrgico que va a proporcionar estabilidad a la fractura. Dependiendo del tipo de pseudoartrosis, puede ser necesario el aporte de un injerto óseo, siendo el injerto óseo autólogo el *gold standard*. El tratamiento puede apoyarse en otras terapias como el uso de biomateriales, biológicos o células. En este trabajo se lleva a cabo una revisión bibliográfica sobre la etiología y los avances biomoleculares y nuevos tratamientos utilizados en humanos hasta el momento.

Palabras clave: pseudoartrosis, consolidación ósea, fracturas, citoquinas, infección, estabilidad, fármacos, injerto óseo, terapia celular, ingeniería tisular.

ABSTRACT

One of the main properties of bone is its regeneration ability. The bone healing process of a fractured bone can be altered due to certain characteristics of the fracture, the patient himself, and the treatment carried out. Nonunion is defined when the fracture has not healed in the first nine months after the injury and has not shown any progressive evidence of healing on serial radiographs in three consecutive months. Nonunion occurs in 1.9-4.9% of the fractures. Nonunion represents a complex chronic medical condition characterized by pain and both functional and psychosocial disability. The mainstay of treatment is surgical treatment that provides stability to the fracture. Depending on the type of nonunion, the use of bone graft may be necessary, being the autologous bone graft the gold standard. The treatment can be supported by other therapies such as the use of biomaterials, bioactive molecule or cells. In this work, a bibliographic review is carried out on the etiology and the biomolecular advances and new treatments used in humans up to now.

Key words: *non-union, bone healing, fracture, cytokines, infection, stability, drugs, bone graft, cell therapy, tissue engineering.*

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es estudiar las diferentes causas por las que se puede desencadenar una pseudoartrosis, así como los diferentes avances en cuanto al tratamiento. Para ello, ha sido imprescindible explicar la organización y composición del tejido óseo y el proceso de regeneración ósea ante una fractura. Además, se expone el concepto de pseudoartrosis, la epidemiología, la clasificación, la clínica y el diagnóstico.

Los objetivos principales consisten por un lado en compilar las últimas investigaciones realizadas sobre las diferentes situaciones que pueden alterar el proceso de reparación ósea de una fractura. Y, por otro lado, en reunir los últimos avances biomoleculares en regeneración ósea que podrían actuar como futuro tratamiento de la pseudoartrosis, así como de los últimos tratamientos que han sido utilizados en humanos.

METODOLOGÍA

Para comenzar con la revisión y obtener los conocimientos básicos sobre el proceso de regeneración ósea, se han consultado libros especializados como: *Fisiología del tejido óseo. EMC - Aparato Locomotor; Bases fisiológicas de la regeneración ósea I. Histología y fisiología del tejido óseo.*

La consulta de artículos científicos se ha realizado en la base de datos *PubMed*, ya que reúne la mayoría de los artículos sobre la pseudoartrosis. Se han analizado numerosas revisiones bibliográficas actualizadas. Se han seleccionado las publicaciones más actualizadas, en términos generales, de los últimos 5 años. Las palabras clave utilizadas en la búsqueda de artículos han sido: pseudoartrosis, regeneración ósea, consolidación, factores de riesgo, factores de crecimiento, MSCs, ingeniería tisular, biosoportos y terapias no invasivas.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 TEJIDO ÓSEO

El tejido óseo es un tipo de tejido conjuntivo caracterizado por su capacidad de mineralización formando cristales de hidroxapatita, lo que le otorga rigidez y resistencia. El tejido óseo tiene diferentes funciones. La más importante es la mecánica, protegiendo los órganos vitales y favoreciendo la locomoción. También lleva a cabo función hematopoyética e inmunológica, ya que en su interior se encuentra la médula ósea. Otra función es la metabólica debido a su importante intervención en la homeostasis fosfo-cálcica, actúa como reservorio de grasa y regula el metabolismo de la glucosa(1).

1.1.1 Organización del tejido óseo

Debido a la organización del tejido óseo se pueden diferenciar dos tipos de hueso:

- **Hueso plexiforme o primario.** Se trata del hueso inmaduro que forma el esqueleto del feto y del recién nacido que posteriormente irá evolucionando a hueso laminar. Está formado por fibras colágenas desordenadas de diferentes diámetros y en menor número que las del hueso laminar confiriéndole mayor capacidad de deformación y flexibilidad. En la edad infantil lo podemos encontrar en la metáfisis de huesos en crecimiento. En los adultos, se encuentra en las fracturas, ya que es el primer hueso que se forma a nivel de callo, así como en inserciones tendinosas y ligamentosas y en los huesecillos del oído.
- **Hueso laminar o secundario.** Se trata del hueso maduro que aparece a partir de los 4 años. Está formado por sistemas laminares óseos ordenados de forma regular cuyas fibras de colágeno se orientan en función de las cargas a las que el hueso se ve sometido. Se diferencian dos tipos de hueso laminar:
 - **Hueso cortical compacto:** conforma el 80% del esqueleto en el adulto y está formado por una serie de láminas óseas situadas de forma concéntrica llamadas osteonas o sistemas haversianos en cuyo centro se encuentra el conducto de Havers por donde viajan los vasos sanguíneos, nervios y vasos linfáticos. A su vez, los conductos de Volkman unen entre sí los conductos de Havers(2). El hueso cortical se encuentra en la parte externa de todos los huesos y en la diáfisis de los huesos largos. Su principal función es mecánica y en menor medida metabólica(1).
 - **Hueso esponjoso trabecular:** conforma el 20% restante del esqueleto y está formado por redes tridimensionales de trabéculas óseas en diferentes disposiciones para proporcionar mejor resistencia a las presiones mecánicas que tiene que soportar el hueso(2). El hueso trabecular se encuentra en las vértebras, epífisis y metáfisis de huesos largos(1). Respecto a su función, la rigidez del hueso es menor, su principal función es metabólica, siendo 8 veces superior a la del hueso cortical(2).

1.1.2 Composición del tejido óseo

El tejido óseo, al igual que el resto de los tejidos conjuntivos, está formado por dos componentes: células y matriz extracelular, que a su vez está compuesta de una fracción orgánica y otra inorgánica. A continuación, se explican con más detalle:

- **Matriz extracelular:**

- Fracción inorgánica o mineral: está formada por calcio y fósforo en forma de cristales de hidroxiapatita y otros elementos en menor proporción (magnesio, sodio, potasio, manganeso y flúor)(3). El mineral aporta la rigidez y fuerza representativa del hueso.
- Fracción orgánica:
 - Proteínas colágenas: el colágeno tipo I constituye el 90% de la matriz extracelular. Está formado por fibrillas de 67 nm con bandas que aporta al hueso elasticidad y resistencia a la tracción. Entre otros aminoácidos contiene hidroxiprolina, que se utiliza en la clínica como un marcador específico de reabsorción ósea en orina(2).
 - Proteínas no colágenas: constituyen el 5-10% restante de la matriz extracelular. Dentro de éstas encontramos los proteoglicanos, la osteocalcina, las glicoproteínas, las proteínas plasmáticas y los factores de crecimiento. Desempeñan un papel primordial en la organización de la matriz ósea, los procesos de mineralización, la remodelación ósea, las interacciones celulares, quimiotaxis e interacciones con otros órganos(1,4).
 - Lípidos: constituyen un 2-3% de la matriz extracelular. Se encuentran alrededor de las células óseas y su función es regular el flujo de iones y moléculas de señalización que entran o salen de las células(4).
 - Agua: se acopla a los cristales de hidroxiapatita y al colágeno. Se sitúa fundamentalmente en los poros corticales.

- **Células.** Las diferentes células que se pueden hallar en el tejido óseo son:

- **Osteoblastos:** son las células encargadas de sintetizar las proteínas de la matriz extracelular y también participan en la mineralización de la matriz. Una vez han realizado estas funciones los osteoblastos pueden tomar diferentes caminos: algunos se enclaustran en el tejido osteoide y se transforman en osteocitos, otros se aplanan en la superficie ósea y se convierten en células bordeantes y los restantes mueren por apoptosis(1). Los osteoblastos también regulan la formación, diferenciación o apoptosis de los osteoclastos a través de diferentes vías de señalización(5).

Los osteoblastos derivan de células madre mesenquimales (MSCs) que se diferencian gracias a factores de transcripción como el factor de transcripción relacionado con Runt2 (*Runx2*). *Runx2* es el primer factor que actúa y favorece la expresión de diferentes genes osteoblásticos como son la osteocalcina, osteopontina (OPN), sialoproteína ósea (IBSP) o el Colágeno tipo 1 α (Col1A1). Además, *Runx2* es necesario para mantener el equilibrio entre la formación y reabsorción ósea. El factor de transcripción *Osterix* (*Osx*) actúa posteriormente, ya que *Runx* se va a fijar al promotor del gen *Osx*, lo que resulta en una regulación positiva de la diferenciación osteoblástica, los genes explicados anteriormente, y de la formación ósea(1). Ambos factores de transcripción se van a activar frente a estímulos externos como son las proteínas *Wingless* (Wnt) y las proteínas morfogénicas óseas (BMP)(6).

La vía Wnt/LPR5/ β -catenina es la vía principal de control de la formación ósea y va a estimular la diferenciación ósea. Las proteínas Wnt se unen al receptor *Frizzled* (FRZ) y al correceptor, un receptor de lipoproteínas de baja densidad 5 (LPR5) estabilizando la actividad de la glucógeno sintasa cinasa 3beta (GSK3beta). Esto impide que la β -catenina se fosforile por lo que puede penetrar al interior del núcleo del osteoblasto y regular los genes diana de la vía Wnt, lo que favorecerá la diferenciación osteoblástica y, por lo tanto, la formación ósea. Si no se une el ligando a la Wnt, la GSK3beta fosforila la β -catenina, la cual va a sufrir un proceso de ubiquitinación y va a inactivar la vía de señalización Wnt. Las proteínas Wnt son un grupo de 19 glucoproteínas de las cuales dos (Wnt5a y Wnt10b) están implicadas en la diferenciación osteoblástica(7). Los inhibidores principales de esta vía son la esclerostina (SOST) y la proteína relacionada con *dickkopf* (DKK1)(8) (**Figura 1**).

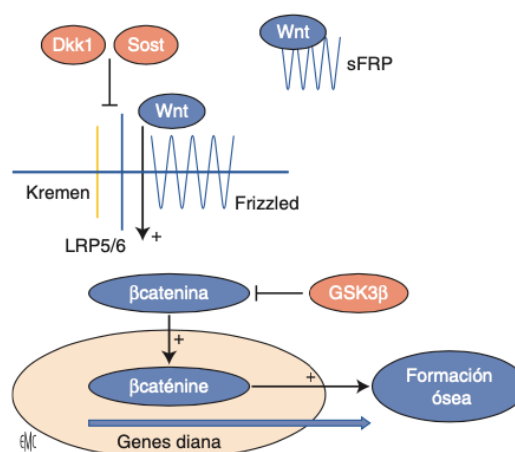


Figura 1: Esquema del modelo de acción de la vía Wnt/LPR5. Imagen tomada de Levasseur R. *Fisiología del tejido óseo*. EMC - Aparato Locomotor. 2019 Jun;52(2):1–25.

Las BMP (en concreto las BMP 2, 4, 5, 6 y 7) van a favorecer la diferenciación osteoblástica de las MSCs al estimular la expresión de los factores de transcripción *Runx2* y *Osx*. La BMP 2 presenta un papel importante en la osificación endocondral(9), mientras que la BMP 7 incrementa la actividad de la fosfatasa alcalina (FA) y favoreciendo el proceso de mineralización(10).

- **Células bordeantes:** son células originadas a partir de los osteoblastos aplanados en la superficie ósea que constituyen una barrera funcional entre el tejido óseo en fase no replicativa del remodelado óseo y la médula ósea (MO)(1). Las células bordeantes son una fuente de osteoblastos activos y se consideran células diana para agentes anabólicos(11). Una de las funciones que se cree que hacen estas células es eliminar la matriz desmineralizada en la superficie del hueso antes de la formación ósea. Además, las células bordeantes expresan marcadores genéticos similares a las células madre mesenquimales(12).
- **Osteoclastos:** son células multinucleadas que forman parte de la familia de los monocitos y macrófagos. Su principal función es la resorción ósea gracias a la activación a través de los osteoblastos. Se encuentran en las lagunas de Howship y en la cabeza de los conos perforantes corticales(2). El osteoclasto es capaz de degradar el tejido óseo mediante la secreción de H^+ , Cl^- , catepsina K (CtsK) y metaloproteinasas de la matriz (MMP) en el área de resorción(13).

La diferenciación a osteoclastos se produce gracias a la liberación de Factor estimulante de colonias Macrófagos (M-CSF) por parte de los osteoblastos que va a unirse su receptor c-Fms y va a estimular la expresión del receptor activador del factor nuclear kappa-B (RANK) en los precursores osteoclásticos. Tanto los osteoblastos como las células estromales van a secretar el ligando de receptor activador para el factor nuclear kappa-B (RANK-L) que va a interactuar con el receptor RANK y va a tener lugar la fusión de los precursores osteoclásticos en células gigantes multinucleares. Además, RANK-L a parte de estimular la osteoclastogénesis, potencia la actividad de los osteoclastos ya maduros inhibiendo su apoptosis. La osteoprotegerina (OPG) es una citocina circulante que actúa como receptor y se fija al RANK-L impidiendo la diferenciación osteoclástica(5) (**Figura 2**). El grado de reabsorción osteoclástica viene determinado por la relación entre la cantidad de RANK-L que va a favorecer la osteoclastogénesis en contraposición con la cantidad de OPG que la va a inhibir(1).

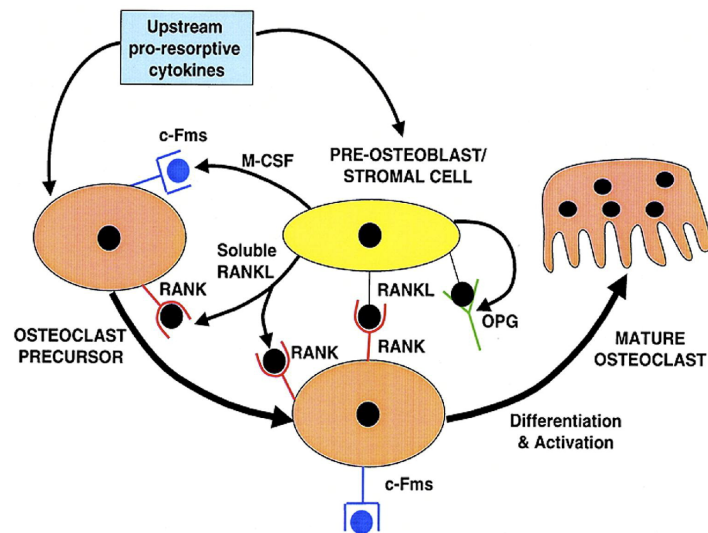


Figura 2: Esquema del sistema OPG/RANK-L/RANK. Imagen tomada de Pérez-Sayáns M Somoza-Martín J.M., Barros-Angueira F., Gándara Rey J.M., García-García A. RANK/RANKL/OPG role in distraction osteogenesis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2010;109(5), 679-686

Existe otro mecanismo de acoplamiento entre osteoclasto y osteoblasto, denominado ligando efrina/receptor de efrina. Los precursores osteoclastícos expresan ligando efrina en la superficie que se va a unir a los receptores tirosina-kinasa de efrina encontrados en los osteoblastos. La señalización directa va a estimular la diferenciación de osteoblastos e inducir la formación ósea, mientras que la señalización inversa inhibe la resorción ósea(5).

Otros factores importantes en la diferenciación de los osteoclastos son el factor de transcripción nuclear del linfocito T activado (NFAT) y el factor de la esfingosina 1-fosfato (S1P)(14).

Los osteoclastos tras finalizar su acción van a producir señales para que actúen posteriormente los osteoblastos, entre ellas las proteínas Wnt que van a activar la vía Wnt/ β -catenina(1).

- **Osteocitos:** son las células más abundantes del tejido óseo (90% de las células) y proceden de los osteoblastos enclaustrados en el tejido osteoide. Poseen una forma estrellada y se unen entre ellos mediante prolongaciones citoplasmáticas(1). También está en contacto con el resto de las células óseas a través de uniones tipo “gap” que permiten el transporte intracelular. Son células que actúan como mecanosensores ya que transforman estímulos mecánicos en señales biológicas que controlan la formación y la resorción ósea(15).

Los osteocitos van a regular la diferenciación y la actividad de los osteoblastos, controlando así la remodelación ósea, ya que secretan

factores de transcripción como SOST y DKK1 que inhiben la vía Wnt/ β -catenina. Otras moléculas que van a producir para regular el remodelado óseo son las prostaglandinas, óxido nítrico (NO), Factor Análogo de Insulina I (IGF-I), Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF) y Factor de Crecimiento Transformante-beta (TGF- β). También van a controlar la actividad de los osteoclastos gracias a la secreción de RANK-L, factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 11 (IL-11).

- **MSCs:** son células multipotentes que constituyen menos del 1% de las células mononucleares de la MO. Originan a las células encargadas de la formación ósea, así como de los adipocitos, mioblastos, fibroblastos, células endoteliales y células nerviosas.

1.1.3 Remodelado óseo

El tejido óseo se encuentra en constante renovación debido a los requerimientos hormonales, a la exigencia de regulación del metabolismo fosfo-cálcico y a la adaptación a las presiones mecánicas, a este proceso se le denomina remodelación ósea. El remodelado óseo se compone de dos fases: una fase inicial de reabsorción ósea que dura unas 3 semanas y una fase posterior de formación ósea que dura entre 3 y 4 meses. El hueso trabecular se renueva de forma más rápida que el hueso cortical. En total se sustituye el 5-10% del esqueleto de un adulto al año. El remodelado puede ser más activo en una zona concreta para adaptarse a presiones mecánicas o con el objetivo de reparar el tejido ante una fractura.

Las fases del remodelado óseo son:

- **Fase quiescente:** el hueso se encuentra en reposo.
- **Fase de activación:** se activa la superficie ósea mediante la retracción de las células bordeantes y la degradación de la matriz colágena subyacente por la acción de las colagenasas que da lugar a la atracción de pre-osteoclastos osteoclastos circulantes procedentes de los vasos próximos.
- **Fase de reabsorción:** los pre-osteoclastos se fusionan y forman osteoclastos que comienzan a degradar la matriz ósea y se forman las lagunas de Howship.
- **Fase de inversión:** los macrófagos sustituyen a los osteoclastos y se liberan los factores de crecimiento, fundamentalmente TGF- β , PDGF (Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas), IGF-I y Factor Análogo de Insulina II (IGF-2). Los macrófagos forman una línea cementante en el fondo de la laguna.
- **Fase de formación:** se produce el agrupamiento de pre-osteoblastos, atraídos por los factores de crecimiento, que sintetizan una sustancia cementante sobre

la que se va a adherir el nuevo tejido. Los osteoblastos ya diferenciados sintetizan la sustancia osteoide que rellenará las zonas perforadas.

- **Fase de mineralización:** comienza a los 30 días del depósito de osteoide y finalizará a los 130 días en el hueso cortical y a 90 días en el trabecular. El hueso nuevo se denomina osteona (*basic structural unit (SBU)*)(1,16) (**Figura 3**).

