

Trauma

Vol 25 nº 2 Abril/Junio 2014

ISSN: 1888-6116

FUNDACIÓN MAPFRE

ÍNDICE | CONTENTS

- 63**
Sustratos electrohilados de poli(hidroxibutirato-co-hidroxihexanoato) con glicósidos para reparación de la lesión medular
Glycosides-bearing electrospun poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyhexanoate) substrates for the repair of injured spinal cord
GARCÍA-ÁLVAREZ I, DONCEL-PÉREZ E, GARCÍA-JUNCEDA E, ET AL
- 74**
Luxación palmar de la articulación metacarpofalángica del pulgar
Palmar dislocation of the metacarpophalangeal joint of the thumb
NATERA CISNEROS L, GÓMEZ M, LAMAS C, PROUBASTA I
- 77**
Estudio de los efectos de las lesiones del *labrum* acetabular en la cadera en un modelo experimental lagomorfo adulto
Study of the effects of the hip acetabular labrum damage in a rabbit animal model
GARCÍA-GÓMEZ M, ALTONAGA JR, REGUEIRO PURRIÑOS M, ET AL
- 84**
Uso de técnicas de ahorro de sangre en la artroplastia primaria de cadera y rodilla en España. Estudio FILTRO
Blood saving measures in patients undergoing primary elective hip or knee arthroplasty in Spain. The FILTRO study
PEIDRO L, LOZANO L, BASORA M
- 92**
Fractura-luxación de Lisfranc pediátrica. A propósito de dos casos
Lisfranc fractures in children. Two clinical cases
HERNAIZ ALZAMORA A, PEÑA ARANTZIBIA H, GARCÍA DE CORTÁZAR ANTOLÍN U, ET AL
- 97**
La elevada glucosa altera la respuesta anti-apoptótica del estímulo mecánico en osteocitos de ratón MLO-Y4
High glucose alters the antiapoptotic response to mechanical stimulation in MLO-Y4 osteocytic cells
MAYCAS M, BRAVO-MOLINA B, FERNÁNDEZ DE CASTRO L, ET AL
- 101**
Prevalencia de colonización y epidemiología de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en portadores nasales en los residentes de centros de larga estancia del área norte de Tenerife
Prevalence of colonisation and epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in nasal carriers in residents from long term care facilities in northern Tenerife, Canary Islands
B GÓMEZ-ALONSO, B CASTRO, Y PEDROSO, ET AL
- 108**
Control de la concentración de metilmercurio en productos pesqueros para el consumo humano mediante el empleo de polímeros de impronta molecular y de nanopartículas derivatizadas
Control of the methylmercury concentration in fish and seafood products for human consumption using molecularly imprinted polymers (MIPs) and derivatized nanoparticles
RODRÍGUEZ FERNÁNDEZ R, PEÑA VÁZQUEZ E, MOREDA PIÑEIRO A, ET AL
- 116**
Epónimos (15)
FORRIOL F



Trauma

Editor: Antonio Guzmán Córdoba.

Director: Francisco Forriol Campos.

Consejo de redacción: Javier Alonso Santos, Ángel de Benito Cordón, Jorge Sala Márquez.

Comité editorial: Mar Carreño Martínez, Antonio Delgado Lacosta, Pedro J. Delgado Serrano, Antonio Hernando de Lorenzo, Eugenio Laborda Calvo, Jesús Vaquero Crespo, Marta Zimmermann Verdejo.

Consejo asesor: Alicia Bartolomé Villar, Andrés Barriga Martín, Enrique Cáceres Palou, Pedro Cano Luis, Andrés Carranza Bencano, Purificación de Castro Lorenzo, José A. de Pedro Moro, Mariano de Prado Serrano, Francisco del Piñal Matorras, Francisco de la Gala Sánchez, José F. Fabregat Sancho, Alejandro Fernández Domingo, Jose M. Fernandez Medina, Enrique Gil Garay, Francisco Gomar Sancho, Enrique Gómez Barrena, Pedro Guillén García, Daniel Hernández Vaquero, Carmen Hernando de Larramendi y Martínez, Eduardo Hevia Sierra, Antonio Laclériga Giménez, Manuel Leyes Vence, Luis López-Durán Stern, Felipe López-Oliva Muñoz, Antonio Maestro Fernández, Fernando Marco Martínez, Manuel Mendoza López, José J. Mendoza Vera, Manuel Miranda Mayordomo, Antonio Murcia Mazón, Pedro L. Ripoll Pérez de los Cobos, Carlos Rodríguez Merchán, F. Javier Vaquero Martín, Carlos Villas Tomé.

Secretaría de redacción: Óscar Picazo Ruiz.

Dirección y redacción: FUNDACIÓN MAPFRE

Área de Salud y Prevención

Paseo de Recoletos 23, 28004 Madrid.

Tel.: (34) 915 816 419 · (34) 915 816 316.

Fax: (34) 915 818 535.

e-mail: fundacion.salud@mapfre.com

www.fundacionmapfre.com/salud

Suscripciones y atención al cliente:

FUNDACIÓN MAPFRE

e-mail: fundacion.salud@mapfre.com

Tel.: (34) 915 816 419 · (34) 915 816 316.

Edita: FUNDACIÓN MAPFRE

Ctra. de Pozuelo, 52. 28220 Majadahonda (Madrid).

Diseño y realización: Comark XXI S.L.

e-mail: direccion@comarkxxi.com

Imprime: C.G.A.

Publicación trimestral (4 números al año).

Depósito Legal: M-8907-2008.

ISSN: 1888-6116.



Incluida en la base de datos del Índice Bibliográfico
Español en Ciencias de la Salud (IBECS)

FUNDACIÓN MAPFRE

Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación, puede ser reproducida, transmitida en ninguna forma o medio electrónico o mecánico, sin la autorización por escrito del editor. FUNDACIÓN MAPFRE no se hace responsable del contenido en ningún artículo firmado por sus autores, ni el hecho de publicarlos implican conformidad o identificación con los artículos expuestos en esta publicación, los artículos únicamente reflejan las opiniones individuales de los mismos.

Los riesgos del verano

F. Forriol

Las estaciones anuales siguen su proceso y después de un frío invierno corresponde una floreciente primavera, más o menos lluviosa, para llegar a ese caluroso verano que es sinónimo de cambios de hábitos de vida. Desde los horarios, aprovechando los largos días, la vestimenta, la comida, el sueño, la vivienda y, por supuesto, las actividades. El verano tiene un algo que lo hace diferente del resto del año y aunque la mayoría lo aprovecha para desarrollar su periodo de vacaciones, es también una etapa de idas y venidas, de movimiento familiar, en grupo o independiente.

No es de extrañar que en el periodo estival preocupen los accidentes, y no solo los de tráfico. Incluso entre la población que trabaja aumentan en este periodo los accidentes laborales, muchos de los cuales se pueden explicar por las razones esgrimidas anteriormente, aunque otros responden a causas como disponer de menos personal que obliga a desarrollar nuevas tareas, menos horas de sueño y mayor ingestión de bebidas alcohólicas, entre otras. Como botón de muestra, el verano de 2013 batió el récord de accidentes laborales en las profesiones sanitarias. Se produjeron 17.704 bajas laborales, 13.250 en el lugar de trabajo y 4.454 *in itinere*, siendo 214 de ellas clasificadas graves, con nueve fallecimientos. Por su parte, la Cruz Roja realizó en el verano de 2012 un total de 147.471 acciones sanitarias, principalmente debidas a quemaduras, picaduras, esquinces, erosiones o luxaciones. Sin olvidar las 2.752 personas rescatadas del agua por riesgo de ahogamiento.

No es de extrañar que muchos estamentos lancen sus campañas de prevención para evitar accidentes veraniegos. Evidentemente, las «operaciones salida» son las más conocidas para controlar esos millones de desplazamientos que se producen en los meses de julio y agosto en España.

Pero, además, hay otros accidentes que no despiertan tanto interés mediático y, sin embargo, son también muy costosos para la sociedad y peligrosos para las personas. Especial cuidado hay que tener con los niños. Los accidentes domésticos, de ocio y tiempo libre son los más comunes y muchos se pue-

den prevenir fácilmente, como pone de manifiesto el estudio *Accidentes infantiles en la población española*, que FUNDA-CIÓN MAPFRE ha elaborado en colaboración con la Asociación Española de Pediatría de Atención Primaria (AEPAP). El niño tiene que ser y estar vigilado, sin invitarle a realizar conductas temerarias pero, a la vez, sin crearle miedos innecesarios; un niño debe aprender dónde está el peligro sin estar sobreprotegido.

Las lesiones son la principal causa de mortalidad infantil en Europa en niños mayores de un año, superior a las causadas por el cáncer o las enfermedades respiratorias. Pero, además, el 25 por ciento de los niños ingresados por accidentes tienen consecuencias en su sistema nervioso central y hay que tener en cuenta que por cada niño que fallece por una lesión en zonas de recreo o en el hogar, otros 2.000 ingresan en los servicios de urgencia o son atendidos.

En España disponemos de 2.500 horas de exposición solar, y en verano es especialmente intensa. El calor hace que la ropa disminuya y que sea necesaria una protección adecuada. Las intoxicaciones son otro aspecto a considerar en verano. Para ello, además de vigilar los alimentos y conservas que se consumen y procurar un lugar adecuado para su mantenimiento, se debe cuidar la manipulación de alimentos, el lavado de las verduras, el lavado de manos y no consumir nunca productos de origen desconocido.

Los ahogamientos son la segunda causa de accidente, después de los de tráfico, en edad infantil. Muchos se producen por los famosos «cortes de digestión», que no es otra cosa que un síncope de hidrocución producido por un cambio brusco de temperatura en el organismo, por lo que hay que evitar estos cambios bruscos de temperatura. Del mismo modo que hay que evitar los saltos y las inmersiones de cabeza en aguas de profundidad desconocida. Sin olvidar los nuevos deportes acuáticos, que causan cada vez más problemas.

Comienza el verano y, además de desear unas felices vacaciones a nuestros lectores, no nos queda más que fomentar un descanso sano. ■

Sustratos electrohilados de poli(hidroxibutirato-co-hidroxihexanoato) con glicósidos para reparación de la lesión medular

Glycosides-bearing electrospun poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyhexanoate) substrates for the repair of injured spinal cord

García-Álvarez I¹, Doncel-Pérez E¹, García-Junceda E², Fernández-Mayoralas A², Garrido L³

¹ Grupo de Química Neuro-regenerativa, Unidad Neurología Experimental, Hospital Nacional de Paraplégicos, Servicio de Salud de Castilla La Mancha (SESCAM), Toledo, España. ² Departamento de Química Biorgánica, Instituto de Química Orgánica General, CSIC, Madrid, España. ³ Departamento de Química Física, Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros, CSIC, Madrid.

Resumen

Objetivo: Obtención mediante electrohilado de fibras micro- y submicrométricas de poliésteres funcionalizadas con glicósidos que constituyen elementos estructurales de proteoglicanos, para su uso en la reparación del tejido medular.

Material y métodos: Las fibras se prepararon a partir de disoluciones de poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxihexanoato) con glicósidos sintéticos mediante electrohilado variando sistemáticamente las condiciones del proceso. La morfología de las fibras fue analizada mediante microscopía electrónica de barrido. Asimismo, se evaluó la estabilidad de la interacción entre el glicósido y la fibra en medio acuoso, y su toxicidad en cultivos de células neurales.

Resultados: La morfología de las fibras obtenidas depende principalmente de los parámetros de la disolución. En medio acuoso, el glicósido sulfatado se liberó de las fibras más lentamente que el que no tenía dicho grupo funcional. La viabilidad de las células neurales no se vio afectada por los glicósidos.