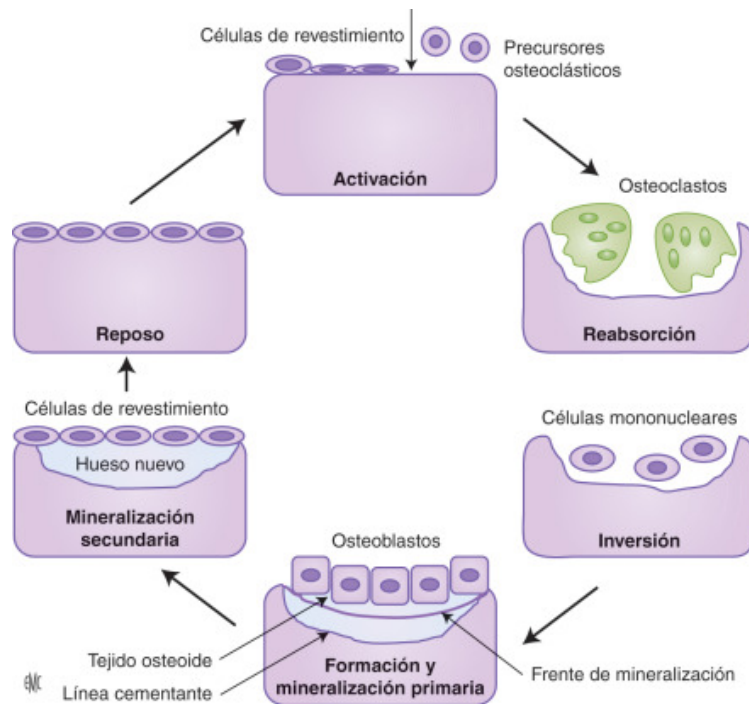


Figura 3: Esquema del proceso de remodelado óseo. Imagen tomada de Levasseur R. Fisiología del tejido óseo. EMC - Aparato Locomotor. 2019 Jun;52(2):1–25.

1.2 CONSOLIDACIÓN DE FRACTURAS

1.2.1 Fases de la regeneración ósea

Una fractura es una solución de continuidad del hueso. Ante una fractura, el tejido óseo se va a regenerar siendo el objetivo principal la reconstrucción óptica del hueso. No se trata de un proceso cicatricial. La regeneración ósea se lleva a cabo en diferentes fases:

- **Fase de inflamación:** inmediatamente posterior al traumatismo se interrumpe la arquitectura ósea y la vascularización, lo que da lugar a la formación de un coágulo de sangre rico en fibrina para conseguir la hemostasia(17). Esto condiciona una pérdida de la estabilidad mecánica, una disminución de la oxigenación tisular y la liberación de factores bioactivos al foco de la fractura. El hematoma formado va a liberar citoquinas durante la desgranulación de las plaquetas y van a atraer células inflamatorias (linfocitos, macrófagos, neutrófilos y eosinófilos). Los neutrófilos y los macrófagos van a ser los encargados de desbridar el tejido lesionado. Además de citoquinas, las células inflamatorias van

a liberar factores de crecimiento como el Factor de Crecimiento de Fibroblastos (FGF), el PDGF y TGF- β que van a llevar a cabo la proliferación y diferenciación de las MSCs(18).

- **Fase de reparación:** en esta fase se va a formar lo que se denomina callo fibrovascular que va a unir los extremos fracturarios. Esta fase se define por dos sucesos. El VEGF es liberado por diferentes células del callo de fractura y va a activar cascadas de señalización que favorecerán a la proliferación de células endoteliales(19). El otro componente del callo fibrovascular son las MSCs. Los osteoblastos sintetizan una nueva matriz ósea que posteriormente se calcificará formando un callo duro(18).
- **Fase de remodelación ósea:** es la fase final y más duradera del proceso de remodelación ósea. Va a consistir en la degradación por parte de los osteoclastos del hueso que se forma inicialmente y se va a ir remplazando por hueso laminar maduro(20). La degradación del hueso libera TGF- β del propio hueso y factores del osteoclasto como la porción 3 a del complemento, la proteína *Wingless 10 b* (Wnt10b), proteína morfogénica ósea 6 (BMP 6) y la proteína *Silt Guidance Ligand 3* (SLIT3) que estimulan la osteogénesis(21,22). En esta fase se disminuye la vascularización en la zona de la fractura en comparación con la hipervascularización en la fase anterior. La remodelación y reabsorción de los callos periósticos y medulares puede tardar hasta un año, siendo más rápida en niños que en adultos. Finalmente, se obtiene un hueso que puede volver a ser sometido a carga(18) (**Figura 4**).

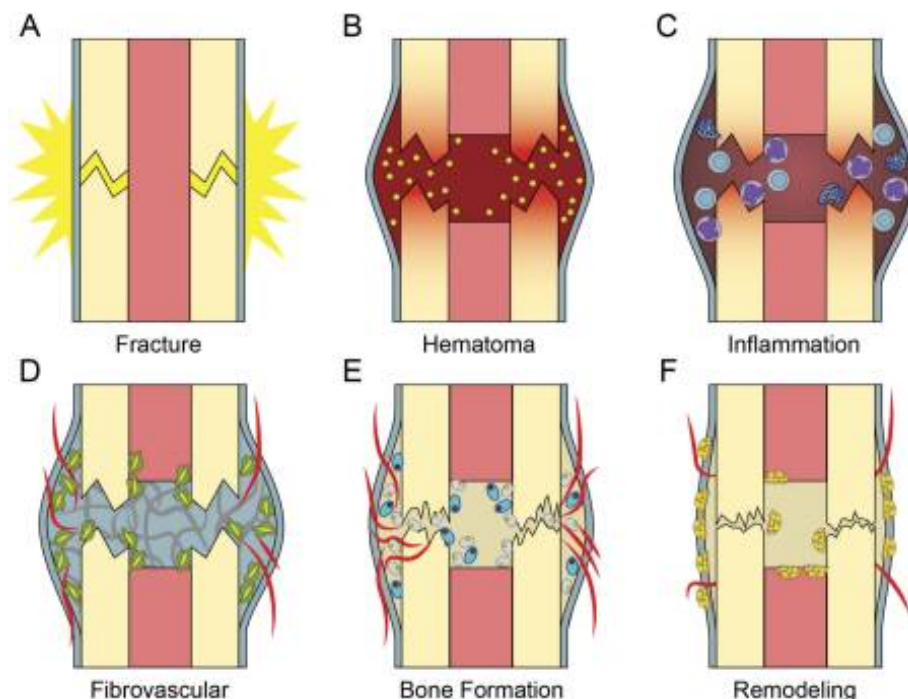


Figura 4: Esquema del proceso de regeneración ósea. Imagen tomada de Bahney CS, Zondervan RL, Allison P, Theologis A, Ashley JW, Ahn J, Miclau T, Marcucio RS, Hankenson KD. Cellular biology of fracture healing. J Orthop Res. 2019 Jan;37(1):35-50.

Este proceso de regeneración ósea se denomina consolidación secundaria o indirecta. Se produce en fracturas inmovilizadas o tratadas con una fijación flexible donde puede existir movilidad entre los fragmentos. Existe otro proceso de consolidación llamado consolidación primaria o directa que será explicado en el siguiente apartado.

1.2.2 Consolidación primaria

Se habla de una consolidación primaria cuando se realiza una inmovilización estable o una fijación interna de la fractura. Se trata de un proceso más lento donde no va a haber tejido cartilaginoso ni formación de callo óseo, va a ser más similar a la remodelación ósea fisiológica(18). Los osteocitos próximos a la fractura van a morir mediante procesos de apoptosis y necrosis debido a la interrupción de su vascularización. Este proceso desencadena el reclutamiento de osteoclastos que se encargarán de la resorción de la línea de fractura y finalmente los osteoblastos construirán hueso nuevo que una los fragmentos(23).

La consolidación primaria se va a dar en reducciones anatómicas con estabilidad absoluta, es decir, cuando haya una compresión interfragmentaria en el foco de la fractura. La compresión debe ser mayor que las fuerzas de distracción provocadas por las tracciones de los músculos que actúan en los extremos. Esta estabilidad absoluta únicamente se obtiene a través de tratamiento quirúrgico.

Las principales técnicas para conseguir la estabilidad absoluta son:

- Los tornillos de compresión.
- Las placas de compresión (placas de autocompresión como la *Dinamic Compression Plate* (DPC) o placas que minimizan la agresión del periostio como la *Low Contact Dinamic Compression Plate* (LC-DPC))
- El cerclaje o banda de tensión(24).

1.2.3 Factores fundamentales en la consolidación de fracturas

Existen diferentes factores que van a influir en el proceso de consolidación de una fractura. Estos serán tratados en el punto número 3 del presente trabajo ya que son la principal causa de la no consolidación de una fractura.

2 PSEUDOARTROSIS

2.1 DEFINICIÓN

La pseudoartrosis representa la incapacidad del hueso de regeneración tras una fractura. Esta es una definición muy general, sin embargo, no se trata de un concepto tan simple, ya que no hay dos casos de pseudoartrosis iguales(25). Se han descrito en la literatura múltiples definiciones de pseudoartrosis. La definición más comúnmente utilizada es la propuesta por la *Food and Drug Administration* (FDA): la pseudoartrosis ocurre cuando la fractura ósea no ha consolidado en los primeros 9 meses después de la lesión y que no ha presentado signos progresivos de curación en las radiografías

seriadas en 3 meses consecutivos(26). Otros autores definen la pseudoartrosis como una fractura que no ha consolidado en 6 meses o en el doble de tiempo en que normalmente se espera que consolide una fractura de ese tipo.

Un estudio reciente en Países Bajos muestra la heterogeneidad a la hora de definir una pseudoartrosis entre los cirujanos ortopédicos y traumatólogos. La mayoría de los encuestados coinciden en 6 meses como plazo para denominar una pseudoartrosis. En el resto de los encuestados hubo una mayor variedad de tiempos definitorios de pseudoartrosis(27).

La pseudoartrosis no debe confundirse con el retraso en la consolidación de la fractura. El retraso en la consolidación consiste en una alteración evolutiva de una fractura bien reducida en la que tras transcurrir el tiempo habitual de consolidación (expuesto en la **Tabla 1**) no hay una unión ósea completa y radiológicamente no hay signos de consolidación(28). Este tiempo de retraso en la consolidación nunca es superior a 9 meses, ya que si no se trataría de una pseudoartrosis. Este proceso no presenta dolor, ni movilidad patológica en el foco de la fractura(29).

TIPO DE FRACTURA	LOCALIZACIÓN	SEMANAS
DIAFISARIA	Clavícula	6
	Húmero	10-12
	Cúbito y radio	16-20
	Fémur	13-19
	Tibia	20
METAFISARIA	Húmero proximal	6
	Húmero distal	8
	Cúbito proximal	6
	Fémur proximal	8-10
	Fémur distal	14-17
	Tibia proximal y distal	8-10

Tabla 1: Tiempo habitual de consolidación de fracturas en función del tipo y localización(29).

2.2 EPIDEMIOLOGÍA

La incidencia, el diagnóstico y el tratamiento de la pseudoartrosis varía según la zona del mundo en la que nos encontremos ya que la atención sanitaria es diferente. Es por esto que, en las zonas con una atención médica más avanzada como Europa, Estados Unidos o Australia, la incidencia de pseudoartrosis es baja ya que las fracturas podrán ser diagnosticadas y tratadas de forma apropiada(30,31).

En cambio, en zonas donde el acceso a la atención médica es más complicado como en regiones Subsaharianas, la población no dispone de un tratamiento óptimo, por lo que la incidencia de pseudoartrosis es mayor(32). La recopilación de datos para establecer la incidencia de la pseudoartrosis es un proceso complejo ya que los recursos en países

de bajos ingresos son limitados, así como la falta de consenso a nivel mundial en su definición(30,33).

A pesar de la dificultad para establecer la incidencia, varios artículos recientes estiman que es del 1,9-4,9%(34,35), inferior a la que se tenía de referencia previamente (5-10%) objetivada por un estudio en 2007(36). Además, se muestran diferencias en la incidencia de pseudoartrosis según la localización de la fractura. Las localizaciones más frecuentes son la tibia (5-15%)(37), el fémur (1-11%)(38) y el húmero (8-25%)(39). La incidencia más alta registrada de pseudoartrosis fue en un estudio de fracturas tibiales abiertas de tipo IIIB según la clasificación de Gustilo-Anderson que fue de 42,7%(40).

La pseudoartrosis representa una condición médica crónica compleja caracterizada por dolor y discapacidad tanto funcional como psicosocial. El estudio de R. Brinker y cols.(41) analizó las puntuaciones del SF-12 Resumen del Componente Físico (SF-12 PCS) y del SF-12 Resumen del Componente Mental (SF-12 MCS) como indicadores de calidad de vida en la salud (HRQOL) en pacientes con pseudoartrosis femoral y comparó con las puntuaciones en otros pacientes con otras afecciones ortopédicas o médicas. El SF-12 PCS reveló que la pseudoartrosis es físicamente más debilitante que otras patologías ortopédicas o médicas. En el SF-12 MCS, los pacientes con pseudoartrosis presentaron puntuaciones más bajas, lo que supone un impacto negativo mayor que en pacientes con artrosis de cadera, insuficiencia cardíaca congestiva y capsulitis adhesiva(42).

La pseudoartrosis es difícil de tratar lo que hace que presente un elevado impacto financiero. Dentro de los costes directos, la media del coste del tratamiento es muy alta. En Reino Unido se evaluaron los costes del tratamiento según la localización y los resultados fueron de 15.566 £ en el húmero, 17.200 £ en el fémur y 16.300 £ en la tibia(43). Sin embargo, no solo se trata del coste para el paciente por su salud, sino que también hay que considerar los costes para el sistema sanitario, esto son los costes indirectos. La pérdida de la productividad del paciente es la que más costes genera siendo del 69-79% de los gastos totales en una fractura de tibia en el sistema sanitario canadiense(30).

2.3 CLASIFICACIÓN

Existen diferentes formas de clasificar las pseudoartrosis. Los sistemas de clasificación son útiles en la planificación del tratamiento. Hoy en día, una de las clasificaciones más utilizadas es la elaborada por Weber y Czech(44) en 1976 que distingue dos tipos según la vitalidad biológica de la no unión (**Figura 5**):

- **Hipertrófica o viables:** la pseudoartrosis hipertrófica se caracteriza por la hipervascularización en el sitio de la fractura y conservar el potencial biológico, pero las condiciones mecánicas son inadecuadas porque presentan una excesiva movilidad en el foco de la fractura.

A su vez, este tipo se clasifica en tres subtipos según el grado de expansión ósea adyacente al foco de la fractura analizado radiológicamente:

- Hipertrófica en pata de elefante
 - Hipertrófica en pezuña de caballo
 - Oligotrófica
- **Atrófica o no viables:** la pseudoartrosis atrófica se caracteriza por la hipovascularización en el sitio de la fractura, es inerte y con una capacidad de reacción biológica alterada. Por lo que el problema es, fundamentalmente, biológico. A su vez se subdividen según el patrón de fractura y la distribución del tejido no vascularizado en:
- Cuña de torsión o distrófica
 - Conminuta o necrótica
 - Defecto óseo
 - Atróficos

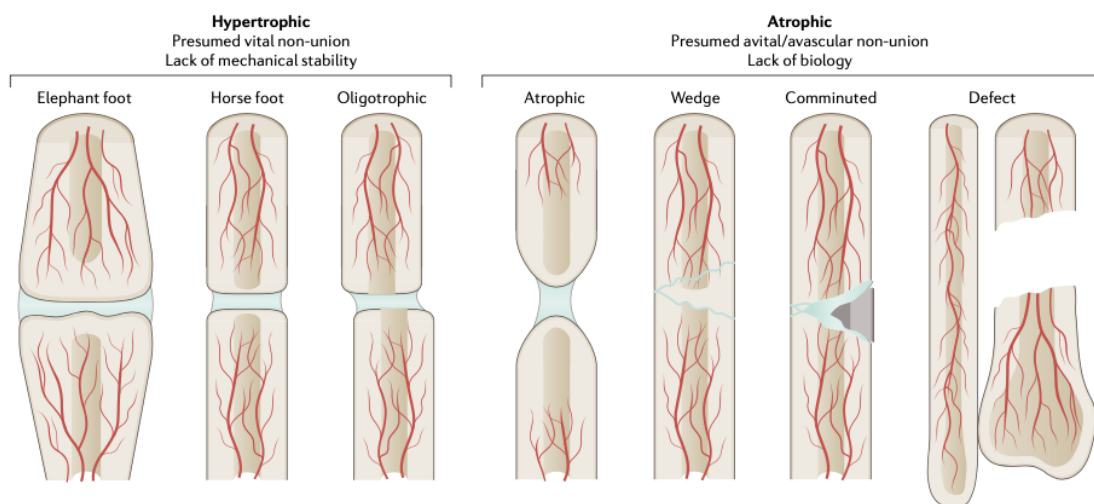


Figura 5: Esquema de la clasificación de Weber y Czech de pseudoartrosis. Imagen tomada de Wildemann B, Ignatius A, Leung F, Taitzman LA, Smith RM, Pesántez R, Stoddart MJ, Richards RG, Jupiter JB. Non-union bone fractures. Nat Rev Dis Primers. 2021 Aug 5;7(1):57

Además de esta clasificación, se debe tener en cuenta si la pseudoartrosis se encuentra infectada o no. Es muy importante pensar en la posibilidad de una infección, sobre todo si la fractura inicial era una fractura abierta de alta energía (45).

Otras clasificaciones fueron la de Paley y cols(46). que propusieron dos tipos: el tipo A cuando la pérdida ósea en la pseudoartrosis era menor de 1 centímetro y el tipo B cuando la pérdida ósea era mayor de 1 centímetro.

2.4 CLÍNICA

La presentación clínica de la pseudoartrosis es variable. Los signos más comunes que presentan los pacientes son dolor (frecuentemente aumentado por la actividad), pérdida de función de la extremidad y movilidad anómala en el foco de fractura simulando una falsa articulación. Los síntomas varían en función del nivel de actividad, la localización y la estabilidad de la fractura(47). Si la pseudoartrosis está infectada puede aparecer signos de inflamación local o infección (eritema, edema, supuración), así como dolor a la palpación(47,48).

3 ETIOLOGÍA

Cada etapa del proceso de regeneración ósea puede verse interferida o interrumpida por diferentes factores que alteran las cascadas moleculares y celulares necesarias para una correcta reparación del hueso dando lugar a pseudoartrosis. La interrupción del proceso de regeneración ósea es más frecuentemente un proceso multifactorial. Las principales causas que van a dar lugar a una pseudoartrosis pueden deberse a características de la fractura, del paciente o del tratamiento.

3.1 CARACTERÍSTICAS DE LA FRACTURA

3.1.1 *Localización de la fractura*

Las fracturas localizadas en la diáfisis tienen una mayor incidencia de defectos en la consolidación y presentan tiempos más largos de regeneración ósea ya que el proceso de curación se inicia en el periostio y el endostio y se debe reabsorber la cortical del hueso antes de que los fragmentos puedan consolidarse. Cuanto más dañada este la vascularización del periostio y endostio, mayor va a ser la incidencia de pseudoartrosis. Sin embargo, en la metáfisis la regeneración ósea tras una fractura va a ser más rápida debido a que el tipo de hueso es esponjoso y posee una mayor vascularización por lo que la pseudoartrosis será menos frecuente en esta localización(49).