Conclusión: La preparación de microfibras alineadas de poliéster funcionalizadas con glicósidos es posible. La mayor parte del glicósido permanece retenido en las fibras sumergidas en agua después de varios días. El electrohilado es una técnica muy accesible y versátil para la fabricación de soportes en estrategias de terapia celular de lesiones medulares.

Palabras clave:

Electrohilado, sustratos anisotrópicos, polihidroxialcanoatos, glicósidos, proteoglicanos.

Abstract

Objective: Preparation of functionalized micro- and submicrofibers by electrospinning of polyesters with glycosides which are structural elements of proteoglycans, for application to the repair of spinal cord lesions.

Material and methods: Solutions of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) with synthetic glycosides were prepared varying systematically the processing conditions. Fiber morphology assessed by scanning electron microscopy. The stability of the interaction between the glycoside and the polymer fiber was evaluated in aqueous medium, and their toxicity in cultures of neural cells.

Results: The fiber morphology was altered mainly by the solution parameters. In aqueous medium, the glycoside with a sulfate group was released from fibers at slower rate than the non-sulfated glycoside. The viability of neural cells was not affected by the glycosides.

Conclusion: It is possible to fabricate aligned polyester micro fibers with glycosides. Most of the glycoside present in the fibers remains in the substrate after extraction in water for several days. Electrospinning is a very accessible and versatile technique for application to strategies of cellular therapy in spinal cord injuries

Key words:

Electrospinning, anisotropic scaffolds, polyhydroxyalkanoates, glycosides, proteoglycans.

Correspondencia

L. Garrido
Departamento de Química Física
Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros, CSIC.
Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid, España.
e-mail: lgarrido@cetef.csic.es

Introducción

La terapia con células mesenquimales pluripotenciales embrionarias y adultas (MSC) ha generado grandes expectativas en la reparación del tejido medular lesionado [1], que dependerá de su capacidad para integrarse y diferenciarse en el entorno de la médula espinal adulta. Para retener las MSC en la región de interés y favorecer una diferenciación apropiada, se ha propuesto trasplantar las células en soportes de biopolímeros o de polímeros sintéticos, en muchos casos modificados para facilitar la interacción sustrato-célula [2]. En la elección y el diseño del soporte deben considerarse diferentes factores biológicos, químicos y físicos que influyen en el comportamiento de las células madre trasplantadas.

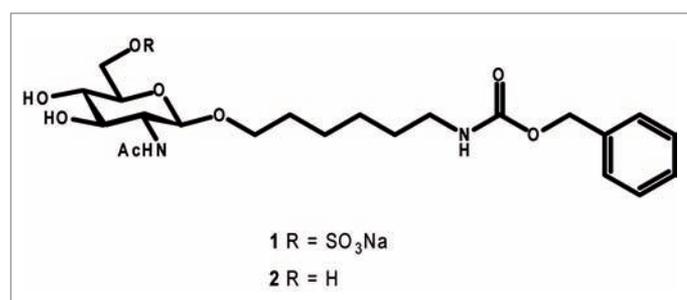
Los poliésteres sintéticos representan el mayor grupo de polímeros biodegradables, lo que ha permitido que sean empleados en medicina, ya que es posible regular la velocidad de degradación de los mismos [3]. Un ejemplo son los poli(hidroxicanoatos) (PHAs), que pueden ser mezclados con otros polímeros (naturales y sintéticos), modificados superficialmente (vía física o química) y se pueden preparar «composites» o híbridos con otro tipo de materiales o moléculas, para posteriormente ajustar sus propiedades físico-químicas y biológicas. Las numerosas posibilidades de preparar ‘a medida’ los PHAs para aplicaciones médicas han demostrado que esta clase de materiales poseen un gran futuro como materiales en ingeniería tisular [4].

En particular, se ha observado que los copolímeros PHBHHx son biocompatibles con una gran cantidad de líneas celulares, entre las que cabe destacar las neuronas [5][6], convirtiéndolo en un material muy prometedor en aplicaciones para la regeneración del tejido medular lesionado.

Considerando los factores biológicos, es deseable que un sustrato incorpore elementos que mimeticen la matriz extracelular. En el tejido nervioso los proteoglicanos constituyen un componente destacado de dicha matriz y de las superficies celulares, con funciones biológicas diversas. Es conocido que los proteoglicanos promueven el crecimiento y la diferenciación de neuronas durante el desarrollo del sistema nervioso central (SNC) [7][8]. Estas propiedades están principalmente asociadas a la cadena glucídica del glicosaminoglicano, en concreto a cadenas de polisacáridos de heparán sulfato (HS) y condroitín sulfato (CS). Con estos conocimientos, en los últimos años se ha descrito la síntesis de fragmentos de HS y CS capaces de promover el crecimiento neurítico en cultivos [9][10]. El empleo de fibras electrohiladas ha suscitado gran interés en ingeniería de tejidos [11-13] y las fibras obtenidas mediante *electrospinning* o electrohilado pueden llegar a ser

de una escala geométrica similar a la de las fibras proteicas que forman la matriz extracelular. Se ha observado que cuando se emplean fibras alineadas en cultivos de MSC neurales, se promueve la diferenciación a células con características de neuronas [14][15]. Además, en estos cultivos se observó que el crecimiento de las neuritas tenía lugar en la dirección de alineación de las fibras. La técnica de electrohilado consiste en la obtención de fibras, generalmente, a partir de una disolución de polímero (también se pueden preparar fibras a partir del estado fundido) por acción de un campo eléctrico [16] (Figura 1).

En este trabajo se describe la optimización de la preparación de fibras de PHBHHx mediante electrohilado y se discute el efecto que los diferentes parámetros tienen sobre la morfología de las fibras y la topología del sustrato obtenido. Como glicósido sulfatado se ha utilizado el derivado de N-acetil-D-glucosamina con el grupo sulfato en posición 6 (compuesto 1, Esquema 1). Con fines comparativos se ha empleado también el correspondiente glicósido no sulfatado 2. La estabilidad de la interacción entre el glicósido y el polímero se ha estudiado analizando la liberación del glicósido a lo largo del tiempo desde las fibras sumergidas en medio acuoso.



Esquema 1. Estructura química del glicósido sulfatado (1) y su homólogo no sulfatado (2) utilizados en el presente trabajo.

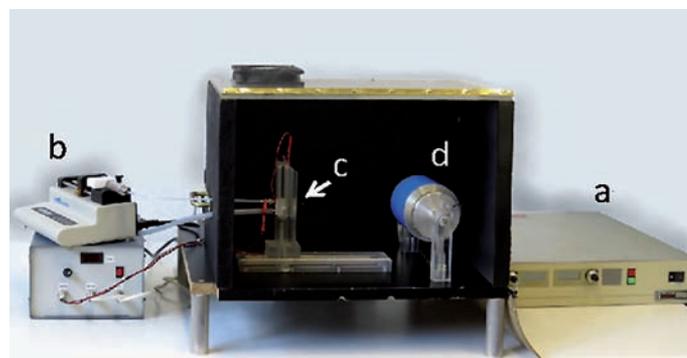


Fig. 1. Equipo de electrohilado: (a) fuente de alimentación de alto voltaje, (b) bomba de inyección, (c) aguja y (d) colector (en este caso, rotatorio).

Material y métodos

Utilizamos Poly(3-hidroxi-butirato-co-3-hidroxi-hexanoato) (PHBHHx) con una composición de 14,3% molar en 3-hidroxi-hexanoato, peso molecular M_w : 190.000 g mol⁻¹ y polidispersidad M_w/M_n : 1,47, que fue suministrado por el profesor G. Q. Chen (Universidad de Tsinghua, China) y se empleó sin purificación previa. Los disolventes empleados fueron cloroformo y diclorometano (Carlo Erba Réactifs-SdS, Val de Reuil, Francia), metanol y 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania). Los glicósidos utilizados en el estudio de optimización fueron sintetizados en el laboratorio y su procedimiento se describirá en otro trabajo.

Electrohilado

La preparación de fibras se llevó a cabo mediante electrohilado de disoluciones de PHBHHx y el glicósido de interés (2% peso glicósido/peso polímero) en una mezcla de disolventes. Generalmente, la concentración de polímero en las disoluciones varió entre 18-33% peso polímero/volumen total de disolventes. El procedimiento habitual de preparación de una disolución consistió en disolver 1 g de polímero en 5 ml de cloroformo:diclorometano (1:1), añadiendo a continuación una disolución de 20 mg de glicósido en 400 ml de isopropanol fluorado. La disolución resultante se mantuvo con agitación magnética constante durante, al menos, 12 horas antes de proceder a su electrohilado. El equipo de electrohilado utilizado, de fabricación propia, consta principalmente de una fuente de alimentación de alto voltaje (Spellman SL Serie 30kV 600 W), una aguja o capilar metálico (0,584 mm de diámetro interno) conectado al polo positivo de la fuente y un colector rotatorio (tambor de 7 cm de diámetro) conectado a tierra. Además, dispone de una bomba de infusión (KDScientific, serie 100) para controlar el flujo de disolución inyectado en el campo eléctrico. Durante el proceso de optimización de preparación de fibras, además de la composición de la disolución, se varió el flujo de disolución (de 0,1 a 1,2 ml/h), la distancia entre la punta de la aguja y el tambor (de 12 a 18 cm), la velocidad de rotación del tambor (de 500 a 1.300 r.p.m.), la posición y el tamaño de la pantalla situada detrás de la aguja y el voltaje aplicado (de 6 a 27 kV). La temperatura y humedad relativa ambiente durante el electrohilado se mantuvieron habitualmente entre 20-24° C y 21-24%, respectivamente.

Microscopía electrónica de barrido

La morfología de los sustratos preparados mediante electrohilado fue estudiada con microscopía electrónica. Brevemente, muestras de sustratos fueron recubiertas con Au/Pd y observadas en un microscopio electrónico de barrido Phi-

lips XL30 (Philips, Eindhoven, Holanda) a temperatura ambiente, utilizando los parámetros que se indican en cada fotografía.

Análisis de la estabilidad de la interacción glicósido-polímero

Para el estudio de la liberación de glicósidos desde las fibras, se cortaron discos de 14 mm de diámetro, se pesaron individualmente y se colocaron en placas de 24 pocillos. Sobre los discos se colocaron aros de teflón para mantenerlos en el fondo de los pocillos, y se añadió 1,5 mL de H₂O (MilliQ). Las muestras se incubaron a 37° C con agitación orbital (160 r.p.m.). A diferentes tiempos, se recogió el sobrenadante, se eliminó el agua por liofilización y el residuo se disolvió en MeOH o H₂O para su análisis por HPLC. Se utilizaron dos cromatógrafos de líquidos con diferentes características: Cromatógrafo A: Jasco Pu-2089 Plus, equipado con un detector de ultravioleta Jasco UV-2075 Plus y un inyector Rheodyne de 20 microL. La adquisición y el procesamiento de datos se realizaron con la aplicación Jasco ChromPass Chromatography Data System 1.8.6.1; Cromatógrafo B: Vertex P680, equipado con un detector fotodiodo array PDA-100, un compartimento para columnas termostatizado TCC-100 y un inyector Rheodyne de 20 microL. La adquisición y el procesamiento de datos se realizaron con la aplicación Chromeleon 6.60. Las muestras provenientes de los discos con el glicósido sulfatado 1. disueltas en H₂O se analizaron en el cromatógrafo A a temperatura ambiente, mientras que aquellas con el glicósido, 2. disueltas en MeOH se analizaron en el cromatógrafo B a 20° C.