Las fracturas que se encuentran distales a los vasos sanguíneos que irrigan ese hueso, van a tener defectos en la vascularización y por tanto mayor riesgo de generar una pseudoartrosis(50). Dos localizaciones típicas donde va a ocurrir esto son en las fracturas del polo proximal del escafoides y en las fracturas del cuello del astrágalo(51).

3.1.2 *Mecanismo de producción*

Los traumatismos de alta energía producen fracturas más complejas, más conminutas, con más desplazamiento de los extremos fracturarios y una mayor pérdida de tejidos y de vascularización. Todo esto va a alterar el proceso de reparación de la fractura, haciendo más probable la aparición de pseudoartrosis. Además, las fracturas producidas por mecanismos de alta energía son más difíciles de reducir y estabilizar, lo que dificulta su tratamiento y favorece también la no consolidación de la fractura. Numerosas revisiones sistemáticas abalan esta asociación(34,52–54).

3.1.3 Tipo de fractura

Las fracturas complejas y conminutas van a presentar mayor probabilidad de pseudoartrosis que las fracturas simples ya que van a presentar menor estabilidad y menor vascularización. La presencia simultánea de múltiples fracturas en un mismo hueso va a dificultar tanto el tratamiento como el proceso de rehabilitación posterior lo que aumenta el riesgo de aparición de pseudoartrosis(34).

3.1.4 Exposición

La exposición de la fractura es otro factor que favorece la aparición de pseudoartrosis y la contaminación de la fractura. Una fractura abierta, va a favorecer la salida del hematoma al exterior y así perdemos elementos muy importantes para la consolidación como osteoblastos, citoquinas, plaquetas y factores de crecimiento.

En 1976, Gustilo y Anderson elaboraron una clasificación para las fracturas abiertas según el tamaño de la herida, el grado de contaminación, lesión en partes blandas y la lesión ósea, lo que determina la gravedad de la fractura abierta(55). La clasificación se encuentra reflejada en la **Tabla 2**. Los grados más altos de esta clasificación presentan una mayor predisposición a pseudoartrosis ya que van a ser producidos por traumatismos de alta energía y va a haber amplia lesión de los tejidos, especialmente los grados IIIB y IIIC(52).

TIPO	TAMAÑO HERIDA	GRADO CONTAMINACIÓN	DAÑO DE PARTES BLANDAS	LESIÓN ÓSEA
I	<1cm	Mínimo	Mínimo. Fracturas de baja energía.	Simple, mínima conminución
II	1-10cm	Moderado	Moderado. Suele haber más energía.	Conminución moderada
III A	>10 cm	Alto	Severa con aplastamiento. Posible cobertura de partes blandas.	Conminuta.
III B	>10 cm	Alto	Muy severa. Pérdida de cobertura cutánea, necesaria cirugía reconstructiva.	Precaria cobertura ósea, conminución moderada-severa.
III C	>10 cm	Alto	Muy severa. Pérdida de cobertura cutánea, lesión vascular. Necesaria cirugía reconstructiva de partes blandas y revascularización.	Precaria cobertura ósea, conminución moderada-severa.

Tabla 2: Clasificación de Gustilo y Anderson para las fracturas abiertas(56).

Las fracturas cerradas de alta energía pueden llegar a precisar en algunas ocasiones fasciotomías por elevado riesgo de síndrome compartimental. Reverte y cols.(57) demostraron un índice mayor de pseudoartrosis en fracturas de tibia que habían requerido la realización de fasciotomías.

3.1.5 Infección

Las fracturas abiertas, más frecuentemente las que presentan daños en las partes blandas y lesión vascular, presentan un alto riesgo de infección. La infección va a contribuir a la aparición de pseudoartrosis ya que el tejido de granulación infectado produce osteólisis, se va a producir necrosis tanto del hueso cortical como de los tejidos blandos que va a interponerse entre los fragmentos de la fractura(58). Además, la implantación de un fijador para tratar la fractura favorece también la aparición de infecciones y formación de *biofilms* que aumenta del mismo modo el riesgo de no consolidación de la fractura(59).

La investigación de Szczesny y cols.(60) demostró que los pacientes que tienen el gen mutante *toll-like receptor 4* (TLR 4) *wild allele 1* (1/W) (Asp299Gly) y el alelo mutante T y T/C del codón 10 del gen TGF- β están predispuestos a un peor reconocimiento y eliminación de patógenos, los predispone a sufrir una infección en el foco de la fractura y defectos en la consolidación de la misma.

Un estudio llevado a cabo por Dapunt y cols.(61) demostró la presencia de bacterias tras la sonicación del implante en el 51,7% de fracturas de huesos largos con pseudoartrosis atroficas.

3.2 CARACTERÍSTICAS DEL PACIENTE

3.2.1 Características generales

Edad y sexo:

La pseudoartrosis es una patología más frecuente en hombres que en mujeres, ya que los traumatismos son más frecuentes en el sexo masculino. El estudio epidemiológico realizado por Mills y cols.(62) en la población escocesa puso de manifiesto la existencia de un patrón unimodal en la afectación por pseudoartrosis en las mujeres y un patrón bimodal en hombres.

En mujeres la pseudoartrosis va a ser más frecuente en la quinta etapa, ya que después de la menopausia disminuyen potencialmente los niveles de estrógenos (hormona que juega un papel importante en la formación ósea) lo que da lugar a osteoporosis y una regeneración ósea insuficiente que provoca inestabilidad en la fractura(63).

En los hombres la pseudoartrosis se va a dar en jóvenes y adultos de mediana edad más frecuentemente ya que son la población más expuesta a traumatismos. El otro momento de la vida en el que aparece es en la población anciana (mayores de 65 años) debido a las fracturas osteoporóticas(35).

Zura y cols.(64) llevaron a cabo un estudio que demostró que, pese a que en la población envejecida son frecuentes las caídas y fracturas, el riesgo de pseudoartrosis es menor que en gente más joven. Postularon que las personas que sobreviven hasta una edad avanzada tienen menos factores de riesgo de pseudoartrosis ya que muchos de estos son también factores de riesgo de muerte prematura.

Nutrición:

A lo largo del proceso de regeneración ósea, hay un aumento de los requerimientos metabólicos. Los pacientes que se encuentren en un estado catabólico (pacientes con enfermedades crónicas o politraumatizados), van a tener comprometido el proceso de reparación de la fractura(26). Es de elevada importancia una dieta rica en proteínas, calcio y fósforo, y vitamina D. El déficit de vitamina D va a favorecer la no consolidación de la fractura, ya que juega un papel importante en todas las fases de la regeneración ósea(65). Las deficiencias nutricionales van a alterar principalmente a la resistencia del callo óseo lo que va a requerir un periodo más largo de protección hasta que se mineralice el hueso(66).

Índice de masa corporal (IMC):

El IMC es una medida de asociación entre el peso y la altura de una persona. Se considera obesidad cuando el IMC es > 30 . Fischer y cols.(67) llevaron a cabo un estudio donde demostraron que, en personas con un IMC más bajo, es decir, personas menos obesas, tienen menor riesgo de pseudoartrosis de una fractura en comparación con personas con IMC elevado. Además, demostraron que la pérdida de peso suponía un aumento del éxito en el tratamiento de la pseudoartrosis.

Sin embargo, un estudio posterior, realizado en 2020 por Tanner y cols.(68) no demostró una relación negativa entre un elevado IMC y la no consolidación de las fracturas, pudiéndose beneficiar este grupo del tratamiento de la pseudoartrosis con independencia de su IMC.

3.2.2 Predisposición genética

Diferentes estudios han indagado sobre la posible predisposición genética a la no consolidación de una fractura. El estudio realizado por Dimitriou y cols.(69) sugiere que la existencia de polimorfismos en los genes que codifican la cascada de señalización de las BMPs cuando se combina con otros factores de riesgo, puede aumentar de forma sinérgica la aparición de pseudoartrosis. En 2013, Guimaraes y cols.(70) estableció la relación de un haplotipo proteína morfogénica ósea 4 (BMP 4) y un alelo FGFR1 rs13317 C con la aparición de pseudoartrosis independientemente de otros factores de riesgo previos del paciente. Otros estudios, muestran la relación de polimorfismos en los genes que codifican PDGF, interleucina 1 beta (IL1B) y Óxido nítrico sintasa 2 (NOS2) con la pseudoartrosis(71,72).

El estudio de asociación del genoma llevado a cabo por McCoy y cols.(73) a 1760 personas con fracturas de extremidad superior o inferior, dentro de las cuales había 151 personas con pseudoartrosis, se elaboró para examinar si las variantes comunes se asociaban a la psueodartrosis. El estudio mostró que un locus en el gen *Calcyon* (CALY) superaba el umbral de significación estadística ($p=1,95 \times 10^{-8}$), relacionándose así con la aparición de pseudoartrosis. Además, se asociaron otros ocho loci, uno de los cuales incluye al receptor de la taquiquinina (TACR1) o receptor de la sustancia P que juega un papel importante en la respuesta al dolor. Si se confirma esta asociación, el dolor podría ser un mecanismo de regulación protegiendo la fractura de un exceso de movilidad. Además, se ha demostrado que la sustancia P está implicada en el proceso de regeneración ósea ya que activa la actividad osteoclástica(74).

Aun así, se deben realizar más estudios para identificar cuáles son los mecanismos por los cuales estos polimorfismos favorecen la aparición de una pseudoartrosis(73).

3.2.3 Alcohol

La incidencia de fracturas es cuatro veces mayor en pacientes que abusan del alcohol, siendo casi la mitad de ellas en estado de intoxicación(75). El consumo de alcohol disminuye la masa ósea ya que altera el remodelado óseo por lo que va a ser tanto un factor de riesgo para patologías ortopédicas como un factor de riesgo de no consolidación de la fractura ósea, especialmente en fracturas del cuello femoral en pacientes jóvenes(76).

Se han llevado a cabo diferentes estudios en animales para estudiar el papel del consumo de alcohol en la regeneración ósea. Chakkalakal y cols.(77) llevaron a cabo un primer estudio en ratas a las que dividieron en 4 grupos según la dieta recibida: grupo A recibía una dieta líquida alcohólica que abarcaba el 36% de la ingesta calórica total; el grupo B fue el grupo control y recibía una dieta con maltodextrina; el grupo C recibió una dieta estándar para roedores establecida por el Instituto Americano de Nutrición (AIN); y finalmente, el grupo D recibió en primer lugar la dieta líquida alcohólica y posteriormente fue retirada y se introdujo la dieta estándar del AIN. Tras 6 semanas de dieta, las ratas fueron sometidas a osteotomías bilaterales en el peroné y rellenaron el espacio con matriz ósea desmineralizada. Los resultados se observaron 7 semanas después de la lesión y se vio una deficiencia en la regeneración ósea del grupo A en comparación a otros grupos y el grupo D presentó una cicatrización similar al grupo C. Los datos obtenidos fueron atribuidos a la exposición al alcohol.

Años más tarde, los autores realizaron otro estudio similar(78) dividiendo a las ratas en un grupo con elevado consumo de alcohol (36% de las calorías totales), un grupo con moderado consumo de alcohol (26% de las calorías totales), un grupo que recibía alcohol primeramente y después era alimentado con la dieta del AIN y grupos de control. Los resultados mostraron una deficiencia en la consolidación de la fractura en el grupo con elevado consumo de alcohol, una regeneración ósea normal en el grupo con moderado consumo de alcohol y una regeneración ósea también normal en el grupo que recibió el cambio de alimentación tras la eliminación del alcohol. No se conoce con exactitud el mecanismo por el cual ocurre esto, pero los autores propusieron que el alcohol altera la

función y la proliferación de los osteoblastos, lo que altera la formación de la matriz y ósea y su posterior mineralización, dando lugar a la formación de un callo de fractura más débil.

Otros estudios también demostraron los efectos del alcohol en la disminución del número y la función de los osteoblastos (79) así como la disminución de producción de proteínas de la matriz extracelular como Col1A1, osteocalcina y FA. También se observaron alteraciones en las moléculas reguladoras de la reparación de fracturas: disminución del TGF- β y aumento de TNF- α y de la IL6 (80).

Más tarde, se llevaron a cabo estudios que ponían de manifiesto la disrupción por el efecto del alcohol de la ruta Wnt/ β -catenina alterando la diferenciación de las células mesenquimales a osteoblastos y condroblastos y dando así lugar a una deficiencia en la regeneración ósea(81,82).

3.2.4 *Tabaco*

Se ha demostrado que fumar aumenta la tasa de pseudoartrosis. Las sustancias tóxicas contenidas en los cigarrillos como la nicotina o el monóxido de carbono interfieren tanto en la diferenciación y producción de osteoblastos como en la neovascularización y la síntesis de colágeno(83).

La nicotina aumenta la agregación plaquetaria, disminuye los niveles de prostaciclina microvascular y ejerce efectos inhibitorios sobre macrófagos, fibroblastos y hematíes. Además, la nicotina es un potente vasoconstrictor que va a disminuir la vascularización periférica. El tabaco va a hacer que llegue menor cantidad de sangre a la fractura, haya elevados niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) y bajos niveles de antioxidantes, lo que favorecerá a la no unión de la fractura(84).

Numerosos estudios apoyan la evidencia de que fumar altera la consolidación ósea(40,85,86). Una reciente revisión sistemática realizada por Tian y cols.(52) puso de manifiesto que la prevalencia de pseudoartrosis de tibia en fumadores era significativamente mayor que en no fumadores.

El metaanálisis realizado por Mahajan y cols.(87) respalda aún más el efecto negativo del tabaco sobre la regeneración ósea en el foco de la fractura, así como el beneficio del cese del hábito tabáquico en varios procedimientos quirúrgicos.

3.2.5 Fármacos

El uso de determinados fármacos puede aumentar el riesgo de pseudoartrosis.

Opioides:

Los opioides son unos fármacos utilizados para el dolor postoperatorio en múltiples especialidades, entre ellas la cirugía ortopédica. Se han llevado a cabo diferentes estudios en animales para averiguar el papel de estos fármacos en el proceso de regeneración ósea.

Chrastil y cols.(88) demostraron que el consumo de opioides dificulta la consolidación de una fractura en un estudio en ratas a las que realizaron una osteotomía femoral y las dividieron en dos grupos: uno que recibía suero salino durante 8 semanas y otro que recibía morfina durante el mismo tiempo. El grupo que recibió morfina presentó una disminución en la maduración del callo de fractura, siendo este más débil que en el grupo control. Los autores sugirieron que los opioides inhiben la regeneración ósea y la resorción. Sobre este mismo estudio, valoraron si esto pudiera deberse al déficit de andrógenos producido por los opioides, pero no encontraron una relación estadísticamente significativa. Tiempo después, Chrastil y cols.(89) propusieron que la inhibición de la regeneración ósea por parte de los opioides podría ser multifactorial ya que inhibe múltiples ejes hipotálamo-hipofisarios.

Como el efecto perjudicial de los opioides en la regeneración ósea fue demostrado, se efectuaron diferentes estudios para valorar si el antagonismo de los opioides favorecía la consolidación del hueso. Petrizzi y cols.(90) realizaron un estudio en ovejas a las que les realizaron perforaciones bicorticales en el metacarpo izquierdo y las dividieron en diferentes grupos. Durante 4 semanas un grupo recibió gluconato cálcico, otro grupo solución salina, otro grupo naloxona (antagonista opioide) y otro naloxona y gluconato cálcico. Después, analizaron los resultados y la regeneración ósea fue más rápida en el grupo de ovejas que recibió naloxona y gluconato cálcico, así como en el que recibió únicamente naloxona. Por lo que los autores postularon que la naloxona mejora la remodelación y la mineralización en el callo de fractura y este efecto se ve potenciado por el gluconato cálcico.

En los animales se ha demostrado el efecto negativo de los opioides en la regeneración ósea. Sin embargo, en humanos los datos no son tan directos. Varias revisiones retrospectivas(34,91) donde se analizaron los factores de riesgo de la pseudoartrosis demostraron un aumento de la incidencia en pacientes que tomaban opioides como analgésicos. Al tratarse de estudios retrospectivos, la causalidad no puede determinarse de forma más precisa.

Antinflamatorios no esteroideos (AINES):

Los AINES son un grupo de fármacos utilizados en ortopedia de forma postoperatoria debido a su efecto antiinflamatorio, analgésico y antipirético. El mecanismo de acción de este grupo de fármacos es la inhibición de las enzimas ciclooxigenasa 1 (COX-1) y

ciclooxigenasa 2 (COX-2) que van a disminuir la síntesis de prostaglandinas proinflamatorias. Como se ha explicado anteriormente, la inflamación es una fase necesaria en el proceso de regeneración ósea, por lo que diferentes estudios han investigado si el uso de antiinflamatorios altera el proceso la consolidación de una fractura.

Beck y cols.(92) llevaron a cabo un estudio en ratas para investigar el efecto de los AINES en el proceso de curación de fracturas. Sometieron a las ratas a osteotomías en el fémur proximal y las dividieron en 4 grupos: el primer grupo recibió placebo, el segundo tramadol, el tercero diclofenaco (AINE no selectivo) una semana y posteriormente placebo y el cuarto grupo recibió únicamente diclofenaco. Tras 3 semanas de curación, los grupos que recibieron diclofenaco mostraron una regeneración deficiente en comparación a los grupos control. Los autores concluyeron que el diclofenaco altera la formación del callo de fractura y que este efecto tenía lugar en las fases iniciales de la regeneración ósea ya que se vio una consolidación alterada en el grupo que únicamente recibió diclofenaco una semana.

Un grupo de AINES descubierto con más recientemente, los inhibidores selectivos de la COX-2, que a nivel sistémico presentan menores efectos secundarios, van a inhibir la producción de prostaglandina E2 producida por los osteoblastos para favorecer la formación ósea(93). Simon y cols.(94) investigaron sobre el uso de rofecoxib y rofecoxib, dos inhibidores selectivos de la COX-2, en fracturas de fémur en ratas. Los autores observaron un defecto en el proceso de reparación de las fracturas en los ratones que recibieron estos AINES respecto a los grupos control.

Sin embargo, Gerstenfeld y cols.(95) investigaron la reversibilidad en el proceso de regeneración ósea tras retirar los AINES. Sometieron a las ratas a fracturas de fémur y las dividieron en 3 grupos, el primer grupo recibió ketorolaco, un AINE no selectivo, el segundo grupo valdecoxib, un inhibidor selectivo de la COX-2 y el tercero un control. Tras tres semanas, el grupo de recibió valdecoxib, produjo significativamente más pseudoartrosis que los otros grupos. En esta tercera semana, se retiró el valdecoxib y a los 35 días no se vieron diferencias en la regeneración ósea en los tres grupos, por lo que se llegó a la conclusión que los inhibidores de COX-2 alteran la consolidación ósea, pero que, si se interrumpe su administración, el efecto es reversible.

El estudio realizado por Hernández y cols.(96) expuso que el uso de AINES doce meses antes de una fractura, multiplica por dos el riesgo de pseudoartrosis.

En contraposición a esto, el metaanálisis de Dodwell y cols.(97) mostró que los estudios que abalaban el efecto negativo de los AINES en la regeneración del hueso eran estudios de calidad más baja según la escala Newcastle-Ottawa, con una asociación estadísticamente significativa ($p < 0,009$).

Los investigadores y los médicos llegaron al consenso de que los AINES pueden alterar el proceso de regeneración ósea en humano, pero que su uso de forma breve tras una fractura es habitualmente seguro en pacientes que no muestren otros factores de riesgo de no unión(98–100).

3.2.6 Enfermedades sistémicas

Diabetes:

La diabetes es una enfermedad crónica que va a afectar a múltiples órganos. Los pacientes diabéticos presentan mayores niveles circulantes de TGF- β , lo que contribuye a la disminución de la maduración y función de los osteoblastos, y en última instancia al proceso de regeneración ósea(101). Además, la respuesta inflamatoria cuando hay una fractura está enlentecida ya que está aumentada la viscosidad de la sangre y disminuida la perfusión a los tejidos, lo que dificultará la reparación de la fractura y favorecerá la infección(102).

La diabetes tipo 2 se asocia a un aumento del riesgo de aparición de pseudoartrosis en una fractura con una *odds ratio* (OR) de 1,6. Sin embargo, si se realiza un análisis teniendo en cuenta más factores de riesgo, la OR disminuye a 1,15(34). La pseudoartrosis en pacientes diabéticos va a ser más frecuente en la extremidad inferior (fracturas de pie y tobillo)(103).

Osteoporosis:

La osteoporosis es una enfermedad que disminuye la densidad ósea favoreciendo la aparición de fracturas. Los pacientes con osteoporosis tienen mayor riesgo (OR:1,24) de pseudoartrosis que los pacientes no osteoporóticos ya que altera tanto el proceso de regeneración del hueso como la estabilidad mecánica que necesita la fractura para consolidar(34).

Enfermedades endocrinas y metabólicas:

Brinker y cols. llevaron a cabo un estudio donde casi el 85% de los pacientes con pseudoartrosis presentaban alguna anomalía endocrina o metabólica no diagnosticada, por lo que sugirieron que estas desempeñan un papel en el desarrollo de la pseudoartrosis. Las alteraciones más frecuentes son la deficiencia de vitamina D, el hipogonadismo y el hipotiroidismo(104).

3.3 CARACTERÍSTICAS DEL TRATAMIENTO

3.3.1 Inestabilidad mecánica

La pseudoartrosis puede darse tanto por un movimiento excesivo de la fractura como por una estabilidad excesiva.

Movilidad excesiva:

La pseudoartrosis hipertrófica se asocia a un movimiento significativo y puede ocurrir cuando se realiza un tratamiento conservador de la fractura con una férula inadecuada o tras un tratamiento quirúrgico donde se han utilizado sistemas de fijación inadecuados.

Estabilidad excesiva:

En cambio, una estabilidad excesiva en fracturas que no han sido reducidas correctamente también va a dar lugar a una pseudoartrosis, en este caso atrófica, ya que se pierde el estímulo mecánico para que se dé la consolidación secundaria y el espacio entre los fragmentos óseos es lo suficientemente grande como para que no se produzca la consolidación primaria(105).

3.4 NON-UNION SCORING SYSTEM

El *Non-Union Scoring System* (NUSS) es un sistema de puntuación que considera múltiples factores de riesgo relacionados con la regeneración ósea para ayudar al cirujano a predecir la complejidad de la cirugía de la pseudoartrosis(106). La escala NUSS fue propuesta en 2008 por Calori y cols. (**Figura 6**) y ha sido validada posteriormente en diferentes estudios(107–109).

Las puntuaciones se suman y se multiplican por dos, lo que da como resultado una puntuación del 0 al 100. La puntuación obtenida se utiliza para categorizar según la gravedad de la pseudoartrosis cuatro grupos. Las opciones terapéuticas que se ofrecen dependerán de que en grupo se encuentre.

The bone	Score	Max. score	The bone	Score	Max. score
Quality of the bone			The patient		
Good	0		ASA grade		
Moderate (e.g. mildly osteoporotic)	1	3	1 or 2	0	
Poor (e.g. severe porosis or bone loss)	2		3 or 4	1	1
Very poor (Necrotic, appears avascular or septic)	3		Diabetes		
Primary injury open or closed fracture			No	0	
Closed	0		Yes—well controlled (HbA1c < 10)	1	2
Open grade 1	1	5	Yes—poorly controlled (HbA1c > 10)	2	
Open grade 2–3A	3		Blood tests: FBC, ESR, CRP ^b		
Open grade 3 B–C	5		FBC: WCC > 12	1	
Number of previous interventions to procure healing ^a			ESR > 20	1	3
None	1		CRP > 20	1	
≤2	2	4	Clinical infection status		
≤4	3		Clean	0	
>4	4		Previously infected or suspicion of infection	1	4
Invasiveness of previous interventions			Septic ^c	4	
Minimallyinvasive: closed surgery (screws, k-wires, ...)	0		Drugs ^d		
Internal intra-medullary nailing	1	3	Steroids	1	
Internal extra-medullary nailing	2		NSAIDs	1	2
Any osteosynthesis which includes bone grafting	3		Smoking status ^e		
Adequacy of primary surgery			No	0	
Inadequate stability	0		Yes	5	5
Adequate stability	1	1			
Weber & Cech group					
Hypertrophic	1				
Oligotrophic	3	5			
Atrophic	5				
Bone alignment					
Non-anatomic alignment	0				
Anatomic alignment	1	1			
Bone defect—Gap					
0.5–1 cm	2				
1–3 cm	3	5			
>3 cm	5				
Soft tissues					
Status					
Intact	0				
Previous uneventful surgery, minor scarring	2	6			
Previous treatment of soft tissue defect (e.g. skin loss, local flap cover, multiple incisions, compartment syndrome, old sinuses)	3				
Previous complex treatment of soft tissue defect (e.g. free flap)	4				
Poor vascularity: absence of distal pulses, poor capillary refill, venous insufficiency	5				
Presence of actual skin lesion/defect (e.g. ulcer, sinus, exposed bone or plate)	6				

^a Including first surgical intervention

^b Scored positive if elevated within 3 months before the index procedure

^c Leucocyte score > 12.000/mm³ and an active source of infection

^d Scored positively if used for more than 5 days within 3 months before or after the index procedure, regardless of dosage

^e Scored positive up to 6 months after cessation

Figura 6: Escala NUSS de pseudoartrosis. Imagen tomada de van Basten Batenburg M, Houben IB, Blokhuis TJ. The Non-Union Scoring System: an interobserver reliability study. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*. 2019 Feb 5;45(1):13–9

4 DIAGNÓSTICO

La falta de consenso en la definición de la pseudoartrosis hace que el proceso diagnóstico sea más complejo. El tiempo de consolidación de una fractura varía dependiendo del patrón de fractura, el tipo de lesión y el estado de salud del paciente. No existe un *gold standard* para el diagnóstico, por lo que se combinarán los hallazgos clínicos y radiológicos para establecer el diagnóstico.

Exploración física

Se debe explorar tanto la extremidad involucrada como las articulaciones adyacentes. En la inspección se debe valorar la presencia de calor, cicatrices y acortamiento o alargamiento del segmento. Se debe evaluar el deterioro funcional, la movilidad de la fractura, así como el rango de movilidad de las articulaciones próximas.

Técnicas de imagen

La radiografía simple es una técnica fácilmente disponible y útil para el diagnóstico y manejo de pseudoartrosis(110). Es importante revisar las radiografías previas, tanto de la fractura como del tratamiento posterior ya que ayuda a conocer la historia de la pseudoartrosis. Se debe realizar una radiografía simple anteroposterior y lateral del lugar de la fractura incluyendo las articulaciones proximal y distal.

Se debe evaluar el lugar de la fractura buscando signos de consolidación progresiva, calidad del hueso y mala alineación. La presencia de desplazamiento y angulación implican una fijación defectuosa y una consolidación inadecuada. La aparición de líneas radiolucientes no implica necesariamente que exista una pseudoartrosis. Un ejemplo de pseudoartrosis puede verse en la **Figura 7**.

En ocasiones, la radiografía simple puede no ser suficiente para realizar el diagnóstico por lo que se pedirán otras técnicas de imagen como la tomografía axial computarizada (TAC). La TAC consigue una reconstrucción multiplanar y en 3 dimensiones de la lesión que permite detectar de forma más precisa la consolidación ósea de la fractura. La resonancia magnética nuclear (RMN) también puede ser útil en diagnóstico ya que valora el estado de las partes blandas adyacentes, la vascularización local y la presencia de infección. Las técnicas de medicina nuclear como la tomografía de emisión de positrones (PET) en combinación con la TAC y la gammagrafía ósea van a valorar la presencia de o ausencia de infección en la pseudoartrosis(111).



Figura 7: Pseudoartrosis hipertrófica en paciente con fractura diafisaria de fémur tratado con clavo endomedular. Imagen tomada de Wildemann B, Ignatius A, Leung F, Taitsman LA, Smith RM, Pesántez R, Stoddart MJ, Richards RG, Jupiter JB. Non-union bone fractures. *Nat Rev Dis Primers*. 2021 Aug 5;7(1):57

Pruebas de laboratorio

No existen parámetros analíticos que directamente ayuden en el diagnóstico de la pseudoartrosis actualmente, pero si van a ser útiles para detectar comorbilidades médicas subyacentes y anomalías endocrinas(104).

A nivel experimental, se han realizado diferentes estudios en animales para encontrar algún marcador serológico como valor predictivo de la pseudoartrosis. El principal marcador encontrado es el TGF que va a dar un pico a las dos semanas de la fractura y posteriormente van a disminuir los niveles en cuatro semanas. En los grupos que presentaban pseudoartrosis, los niveles séricos eran significativamente más bajos que en los grupos que no la presentaban(112). Se han realizado estudios similares para evaluar el valor pronóstico de la FA(113) y de las MMP(114).

Se realizan analíticas para valorar la inflamación sistémica, donde se evalúa el recuento de leucocitos, la proteína C reactiva y la viscosidad del plasma. Estos marcadores son inespecíficos por lo que su aumento no tiene por qué implicar la presencia de una infección.

En caso de sospecha de infección, se debe recoger un mínimo de 5 muestras para realizar el estudio microbiológico que deben abarcar el hueso, las partes blandas y el material purulento. Es recomendable la obtención de las muestras antes de iniciar la antibioterapia. La positividad de 2 o más muestras confirma la presencia de infección. El germen aislado más frecuentemente es el *Staphylococcus aureus*(115).

5 TRATAMIENTO

La pseudoartrosis es una patología compleja que supone un reto terapéutico para el cirujano ortopédico. El tratamiento de la pseudoartrosis va a depender del tipo particular de esta patología. En general, el tratamiento requiere una estabilización óptima de la fractura y debe proteger la vascularización. Además, el tratamiento puede apoyarse en otras terapias como el uso de injertos, biomateriales, moléculas bioactivas o células (**Figura 8**).

Los factores que afectan a la regeneración ósea de una fractura se conceptualizan en el *Diamond concept* descrito por Giannoudis y cols.(116). Inicialmente fueron 3 los factores descritos como necesarios para la reparación del hueso (concepto triangular): factores de crecimiento, *bioscaffolds* (biosoportos) y MSCs. Posteriormente, se incluyó en este concepto un cuarto factor, la estabilidad mecánica.

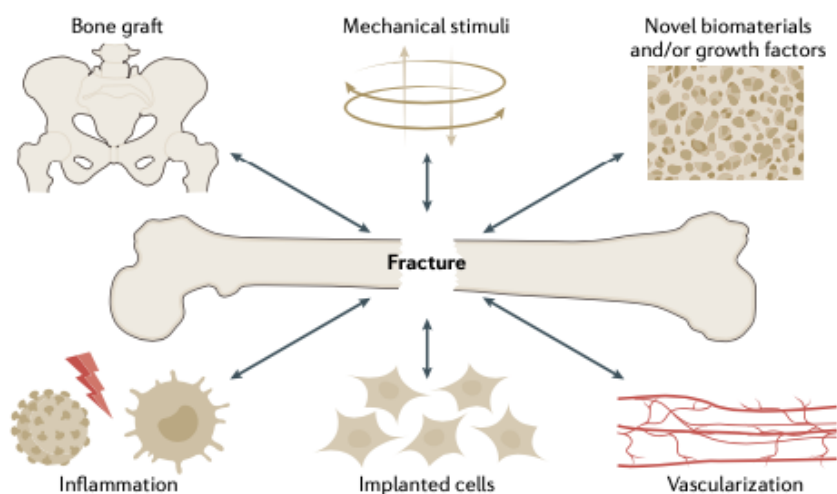


Figura 8: Esquema de los factores que intervienen en el tratamiento de la pseudoartrosis. Imagen tomada de Wildemann B, Ignatius A, Leung F, Taitsman LA, Smith RM, Pesántez R, Stoddart MJ, Richards RG, Jupiter JB. Non-union bone fractures. *Nat Rev Dis Primers*. 2021 Aug 5;7(1):57

5.1 TRATAMIENTO SEGÚN EL TIPO DE PSEUDOARTROSIS

5.1.1 Tratamiento de pseudoartrosis asépticas

Los cinco pilares del manejo de la pseudoartrosis son la optimización de factores de riesgo modificables, la alineación mecánica, la fijación estable, la estimulación mecanobiológica y la rehabilitación funcional temprana.

La base fundamental del tratamiento de la pseudoartrosis es el tratamiento quirúrgico consistente en la corrección quirúrgica de la deformidad que va a reequilibrar la tensión a lo largo del eje del hueso. La técnica quirúrgica específica para estabilizar la

pseudoartrosis debe tener en cuenta la anatomía, la localización de la pseudoartrosis y de cualquier implante previo(117).

Los principales sistemas de fijación interna de la fractura son:

- Placas de osteosíntesis: es la técnica más utilizada en las pseudoartrosis asépticas. Consisten en placas que contienen diferentes orificios a través de los cuales se colocan tornillos que se fijan al hueso confiriendo estabilidad de la fractura.
- Clavos intramedulares: está especialmente indicado en las pseudoartrosis en huesos largos de carga.

La fijación externa es otra opción para tratar pseudoartrosis cuando los pacientes son remitidos de forma tardía, presentan contracturas articulares, deformidades severas o un mal cumplimiento(118).

Si la pseudoartrosis se encuentra muy próxima a una articulación o se trata de un paciente de edad avanzada puede valorarse el reemplazo articular con el objetivo de lograr una rehabilitación funcional más rápida. En caso de que el paciente presente una desviación angular en la extremidad donde se encuentre la pseudoartrosis se necesita una osteotomía para redistribuir la tensión desequilibrada y la posterior colocación de una placa correctora(29).

En las pseudoartrosis de tipo hipertrófico en principio sería suficiente el tratamiento de fijación quirúrgica (**Figura 9**). Sin embargo, en las pseudoartrosis oligotróficas, atróficas o que presenten un gran defecto óseo va a ser necesario también el aporte de un injerto óseo ya que requieren además estimulación biológica(118). La aplicación de un injerto óseo autólogo es el *gold standard* en el tratamiento de la pseudoartrosis. Las principales propiedades que puede tener un injerto óseo son:

- Osteogenicidad: capacidad de formación ósea.
- Osteoinducción: capacidad de promover la transformación de células progenitoras en osteoblastos y que estas formen el hueso.
- Osteoconducción: matriz capaz de actuar como *bioscaffold*. Establece los puentes para conseguir la consolidación de un extremo fracturario a otro.

Los diferentes tipos de injertos son:

- Autoinjertos: presentan las tres propiedades: osteogénico, osteoinductor y osteoconductor. La cresta iliaca es la zona de elección para extraer el injerto. Las principales limitaciones son la disponibilidad limitada y la morbilidad de zona donante.
- Aloinjertos: presentan únicamente actividad osteoinductora. Se reservan para casos más complejos.

Además, se pueden añadir estimulantes biológicos para favorecer la regeneración ósea de la fractura. Esto incluye la estimulación local quirúrgica mediante la decorticación de Judet y, como se comentará posteriormente, hasta la aplicación de diversos productos biológicos.



Figura 9: Tratamiento mediante placa de osetosíntesis en pseudoartrosis hipertrófica femoral. Imagen tomada de Wildemann B, Ignatius A, Leung F, Taitzman LA, Smith RM, Pesántez R, Stoddart MJ, Richards RG, Jupiter JB. Non-union bone fractures. Nat Rev Dis Primers. 2021 Aug 5;7(1):57

Según la escala NUSS:

- En una puntuación menor de 25 las mediadas recomendables son: injerto, placa de osteosíntesis, clavo intramedular.
- En una puntuación entre 25 y 75 las mediadas recomendables son: fijación circular, injerto óseo vascularizado, colgajo libre, factores osteogénicos, transporte óseo.
- En una puntuación mayor de 75 las mediadas recomendables son: amputación(118).

5.1.2 Tratamiento de pseudoartrosis sépticas

El objetivo principal en el tratamiento de las pseudoartrosis infectadas es la esterilización del foco de fractura y la consolidación de esta, así como un manejo adecuado de las partes blandas. El proceso de tratamiento es complejo y se va a realizar en dos tiempos:

- **Primer tiempo:** en primer lugar, se realizará un desbridamiento del foco siendo todo lo agresivos que sea necesario ya que es imprescindible obtener unos márgenes limpios en los extremos óseos y en el tejido circundante. Posteriormente, se procederá a rellenar la cavidad, procedimiento que habitualmente se realiza con un cemento óseo de polimetilmetacrilato impregnado en antibiótico (normalmente gentamicina y vancomicina) durante un máximo de 10 días. Después se realizará una estabilización ósea de los extremos frecuentemente mediante un fijador externo. Esta fase se completa con la administración de antibioterapia oral durante 6 semanas específica para el germen aislado en el cultivo.

- **Segundo tiempo:** se realizará una cirugía reconstructiva del defecto óseo mediante un injerto o un transporte óseos. Si es necesario en esta fase se realizará también una cirugía reconstructiva de partes blandas(115).

5.2 NUEVOS AVANCES EN LOS TRATAMIENTOS SEGÚN PROCESOS AFECTADOS

5.2.1 *Osteogénesis y condrogénesis*

5.2.1.1 *Vía de señalización de las BMPs*

Las BMPs exógenas son el factor de crecimiento óseo más utilizado hasta la fecha. Actualmente, el uso de BMP 2 y BMP 7 (ya no disponible para uso clínico) está disminuyendo debido al elevado número de complicaciones que se han encontrado(119). Aunque suponían un avance prometedor en la activación de la formación de hueso, no existía un consenso sobre su dosificación y pauta de administración. De hecho, la sobredosificación de BMPs ha provocado que en numerosos pacientes con pseudoartrosis se hayan encontrado formaciones de hueso ectópico, inflamación, osteolisis y lesiones nerviosas(120).

Deininger y cols.(121) llevaron a cabo un estudio reciente en el cual objetivaron que el uso de un biosoporte biomimético de fibroína de seda con una dosis baja de proteína morfogénica ósea 2 recombinante humana (rhBMP-2) representa una opción prometedora para el tratamiento de las pseudoartrosis. El estudio realizado por Walsh y cols (122) demostró que la administración conjunta de rhBMP-2 y factor de crecimiento endotelial vascular recombinante humano (rhVEGF) sobre un compuesto de colágeno-hidroxiapatita fue capaz de regenerar en 4 semanas el tejido óseo *in vivo* en defectos óseos críticos. El *bioscaffold* de colágeno-hidroxiapatita secuestra rhBMP-2 y rhVEGF localmente dentro del sitio del defecto, maximizando su potencial para ejercer un efecto de acoplamiento osteogénico-angiogénico y facilitar el uso de dosis terapéuticas generales bajas.