Cultivo celular de neuroesferas de embriones de rata E15

Todos los experimentos realizados con animales fueron aprobados por el Comité Ético Institucional y siguieron la directiva núm. 86/609/CEE del Consejo Europeo y las recomendaciones del Departamento de Salud de EE.UU. para limitar el dolor y malestar. Las ratas Wistar gestantes fueron adquiridas a Harlan (Barcelona, España). Después de anestesiadas se les practicó cesárea para obtener embriones de 15 días (E15). El cuerpo estriado de estos embriones E15 fue diseccionado y mecánicamente dissociado a células individuales [17][18]. La suspensión celular fue incubada en medio NB27 (una mezcla de medio Neurobasal y suplemento B27 –GIBCO, Escocia, Reino Unido– conteniendo factores de crecimiento bFGF humano (10 ng/mL) y EGF humano (20 ng/ml) –PeproTech, New Jersey, EE.UU.–, L-glutamina (0.5 mM), L-glutamato (25 mM), penicilina (100 U/mL), streptomycina (0.1 mg/mL), todo de Sigma-Aldrich), y también fungizona (2.5 µg/mL; Invitrogen, Madrid, España). Después de siete días en este medio de cultivo

(llamado medio NB27) se obtuvieron neuroesferas en suspensión que fueron separadas por centrifugación a baja velocidad y lavadas con PBS y nuevamente centrifugación. Las neuroesferas fueron disociadas mediante una tripsinización moderada y perfundidas a través de una aguja (p25) para su disociación en células individuales. Este proceso se repitió cada 3-4 días para su expansión celular.

Ensayo de viabilidad

La línea celular TEG-3 de células de glia envolvente de bulbo olfativo [19] o las células disociadas de neuroesferas fueron sembradas a $1-2 \times 10^4$ células por pocillo en placas de microtitulación e incubadas en DMEM-10% Suero Fetal Bovino, FBS, (Lonza, Bruselas, Bélgica) durante 6 horas para facilitar su adherencia a la placa. El medio fue aspirado y se añadieron 100 μ l del compuesto a ensayar diluido en DMEM-2% FBS. Se ensayaron, al menos, tres réplicas por variante experimental. La viabilidad de las células fue determinada a las 48 horas mediante un *kit* de ensayo de proliferación (Vybrant MTT Proliferation Assay Kit, Molecular Probes, Leiden, Holanda) siguiendo las instrucciones del fabricante. Los cambios de absorbancia a 570 nm fueron detectados en un espectrofotómetro (Ultra384, Tecan).

Ensayo de inhibición de la proliferación

La inhibición fue calculada mediante la fórmula (% inhibición) = $100 - 100[(X - B)/(A - B)]$ (1), donde A es el valor de absorbancia que corresponde a células mantenidas en DMEM+2% FBS (control de máxima proliferación); B es el valor de absorbancia del medio de cultivo (control de mínima proliferación); y X corresponde a los valores de absorbancia en células tratadas con los inhibidores [20]. Las curvas de dosis respuesta de % inhibición *vs* concentración fueron obtenidas por triplicado y las curvas sigmoideas obtenidas son mostradas. El procesamiento de los datos se realizó con los programas Microsoft Excel para Windows XP y GraphPad Prism, versión 4.

Cultivo de células sobre sustratos sintéticos

Los sustratos sintéticos a ensayar fueron esterilizados previamente mediante radiación UV en una campana de flujo laminar y en las placas de cultivo celular a utilizar (24-wells plate, Costar™). Los sustratos fueron inmovilizados en los pocillos con anillos de teflón (Figura 2), posteriormente se añadieron 500 μ L de neuroesferas resuspendidas en medio NB27 más 10% FBS. La adhesión y diferenciación celular de las neuroesferas fue seguida por microscopía de *time-lapse* en contraste de fase (Leica DMI 6000B) durante 48 horas.

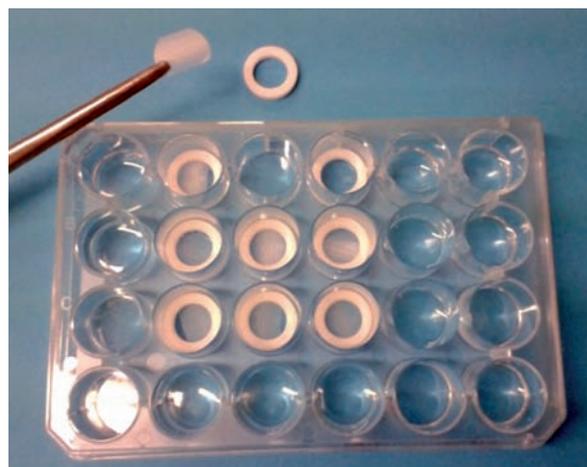


Fig. 2. Placa de cultivo con anillos de teflón para inmovilizar los sustratos de PHBHH.

Resultados

La obtención de fibras por electrohilado de disoluciones de polímero depende de factores intrínsecos del proceso y de la disolución, que son interdependientes y que para alcanzar el éxito obligan, generalmente, a encontrar un compromiso entre los valores que se les asignan, como se ha anticipado en la introducción. Además, en nuestro caso, la fabricación de sustratos miméticos de la matriz extracelular del SNC para reparar o regenerar la médula lesionada requiere fibras alineadas y formulaciones complejas con factores sintéticos y biológicos capaces de promover localmente una respuesta celular adecuada. Esto conlleva la preparación de mezclas homogéneas de compuestos que presentan propiedades dispares en disolución, haciendo necesaria la utilización de combinaciones de disolventes apropiados para cada componente y, al mismo tiempo, miscibles. Así, en la optimización de la fabricación de fibras uniformemente funcionalizadas y orientadas de PHBHHx se estudió la influencia en la morfología de las fibras de los siguientes factores: 1) disolventes, 2) concentración, 3) carga libre, 4) uniformidad y magnitud del campo eléctrico, y 5) variación de flujo de disolución.

1. Influencia de los disolventes

La preparación de mezclas homogéneas de PHBHHx y glicósidos requiere combinar disolventes con diferente polaridad y, consecuentemente, diferentes propiedades eléctricas. La Figura 3 muestra tres ejemplos de fibras de PHBHHx obtenidas en las mismas condiciones pero utilizando mezclas de disolventes con distintas constantes dieléctricas (Tabla 1). Se observa que solo es necesario añadir pequeñas cantidades de disolventes con valores de constante dieléctrica altos para aumentar el número de ramificaciones que presentan las fibras. También se observa una tendencia de las fibras a for-

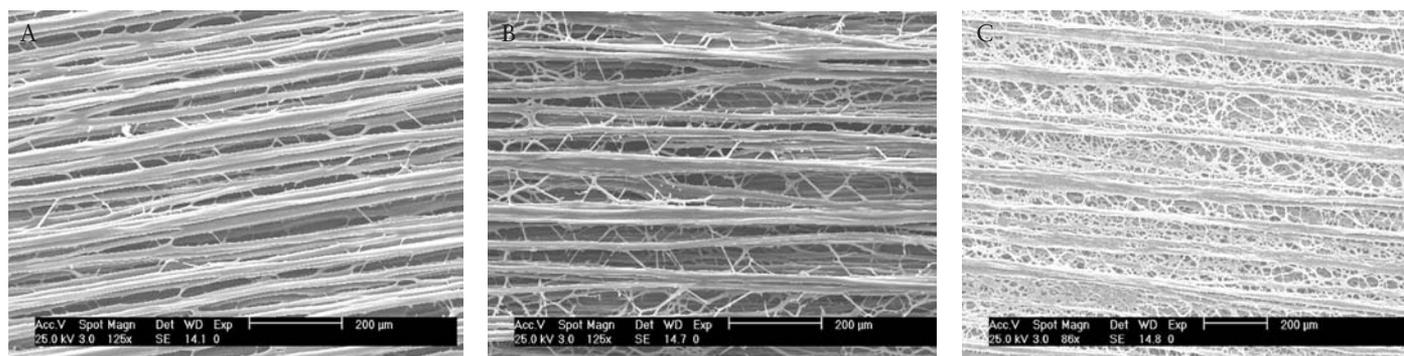


Fig. 3. Imágenes de microscopía electrónica de barrido correspondientes a fibras de PHBHHx preparadas a partir de disoluciones al 23,5% (p polímero/v disolventes) en: A) Cl_3CH (0,48)/ Cl_2CH_2 (0,48)/ $(\text{CF}_3)_2\text{CHOH}$ (0,04); B) Cl_3CH (0,48)/ Cl_2CH_2 (0,48)/ CH_3OH (0,04), y C) Cl_3CH (0,463)/ Cl_2CH_2 (0,463)/ CH_3OH (0,037)/ DMSO (0,037). La velocidad de flujo (0,2 ml/h), la distancia entre la punta de la aguja y el colector (16 cm) y la velocidad de rotación del tambor (1.200 rpm) se mantuvieron constantes. El voltaje aplicado varió ligeramente; A) 14,9 kV, B) 11,9 kV, y C) 11,4 kV. La adición de disolventes con un valor de constante dieléctrica alta favorece la ramificación de las fibras aunque disminuye ligeramente el campo eléctrico aplicado.

Tabla 1. Propiedades de los disolventes utilizados

Disolvente	Fórmula	Densidad (g/cm ³)	Punto de ebullición (°C)	Constante dieléctrica
Cloroformo	Cl_3CH	1,498	61,7	4,8
Diclorometano	Cl_2CH_2	1,326	39,8	9,1
Isopropanol fluorado	$(\text{CF}_3)_2\text{CHOH}$	1,596	58,2	17,8
Metanol	CH_3OH	0,791	64,6	32,6
Sulfóxido de dimetilo	$(\text{CH}_3)_2\text{OS}$	1,092	189	47

mar agrupaciones discretas (cordones) con una separación entre ellas que se incrementa con el aumento de la constante dieléctrica de los disolventes empleados.

2. Influencia de la concentración de polímero

En la Figura 4 se muestra el efecto de la concentración del

polímero en la morfología de las fibras, observándose un incremento en el número de fibras no orientadas al aumentar la concentración de PHBHHx de 24 a 28% peso polímero/volumen disolventes. Los valores correspondientes al resto de parámetros involucrados en el proceso se mantuvieron constantes.

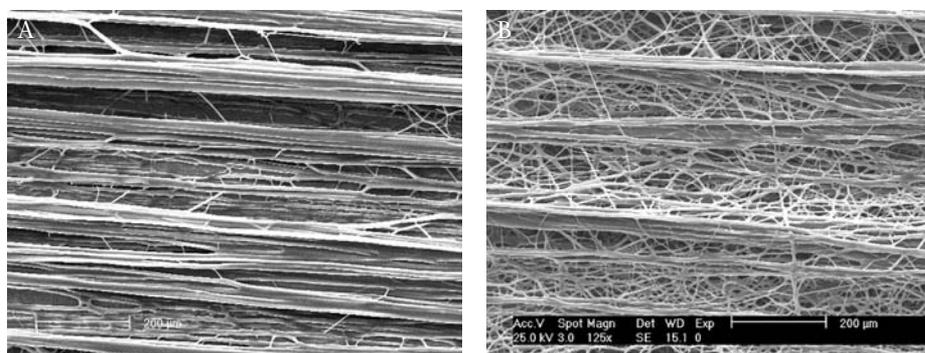


Fig. 4. Microscopía electrónica de barrido correspondientes a fibras de PHBHHx con glucósido 2 (2% p glucósido/p polímero) preparadas a partir de disoluciones en Cl_3CH (0,47)/ Cl_2CH_2 (0,47)/ CH_3OH (0,06) con A) 24, y B) 28% p polímero/v disolventes. La velocidad de flujo (0,2 ml/h), la distancia entre la punta de la aguja y el colector (16 cm) y la velocidad de rotación del colector (1.200 r.p.m.) se mantuvieron constantes. El voltaje aplicado fue A) 11,6 kV, y B) 12,2 kV.