Las BMPs se pueden utilizar junto a otros tratamientos de pseudoartrosis cuando la puntuación en la escala de NUSS es entre 25 y 75.

La regulación de la producción endógena de BMPs se cree que también puede proporcionar beneficios en el tratamiento de la pseudoartrosis. Aunque la BMP 2 es un factor importante en la regeneración de fracturas, su mecanismo de regulación mecánica es aún desconocido. El estudio realizado por Aspenberg y cols.(123) sometió a compresión mecánica a ratas con pseudoartrosis. Los autores demostraron que la tensión aumenta la producción de BMP2.

5.2.1.2 *Wnt/ β -catenina*

En los últimos años, se han estudiado diferentes puntos de la vía de señalización Wnt/ β -catenina que podrían ser útiles como tratamiento en la pseudoartrosis.

Bajada y cols.(124) demostraron en su estudio que la inhibición de DKK1 y el uso de agonistas de la vía de señalización de *Wnt* puede favorecer la formación de hueso en fracturas con pseudoartrosis.

El estudio de Liu y cols.(125) demostró que la inhibición de la esclerostina (Scl) mediante la administración sistémica de un anticuerpo monoclonal anti esclerostina en fracturas de ratas aumentó significativamente la masa y la fuerza óseas.

Se ha visto que la sobreexpresión de proteínas de unión carboxilo-terminal (CtBP) provoca una represión de múltiples genes de diferenciación en el desarrollo óseo, lo que resulta en una pseudoartrosis de la fractura. Chen y cols.(126) demostraron que la proteína NSM00158 interrumpe la función de CtBP2 y altera el ensamblaje del complejo transcripcional CtBP2-p300-Runx2, lo que podría prevenir la aparición de pseudoartrosis.

5.2.1.3 *Hormona paratiroidea*

La hormona paratiroidea (PTH) es la principal molécula reguladora de la homeostasis del calcio en el cuerpo humano. La PTH ejerce un efecto anabólico en el hueso que va a favorecer a la regeneración ósea por diferentes motivos:

- Activa la vía de señalización de la PKC que favorece la función de los osteoblastos.
- Actúa sobre factores locales (BMP, Wnts o TGF- β).
- Induce la diferenciación de MSCs a osteoblastos.

Los estudios realizados hasta el momento indican resultados prometedores en la administración de teriparatida (un análogo sintético truncado de la PTH) para aplicaciones en la pseudoartrosis. Coppola y cols.(127) demostraron que la teriparatida fue eficaz en cuatro casos de pseudoartrosis de miembros inferiores tras la fijación abierta. Yu y cols.(128) reportaron un caso de un paciente 45 años con pseudoartrosis en la tibia que había sido tratado previamente sin éxito un año antes con injerto óseo autólogo que consiguió la curación de la fractura tras la administración durante 9 meses de teriparatida.

En 2020 se realiza la primera revisión sistemática por Canintika y cols.(129) sobre la teriparatida como tratamiento de la pseudoartrosis. La revisión sugiere que se trata de un tratamiento seguro y altamente eficaz, pero son necesarios más estudios para comprobar esta hipótesis.

5.2.1.4 *Hedgehog*

La vía de señalización de Hedgehog (Hh) juega un papel fundamental en la diferenciación de diversos tipos de células durante la embriogénesis y la homeostasis tisular en humanos y ratones. Además, se ha demostrado que la inhibición farmacológica de la señalización de Hh en ratones produce en una disminución en la masa ósea, causada primordialmente por la reducción del número y la función de los osteoblastos. Por lo

que la señalización de Hh es un importante regulador positivo de la osteoblastogénesis y de la masa ósea también en la vida posnatal(130).

Mckenzie y cols.(131) llevaron a cabo un estudio que demostró que la administración sistémica de un agonista de Hh aumenta el proceso de cicatrización ósea y vascular en fracturas de ratones con alteración del proceso reparativo.

5.2.2 *Inflamación*

La fase inflamatoria aguda inicial que tiene lugar cuando se produce una fractura es beneficiosa para la curación ya que el reclutamiento de células inmunes en el foco de la fractura produce la liberación de citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento que tienen efectos beneficiosos. Sin embargo, si la respuesta inmune se mantiene en el tiempo y la inflamación se vuelve crónica, el proceso puede ser perjudicial para la reparación de la fractura. Esta respuesta inflamatoria crónica se caracteriza por una secreción continua de citocinas y otros factores que van a dar lugar a una destrucción continua de tejidos y la alteración de la homeostasis.

La modulación de las vías de señalización inflamatorias es una nueva estrategia de tratamiento prometedora para patologías con defectos en la regeneración ósea como la pseudoartrosis.

5.2.2.1 *Células inmunes*

Los macrófagos están presentes durante todas las fases del proceso reparativo, siendo una de las primeras células que migran al foco de la fractura durante la fase aguda por lo que van a ser tener una elevada importancia en la regeneración ósea. Estas células pueden adquirir distintos fenotipos con funciones pro-inflamatorias (M1) o anti-inflamatorias (M2). Este fenómeno se denomina polarización de macrófagos. El cambio de macrófagos M1, indispensables en el inicio del proceso reparativo, a macrófagos M2 va a ser un elemento clave en la regeneración ósea ya que, como se ha explicado anteriormente la reacción proinflamatoria prolongada influye negativamente en la cicatrización ósea(132).

Schlundt y cols.(133) llevaron a cabo un estudio en el que indujeron la polarización de macrófagos M1 a macrófagos M2 mediante interleucina 4 (IL 4) e interleucina 13 (IL 13) en un biosoporte de colágeno insertado en osteotomías femorales en ratas. Tanto IL 4 como IL 13 inducen una respuesta inmunitaria Th2, lo que aumenta aún más la regulación positiva de la señalización anti-inflamatoria. El autor demostró que el fenotipo de respuesta M2/Th2 favorece la formación del callo de fractura y su posterior maduración. Estos hallazgos sugieren que un número mayor de macrófagos M2 en el foco de fractura favorece el proceso de reparación ósea de fracturas, pero aún deben realizarse estudios en mayor profundidad sobre este hecho.

Los neutrófilos representan la población de células inmunes más abundante en el hematoma fracturario. Kovtun y cols.(134) llevaron a cabo un estudio en ratones que demostró que el reclutamiento y la correcta función de neutrófilos en la fase

inflamatoria después de la fractura es crucial para una correcta regeneración ósea, ya que la regeneración ósea se vio alterada después de la reducción del número de neutrófilos.

5.2.2.2 Interleucinas

Julier y cols.(135) llevaron a cabo un estudio en ratones que demostró que la inhibición local del receptor de interleucina 1 (IL 1-R1) aumenta la eficacia de los factores de crecimiento (BMP 2 y PDGF). La activación del IL 1-R1 en las células osteoformadoras, iniciada por la unión de la interleucina 1 (IL 1) a este receptor, produce una insensibilización a los factores de crecimiento y acelera el proceso de senescencia. Además, la administración de estos factores de crecimiento desencadena la liberación de IL 1 por parte de los macrófagos. Para realizar una inhibición de IL-1R1 localizada y sostenida, diseñó un antagonista de IL-1R para unirse a la matriz extracelular. Sin embargo, este hecho no se ha estudiado todavía en animales más grandes como la oveja que presenta una estructura ósea más similar a la de los humanos.

5.2.3 Osteoclastogénesis

La principal función de los osteoclastos es la resorción ósea, pero estas células promueven la diferenciación de células osteoformadoras como los osteoblastos. La inhibición de la maduración de los osteoclastos puede reducir la resorción al mismo tiempo que preserva la actividad osteoblástica y la remodelación fisiológica, por lo tanto, la manipulación de su proceso de maduración proporciona una potencial estrategia para el tratamiento de patologías óseas como la pseudoartrosis(136).

Uno de los sistemas de control de la maduración de los osteoclastos es la vía de señalización de *Notch*. La señalización de *Notch* se inicia mediante la unión de uno de los ligandos a uno de los 4 receptores de *Notch*. La unión libera la porción intracelular del receptor, que se traslada al núcleo y se une a un regulador transcripcional para desplazar a los correpresores y reclutar coactivadores. Un coactivador transcripcional importante es *Mastermind-like* (MAML) que va a servir como interfaz entre la porción intracelular del receptor y el regulador transcripcional(137).

Goel y cols.(138) investigaron sobre la inhibición de la vía de señalización *Notch* en los osteoclastos de ratón. Para realizar este estudio, inhibieron genéticamente la vía de señalización *Notch* en el linaje mieloide mediante una forma dominante negativa de proteína *mastermind-like* (dnMAML). Demostraron una menor actividad de resorción ósea mientras que se detectó tasas de formación ósea y expresión génica de osteoblastos significativamente más altas en cohortes dnMAML. Al mismo tiempo, los ratones presentaron una mayor densidad mineral ósea y callos óseos más grandes. Por lo que concluyeron que la supresión terapéutica de esta vía podría disminuir la resorción ósea sin suprimir el remodelado óseo y de esta forma favorecer a la cicatrización ósea de las fracturas.

5.3 TERAPIA CON PLASMA RICO EN PLAQUETAS

El plasma rico en plaquetas (PRP) es una estrategia de tratamiento emergente que está ganando popularidad en los últimos años ya que favorece la regeneración tisular a través de un método sencillo y rentable. Esto se debe a que las concentraciones de plaquetas autólogas permiten obtener altas concentraciones de factores de crecimiento específicos (PDGF, VEGF, IGF-I) que van a favorecer la proliferación celular, la formación de matriz, la producción de osteoide y la síntesis de colágeno(139).

El proceso de preparación de PRP comienza con la extracción de sangre del paciente, después se va a centrifugar para separar las plaquetas. El PRP se produce a partir de plasma pobre mediante la activación del mismo usando un anticoagulante. Finalmente se administra en el lugar de la pseudoartrosis (**Figura 11**).

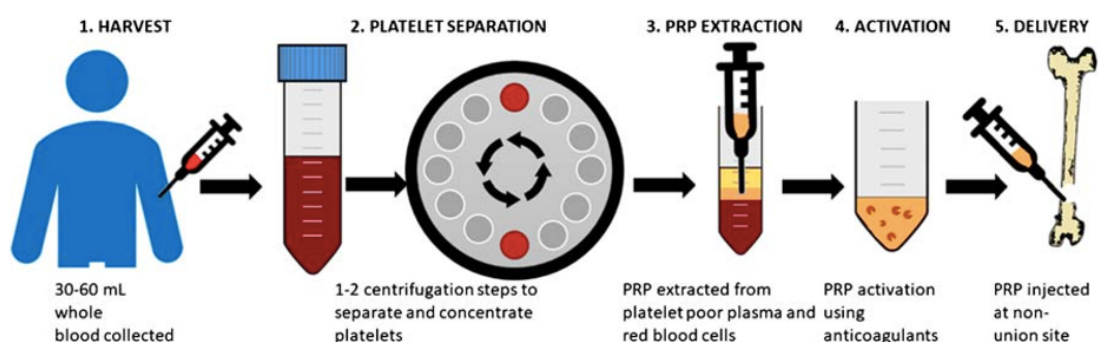


Figura 11: Esquema del proceso de preparación de PRP. Imagen tomada de Andersen C, Wragg NM, Shariatzadeh M, Wilson SL. The Use of Platelet-Rich Plasma (PRP) for the Management of Non-union Fractures. Curr Osteoporos Rep. 2021 Feb;19(1):1-14

Diferentes ensayos clínicos han investigado el efecto del PRP de forma aislada o en combinación con otras formas de tratamiento de pseudoartrosis. Varios ensayos clínicos(140,141) demostraron que el uso de PRP de forma aislada favoreció la consolidación de la fractura a los 11 meses tras la lesión o la cirugía inicial. Otros ensayos clínicos han demostrado una mayor regeneración ósea cuando el PRP se combina con el injerto óseo autólogo, las MSCs(142) o la fijación interna(143). Sin embargo, entre la literatura hay una falta de ensayos clínicos aleatorizados prospectivos sobre el uso específico de PRP en el tratamiento de pseudoartrosis. Los estudios son predominantemente series de casos o estudios preclínicos con un nivel de evidencia IV(144–146).

5.4 INGENIERÍA TISULAR

La ingeniería tisular es una especialidad de la medicina regenerativa que aúna diversos campos técnicos y científicos como la biología molecular, la medicina y la ingeniería de biomateriales. El principal objetivo de la ingeniería tisular es la reparación o sustitución de los tejidos afectados a partir de la formación *in vitro* de tejidos u órganos completamente funcionales. La ingeniería tisular basa sus principios en la combinación

de tres componentes fundamentales: las MSCs, los factores de crecimiento y los *bioscaffolds*.

5.4.1 Tipos celulares utilizados en ingeniería tisular para el tratamiento de pseudoartrosis

La terapia con MSCs resulta una terapia biológicamente prometedora en el tratamiento de la pseudoartrosis. Como se ha explicado anteriormente, las MSCs facilitan el proceso de curación de la fractura al diferenciarse en osteoblastos, al mismo tiempo que liberan factores osteogénicos y condrogénicos en su secretoma, que tienen también un efecto beneficioso. Las MSCs pueden extraerse de múltiples tejidos como son la MO, la placenta, el cordón umbilical, el tejido vascular, el tejido adiposo, el tejido cartilaginoso, el tejido endometrial, la pulpa dental, el tejido cerebral, etc.

Las MSCs obtenidas de la MO presentan un mayor potencial osteogénico que las obtenidas en otras localizaciones por lo que son las que más se utilizan en procesos de regeneración ósea. La extracción de MSCs de la MO se realiza mediante aspiración percutánea de la cresta ilíaca, la espina ilíaca superior anterior (ASIS) o de la espina ilíaca superior posterior (PSIS). Actualmente aún se trata de una terapia experimental que incluye aspirados de médula ósea (BMA) y concentrados de MO. Habitualmente, se requiere la expansión de MSCs *ex vivo* ya que estas células representan un porcentaje muy bajo de la totalidad de células de la MO y se necesita aumentar el número de células para llevar a cabo los procedimientos terapéuticos posteriores. Posteriormente se lleva a cabo una centrifugación para la concentración de células y se inyectan o implantan sin *bioscaffold*(147) (**Figura 10**).

Ismail y cols.(148) realizaron un estudio para valorar la eficacia de las MSCs en el tratamiento de pseudoartrosis atróficas en huesos largos. Para ello, dividieron a los pacientes en dos grupos: el primer grupo se trató con la combinación de 15 millones de MSCs autólogas, gránulos de hidroxiapatita 5 g/cm³ y fijación interna; y el segundo grupo o grupo control se trató con autoinjerto de cresta ilíaca, gránulos de hidroxiapatita 5 g/cm³ y fijación interna. Tras analizar los resultados, los autores concluyeron que la combinación de MSCs y gránulos de hidroxiapatita es un método seguro y eficaz para tratar la pseudoartrosis. Además, los pacientes tratados con MSCs obtuvieron mejoras radiográficas y funcionales iniciales tres meses antes que los del grupo control.

En cambio, en las pseudoartrosis hipertróficas (donde como se ha explicado anteriormente el problema es la inestabilidad mecánica y no hay un problema biológico), no se ha demostrado que la terapia con MSCs tenga un papel tan relevante en el proceso de regeneración ósea, pero puede acelerar el tiempo de consolidación al aumentar la osteogénesis(147).

Mott y cols.(149) realizaron una revisión sistemática en 2020 sobre el uso de las MSCs en la regeneración ósea. Uno de los beneficios del uso de MSCs que encontraron es la aceleración del proceso de curación. Sin embargo, la evaluación de calidad de los ensayos controlados aleatorizados y los estudios observacionales presentaban algún

sesgo o un alto riesgo de sesgo. Es por esto por lo que los autores concluyeron que no hay suficiente evidencia de alta calidad para asegurar la efectividad de las MSCs en la curación de fracturas.

El uso de MSCs modificadas genéticamente muestra una mejora de la regeneración ósea en estudios preclínicos, pero su traducción a la clínica solo podrá realizarse si se garantiza la seguridad y se minimizan los riesgos asociados a este tipo de terapia como son la transformación maligna, la respuesta inflamatoria, la fibrosis y el rechazo inmunológico(150).

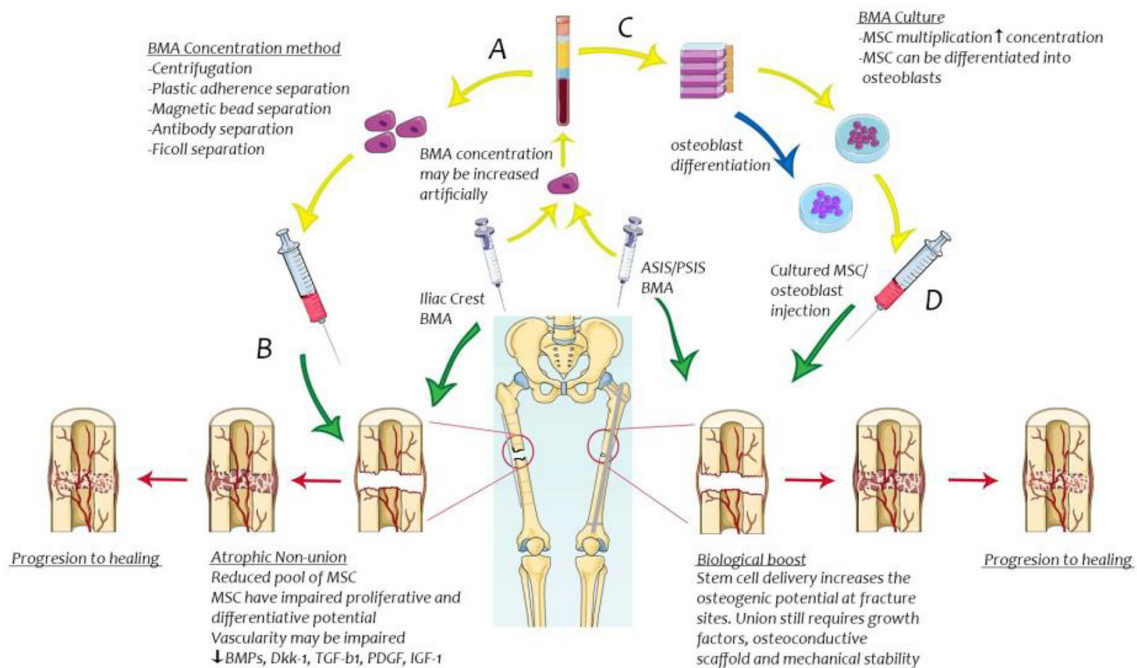


Figura 10: Esquema de las estrategias de uso del BMA en el tratamiento de una pseudoartrosis atrófica. (A) Técnica de concentración de BMA sin cultivo celular para expansión de las MSCs. (B) Aplicación del concentrado de BMA en la pseudoartrosis atrófica. (C) Las MSCs del BMA se cultivan y se diferencian en osteoblastos para inyección. (D) Terapia con MSCs/osteoblastos como refuerzo biológico a la estabilidad mecánica. Imagen tomada de Thurairajah K, Briggs GD, Balogh ZJ. Stem cell therapy for fracture non-union: The current evidence from human studies. *Journal of Orthopaedic Surgery*. 2021;29(3).