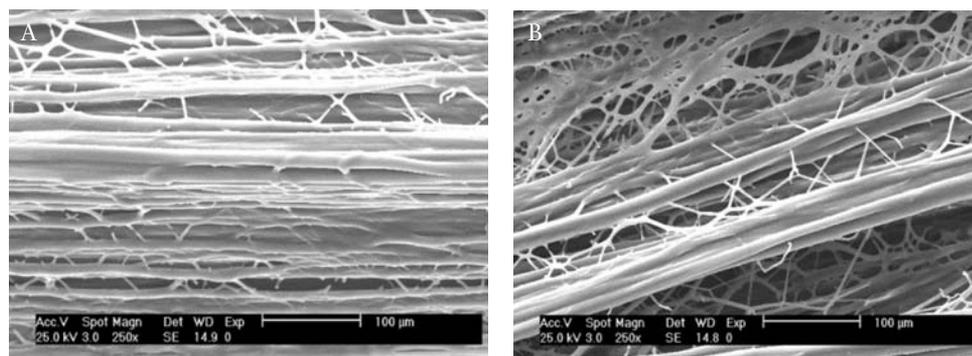


Fig. 5. Microscopía electrónica de barrido correspondiente a fibras de PHBHHx preparadas a partir de disoluciones al 23,5% p polímero/v disolventes con un 2% p glicósido/p polímero: A) glicósido 2, y B) glicósido sulfatado 1. En los dos casos se utilizaron las mismas condiciones de electrohilado. La muestra en A) no tiene carga libre, mientras que en B) tiene una carga libre de 7 mEq.

3. Influencia de las cargas libres

La presencia de cargas libres en la disolución aumenta la inestabilidad (zigzag) del hilo de disolución; consecuentemente, se deposita un mayor número de fibras de forma caótica o desordenada, aunque es posible observar un alineamiento de conjuntos de fibras (cordones), con mayor o menor número de fibras fusionadas parcialmente, según se muestra en la Figura 5.

4. Influencia del campo eléctrico

La uniformidad y magnitud del campo eléctrico aplicado durante el electrohilado juegan un papel importante, particularmente en lo que concierne al alineamiento de las fibras. Así, se puede mejorar la uniformidad del campo eléctrico colocando una pantalla detrás de la aguja o capilar utilizado para generar el hilo de disolución, conectada al mismo potencial que la aguja. La Figura 6 muestra cómo la dispersión de la deposición de fibras se reduce con la colocación de una pantalla a 2,5 cm detrás de la punta de la aguja y cómo un aumento de la longitud de la pantalla en relación a la del colector reduce aún más el ancho de la deposición. La pantalla obliga a aumentar el potencial aplicado para conseguir que el flujo de disolución se proyecte sobre el colector. Así, el valor del potencial aplicado varía de 5,6 kV sin pantalla a 12,7 kV con pantalla. Generalmente, el uso de una pantalla contribuye a mejorar el alineamiento de las fibras al limitar la oscilación de la fibra en su trayectoria hacia el colector. No obstante, una reducción excesiva en anchura de la región de deposición de las fibras impide parcialmente la evaporación efectiva del disolvente o disolventes y favorece la fusión de fibras, alterando su topología, como se muestra en la Figura 7. Por otra parte, y en igualdad de condiciones, un aumento en

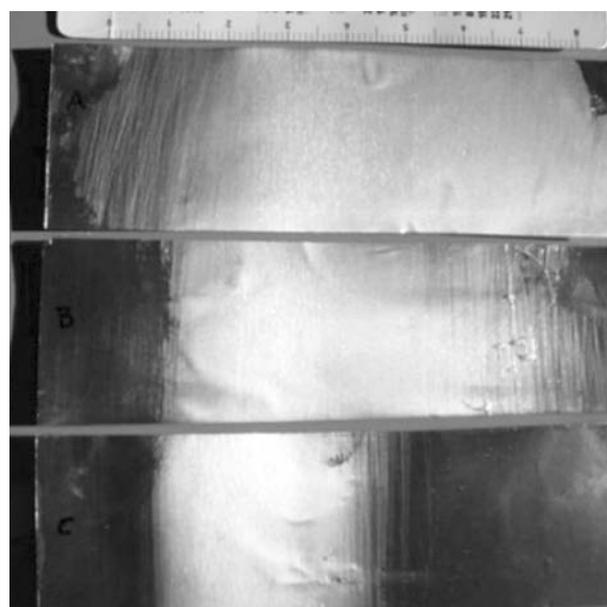


Fig. 6. Efecto de una pantalla situada detrás (2,5 cm) de la punta de la aguja sobre la dispersión de las fibras en el colector: sin pantalla (muestra superior), con pantalla de longitud inferior a la longitud del tambor (muestra central), y con pantalla de longitud similar a la longitud del tambor (muestra inferior). En el último caso, se consigue una mejor definición del campo eléctrico en el volumen determinado por la pantalla/aguja y el colector, favoreciendo la deposición de fibras en una zona más estrecha (~3 cm) comparado con la ausencia de pantalla (~8 cm). En los tres casos se empleó una disolución de PHBHHx en Cl_3CH (0,28)/ Cl_2CH_2 (0,66)/ $(\text{CF}_3)_2\text{CHOH}$ (0,06) al 20% p polímero/v disolventes. Las condiciones de electrohilado fueron: velocidad de flujo 0,2 ml/h; distancia aguja-colector 16 cm, y velocidad de rotación del colector 1.200 rpm. El voltaje aplicado fue de 5,6 kV (muestra superior), 8,7 kV (muestra central) y 12,7 kV (muestra inferior).

la magnitud del campo eléctrico contribuye a aumentar el zigzag del flujo de disolución y favorece la deposición desordenada de fibras sobre el colector (Figura 8).

5. Influencia de la variación de flujo

La Figura 9 muestra el efecto de un aumento en la velocidad de flujo de 0,9 a 1,2 ml/h, manteniendo constante el resto de las variables del proceso. El aumento de velocidad conduce a la pérdida de alineamiento de las fibras y formación de esferas (perlas) más o menos deformadas (elipsoides).

La estabilidad de la interacción entre el glicósido y el polímero se evaluó mediante la determinación por HPLC de la cantidad de glicósido liberado a lo largo del tiempo desde la fibra sumergida en agua (Figura 10).

Después de siete días, un $4 \pm 0,2\%$ del glicósido 1 se liberó de los sustratos, frente a un $75 \pm 2\%$ de liberación observado para el glicósido 2. El glicósido sin sulfato 2 se liberó por

completo después de nueve días. Tras la extracción con $H_2O/MeOH$ (1:1) de los discos con glicósido sulfatado, se obtuvo aproximadamente el 50% de 1, lo que confirma que éste queda retenido en el sustrato y que está altamente integrado con el poliéster, ya que se libera muy lentamente al medio acuoso y no se extrae por completo con $H_2O/MeOH$.

I Discusión

A diferencia de la técnica de electrodispersión (*electrospray*), que también utiliza campos eléctricos para la obtención de recubrimientos mediante la deposición sobre una superficie conductora de gotas de una disolución diluida de polímero, en electrohilado se obtienen fibras cuando se utilizan disoluciones suficientemente viscosas que permiten una deformación viscoelástica de las mismas sin pérdida de continuidad (formación de gotas) hasta su deposición en el colector. Este colector puede ser estático o dinámico, con

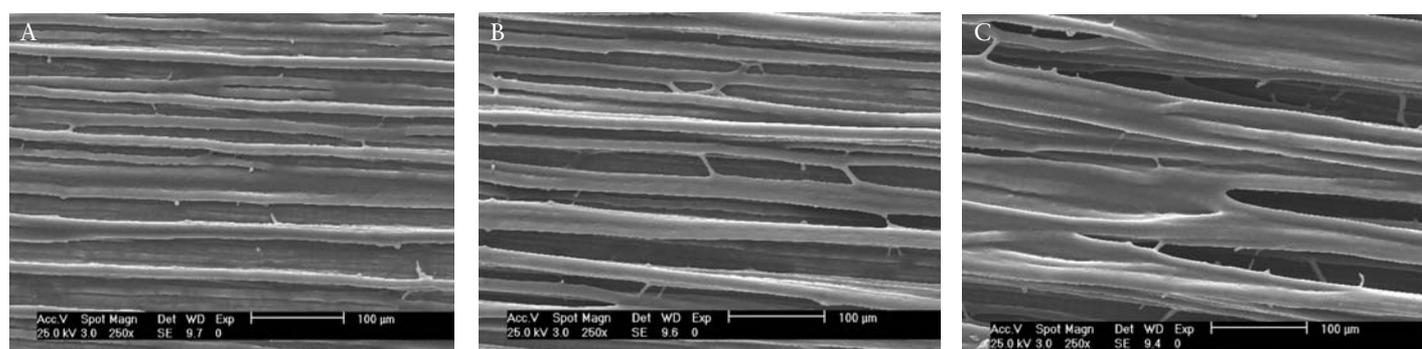


Fig. 7. Microscopía electrónica de barrido correspondiente a las muestras descritas en Figura 6, que ilustran la influencia de la presencia y el tamaño de una pantalla situada 2,5 cm detrás de la punta de la aguja que forma el hilo de disolución en el campo eléctrico: A) sin pantalla, y con B) pantalla de 13 x 16 cm² y C) pantalla de 13x18 cm². La fusión de las fibras de PHBHHx es más notable en la Figura C que en A o B.

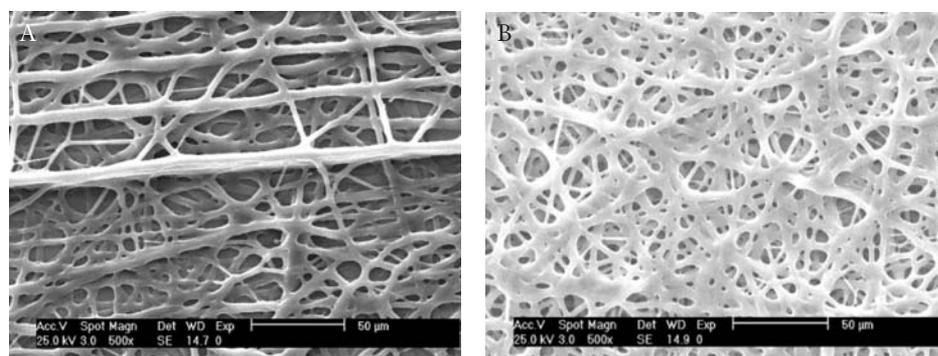


Fig. 8. Microscopía electrónica de barrido correspondiente a fibras de PHBHHx con octil N-acetil-β-D-glucosaminido (2% p glicósido/p polímero) en Cl_3CH/CH_3OH al 26% p polímero/v disolventes. El campo eléctrico aplicado fue: A) 0,53 kV/cm, y en B) 1,0 kV/cm. Las velocidades de flujo y rotación del colector se mantuvieron constantes, 0,9 ml/h y 610 rpm, respectivamente. El aumento del valor del campo eléctrico contribuye a un aumento de la inestabilidad del hilo y a la deposición caótica de las fibras sobre el colector.

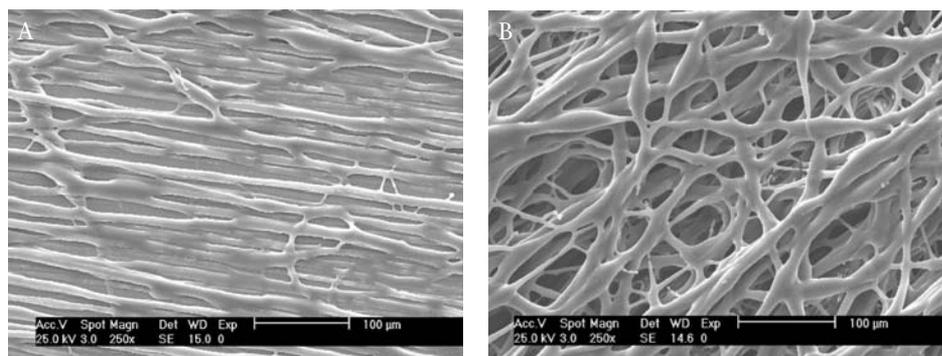


Fig. 9. Microscopía electrónica de barrido correspondiente a fibras de PHBHHx preparadas a partir de una disolución en clorformo, 26% p polímero/v disolvente, con una velocidad de flujo de: A) 0,9 ml/h, y B) 1,2 ml/h. Las restantes condiciones de electrohilado no se cambiaron, siendo la distancia entre la punta de la aguja y el colector de 15 cm, la velocidad de rotación del colector igual a 610 rpm y el voltaje aplicado de 9,9 kV.

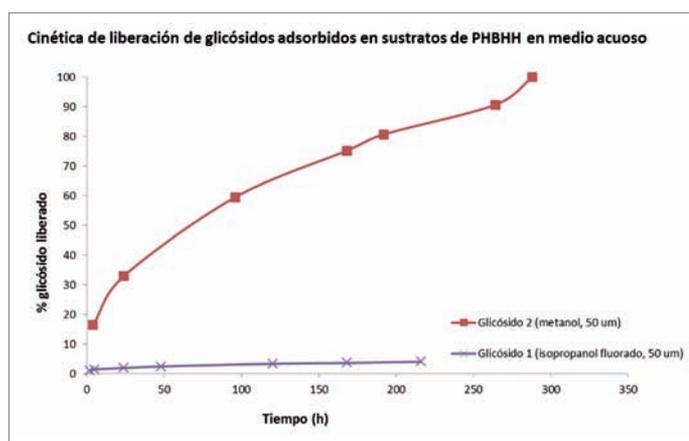


Fig. 10. Cinética de liberación en medio acuoso de glicósidos en sustratos de PHBHHx.

movimientos rotacional y transversal [13]. Los colectores dinámicos permiten la obtención de fibras orientadas. No obstante, también es posible la preparación de sustratos con fibras orientadas utilizando un colector bipolar estático con una separación entre polos de unos pocos centímetros [13][16]. Asimismo, se pueden alinear fibras realizando la deposición en presencia de un campo magnético transversal al campo eléctrico [21][22].

Según se deduce de lo indicado anteriormente, el diámetro y morfología de las fibras resultantes dependen de varios factores que pueden agruparse en dos categorías: los parámetros del proceso y los parámetros de la disolución [11]. Los primeros incluyen el campo eléctrico (relación entre el voltaje aplicado y la distancia entre la aguja y el colector), el flujo de disolución del polímero y, en cierta medida, la velocidad de rotación del colector. En los parámetros intrínsecos de la disolución se incluyen la densidad,

el punto de ebullición y la constante dieléctrica del disolvente, el tipo y peso molecular del polímero, y la viscosidad, la tensión superficial y la conductividad de la disolución. Además, las condiciones ambientales de temperatura y humedad afectan al desarrollo del proceso y a las características finales de las fibras. Los parámetros citados están interrelacionados y la variación de uno de ellos conlleva una modificación de los valores de otro u otros parámetros para obtener un resultado adecuado a la prestación de interés. Así, por ejemplo, se ha observado que al aumentar el voltaje aplicado el diámetro de las fibras al principio decrece y luego aumenta. También se incrementa el diámetro de las fibras al aumentar el flujo de la disolución del polímero y con el incremento de la concentración del polímero. Por otra parte, el diámetro de la fibra decrece conforme aumenta la distancia entre la aguja y el colector. En general, la preparación de sustratos con fibras alineadas demanda condiciones de electrohilado mucho más restrictivas que las utilizadas para la producción de sustratos con fibras dispuestas de forma aleatoria y, frecuentemente, es necesario alcanzar un compromiso entre las variables que intervienen en el proceso para conseguir el objetivo propuesto [23][24].

En un intento de predecir el comportamiento de una disolución de polímero en un campo eléctrico, además de correlaciones fenomenológicas, se han propuesto leyes escalares que relacionan algunos de los parámetros citados anteriormente con la morfología de las fibras, principalmente en sistemas polímero-disolvente sencillos [25-27]. No obstante, en el caso de formulaciones que involucran a más de un polímero, aditivos o mezclas de disolventes, unido a la compleja relación entre las variables que controlan el proceso de electrohilado, se hace necesario determinar experi-

mentalmente las condiciones en las que es posible obtener fibras mediante electrohilado para cada sistema.

Los resultados obtenidos indican que el glicósido sulfatado 1 se retiene más en el sustrato de PHBHHx que su análogo sin sulfato 2. Este resultado es contrario a lo esperado inicialmente, ya que parecía razonable suponer que los compuestos cargados tenderían a liberarse con más facilidad en medio acuoso. El efecto observado experimentalmente en la liberación de los compuestos podría atribuirse a la influencia de la morfología y grado de empaquetamiento de las fibras, así como a la homogeneidad de la mezcla inicial polímero-glicósido. No obstante, conviene resaltar que es deseable que los glicósidos sulfatados permanezcan en los sustratos durante el tiempo de cultivo celular, lo cual se ha conseguido con estos materiales.

La elección de los disolventes empleados para obtener una disolución homogénea de glicósido y PHBHHx es un factor determinante para la preparación de fibras con una morfología óptima. Mientras que el PHBHHx se disuelve satisfactoriamente en cloroformo (CHCl_3) y/o diclorometano (CH_2Cl_2), los glicósidos son moléculas polares y requieren el empleo de un co-solvente que debe ser miscible con cloroformo y/o diclorometano, como puede ser el metanol, empleado para obtener los sustratos con el glicósido 2. En el caso del glicósido sulfatado 1, que es una molécula con

cargas, es necesario el empleo de un co-solvente de alta polaridad, miscible con cloroformo y diclorometano, por lo que se utilizó isopropanol fluorado $(\text{CF}_3)_2\text{CHOH}$. Las imágenes de SEM de las fibras obtenidas se muestran en la Figura 11.

Considerando que las fibras obtenidas tienen una morfología comparable, la mayor retención en los sustratos de PHBHHx del glicósido 1 en medio acuoso podría atribuirse a una mayor homogeneidad de la disolución; es decir, a una mejor integración/interacción entre los diferentes componentes de la mezcla de electrohilado (glicósido 1, PHBHHx, disolventes), así como a la acción de las fuerzas electroestáticas generadas durante el proceso de electrohilado.

La anisotropía estructural es una característica de la médula espinal y, por ello, parece deseable que un soporte diseñado para reparar una lesión en este tejido posea la capacidad de favorecer el crecimiento axonal en una dirección predeterminada [2]. La técnica de electrohilado permite obtener soportes celulares anisotrópicos que pueden dirigir el desarrollo de neuritas en la dirección de interés; lo cual es una ventaja frente a soportes isotrópicos utilizados en modelos experimentales de lesión medular (p.e., geles o sustratos porosos de diferentes tipos). Además, en este trabajo se ha mostrado que es posible incorporar en las fibras de polímero electrohiladas elementos estructurales característicos

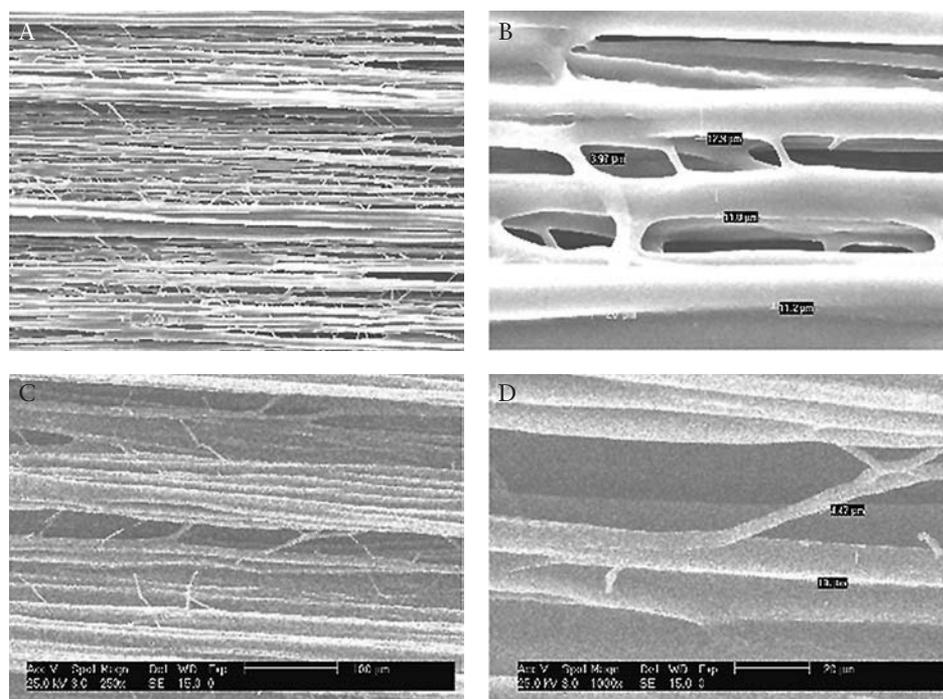


Fig. 11. SEM de sustratos de PHBHHx con A) glicósido 2 no sulfatado (sustrato de espesor ~50 micras, co-solvente empleado MeOH) B) glicósido 1 sulfatado (sustrato de espesor ~50 micras, co-solvente empleado $(\text{CF}_3)_2\text{CHOH}$).

de los glicosaminoglicanos presentes en la matriz extracelular del SNC y que pueden contribuir a mejorar la interacción sustrato-célula. Aunque queda fuera del alcance del trabajo preliminar presentado aquí, se puede indicar que la técnica permite también la incorporación de otros agentes biológicos que favorezcan esa interacción y promuevan la diferenciación y crecimiento celular en la forma deseada.

■ Conclusiones

Mediante la técnica de electrohilado se han producido fibras alineadas de poly(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxihexanoato) (PHBHHx) funcionalizadas con glicósidos sintéticos que son elementos estructurales de los glicosaminoglicanos. Se ha evaluado la influencia que tienen diferentes factores del proceso sobre la morfología de las fibras. Así, el mejor compromiso entre la orientación-diámetro de fibra y las condiciones de electrohilado se obtuvo empleando una pantalla de dimensiones iguales o inferiores a la longitud del cilindro colector, campos eléctricos de 0,5 a 0,75 kV/cm, concentraciones de polímero entre el 20-24% (peso polímero/volumen disolvente) y disolventes de baja a moderada constante dieléctrica (8-18). Los ensayos para determinar la interacción entre los glicósidos y las fibras revelaron que la mayor parte del glicósido sulfatado 1 se mantiene expuesto en la superficie durante más de una semana sumergidas en agua.