El uso de MSCs obtenidas de la MO presenta diferentes limitaciones como son las alteraciones en la potencialidad y en la capacidad de proliferación durante la expansión de las células *in vitro* y la edad del donante, dado que a mayor edad menor porcentaje de MSCs en MO y mayor diferenciación de las células hacia la estirpe adipogénica en lugar de la osteogénica(151).

Debido a estas limitaciones, se han buscado alternativas en la fuente de obtención de las MSCs para la regeneración ósea. Unas de las más esperanzadoras son las células madre derivadas del tejido adiposo (ADSC). Las ADSC se obtienen de la fracción vascular estromal del tejido adiposo hipodérmico liposucionado. Las ADSC son una fuente eficiente y más accesible de células madre multipotentes capaces de diferenciarse hacia linajes adipogénicos, osteogénicos y condrogénicos. Además, la presencia de MSCs en

el tejido adiposo es considerablemente superior a la presencia de MSCs en la MO, con lo cual se acortan también los periodos de expansión *in vitro*. Sus aplicaciones se han investigado ampliamente en múltiples campos. Smakaj y cols.(152) realizaron una revisión sistemática de la literatura que sugirió que la terapia con ADSC puede tratarse de una alternativa prometedora de la medicina regenerativa en el tratamiento de la pseudoartrosis.

5.4.2 *Biosoportes utilizados en ingeniería tisular para el tratamiento de la pseudoartrosis*

Los biosoportes son estructuras biológicas que pueden utilizarse como andamiaje para que las células asentadas en él proliferen y sean capaces de diferenciarse hasta formar un tejido completo. El biosoporte debe parecerse lo máximo posible al soporte fisiológico, la matriz extracelular. Las principales características que debe reunir para ser un biosoporte de tejido óseo son:

- Capacidad osteoconductora.
- Capacidad osteoinductora.
- Biocompatibilidad: capacidad de un material para ejercer su función sin estimular una respuesta inmune del huésped.
- Biodegradabilidad: el biosoporte debe degradarse en el momento apropiado para garantizar la remodelación ósea adecuada. Una degradación más rápida podría llevar a reacciones dañinas para el tejido, por lo que es importante considerar las tasas de degradación de los biosoportes(153).
- Bioactividad: capacidad de un material de afectar a su entorno biológico obteniendo las respuestas celulares deseadas.
- Porosidad: permite el asentamiento y la migración celular, así como el transporte de nutrientes y metabolitos. También favorece la vascularización y la producción de matriz extracelular imitando la porosidad del hueso trabecular.
- Propiedades mecánicas semejantes al hueso.

Se pueden diferenciar tres tipos de biosoportes:

- **Biocerámicas:** su característica principal es la elevada biocompatibilidad y bioactividad que presentan. El material biocerámico más utilizado es el fosfato de calcio. Entre las cerámicas de fosfato de calcio, la hidroxiapatita y el fosfato tricálcico son especialmente interesantes ya que su composición es similar a la del hueso.

La hidroxiapatita posee múltiples ventajas debido a que es el principal mineral del hueso (alta osteoinductividad), presenta además una propiedad altamente osteoconductora, es muy estable y difícil de degradar *in vivo*. La hidroxiapatita promueve la regeneración ósea a medida que el material se reabsorba con el tiempo(154). Taufik y cols.(155) realizaron recientemente un estudio que demostró que la combinación de xenoinjerto de hidroxiapatita bovina y fibrina rica en plaquetas ofrecía una cicatrización ósea efectiva en el tratamiento de defectos óseos.

- **Polímeros biodegradables:** pueden ser naturales o sintéticos:
 - Naturales: son derivados de tejidos vegetales o animales (celulosa, quitosano, colágeno). Se caracterizan por presentar una buena bioactividad y disponibilidad, afinidad celular, no toxicidad y un bajo riesgo de inducir una respuesta inmune(154).

El quitosano es un polímero de aminopolisacáridos obtenido a partir de la quitina, un compuesto químico encontrado en el exoesqueleto de crustáceos. La principal limitación es la propiedad mecánica, por lo que requiere un fuerte *cross-linking*/mezcla con otros materiales para favorecer la regeneración del tejido óseo(156). Silva da Penha y cols.(157) llevaron a cabo un estudio triple ciego donde observaron que el grupo de ratas con un biosoporte de quitosano y un 20% de *Dysphania ambrosioides* (planta nativa de América Central y del Sur que ha demostrado favorecer la regeneración de tejido óseo) presentaban un valor de formación de hueso perióstico y endóstico significativamente mayor en el intervalo de tiempo de 7 y 30 días en comparación con los otros grupos. Todavía no se han realizado ensayos en humanos para evaluar la eficacia del quitosano en el tratamiento de la pseudoartrosis. La revisión sistemática realizada por Benneti y cols(158) examinó las terapias preclínicas para prevenir y tratar la pseudoartrosis y señaló al quitosano como un agente osteogénico prometedor.
 - Sintéticos: presentan la ventaja de que sus propiedades superficiales y el grado de degradación pueden ser moduladas a través de su diseño y síntesis molecular. Los más empleados son el ácido poliláctico, el ácido poliglicólico, el ácido poliláctico-co-glicólico y la policaprolactona. La FDA ha aprobado su uso clínico para *bioscaffolds* óseos, suturas quirúrgicas y cápsulas de inyección.
- **Biomateriales compuestos:** consisten en cerámicas combinadas con polímeros por lo que presentan ventajas de ambos biosoportes al mismo tiempo(154).

La fabricación de biosoportes tradicionales presenta ciertas limitaciones como son el largo tiempo de fabricación, el uso de solventes orgánicos tóxicos y la baja reproducibilidad. Es por esto que la técnica de impresión en 3D (3 dimensiones) representa una alternativa prometedora en la ingeniería del tejido óseo recreando la anatomía del paciente. Esta terapia puede producir *bioscaffolds* que guían y favorecen la regeneración ósea, así como combinarse con otras formas de tratamiento(154).

Liu y cols.(159) realizaron un estudio donde mediante una deposición capa por capa y una tecnología de electrohilado, elaboraron un biosoporte 3D de policaprolactona con compuestos microfibrosos. El autor demostró que este biosoporte era capaz de favorecer la polarización de macrófagos, aumentando la cantidad de macrófagos M2 y la angiogénesis, lo que promueve la regeneración ósea. Una de las principales limitaciones que presentan los biosoportes en 3D es la activación de la respuesta inmune que puede llegar a impedir la correcta regeneración ósea.

5.5 TERAPIAS NO INVASIVAS

5.5.1 Estimulación eléctrica

El tratamiento de campo magnético combinado (CMF) utiliza una combinación de corriente continua y alterna para generar un patrón de onda sinusoidal de estimulación eléctrica. El mecanismo de acción exacto no se comprende claramente, pero se ha demostrado que aumenta los factores de crecimiento como IGF-II, calcitonina, IL-2, calmodulina e insulina(160).

El estudio retrospectivo realizado por Sibanda y cols. (161) mostró que la mayoría de los pacientes con pseudoartrosis tratados con CMF lograron la consolidación de la fractura en los nueve meses posteriores al tratamiento.

Adie y cols.(162) realizaron un ensayo de control aleatorizado, doble ciego, multicéntrico, comparó la estimulación con campos electromagnéticos pulsados (PEF), técnica similar a CMF, con placebo. El ensayo no mostró diferencias significativas en las tasas de consolidación ósea de los pacientes con pseudoartrosis.

La guía del Instituto Nacional para la Excelencia en Salud y Atención (NICE) de Reino Unido establece que la evidencia de la eficacia del CMF es de calidad inadecuada y, por lo tanto, debe usarse únicamente en situaciones especiales para el control clínico o la investigación(163).

Teniendo en cuentas estos resultados, podemos decir que el tratamiento con CMF es una opción de tratamiento viable para la pseudoartrosis. Además, pueden generar mejores resultados y evitar los riesgos y costos asociados con el tratamiento quirúrgico(161). Sin embargo, es necesario realizar más estudios para establecer de manera concluyente la eficacia de estos métodos.

5.5.2 Ultrasonidos de bajo pulso

Los ultrasonidos de bajo pulso (LIPUS) generan un nanomovimiento que es detectado por integrinas que convierten la onda mecánica en señalización biológica. Esto da lugar a un aumento de factores de crecimiento locales como BMPs, TGF- β y VEGF que van a favorecer la regeneración ósea(164). Este proceso se lleva a cabo a través la activación de la vía de señalización Rac 1. Los ultrasonidos ejercen una influencia *downstream* del sindecan-4 (proteoglicanos de la membrana plasmática) y de proteína kinasa C α (PKC α) para activar específicamente Rac 1(165).

Estudios recientes como el realizado por Maung y cols.(166) demuestran que los LIPUS podrían tener potencial para promover la osteogénesis en células derivadas del periostio (PDC). El estudio promovió la diferenciación de PDCs *in vitro* a través de LIPUS y se observó un aumento significativo de la actividad de la FA el día 7 y la formación de nódulos mineralizados el día 21. La estimulación con LIPUS favoreció la diferenciación osteogénica en un medio normal. Sin embargo, aumentó en mayor medida la expresión de BMP-2 y la posterior expresión de *Osterix* en un medio osteogénico.

El tratamiento LIPUS utiliza un transductor que se coloca en la superficie de la piel sobre el lugar de la pseudoartrosis durante 20 minutos una vez al día. Se trata de un ultrasonido a 1,5 MHz y pulso a 1 kHz y 30 mW/cm²(167).

El metaanálisis llevado a cabo por Leighton y cols.(168) en 2017 sobre estudios del uso de LIPUS en el tratamiento de pseudoartrosis, demostró los efectos positivos de este tratamiento en 13 estudios que incluían 1441 casos de pseudoartrosis. El metaanálisis concluye que el tratamiento con LIPUS puede ser útil en pacientes que presenten alto riesgo quirúrgico, edad avanzada, pacientes con demencia, hipertensión extrema, traumatismo extenso de tejidos blandos, ventilación mecánica, acidosis metabólica, afectación multiorgánica o coma con una tasa de éxito medio mayor del 80%.

Diferentes dispositivos de LIPUS están disponibles en la Unión Europea (*Exogen, Melmak* y *FASTerapia*) con numerosos estudios que promueven su uso como tratamiento en la pseudoartrosis(169–172).

CONCLUSIONES

- La pseudoartrosis representa una patología médica muy compleja, caracterizada por dolor y discapacidad funcional, que también tiene un impacto muy relevante en el bienestar psicosocial y económico del paciente.
- La investigación continúa ofreciendo información sobre la multitud de eventos complejos que subyacen a la curación ósea. Aún es necesaria una mayor comprensión de cuándo y por qué se compromete la cascada de regeneración ósea normal y conduce al desarrollo de pseudoartrosis.
- La predicción de la pseudoartrosis de una fractura en un paciente individual es un problema muy complejo ya que se trata de un proceso multifactorial. Se han demostrado que diferentes características de la fractura, del paciente y del tratamiento aumentan la probabilidad de desarrollar una pseudoartrosis ante una fractura.
- Se requiere una mayor investigación para determinar la sensibilidad y la especificidad de los perfiles genéticos y moleculares de los tejidos relevantes como potenciales biomarcadores para la detección de pseudoartrosis en fracturas.
- El tratamiento requiere una estabilización óptima de la fractura y se debe proteger la vascularización. Además, puede apoyarse en otras terapias como el uso de injertos, biomateriales, biológicos o células.
- La modulación de las vías de señalización inflamatorias es una estrategia de tratamiento prometedora para patologías con defectos en la regeneración ósea.
- La ingeniería tisular del tejido óseo se considera el mejor enfoque alternativo a las técnicas de injerto óseo convencionales.
- La terapia con MSCs es muy prometedora para favorecer el entorno biológico local alrededor del lugar de la fractura. Estas células presentan propiedades ideales para el tratamiento de defectos óseos y son fáciles tanto de recolectar como de expandir *in vitro*.
- Se han descrito múltiples biosoportres prometedores que, combinados con el uso de MSCs, muestran una elevada capacidad osteogénica para el tratamiento de la pseudoartrosis.
- Son necesarios más estudios para establecer de manera concluyente la eficacia de terapias no invasivas como el cambio magnético combinado para el tratamiento de la pseudoartrosis.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mis tutoras del trabajo, Flor y Ana, por ayudarme y guiarme durante todo el proceso y por animarme en todo momento. Gracias por darme la oportunidad de realizar este trabajo con vosotras, ha sido un placer.

A mi madre por ser mi mayor apoyo en la vida y la que me hace seguir adelante cada día. A mi padre por confiar siempre en mí y porque si no hubiera sido por él, no estaría escribiendo esto ahora. A mi hermano por hacerme ver que el mundo no se acaba estudiando.

A mi tía Bea por estar siempre y ser otro de mis mayores apoyos. A mi tía Amelia por ayudarme con la informática. A mis abuelas, a mi abuelo y al resto de mi familia por creer siempre en mí.

A Lucía por compartir cada día desde el principio, por convertirse en mi familia y ser la persona que más admiro. A mis amigos de la facultad por todo lo vivido.

Y a mis amigos de Santoña por acompañarme y apoyarme desde hace tantos años en todo lo que hago.

Con estas últimas líneas pongo fin no solo a un trabajo, si no a lo que ha sido mi vida estos últimos seis años. Gracias Medicina por haberme enseñado tantas cosas y haberme convertido en la persona que soy a día de hoy.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

3D: 3 dimensiones

ABVD: actividades básicas de la vida diaria

ADSC: *Adipose Derived Stem Cells*- células madre derivadas del tejido adiposo

AIN: Instituto Americano de Nutrición

AINES: antiinflamatorios no esteroideos

ASIS: *Anterior Superior Iliac Spine*- espina ilíaca superior anterior

BMA: *Bone marrow aspirate*- aspirado de médula ósea

BMP: *Bone Morphogenic Protein*- proteínas morfogénicas óseas

BMP 4: proteína morfogénica ósea 4

BMP 6: proteína morfogénica ósea 6

CALY: Calcyon

Col1A1: Colágeno tipo 1 α

COX-1: ciclooxigenasa 1

COX-2: ciclooxigenasa 2

CMF: *Combined magnetic field*- campo magnético combinado

CtBP: proteínas de unión carboxilo-terminal

CTsK: catepsina K

DKK1: proteína relacionada con *dickkpoft*

dnMAML: forma dominante negativa de proteína *mastermind-like*

DPC: *Dinamic Compression Plate*

GSK3beta: glucógeno sintasa cinasa 3beta

Hh: *hedgehog*

IGF-I: *Insuline like growth factor I*- Factor Análogo de Insulina I

IGF-II: Factor Análogo de Insulina II

IL 1 interleucina 1

IL 1-R1: receptor de interleucina 1

IL 1B: interleucina 1 beta

IL 4: interleucina 4

IL 6: interleucina 6

IL 11: interleucina 11

IL 13: interleucina 13

IMC: índice de masa corporal

FA: fosfatasa alcalina

FDA: *Food and Drug Administration*

FGF: *fibroblast growth factor*- Factor de Crecimiento de Fibroblastos

FRZ: receptor *Frizzled*

HRQOL: *Health-related quality of life*- indicadores de calidad de vida en la salud

ISPB: sialoproteína ósea

LC-DPC: *Low Contact Dinamic Compression Plate*

LIPUS: *Low-intensity pulsed ultrasound*

LPR5: receptor de lipoproteínas de baja densidad 5

MAML: *Mastermind-like*

M-CSF: Factor estimulante de colonias Macrófagos

MMP: metaloproteinasas de la matriz

MO: médula ósea

MSCs: *Mesenchimal stem cells*- célula madre mesenquimal

NFAT: factor de transcripción nuclear del linfocito T activado

NO: óxido nítrico

NOS2: óxido nítrico sintasa 2

NUSS: *Non-Union Scoring System*

OPG: osteoprotegerina

OPN: osteopontina

OR: *odds ratio*

Osx: *osterix*

PDC: células derivadas del periostio

PDGF: *Platelet-Derived Growth Factor*- Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas

PEF: campos electromagnéticos pulsados

PET: tomografía de emisión de positrones

PKC α : proteína kinasa C α

PRP: plasma rico en plaquetas

PSIS: *posterior superior iliac spine*- espina ilíaca superior posterior

PTH: hormona paratiroidea

RANK: receptor activador del factor nuclear kappa-B

RANK-L: ligando del receptor activador del factor nuclear kappa-B

rhBMP-2: proteína morfogénica ósea 2 recombinante humana

rhVEGF: factor de crecimiento endotelial vascular recombinante humano

RMN: resonancia magnética nuclear

ROS: especies reactivas de oxígeno

Runx2: factor de transcripción relacionado con Runt2

S1P: factor de la esfingosina 1-fosfato

SBU: *basic structural unit*

Scl: esclerostina

SILT3: proteína Silt Guidance Ligand 3

SF-12 MCS: SF-12 Resumen del Componente Mental

SF-12 PCS: SF-12 Resumen del Componente Físico

SOST: esclerostina

TAC: tomografía axial computarizada

TARC1: receptor de la taquiquinina

TGF- β : Factor de Crecimiento Transformante beta

TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa

VEGF: *Vascular endothelial growth factor*- factor de crecimiento endotelial vascular

Wnt: proteínas *Wingless*

Wnt10b: proteína *Wingless* 10 b

BIBLIOGRAFÍA

1. Levasseur R. Fisiología del tejido óseo. EMC - Aparato Locomotor. 2019 Jun;52(2):1–25.
2. Cuervas-Mons Cantón M, Mora Alañón Coordinador F, Igualada Blazquez C. Tejido óseo. In: Manual del residente SECOT. Madrid; 2014. p. 1–4.
3. Fernández-Tresguerres Hernández-Gil I, Angel Alobera Gracia M, del Canto Pingarrón M, Blanco Jerez L, Carlos J, Titular P. Bases fisiológicas de la regeneración ósea I. Histología y fisiología del tejido óseo. Madrid; 2005.
4. Boskey AL. Bone composition: relationship to bone fragility and antiosteoporotic drug effects. Bonekey Rep. 2013 Dec 4;2.
5. Chen X, Wang Z, Duan N, Zhu G, Schwarz EM, Xie C. Osteoblast–osteoclast interactions. Vol. 59, Connective Tissue Research. Taylor and Francis Ltd; 2018. p. 99–107.
6. Nakashima K, Zhou X, Kunkel G, Zhang Z, Deng M, Behringer RR, et al. The Novel Zinc Finger-Containing Transcription Factor Osterix Is Required for Osteoblast Differentiation and Bone Formation blasts derive from a common precursor (Fang and Hall, 1997). Chondrocytes deposit a cartilage-specific extracellular matrix, proliferate, and, in most cases, hypertrophy and die. At the same time, some of the mesenchymal Cloning of cDNA for Osterix When C2C12 skeletal muscle progenitor cells become. Vol. 108, Cell. 2002.
7. Baron R, Rawadi G. Minireview: Targeting the Wnt/ β -catenin pathway to regulate bone formation in the adult skeleton. Vol. 148, Endocrinology. 2007. p. 2635–43.
8. Mao B, Wu W, Davidson G, Marhold J, Li M, Mechler BM, et al. Kremen proteins are Dickkopf receptors that regulate Wnt/ β -catenin signalling. 2002.
9. Shu B, Zhang M, Xie R, Wang M, Jin H, Hou W, et al. BMP2, but not BMP4, is crucial for chondrocyte proliferation and maturation during endochondral bone development. J Cell Sci. 2011 Oct;124(20):3428–40.
10. Shen B, Wei A, Whittaker S, Williams LA, Tao H, Ma DDF, et al. The role of BMP-7 in chondrogenic and osteogenic differentiation of human bone marrow multipotent mesenchymal stromal cells in vitro. J Cell Biochem. 2010 Feb 1;109(2):406–16.
11. Lee JY, Yang JY, Kim SW. Bone Lining Cells Could Be Sources of Bone Marrow Adipocytes. Front Endocrinol (Lausanne). 2021 Dec 3;12.
12. Matic I, Matthews BG, Wang X, Dymont NA, Worthley DL, Rowe DW, et al. Quiescent Bone Lining Cells Are a Major Source of Osteoblasts During Adulthood. Stem Cells. 2016 Dec 1;34(12):2930–42.
13. Ono T, Nakashima T. Recent advances in osteoclast biology. Vol. 149, Histochemistry and Cell Biology. Springer Verlag; 2018. p. 325–41.
14. Sartawi Z, Schipani E, Ryan KB, Waeber C. Sphingosine 1-phosphate (S1P) signalling: Role in bone biology and potential therapeutic target for bone repair. Vol. 125, Pharmacological Research. Academic Press; 2017. p. 232–45.
15. Karthik V, Guntur AR. Energy Metabolism of Osteocytes. Vol. 19, Current Osteoporosis Reports. Springer; 2021. p. 444–51.
16. Fernández-Tresguerres Hernández-Gil I, Angel Alobera Gracia M, del Canto Pingarrón M, Blanco Jerez L, Juan Carlos R, Titular DDS P. Bases fisiológicas de la regeneración ósea II. El proceso de remodelado.