Los resultados preliminares en células neurales indicaron que los sustratos funcionalizados con los glicósidos permitieron la adhesión y migración de las células sin afectar a su viabilidad. ■

Agradecimientos

Para la realización de este trabajo se ha contado con ayudas de FUNDACIÓN MAPFRE y del Instituto de Salud Carlos III (PI11/01436 and PI11/00592).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Schwab JM, Brechtel K, Mueller CA, Failli V, Kaps HP, Tuli SK, Schluesener HJ. Experimental strategies to promote spinal cord regeneration-an integrative perspective. *Prog Neurobiol* 2006; 78:91-116.
- Teixeira AI, Duckworth JK, Hermanson O. Getting the right stuff: controlling neural stem cell state and fate in vivo and in vitro with biomaterials. *Cell Res* 2007; 17:56-61.
- Nair LS, Laurencin CT. Biodegradable polymers as biomaterials. *Prog Polym Sci* 2007; 32:762-98.
- Freier T. Biopolyesters in tissue engineering applications. *Adv Polym Sci* 2006; 203:1-61.
- Bian Y-Z, Wang Y, Aibaidoula G, Chen G-Q, Wu Q. Evaluation of poly(3-hydroxybutyrate-co-hydroxyhexanoate) conduits for peripheral nerve regeneration. *Biomaterials* 2009; 30:217-25.
- Xu X-Y, Li X-T, Peng S-W, Xiao J-F, Liu C, Fang G, Chen KC, Chen G-Q. The behavior of neural stem cells on polyhydroxyalkanoate nanofiber scaffolds. *Biomaterials* 2010; 31:3967-75.
- Bandtlow CE, Zimmermann DR. Proteoglycans in the developing brain: new conceptual insights for old proteins. *Physiol Rev* 2000; 80:1267-90.
- Murrey HE, Hsieh-Wilson LC. The chemical neurobiology of carbohydrates. *Chem Rev* 2008; 108:1708-31.
- Tully SE, Mabon R, Gama CI, Tsai SM, Liu X, Hsieh-Wilson LC. A chondroitin sulfate small molecule that stimulates neuronal growth. *J Am Chem Soc* 2004; 126:7736-7.
- Rawat M, Gama CI, Matson JB, Hsieh-Wilson LC. Neuroactive chondroitin sulfate glycomimetics. *J Am Chem Soc* 2008; 130:2959-61.
- Pham QP, Sharmu U, Mikos AG. Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: a review. *Tissue Eng* 2006; 12:1197-2110.
- Hong JK, Madhally SV. Next generation of electrospayed fibers for tissue regeneration. *Tissue Eng Part B Rev* 2011; 17:125-41.
- Liu W, Thomopoulos S, Xia Y. Electrospun nanofibers for regenerative medicine. *Adv Healthcare Mater* 2012; 1:10-25.
- Lim SH, Xingyu Y, Song H, Yarema KJ, Mao H-Q. The effect of nanofiber-guided cell alignment on the preferential differentiation of neural stem cells. *Biomaterials* 2010; 31:9031-9.
- Mahairaki V, Lim SH, Christopherson GT, Xu L, Nasonkin I, Yu C, Mao H-Q, Koliatsos VE. Nanofiber matrices promote the neuronal differentiation of human embryonic stem cell-derived neural precursors in vitro. *Tissue Eng Part A* 2011; 17:855-63.
- Li D, Xia Y. Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel. *Adv Mater* 2004; 16:1151-70.
- Bazán E, López-Toledano MA, Redondo C, Álcazar A, Mena MA, Paino CL, Herranz AS. Characterization of rat neural stem cells from embryonic striatum and mesencephalon during in vitro differentiation. En: Castellano B, González B, Nieto-Sampedro M (eds). *Understanding glial cells*. Dordrecht, Kluwer Acad Publ; 1998. 133-47.
- Lobo MV, Alonso FJ, Redondo C, López-Toledano MA, Caso E, Herranz AS, Paino CL, Reimers D, Bazán E. Cellular characterization of epidermal growth factor-expanded free-floating neurospheres. *J Histochem Cytochem* 2003 ; 51:89-103.

19. Moreno-Flórez MT, Bradbury EJ, Martín-Bermejo MJ, Agudo M, Lim F, Pastrana E, Ávila J, Díaz-Nido J, McMahon SB, Wandosell F. *Mol Ther* 2006; 13:598-608.
20. Doncel-Pérez E, García-Álvarez I, Fernández-Mayoralas A, Nieto-Sampedro M. Synthetic glycolipids for glioma growth inhibition developed from neurostatin and NF115 compound. *Bioorg Med Chem Lett* 2013; 23:435-9.
21. Yang D, Lu B, Zhao Y, Jiang X. Fabrication of aligned fibrous arrays by magnetic electrospinning. *Adv Mater* 2007; 19:3702-6.
22. Liu Y, Zhang X, Xia Y, Yang H. Magnetic-field-assisted electrospinning of aligned straight and wavy polymeric nanofibers. *Adv Mater* 2010; 22:2454-7.
23. Kiselev P, Rosell-Llompart J. Highly aligned electrospun nanofibers by elimination of the whipping motion. *J Appl Polym Sci* 2012; 125:2433-41.
24. Sun Z, Deitzel JM, Knopf J, Chen X, Gillespie JW. The effect of solvent dielectric properties on the collection of oriented electrospun fibers. *J Appl Polym Sci* 2012; 125:2585-94.
25. Shenoy SL, Bates WD, Frisch HL, Wnek GE. Role of chain entanglements on fiber formation during electrospinning of polymer solutions: good solvent, non-specific polymer-polymer interaction limit. *Polymer* 2005; 46:3372-84.
26. Gupta P, Elkins C, Long TE, Wilkes GL. Electrospinning of linear homopolymers of poly(methyl methacrylate): exploring relationships between fiber formation, viscosity, molecular weight and concentration in a good solvent. *Polymer* 2005; 46:4799-810.
27. Koski A, Yim K, Shivkumar S. Effect of molecular weight on fibrous PVA produced by electrospinning. *Mat Letters* 2004; 58:493-7.

Conflicto de intereses

Los autores no hemos recibido ayuda económica alguna para la realización de este trabajo. Tampoco hemos firmado ningún acuerdo por el que vayamos a recibir beneficios u honorarios por parte de alguna entidad comercial. Ninguna entidad comercial ha pagado, ni pagará, a fundaciones, instituciones educativas u otras organizaciones sin ánimo de lucro a las que estamos afiliados.

Luxación palmar de la articulación metacarpofalángica del pulgar

Palmar dislocation of the metacarpophalangeal joint of the thumb

Natera Cisneros L, Gómez M, Lamas C, Proubasta I

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología. Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España.

Resumen

Presentamos el caso de un hombre de 41 años con una luxación palmar de la articulación metacarpofalángica del pulgar sin semiología de interposición de partes blandas, en el que se realizó reducción cerrada. El resultado fue satisfactorio. Se evidenció bostezo del ligamento colateral radial.

Palabras clave:

Luxación, metacarpofalángica, pulgar, palmar.

Abstract

Open reduction is considered almost mandatory, because soft tissue interposition is usually the norm. Soft tissue interposition can be inferred with the physical examination.

Methods: We present the case of a 41 year old man with a palmar dislocation of the metacarpophalangeal joint of the thumb in which we achieved a satisfactory closed reduction. Closed reduction was successful. Instability of the radial collateral ligament was identified.

Key words:

Dislocation, metacarpophalangeal, thumb, palmar.

Introducción

La luxación palmar de la articulación metacarpofalángica (MCF) del pulgar es una lesión muy infrecuente. De hecho, se han descrito 19 casos [1-16], al igual que ocurre con la articulación MCF del dedo índice [17]. La reducción abierta se considera imprescindible, puesto que la interposición de partes blandas suele ser la norma (tendones extensores, cápsula dorsal con o sin la placa palmar) [1][6][9]. Sin embargo, publicamos dos casos en los que se consiguió la reducción de forma cerrada [10].

Las consecuencias de esta lesión radican en la posibilidad de desarrollar una inestabilidad articular residual al dejar de tratar de forma adecuada la frecuente asociación de una rotura de los ligamentos colaterales metacarpo-falángicos, ya sea el cubital, más frecuente, o el radial.

Caso clínico

Paciente psiquiátrico de 41 años que ingresó en el servicio de urgencias, tras politraumatismo por precipitación

desde una altura de 5 metros. Los diagnósticos efectuados fueron traumatismo craneoencefálico sin pérdida de conocimiento, fractura de la vértebra T8, fracturas costales múltiples derechas con hemo-neumotórax asociado y luxación palmar de la articulación MCF del pulgar de la mano derecha (Figura 1). Desde el punto de vista semiológico, no evidenciamos indicios sugerentes de interposiciones tendinosas en la articulación.

Después de estabilizar hemodinámicamente al paciente y colocar un tubo de drenaje torácico, se procedió a la reducción de la luxación del pulgar bajo anestesia troncular, la cual se consiguió mediante la aplicación de tracción longitudinal del dedo asociada a maniobras de desviación dorsal y radial. Una vez reducida, se comprobó la estabilidad de los ligamentos colaterales, comprobando un bostezo articular de 20° en el lado radial, sugerente de rotura del ligamento colateral radial. Se inmovilizó el dedo con un yeso corto. Después de pasar a la unidad de semicríticos, en la que estuvo cinco días, se le dio el alta, informándole el día del control ambulatorio para el seguimiento de su evolución. No obstante, el paciente no acudió a nuestra consulta.

Correspondencia

L Natera Cisneros
Sant Antoni Maria Claret, 167, 08025 Barcelona, España.
e-mail: lnatera@santpau.cat



Fig. 1. Estudio radiográfico en el ingreso. Luxación palmar de la articulación MCF del pulgar, a) proyección A-P, b) proyección lateral.

I Discusión

El caso supone, tras nuestra búsqueda, el número 20 y es el quinto descrito en el que se ha conseguido una reducción cerrada satisfactoria. La mayoría de las luxaciones MCF del pulgar suelen ser dorsales, siendo su reducción fácil mediante maniobras manuales, aunque algunos casos pueden requerir la reducción abierta [18-21]. Sin embargo, la variedad palmar no suele reducirse de forma cerrada, motivo por el cual se aconseja de entrada la reducción abierta. La causa de ello es la frecuente interposición de partes blandas, entre las que cabe destacar el tendón extensor y la cápsula dorsal con o sin la placa volar.

En el examen físico hay indicios que podrían hacer pensar que existe interposición de partes blandas y, en consecuencia, pocas probabilidades de conseguir la reducción cerrada mediante manipulación. Estos indicios son desviación radial o cubital de los extensores largo (EPL) o corto del pulgar (EPB), EPL no palpable, interposición radiográfica de los sesamoideos o actitud en flexión de la articulación MCF con actitud paradójica en extensión de la articulación interfalángica del pulgar [6][11][15] (Figura 2). Tanto si se reduce la luxación de forma cerrada como abierta, las luxaciones palmares de la articulación MCF del pulgar suelen asociarse a lesiones de los ligamentos colaterales de la MCF [21], motivo por el cual se hace imprescindible la valoración articular de la estabilidad en varo o en valgo, una vez reducida la luxación. Al respecto, la lesión del ligamento colateral cubital es la más frecuente y habitualmente asociada a una lesión de Stener. En el caso de que la luxación haya sido reducida de forma abierta, es fácil valorar su presencia y tratar adecuadamente la rotura del ligamento colateral correspondiente. Por el contrario, si la reducción se ha conseguido de forma cerrada, deberá valorarse clínicamente la inestabilidad de ambos ligamentos colaterales. Así, para el ligamento colateral cubital, si en extensión completa de la articulación MCF –posición en la que la estabilidad corre a cargo de la placa palmar y del ligamento colateral accesorio, existe inestabilidad con un bostezo $>30^\circ$ –, querrá decir que existe una rotura aislada de las estructuras citadas, mientras que si se observa una inestabilidad con la articulación en flexión de 30° , significa que hay una rotura del ligamento colateral propio. Como es obvio, en el caso de inestabilidad lateral, tanto en flexión co-

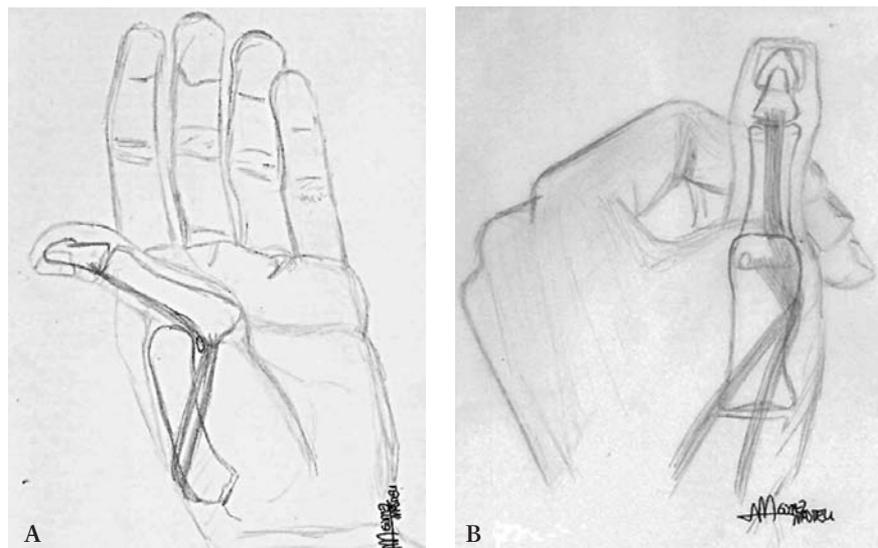


Fig. 2. a) actitud paradójica en extensión de la articulación interfalángica del pulgar por interposición del tendón extensor largo del pulgar; b) desviación radial de los tendones extensores corto y largo del pulgar.

mo en extensión, apoya la coexistencia de una lesión asociada del ligamento colateral propio, del accesorio y de la placa palmar, respectivamente. En cambio, para el ligamento colateral radial, en caso de comprobarse un bostezo articular por encima de los 20°, se considera que el ligamento está roto y debe ser reparado quirúrgicamente. En el caso de no darse los requisitos clínicos citados, se considera que la articulación es estable, pudiéndose tratar la lesión de forma conservadora mediante un yeso corto de escafoides por espacio de cuatro semanas. Dadas las características psicosociales de nuestro paciente, creímos oportuno tratar la lesión de forma conservadora, aunque por los motivos comentados no se pudo realizar un seguimiento adecuado y, por consiguiente, no se pudo saber el resultado clínico final conseguido.

El motivo de presentar este caso es doble: su extraordinaria rareza y la necesidad de remarcar que en caso de que se contemple la reducción cerrada, la valoración de los indicios de interposición de partes blandas termina siendo un hecho crucial. Así, ante la inexistencia de los indicios de interposición, la necesidad de reducción abierta puede no ser imprescindible. ■

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Moneim MS. Volar dislocations of the metacarpophalangeal joint. Pathological anatomy and report of two cases. *Clin Orthop Rel Res* 1983; 176:186-9.
2. Cleak DK. Simultaneous dislocations of the interphalangeal and metacarpophalangeal joints in a thumb. *Hand* 1981; 13:167-8.
3. Rodríguez AA, Aparicio AM, Roca GO, Hernández AR. Luxación palmar de la articulación metacarpo-falángica del pulgar. A propósito de un caso. *Rev Cir Ortop Traumatol* 1991; 35:384-6.
4. Singhal RK. Anteromedial dislocation of the metacarpophalangeal joint of the thumb with special emphasis on its mechanism of injury. *J Ind Med Assoc* 1974; 62:18-20.
5. Sartorius C, Darmon C, Robert O, Gardes JC, Teissier J. Luxation palmaire irreductible de la metacarpo-phalangiennne du pouce par accident de ski. *Ann Chir Main* 1991; 10:458-62.
6. Gunther SF, Zielinski CJ. Irreducible palmar dislocation of the proximal phalanx of the thumb-case report. *J Hand Surg* 1982; 7-A:515-7.
7. Renmshaw TS, Louis DS. Complex volar dislocation of the metacarpophalangeal joint. A case report. *J Trauma* 1973; 13:1086-9.
8. Meriaux JL, Leviet D, Djeremag Y, Vilain R. Un cas de luxation simulantee des articulations metacarpophalangeien et interphalangi-enne du pouce. *Rev Chir Orthop* 1983; 69:481-2.
9. Miyamoto M, Hirayama T, Uchida M. Volar dislocation of the metacarpophalangeal joint of the thumb. *J Hand Surg* 1986; 11B:51-4.
10. Proubasta IR. Volar dislocation of the metacarpophalangeal joint of the thumb: report of two cases. *Bull Hosp Joint Dis* 1993; 53:13-4.
11. Hirata H, Takegami K, Nagakura T, Tsujii M, Uchida A. Irreducible volar subluxation of the metacarpophalangeal joint of the thumb. *J Hand Surg* 2004; 29A:921-4.
12. Qiu YQ. Complex volar dislocation of the metacarpophalangeal joint of the thumb. *Annal Plast Surg* 1999; 42:225-6.
13. Pérez-Aguilar D, Sendino M, Doménech J, Del Campo M. Palmar dislocation of the metacarpophalangeal joint of the thumb: a case report. *J Hand Surg* 1996; 21A:687-92.
14. Cederna JP. Volar dislocation of the metacarpophalangeal joint of the thumb. *Annal Plast Surg* 1993; 31:560-2.
15. Alioto RJ, Pellegrini VD. Complex palmar dislocation of the thumb metacarpophalangeal joint. A case report demonstrating paradoxical function of the extensor pollicis longus. *Clin Orthop Relat Res* 1993; 296:118-21.
16. Beck JD, Klena JC. Closed reduction and treatment of two volar thumb metacarpophalangeal dislocations: report of twocases. *J Hand Surg Am* 2011; 36:665-9.
17. McLaughlin HL. Complex "locked" dislocation of the metacarpophalangeal joints. *J Trauma* 1965; 5:683-8.
18. Dutton RO, Meals RA. Complex dorsal dislocation of the thumb metacarpo-phalangeal joint. *ClinOrthop* 1982; 164:160-4.
19. Green DP, Terry GC. Complex dislocation of the metacarpophalangeal joint: correlative pathological anatomy. *J Bone Joint Surg (Am)* 1973; 55-A:1480-6.
20. Coonrad RW, Goldner JL. A study of the pathological findings and treatment in soft-tissue injury of the thumb metacarpophalangeal joint with a clinical study of the normal range of motion in one thousand thumbs and a study of post mortem findings of ligamentous structures in relation to function. *J Bone Joint Surg (Am)* 1968; 50A:439-51.
21. Smith RJ. Post-traumatic instability of the metacarpophalangeal joint of the thumb. *J Bone Joint Surg (Am)* 1977; 59-A:14-21.

Conflicto de intereses

Los autores no hemos recibido ayuda económica alguna para la realización de este trabajo. Tampoco hemos firmado ningún acuerdo por el que vayamos a recibir beneficios u honorarios por parte de alguna entidad comercial. Ninguna entidad comercial ha pagado, ni pagará, a fundaciones, instituciones educativas u otras organizaciones sin ánimo de lucro a las que estamos afiliados.

Estudio de los efectos de las lesiones del *labrum* acetabular en la cadera en un modelo experimental lagomorfo adulto

Study of the effects of the hip acetabular labrum damage in a rabbit animal model

García-Gómez M¹, Altonaga JR¹, Regueiro Purriños M³, Ajenjo Silverio JM³, Sánchez-Gutiérrez N¹, Pérez Martínez C⁴, García Alonso M², Ramos Pascua L⁵, Orden Recio A¹, Gonzalo Orden JM¹

¹ Área de Cirugía y Diagnóstico por Imagen del Departamento de Medicina, Anatomía y Cirugía veterinarias, Universidad de León, León, España. ² Servicio de Traumatología y Cirugía Ortopédica del Hospital Clínico Río Ortega, Valladolid, España. ³ Fundación de Investigación Sanitaria, León. ⁴ Departamento de Anatomía Patológica e Histología veterinarias, Universidad de León. ⁵ Servicio de Traumatología y Cirugía Ortopédica del complejo hospitalario de León.

Resumen

Objetivo: El cartílago labral es una estructura cartilaginosa que recubre el acetábulo de la cadera. Su lesión es controvertida en cuanto a sus implicaciones debido a que no se conoce bien si es una causa de degeneración articular o sólo un cambio degenerativo más. Hemos diseñado un modelo animal en conejo para estudiar esta lesión.

Material y metodología: Se utilizaron tres grupos de 13 animales a los que se lesionó una cadera dejando la otra como control y se les mantuvo estabulados al primer grupo 12 semanas, al segundo 18 y al tercero 30. Posteriormente se les realizó un estudio radiológico, otro por resonancia magnética y, tras su sacrificio, un estudio histológico.

Resultados: No encontramos relación en nuestro modelo entre la lesión labral y los cambios degenerativos posteriores en los plazos citados. Tampoco encontramos daños labrales sin cicatrizar en el momento del sacrificio.

Conclusión: En el modelo animal lagomorfo, la lesión labral no produce cambios degenerativos artrósicos y el cartílago labral podría presentar cierta capacidad de regeneración.

Palabras clave:

Cadera, *labrum*, artrosis.

Abstract

Objective: The labrum is a cartilaginous structure that covers the hip acetabulum. The labral lesions are controverted because it is not known if the labral tears are a cause or a consequence of the hip osteoarthritis.

Material and methods: We designed a rabbit animal model to study the labral tears. We used three groups of 13 animals. We injured the labral cartilage of every rabbit in the right hip, and we used the left hip as a control. The animals were kept alive for 12, 18 and 30 weeks. We realized a radiologic, a magnetic resonance and a histological study in every rabbit to see the labral tears consequences.

Results: We did not found in our model any significant relationship between the labral tears and the secondary osteoarthritis in the studied time. We didn't found labral damage without heal when the animals were sacrificed.

Conclusion: We can conclude, in the rabbit animal model, the labral tears don't produce degenerative changes in the hip. The labrum have regenerative capacity in the rabbit animal model.

Key words:

Hip, labrum, osteoarthritis.

Correspondencia

M García-Gómez
Departamento de Medicina, Cirugía y Anatomía Veterinaria
Facultad de Veterinaria, Universidad de León, Avda. Prof. Pedro Carmenes, 24007 León, España

Introducción

La cadera es una articulación recubierta por un denso tejido capsular y el cartílago presente en ella llega a cubrir 170° de la cabeza femoral. El *labrum* acetabular es una estructura fibrocartilaginosa que delimita el cartílago fémoro-acetabular. Anatómicamente es una estructura triangular y continua, localizada en la articulación coxofemoral, que afecta al hueso en su borde fino y es completado por la porción inferior con el ligamento acetabular alrededor de la muesca acetabular (Figura 1). El grosor del *labrum* puede variar, pero normalmente tiene entre 2 y 3 mm de espesor, siendo más fino en la zona anterior y más grueso en la posterior, donde puede presentar un surco que no debe ser confundido con una estructura patológica [1].

A la lesión de esta estructura se le conoce como desgarro labral y aunque se pensaba que era una lesión del cartílago poco común, actualmente, con el desarrollo de la resonancia magnética y las técnicas artroscópicas, su prevalencia, en pacientes con dolor crónico en la ingle y la cadera, ha pasado del 22% al 55% [4].

La estructura labral tiene, principalmente, las siguientes funciones [5]: absorber los golpes que se puedan producir en la articulación, lubricar la articulación y estabilizar la presión y la biomecánica de la articulación. Así, el *labrum* principalmente amortigua el roce y los microtraumatismos ocasionados por el movimiento de la cabeza femoral contra el acetábulo. De hecho, una articulación sin *labrum* incrementa la presión de contacto en un 92% [6].

La etiología por la que se puede producir el desgarro labral incluye causas traumáticas, como son el choque fémoro-acetabular y los traumatismos, pero también atraumáticas, como sería la hiperlaxitud de la cadera (exceso de movilidad), la displasia o la degeneración de la articulación de la cadera [5].

El síntoma principal del desgarro labral es el dolor en la zona de la articulación de la cadera [7]. La importancia de esta lesión es que se relaciona con la degeneración del cartílago articular de la cadera, pero no existe una evidencia científica comprobada que pueda desencadenar cambios degenerativos [4] o si solo es un cambio degenerativo más asociado a estos, que no influye en su desarrollo [8].