17. Yuasa M, Mignemi NA, Nyman JS, Duvall CL, Schwartz HS, Okawa A, et al. Fibrinolysis is essential for fracture repair and prevention of heterotopic ossification. *Journal of Clinical Investigation*. 2015 Aug 3;125(8):3117–31.
18. Claes L, Recknagel S, Ignatius A. Fracture healing under healthy and inflammatory conditions. Vol. 8, *Nature Reviews Rheumatology*. 2012. p. 133–43.
19. Jacobsen KA, Al-Aql ZS, Wan C, Fitch JL, Stapleton SN, Mason ZD, et al. Bone formation during distraction osteogenesis is dependent on both VEGFR1 and VEGFR2 signaling. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2008 May;23(5):596–609.
20. Teitelbaum SL. Osteoclasts: What do they do and how do they do it? In: *American Journal of Pathology*. American Society for Investigative Pathology Inc.; 2007. p. 427–35.
21. Pederson L, Ruan M, Westendorf JJ, Khosla S, Oursler MJ. Regulation of bone formation by osteoclasts involves Wnt/BMP signaling and the chemokine sphingosine-1-phosphate. 2008.
22. Kim BJ, Lee YS, Lee SY, Baek WY, Choi YJ, Moon SA, et al. Osteoclast-secreted SLIT3 coordinates bone resorption and formation. *Journal of Clinical Investigation*. 2018 Apr 2;128(4):1429–41.
23. Choy MHV, Wong RMY, Chow SKH, Li MC, Chim YN, Li TK, et al. How much do we know about the role of osteocytes in different phases of fracture healing? A systematic review. Vol. 21, *Journal of Orthopaedic Translation*. Elsevier (Singapore) Pte Ltd; 2020. p. 111–21.
24. Aragón Olaguibel Marta García López Coordinador A, Benito Martín E. Principio biológicos y mecánicos en el tratamiento de las fracturas. In: *Manual del residente SECOT*. 2014. p. 42–4.
25. Bhandari M, Guyatt GH, Swiontkowski MF, Tornetta P, Sprague S, Schemitsch EH. A Lack of Consensus in the Assessment of Fracture Healing Among Orthopaedic Surgeons. 2002;
26. Bishop JA, Palanca AA, Bellino MJ, Lowenberg DW. Assessment of compromised fracture healing. Vol. 20, *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*. 2012. p. 273–82.
27. Özkan S, Nolte PA, van den Bekerom MPJ, Bloemers FW. Diagnosis and management of long-bone nonunions: a nationwide survey. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*. 2019 Feb 5;45(1):3–11.
28. Hankenson KD, Zimmerman G, Marcucio R. Biological perspectives of delayed fracture healing. *Injury*. 2014;45(SUPPL. 2).
29. Milano G, González Coordinador A, Lópiz Y, Hospital M, San C, Madrid C(. Retardo de consolidación y pseudoartrosis. In: *Manual del residente SECOT*. 2014. p. 45–8.
30. Hak DJ, Fitzpatrick D, Bishop JA, Marsh JL, Tilp S, Schnettler R, et al. Delayed union and nonunions: Epidemiology, clinical issues, and financial aspects. *Injury*. 2014;45(SUPPL. 2).
31. Ekegren CL, Edwards ER, de Steiger R, Gabbe BJ. Incidence, costs and predictors of non-union, delayed union and mal-union following long bone fracture. *Int J Environ Res Public Health*. 2018 Dec 13;15(12).
32. Mathieu L, Bertani A, Chaudier P, Charpail C, Rongi  ras F, Chauvin F. Management of the complications of traditional bone setting for upper extremity fractures: The

- experiences of a French Forward Surgical Team in Chad. *Chir Main*. 2014;33(2):137–43.
33. Reynolds TA, Stewart B, Drewett I, Salerno S, Sawe HR, Toroyan T, et al. The Impact of Trauma Care Systems in Low-and Middle-Income Countries. *Annu Rev Public Health*. 2017;38:507–39.
 34. Zura R, Xiong Z, Einhorn T, Watson JT, Ostrum RF, Prayson MJ, et al. Epidemiology of fracture nonunion in 18 human bones. *JAMA Surg*. 2016 Nov 1;151(11).
 35. Mills LA, Aitken SA, Simpson AHRW. The risk of non-union per fracture: current myths and revised figures from a population of over 4 million adults. *Acta Orthop*. 2017 Jul 4;88(4):434–9.
 36. Tzioupis C, Giannoudis P v. Prevalence of long-bone non-unions. 2007.
 37. Jennison T, Giordmaina R, McNally M. Fibular non-union in distraction osteogenesis of the tibia. *Orthopaedics and Traumatology: Surgery and Research*. 2018 Dec 1;104(8):1249–52.
 38. Metsemakers WJ, Roels N, Belmans A, Reynders P, Nijs S. Risk factors for nonunion after intramedullary nailing of femoral shaft fractures: Remaining controversies. *Injury*. 2015 Aug 1;46(8):1601–7.
 39. Vauclair F, Goetti P, Nguyen NT v., Sanchez-Sotelo J. Distal humerus nonunion: evaluation and management. *EFORT Open Rev*. 2020;5(5):289–98.
 40. Singh A, Hao JTJ, Wei DT, Liang CW, Murphy D, Thambiah J, et al. Gustilo IIIB open tibial fractures: An analysis of infection and nonunion rates. *Indian J Orthop*. 2018 Jul 1;52(4):406–10.
 41. Brinker MR, Trivedi A, O'Connor DP. Debilitating Effects of Femoral Nonunion on Health-Related Quality of Life. *J Orthop Trauma*. 2017 Feb 1;31(2):e37–42.
 42. Bhandari M, Busse JW, Hanson BP, Leece P, Ayeni OR, Schemitsch EH. Psychological distress and quality of life after orthopedic trauma: an observational study. Vol. 51, *Can J Surg*. 2008.
 43. Kanakaris NK, Giannoudis P v. The health economics of the treatment of long-bone non-unions. 2007.
 44. Weber BG, Cech O. Pseudarthrosis: Pathophysiology, Biomechanics, Therapy and Results. New York: Grune & Stratton; 1976.
 45. Harwood PJ, Newman JB, Michael ALR. (ii) An update on fracture healing and non-union. *Orthop Trauma*. 2010 Feb;24(1):9–23.
 46. Paley D, Catagni MA, Argnani F, Villa A, Battista Bijnedetti G, Cattaneo R. Ilizarov Treatment of Tibia1 Nonunions With Bone Loss. 1989;241:146–65.
 47. Nandra R, Grover L, Porter K. Fracture non-union epidemiology and treatment. Vol. 18, *Trauma*. 2016. p. 3–11.
 48. Fisher JS, Kazam JJ, Fufa D, Bartolotta RJ. Radiologic evaluation of fracture healing. Vol. 48, *Skeletal Radiology*. Springer Verlag; 2019. p. 349–61.
 49. Hayda RA, Esterhai JL. Pathophysiology of Delayed Healing. Vol. 3558, *CLINICAL ORTHOPAEDICS AND RELATED RESEARCH* Number. Lippincott Williams & Wilkins; 1998.
 50. Uhthoff HK, Rahn BA. Healing Patterns of Metaphyseal Fractures. 1981;160.
 51. Morán Hevia M, Redondo Buil P, De Valle López Díaz M, Montes García A, Vicente Quílez M. La necrosis ósea avascular: una enfermedad con nombre y apellidos.
 52. Tian R, Zheng F, Zhao W, Zhang Y, Yuan J, Zhang B, et al. Prevalence and influencing factors of nonunion in patients with tibial fracture: Systematic review

- and meta-analysis. Vol. 15, Journal of Orthopaedic Surgery and Research. BioMed Central Ltd; 2020.
53. Ross KA, O'Halloran K, Castillo RC, Coale M, Fowler J, Nascone JW, et al. Prediction of tibial nonunion at the 6-week time point. *Injury*. 2018 Nov 1;49(11):2075–82.
 54. Taitsman LA, Lynch JR, Agel J, Barei DP, Nork SE. Risk factors for femoral nonunion after femoral shaft fracture. *Journal of Trauma - Injury, Infection and Critical Care*. 2009 Dec;67(6):1389–92.
 55. A. Combalía Aleu, S. García Ramiro, J. M. Segur Vilalta, R. Ramón Soler. Fracturas abiertas (I): evaluación inicial y clasificación. In: *Medicina Integral*. Barcelona; 2000. p. 43–50.
 56. Kim PH, Leopold SS. Gustilo-Anderson classification. Vol. 470, *Clinical Orthopaedics and Related Research*. Springer New York LLC; 2012. p. 3270–4.
 57. Reverte MM, Dimitriou R, Kanakaris NK, Giannoudis P v. What is the effect of compartment syndrome and fasciotomies on fracture healing in tibial fractures? Vol. 42, *Injury*. 2011. p. 1402–7.
 58. Hulth A. Current Concepts of Fracture Healing. In: *Clinical Orthopaedics and Related Research*. Malmö. Sweden; 1989. p. 265–84.
 59. Steinmetz S, Wernly D, Moerenhout K, Trampuz A, Borens O. Infection after Fracture Fixation. *EFORT Open Rev*. 2019 Jul 1;4:145–52.
 60. Szczesny G, Olszewski WL, Zagozda M, Rutkowska J, Czapnik Z, Swoboda-Kopeć E, et al. Genetic factors responsible for long bone fractures non-union. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2011 Feb;131(2):275–81.
 61. Dapunt U, Spranger O, Gantz S, Burckhardt I, Zimmermann S, Schmidmaier G, et al. Are atrophic long-bone nonunions associated with low-grade infections? *Ther Clin Risk Manag*. 2015 Dec 15;11:1843–52.
 62. Mills LA, Hamish A, Simpson RW. The relative incidence of fracture non-union in the Scottish population (5.17 million): a 5-year epidemiological study. *BMJ Open*. 2013;3:2276.
 63. Walsh WR, Sherman, P. HCR, Sonabend DH, Ehrlich MG. Fracture Healing in a Rat Osteopenia Model. 1997;342:218–27.
 64. Zura R, Braid-Forbes MJ, Jeray K, Mehta S, Einhorn TA, Watson JT, et al. Bone fracture nonunion rate decreases with increasing age: A prospective inception cohort study. *Bone*. 2017 Feb 1;95:26–32.
 65. Moonen L, Gorter E, Schipper I. Case report The importance of vitamin D in treatment of fracture non-union: A case report. *Nutrition*. 2021 Jul 1;87–88.
 66. Hulth A. Current Concepts of Fracture Healing. *Clinical Orthopaedics*. 1989;249:265–84.
 67. Fischer C, Nissen M, Schmidmaier G, Bruckner T, Kauczor HU, Weber MA. Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging (DCE-MRI) for the prediction of non-union consolidation. *Injury*. 2017 Feb 1;48(2):357–63.
 68. Tanner MC, Hagelskamp S, Vlachopoulos W, Miska M, Findeisen S, Grimm A, et al. Non-union treatment based on the “diamond concept” is a clinically effective and safe treatment option in older adults. *Clin Interv Aging*. 2020;15:1221–30.
 69. Dimitriou R, Carr IM, West RM, Markham AF, Giannoudis P v. Genetic predisposition to fracture non-union: A case control study of a preliminary single nucleotide polymorphisms analysis of the BMP pathway. *BMC Musculoskeletal Disord*. 2011;12.

70. Guimarães JM, do Val Guimarães IC, Duarte MEL, Vieira T, Vianna VF, Fernandes MBC, et al. Polymorphisms in BMP4 and FGFR1 genes are associated with fracture non-union. *Journal of Orthopaedic Research*. 2013 Dec 1;31(12):1971–9.
71. Sathyendra V, Donahue HJ, Vrana KE, Berg A, Fryzel D, Gandhi J, et al. Single nucleotide polymorphisms in osteogenic genes in atrophic delayed fracture-healing: A preliminary investigation. *Journal of Bone and Joint Surgery*. 2014 Aug 6;96(15):1242–8.
72. Zeckey C, Hildebrand F, Glaubitz LM, Jürgens S, Ludwig T, Andruszkow H, et al. Are polymorphisms of molecules involved in bone healing correlated to aseptic femoral and tibial shaft non-unions? *Journal of Orthopaedic Research*. 2011 Nov;29(11):1724–31.
73. McCoy TH, Fragomen AT, Hart KL, Pellegrini AM, Raskin KA, Perlis RH. Genomewide Association Study of Fracture Nonunion Using Electronic Health Records. *JBMR Plus*. 2019 Jan 1;3(1):23–8.
74. Li J, Ahmed M, Bergstrom J, Ackermann P, Stark A, Kreicbergs A. Occurrence of substance P in bone repair under different load comparison of straight and angulated fracture in rat tibia. *Journal of Orthopaedic Research*. 2010 Dec;28(12):1643–50.
75. Kristensson H, Lundén A, Nilsson BE. Fracture incidence and diagnostic roentgen in alcoholics. *Acta Orthop*. 1980;51(1–6):205–7.
76. Duckworth AD, Bennet SJ, Aderinto J, Keating JF. Fixation of intracapsular fractures of the femoral neck in young patients RISK FACTORS FOR FAILURE. *J Bone Joint Surg [Br]*. 2011;93(6):93–811.
77. Chakkalakal DA. Alcohol-induced bone loss and deficient bone repair. Vol. 29, *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2005. p. 2077–90.
78. Chakkalakal DA, Novak JR, Fritz ED, Mollner TJ, McVicker DL, Garvin KL, et al. Inhibition of bone repair in a rat model for chronic and excessive alcohol consumption. *Alcohol*. 2005 Jul;36(3):201–14.
79. Trevisiol CH, Turner RT, Pfaff JE, Hunter JC, Menagh PJ, Hardin K, et al. Impaired osteoinduction in a rat model for chronic alcohol abuse. *Bone*. 2007 Aug;41(2):175–80.
80. Torricelli P, Fini M, Giavaresi G, Rimondini L, Tschon M, Rimondini R, et al. Chronic alcohol abuse and endosseous implants: Linkage of in vitro osteoblast dysfunction to titanium osseointegration rate. *Toxicology*. 2008 Jan 14;243(1–2):138–44.
81. Lauing KL, Roper PM, Nauer RK, Callaci JJ. Acute Alcohol Exposure Impairs Fracture Healing and Deregulates β -Catenin Signaling in the Fracture Callus. *Alcohol Clin Exp Res*. 2012 Dec;36(12):2095–103.
82. Roper PM, Abbasnia P, Vuchkovska A, Natoli RM, Callaci JJ. Alcohol-related deficient fracture healing is associated with activation of FoxO transcription factors in mice. *Journal of Orthopaedic Research*. 2016 Dec 1;34(12):2106–15.
83. Walker LM, Preston MR, Magnay JL, Thomas PBM, el Haj AJ. Nicotinic Regulation of c-fos and Osteopontin Expression in Human-Derived Osteoblast-Like Cells and Human Trabecular Bone Organ Culture. 2001.
84. Sloan A, Hussain I, Maqsood M, Eremin O, El-Sheemy M. The effects of smoking on fracture healing. Vol. 8, *Surgeon*. 2010. p. 111–6.

85. Castillo RC, Bosse MJ, Mackenzie EJ, Patterson BM. Impact of Smoking on Fracture Healing and Risk of Complications in Limb-Threatening Open Tibia Fractures. Vol. 19, *J Orthop Trauma* •. 2005.
86. Mundi R, Axelrod D, Heels-Ansdell D, Chaudhry H, Ayeni OR, Petrisor B, et al. Nonunion in Patients with Tibial Shaft Fractures: Is Early Physical Status Associated with Fracture Healing? *Cureus*. 2020 Apr 12;
87. Mahajan A, Kumar N, Gupta B. Delayed tibial shaft fracture healing associated with smoking: A systematic review and meta-analysis of observational studies conducted worldwide. Vol. 18, *International Journal of Environmental Research and Public Health*. MDPI; 2021.
88. Chrastil J, Sampson C, Jones KB, Higgins TF. Postoperative opioid administration inhibits bone healing in an animal model trauma. *Clin Orthop Relat Res*. 2013;471(12):4076–81.
89. Chrastil J, Sampson C, Jones KB, Higgins TF. Evaluating the affect and reversibility of opioid-induced androgen deficiency in an orthopaedic animal fracture model. *Clin Orthop Relat Res*. 2014;472(6):1964–71.
90. Petrizzi L, Mariscoli M, Valbonetti L, Varasano V, Langhoff JD, von Rechenberg B. Preliminary study on the effect of parenteral naloxone, alone and in association with calcium gluconate, on bone healing in an ovine “drill hole” model system. *BMC Musculoskelet Disord*. 2007;8.
91. Antonova E, Le TK, Burge R, Mershon J. Tibia shaft fractures: Costly burden of nonunions. *BMC Musculoskelet Disord*. 2013;14.
92. Beck A, Krischak G, Sorg T, Augat P, Farker K, Merkel U, et al. Influence of diclofenac (group of nonsteroidal anti-inflammatory drugs) on fracture healing. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2003 Sep;123(7):327–32.
93. Murnaghan M, Li G, Marsh DR. Nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced fracture nonunion: An inhibition of angiogenesis? In: *Journal of Bone and Joint Surgery*. Journal of Bone and Joint Surgery Inc.; 2006. p. 140–7.
94. Simon AM, Manigrasso MB, O’Connor JP. Cyclo-oxygenase 2 function is essential for bone fracture healing. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2002;17(6):963–76.
95. Gerstenfeld BL, Al-Ghawas M, Alkhiary BDS Y, Cullinane DsD, KralJ E, Fitch I, et al. Selective and Nonselective Cyclooxygenase-2 Inhibitors and Experimental Fracture-Healing Reversibility of Effects After Short-Term Treatment. *J Bone Joint Surg*. 2007;114–25.
96. Hernandez RK, Do TP, Critchlow CW, Dent RE, Jick SS. Patient-related risk factors for fracture-healing complications in the United Kingdom General Practice Research Database. *Acta Orthop*. 2012;83(6):653–60.
97. Dodwell ER, Latorre JG, Parisini E, Zwettler E, Chandra D, Mulpuri K, et al. NSAID exposure and risk of nonunion: A meta-analysis of case-control and cohort studies. Vol. 87, *Calcified Tissue International*. Springer New York LLC; 2010. p. 193–202.
98. Mehallo CJ, Drezner JA, Bytowski JR. Practical Management: Nonsteroidal Antiinflammatory Drug (NSAID) Use in Athletic Injuries. 2006.
99. van Esch RW, Kool MM, van As S. NSAIDs can have adverse effects on bone healing. *Med Hypotheses*. 2013 Aug;81(2):343–6.

100. Giannoudis P v., Hak D, Sanders D, Donohoe E, Tosounidis T, Bahney C. Inflammation, bone healing, and anti-inflammatory drugs: An update. *J Orthop Trauma*. 2015;29:S6–9.
101. Ehnert S, Freude T, Ihle C, Mayer L, Braun B, Graeser J, et al. Factors circulating in the blood of type 2 diabetes mellitus patients affect osteoblast maturation - Description of a novel in vitro model. *Exp Cell Res*. 2015 Mar 15;332(2):247–58.
102. Bibbo C, Lin SS, Beam HA, Behrens FF. COMPLICATIONS OF ANKLE FRACTURES IN DIABETIC PATIENTS ORTHOPEDIC CLINICS OF NORTH AMERICA. 2001.
103. Gortler H, Rusyn J, Godbout C, Chahal J, Schemitsch EH, Nauth A. Diabetes and Healing Outcomes in Lower Extremity Fractures: A Systematic Review. *Injury*. 2018 Feb 1;49(2):177–83.
104. Brinker MR, O’connor DP, Monla YT, Earthman TP. Metabolic and Endocrine Abnormalities in Patients With Nonunions. Vol. 21, *J Orthop Trauma*. 2007.
105. Lu C, Saless N, Hu D, Wang X, Xing Z, Hou H, et al. Mechanical stability affects angiogenesis during early fracture healing. *J Orthop Trauma*. 2011 Aug;25(8):494–9.
106. Calori GM, Phillips M, Jeetle S, Tagliabue L, Giannoudis P v. Classification of non-union: Need for a new scoring system? Vol. 39, *Int. J. Care Injured*. 2008.
107. van Basten Batenburg M, Houben IB, Blokhuis TJ. The Non-Union Scoring System: an interobserver reliability study. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*. 2019 Feb 5;45(1):13–9.
108. Calori GM, Colombo M, Mazza EL, Mazzola S, Malagoli E, Marelli N, et al. Validation of the Non-Union Scoring System in 300 long bone non-unions. *Injury*. 2014 Dec 1;45(S6):S93–7.
109. Abumunaser LA, Al-Sayyad MJ. Evaluation of the Calori et al nonunion scoring system in a retrospective case series. *Orthopedics*. 2011 May;34(5).
110. Whelan DB, Bhandari M, Stephen D, Kreder H, Mckee MD, Zdero R, et al. Development of the radiographic union score for tibial fractures for the assessment of tibial fracture healing after intramedullary fixation. *Journal of Trauma - Injury, Infection and Critical Care*. 2010 Mar;68(3):629–32.
111. Gholamrezanezhad A, Basques K, Batouli A, Matcuk G, Alavi A, Jadvar H. Clinical nononcologic applications of PET/CT and PET/MRI in musculoskeletal, orthopedic, and rheumatologic imaging. Vol. 210, *American Journal of Roentgenology*. American Roentgen Ray Society; 2018. p. W245–63.
112. Zimmermann G, Muller U, Wentzensen A. The value of laboratory and the imaging studies in the evaluation of long-bone non-unions. *Int J Care Injured*. 2007;38:33–7.
113. Komnenou A, Karayannopoulou M, Polizopoulou ZS, Constantinidis TC, Dessiris A. Correlation of serum alkaline phosphatase activity with the healing process of long bone fractures in dogs. In: *Veterinary Clinical Pathology*. 2005. p. 35–8.
114. Henle P, Zimmermann G, Weiss S. Matrix metalloproteinases and failed fracture healing. *Bone*. 2005 Dec;37(6):791–8.
115. Delgado del Caño C, García López J, Rodríguez de Oya R. Pseudoartrosis séptica. Actualización en manejo y tratamiento. *Revista Española de Traumatología Laboral*. 2019 May;2(1).
116. Giannoudis P v, Einhorn TA, Schmidmaier G, Marsh D. The diamond concept-open questions. Vol. 39, *Int. J. Care Injured*. 2008.

117. Rupp M, Biehl C, Budak M, Thormann U, Heiss C, Alt V. Diaphyseal long bone nonunions — types, aetiology, economics, and treatment recommendations. Vol. 42, *International Orthopaedics*. Springer Verlag; 2018. p. 247–58.
118. Schmal H, Brix M, Bue M, Ekman A, Ferreira N, Gottlieb H, et al. Nonunion - consensus from the 4th annual meeting of the danish orthopaedic trauma society. *EFORT Open Rev*. 2020 Jan 1;5(1):46–57.
119. Cox G, Jones E, McGonagle D, Giannoudis P V. Reamer-irrigator-aspirator indications and clinical results: A systematic review. Vol. 35, *International Orthopaedics*. 2011. p. 951–6.
120. James AW, LaChaud G, Shen J, Asatrian G, Nguyen V, Zhang X, et al. A Review of the Clinical Side Effects of Bone Morphogenetic Protein-2. Vol. 22, *Tissue Engineering - Part B: Reviews*. Mary Ann Liebert Inc.; 2016. p. 284–97.
121. Deininger C, Wagner A, Heimel P, Salzer E, Vila XM, Weißenbacher N, et al. Enhanced bmp-2-mediated bone repair using an anisotropic silk fibroin scaffold coated with bone-like apatite. *Int J Mol Sci*. 2022 Jan 1;23(1).
122. Walsh DP, Raftery RM, Chen G, Heise A, O'Brien FJ, Cryan SA. Rapid healing of a critical-sized bone defect using a collagen-hydroxyapatite scaffold to facilitate low dose, combinatorial growth factor delivery. *J Tissue Eng Regen Med*. 2019 Oct 1;13(10):1843–53.
123. Aspenberg P, Basic N, Tägil M, Vukicevic S. Reduced expression of BMP-3 due to mechanical loading A link between mechanical stimuli and tissue differentiation. Vol. 71, *Acta Orthopaedica Scandinavica Award article* year. 2000.
124. Bajada S, Marshall MJ, Wright KT, Richardson JB, Johnson WEB. Decreased osteogenesis, increased cell senescence and elevated Dickkopf-1 secretion in human fracture non union stromal cells. *Bone*. 2009 Oct;45(4):726–35.
125. Liu Y, Rui Y, Cheng TY, Huang S, Xu L, Meng F, et al. Effects of Sclerostin Antibody on the Healing of Femoral Fractures in Ovariectomised Rats. *Calcif Tissue Int*. 2016 Mar 1;98(3):263–74.
126. Chen X, Zhang W, Zhang Q, Song T, Yu Z, Li Z, et al. Nsm00158 specifically disrupts the CtBp2-P300 interaction to reverse ctbp2-mediated transrepression and prevent the occurrence of nonunion. *Mol Cells*. 2020 Jun 1;43(6):517–29.
127. Coppola C, Del Buono A, Maffulli N. Teriparatide in fracture non-unions. *Transl Med UniSa*. 2015;12(8):47–53.
128. Yu W, Guo X. Teriparatide treatment of femoral fracture nonunion that autogenous bone grafting failed to heal: a case report. *Arch Osteoporos*. 2017 Dec 1;12(1).
129. Canintika AF, Dilogio IH. Teriparatide for treating delayed union and nonunion: A systematic review. Vol. 11, *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma*. Elsevier B.V.; 2020. p. S107–12.
130. Zhang L, Fu X, Ni L, Liu C, Zheng Y, You H, et al. Hedgehog Signaling Controls Bone Homeostasis by Regulating Osteogenic/Adipogenic Fate of Skeletal Stem/Progenitor Cells in Mice. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2022 Mar 1;37(3):559–76.
131. McKenzie JA, Maschhoff C, Liu X, Migotsky N, Silva MJ, Gardner MJ. ACTIVATION OF HEDGEHOG SIGNALING BY SYSTEMIC AGONIST IMPROVES FRACTURE HEALING IN AGED MICE † HHS Public Access. *J Orthop Res*. 2019;37(1):51–9.

132. Loi F, Córdova LA, Pajarinen J, Lin T hua, Yao Z, Goodman SB. Inflammation, fracture and bone repair. Vol. 86, Bone. Elsevier Inc.; 2016. p. 119–30.
133. Schlundt C, El Khassawna T, Serra A, Dienelt A, Wendler S, Schell H, et al. Macrophages in bone fracture healing: Their essential role in endochondral ossification. Bone. 2018 Jan 1;106:78–89.
134. Kovtun A, Bergdolt S, Wiegner R, Radermacher P, Huber-Lang M, Ignatius A. The crucial role of neutrophil granulocytes in bone fracture healing. Eur Cell Mater. 2016 Jul 1;32:152–62.
135. Julier Z, Karami R, Nayer B, Lu YZ, Park AJ, Maruyama K, et al. Enhancing the regenerative effectiveness of growth factors by local inhibition of interleukin-1 receptor signaling. Vol. 6, Sci. Adv. 2020.
136. Teitelbaum SL. Therapeutic implications of suppressing osteoclast formation versus function. Rheumatology (United Kingdom). 2016;55:ii61–3.
137. Kitagawa M. Review title: Notch signaling in the nucleus: roles of Mastermind-like transcriptional coactivators Downloaded from. Journal of Biochemistry Advance Access. 2015.
138. Goel PN, Moharrer Y, Hebb JH, Egol AJ, Kaur G, Hankenson KD, et al. Suppression of Notch Signaling in Osteoclasts Improves Bone Regeneration and Healing. Journal of Orthopaedic Research. 2019 Oct 1;37(10):2089–103.
139. Andersen C, Wragg NM, Shariatzadeh M, Wilson SL. The Use of Platelet-Rich Plasma (PRP) for the Management of Non-union Fractures. Vol. 19, Current Osteoporosis Reports. Springer; 2021.
140. Malhotra R, Kumar V, Garg B, Singh R, Jain V, Coshic P, et al. Role of autologous platelet-rich plasma in treatment of long-bone nonunions: a prospective study. Musculoskelet Surg. 2015 Dec 1;99(3):243–8.
141. Jiang H jiang, Tan X xiang, Ju H yang, Su J ping, Yan W, Song X gang, et al. Autologous platelet lysates local injections for treatment of tibia non-union with breakage of the nickelclad: a case report. Springerplus. 2016 Dec 1;5(1).
142. Eslaminejad B, Aghdami N, Liastani GM, Bafghi MA, Eslaminejad BM. Mesenchymal Stromal Cells Implantation in Combination with Platelet Lysate Product Is Safe for Reconstruction of Human Long Bone Nonunion Citation. Vol. 18, CELL JOURNAL(Yakhteh). 2016.
143. Mahadik DrSK, Mehta DrS, Deshpande DrS, Naik DrN. Autologous platelet injection in the treatment of long bone nonunion: A prospective interventional study. International Journal of Orthopaedics Sciences. 2018 Jul 1;4(3.2):179–83.
144. Duramaz A, Ursavaş HT, Bilgili MG, Bayrak A, Bayram B, Avkan MC. Platelet-rich plasma versus exchange intramedullary nailing in treatment of long bone oligotrophic nonunions. European Journal of Orthopaedic Surgery and Traumatology. 2018 Jan 1;28(1):131–7.
145. Tarallo L, Mugnai R, Adani R, Catani F. Treatment of the ulna non-unions using dynamic compression plate fixation, iliac bone grafting and autologous platelet concentrate. European Journal of Orthopaedic Surgery and Traumatology. 2012 Dec;22(8):681–7.
146. Eslaminejad B, Aghdami N, Liastani GM, Bafghi MA, Eslaminejad BM. Mesenchymal Stromal Cells Implantation in Combination with Platelet Lysate Product Is Safe for Reconstruction of Human Long Bone Nonunion Citation. Vol. 18, CELL JOURNAL(Yakhteh). 2015.

147. Thuraiajah K, Briggs GD, Balogh ZJ. Stem cell therapy for fracture non-union: The current evidence from human studies. *Journal of Orthopaedic Surgery*. 2021;29(3).
148. Ismail hD, Phedy P, Djaja YP, Kusnadi Y, Merlina M, Yulisa ND. Mesenchymal stem cell implantation in atrophic nonunion of the long bones. 2016;5(7).
149. Mott A, Mitchell A, Mcdaid C, Harden M, Gruppung R, Dean A, et al. Systematic review assessing the evidence for the use of stem cells in fracture healing. 2020;1(10).
150. Freitas J, Santos SG, Gonçalves RM, Teixeira JH, Barbosa MA, Almeida MI. Genetically engineered-MSC therapies for non-unions, delayed unions and critical-size bone defects. *Int J Mol Sci*. 2019 Jul 2;20(14).
151. Iaquina MR, Mazzoni E, Bononi I, Rotondo JC, Mazziotta C, Montesi M, et al. Adult Stem Cells for Bone Regeneration and Repair. Vol. 7, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. Frontiers Media S.A.; 2019.
152. Smakaj A, de Mauro D, Rovere G, Pietramala S, Maccauro G, Parolini O, et al. Clinical Application of Adipose Derived Stem Cells for the Treatment of Aseptic Non-Unions: Current Stage and Future Perspectives—Systematic Review. Vol. 23, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI; 2022.
153. Bitar KN, Zakhem E. Design Strategies of Biodegradable Scaffolds for Tissue Regeneration. *Biomed Eng Comput Biol*. 2014 Jan;6:BECB.S10961.
154. Stamnitz S, Klimczak A. Mesenchymal stem cells, bioactive factors, and scaffolds in bone repair: From research perspectives to clinical practice. Vol. 10, *Cells*. MDPI; 2021.
155. Taufik S A, Wiweko A, Yudhanto D, Rizki M, Habib P, Dirja BT, et al. Treatment of bone defects with bovine hydroxyapatite xenograft and platelet rich fibrin (PRF) to accelerate bone healing. *Int J Surg Case Rep*. 2022 Aug 1;97.
156. Zhu Y, Zhang Y, Zhou Y. Application Progress of Modified Chitosan and Its Composite Biomaterials for Bone Tissue Engineering. Vol. 23, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI; 2022.
157. Penha ES da, Lacerda-Santos R, de Medeiros LADM, Araújo Rosendo R, dos Santos A, Fook MVL, et al. Effect of chitosan and *Dysphania ambrosioides* on the bone regeneration process: A randomized controlled trial in an animal model. *Microsc Res Tech*. 2020 Oct 1;83(10):1208–16.
158. Bennett PM, Stewart SK, Dretzke J, Bem D, Penn-Barwell JG. Preclinical therapies to prevent or treat fracture non-union: A systematic review. Vol. 13, *PLoS ONE*. Public Library of Science; 2018.
159. Liu X, Chen M, Luo J, Zhao H, Zhou X, Gu Q, et al. Immunopolarization-regulated 3D printed-electrospun fibrous scaffolds for bone regeneration. *Biomaterials*. 2021 Sep 1;276.
160. Raiszadeh R, Raiszadeh K, Eaton L, Kim P, Kim C. Effectiveness of combined magnetic field bone growth stimulation on lumbar spinal fusion outcomes: a single center retrospective analysis comparing combined magnetic field to no-stimulation. *Int J Res Orthop*. 2020 Apr 22;6(3):435.
161. Sibanda V, Anazor F, Relwani J, Dhinsa BS. Outcomes of the Treatment of Fracture Non-union Using Combined Magnetic Field Bone Growth Stimulation: Experiences From a UK Trauma Unit. *Cureus*. 2022 May 18;

162. Adie S, Harris IA, Naylor JM, Rae H, Dao A, Yong S, et al. Pulsed electromagnetic field stimulation for acute tibial shaft fractures: A multicenter, double-blind, randomized trial. *Journal of Bone and Joint Surgery*. 2011 Sep 7;93(17):1569–76.
163. National Institute for Health and Care Excellence. Low-intensity pulsed ultrasound to promote healing of delayed-union and non-union fractures. 2018.
164. Naruse K, Sekiya H, Harada Y, Iwabuchi S, Kozai Y, Kawamata R, et al. Prolonged endochondral bone healing in senescence is shortened by low-intensity pulsed ultrasound in a manner dependent on COX-2. *Ultrasound Med Biol*. 2010 Jul;36(7):1098–108.
165. Mahoney CM, Morgan MR, Harrison A, Humphries MJ, Bass MD. Therapeutic ultrasound bypasses canonical syndecan-4 signaling to activate rac1. *Journal of Biological Chemistry*. 2009 Mar 27;284(13):8898–909.
166. Maung WM, Nakata H, Miura M, Miyasaka M, Kim YK, Kasugai S, et al. Low-Intensity Pulsed Ultrasound Stimulates Osteogenic Differentiation of Periosteal Cells in Vitro. *Tissue Eng Part A*. 2021 Jan 1;27(1–2):63–73.
167. Harrison A, Alt V. Low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) for stimulation of bone healing – A narrative review. *Injury*. 2021 Jun 1;52:S91–6.
168. Leighton R, Watson JT, Giannoudis P, Papakostidis C, Harrison A, Steen RG. Healing of fracture nonunions treated with low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS): A systematic review and meta-analysis. *Injury*. 2017 Jul 1;48(7):1339–47.
169. Elvey MH, Miller R, Khor KS, Protopapa E, Horwitz MD, Hunter AR. The use of low-intensity pulsed ultrasound in hand and wrist nonunions. *J Plast Surg Hand Surg*. 2020 Mar 3;54(2):101–6.
170. Chaudhry S. Low intensity pulsed ultrasound (Lipus) as a non-surgical cost effective method of managing atrophic non-union. 2019.
171. Farkash U, Bain O, Gam A, Nyska M, Sagiv P. Low-intensity pulsed ultrasound for treating delayed union scaphoid fractures: Case series. *J Orthop Surg Res*. 2015 May 20;10(1).
172. Majeed H, Karim T, Davenport J, Karski M, Smith R, Clough TM. Clinical and patient-reported outcomes following Low Intensity Pulsed Ultrasound (LIPUS, Exogen) for established post-traumatic and post-surgical nonunion in the foot and ankle. *Foot and Ankle Surgery*. 2020 Jun 1;26(4):405–11.