Otro tema de interés en el *labrum* es su capacidad regenerativa, ya que algunos investigadores afirman que los daños son reparables [9] mientras que otros niegan esta capacidad regenerativa [10].

Tan solo se ha publicado un estudio, utilizando un modelo animal ovino, en el que se producía daño en el *labrum* de la cadera del modelo, concluyendo que su alteración no produce cambios en la estabilidad o en la degeneración rá-

pida de la cadera [8]. Sin embargo, estos resultados pueden deberse a que en el estudio no se deja el tiempo suficiente para el desarrollo de los cambios degenerativos en la cadera, ni se utiliza un número elevado de casos.

El objetivo principal del trabajo es, utilizando la cadera del conejo como modelo para provocar una lesión en el *labrum*, comprobar si esta lesión es capaz de producir cambios degenerativos en la articulación y en su evolución temporal. Como objetivos secundarios se plantean determinar si la estructura labral tiene tal capacidad regenerativa y establecer una relación entre los signos radiográficos, las imágenes de los tejidos blandos obtenidas por resonancia magnética (RM) y los hallazgos histológicos.

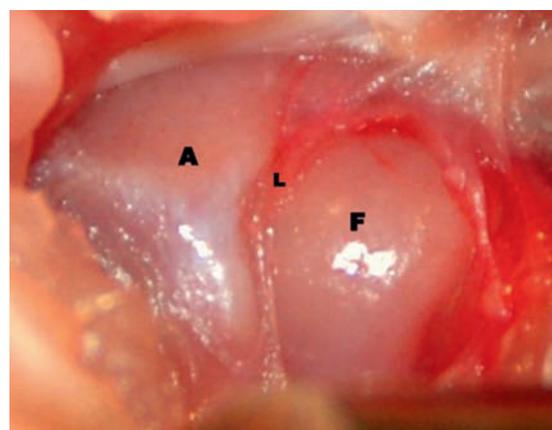


Fig. 1. Estructura anatómica de la cadera (F: cabeza fémur, A: acetábulo, L: cartílago labral).

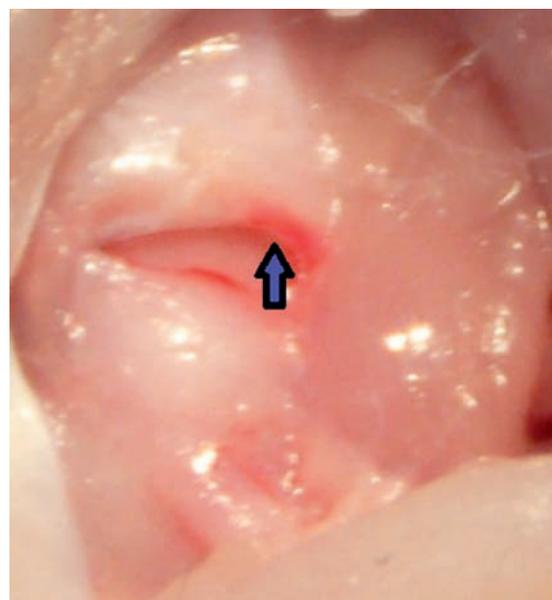


Fig. 2. Lesión labral infringida tras el abordaje a la cadera del conejo.



Fig. 3. Radiografía para evaluar signos de artrosis.



Fig. 4. Corte axial en 3D de saturación grasa por IRM.

Material y métodos

Para la realización del estudio se utilizó una población de 39 conejos adultos (*Oryctolagus cuniculus*), de 3 años de edad, machos, para evitar variaciones debidas al sexo. La raza elegida fue «gigante español/New Zealand», por ser la más fácil de adquirir y la más utilizada en proyectos de investigación por sus características; en estos animales se lesionó la estructura labral de una de las dos articulaciones de las caderas, utilizando la otra como control. El estudio

cumplió con los requisitos éticos para la utilización de animales en proyectos de investigación.

Se les realizó una anestesia general, sedación con medetomidina a 0,2 mg/kg, buprenorfina a 0,035 mg/kg y ketamina a 25 mg/kg intramuscular, con mantenimiento inhalatorio con isofluorano 1,5/3% con el animal intubado.

En condiciones asépticas se realizó una capsulotomía con un abordaje lateral transglúteo de la cadera derecha tomando como referencia el trocánter mayor y la espina iliaca pósteroinferior. Se incidió y realizó la disección roma del m. glúteo siguiendo la dirección de sus fibras. Realizada la disección, se identificó la cápsula y se produjo una lesión cápsulo-labral con bisturí de 5 mm, en su cuadrante anterior, por ser el que más comúnmente aparece lesionado. La articulación contralateral se utilizó como control. Se cerró la cápsula articular en la cadera lesionada y se dejó a los conejos estabulados con una analgesia postquirúrgica basada en buprenorfina intramuscular durante tres días, con 0,03 mg/kg cada ocho horas y carprofeno a 4,5 mg/kg cada 24 horas por vía subcutánea durante tres días y antibioterapia postoperatoria con enrofloxacin a 7 mg/kg subcutánea durante 48 horas. La eutanasia se realizó por vía intravenosa con el eutanásico T-61.

Los animales se dividieron en tres grupos de 13 conejos, que se sacrificaron a las 12, 18 y 30 semanas. Se controló el peso cada 72 horas y cada 24 horas el estado general del animal, valoración de chillidos de dolor, pelaje, estado de las heridas quirúrgicas, secreciones y automutilación. Tan sólo un animal mostró signos de sufrimiento y dolor. Se le realizó la eutanasia humanitaria y en la necropsia se detectó una osteomielitis en la cadera control (Figura 2). Este animal fue retirado del estudio y reemplazado por otro individuo.

En cada uno de los grupos se realizaron controles radiográficos y resonancia magnética a las 12, 18 y 30 semanas (Figura 3).

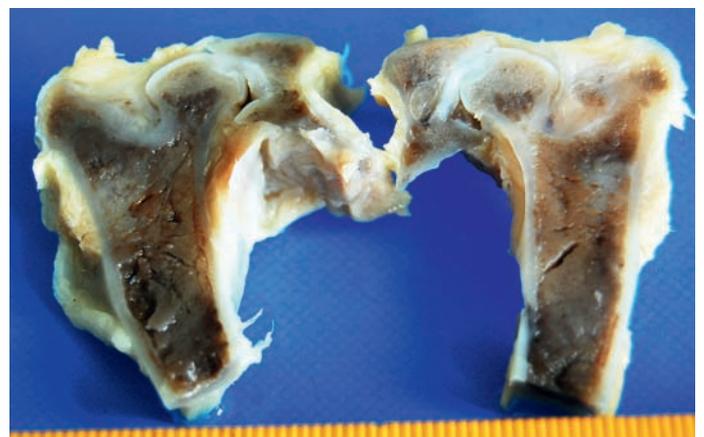


Fig. 5. Talla y corte de la articulación coxofemoral a estudiar.

Los controles radiográficos (General Electric®, modelo MPS50) con una radiografía en proyección ventrodorsal con los fémures paralelos permitieron evaluar posibles signos de artrosis con la valoración de Kellgren y Lawrence [16]. El conejo estaba sedado durante el proceso con el protocolo de la premedicación. Se realizó un control radiográfico previo a la intervención y otro posterior.

Para el estudio por RM (modelo Signa HDx 3.0 T de General Electric®) el protocolo utilizado fue la realización en cada uno de los conejos, bajo anestesia general, de las siguientes secuencias: localizador, cortes coronales en T1 y en T2, cortes axiales en T1 y en T2 y corte axial en 3D de saturación grasa (Figura 4).

Utilizamos estas secuencias, que son de las que disponemos para adaptarnos en lo posible a la escala HOAMS [17], para evaluar la artrosis mediante RM. El animal se colocó en decúbito supino con las extremidades posteriores por delante hacia la máquina. No se utilizaron secuencias de contraste por imposibilidad de medios. La escala HOAMS valora los hallazgos en RM de 0 a 4 igual que en la escala radiológica: daño del cartílago, lesiones edematosas en médula ósea (BML, *Bone marrow edema-like lesions*), quistes, osteofitos, desgarros labrales, sinovitis, efusión, pérdida de cuerpos, erosión o abrasión, displasia, bursitis o tendinitis del trocánter, hipertrofia labral, quistes paralabrales y hernias.

Una vez sacrificados los conejos se extrajeron ambas articulaciones coxofemorales, que fueron etiquetadas y fijadas en formol tamponado al 10%, durante 48 horas. Transcurrido este tiempo, se llevó a cabo la extracción de las sales de calcio del tejido óseo mediante la solución descalcificadora obtenida al mezclar a partes iguales una solución A (citrato sódico: 50 gr y agua destilada: 250 ml) con otra solución B (ácido fórmico 85%: 132 ml y agua destilada: 118 ml). Las muestras después de permanecer durante cuatro días en dicha mezcla, renovada diariamente, eran retalladas para reducir la masa ósea y acelerar el proceso de descalcificación. Este proceso continuó durante aproximadamente siete días más, con renovación diaria de la mezcla. Transcurrido el tiempo adecuado los tejidos se lavaron en agua corriente y se introdujeron, de nuevo, en formol tamponado al 10%, durante 24 horas. Seguidamente, se procedió al tallado definitivo de la muestra como paso previo a su inclusión en parafina. Para ello, se realizaba una sección coronal (frontal), que abarcaba el acetábulo y la cabeza del fémur, en la parte anterior de la articulación (Figura 5).

Todas las muestras talladas se incluyeron en parafina mediante un procesador automático de tejidos (Autotechnicon Duo® Modelo 2ª, Technicon Corporation Tarry Town,

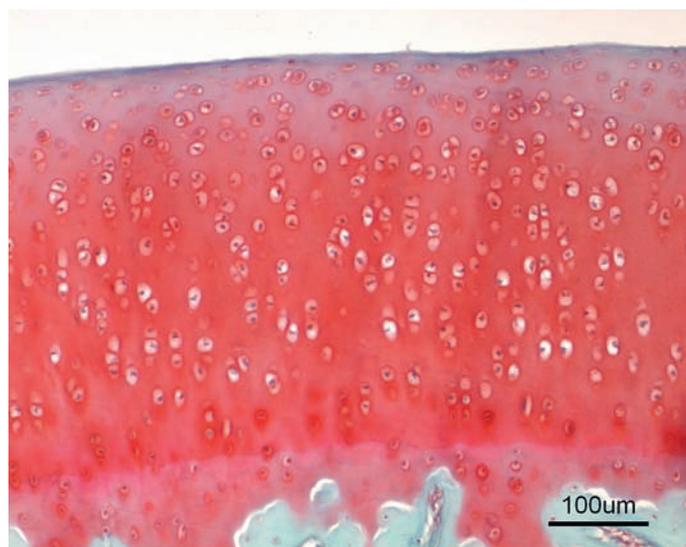


Fig. 6. Tinción de Safranina de la matriz cartilaginosa.

NY, EE.UU.), de ciclo continuo de 18 horas. Para ello, una vez lavadas en agua, las diferentes muestras se deshidrataron mediante pases sucesivos en alcoholes de gradación creciente y xilol y se incluyeron en parafina, con punto de fusión de 56-57° C (Vogel Histocomp®). A continuación, el montaje de los bloques se realizó en una unidad formadora de bloques Myr-AR 280-2® (Meyer, Tarragona, España).

De cada uno de los bloques se obtuvieron dos secciones seriadas de 4µm de grosor de cuatro niveles, los cuales se establecían profundizando 50 µm cada vez. Para ello se utilizó un microtomo de rotación (modelo Leica RM 2035®), con adaptador de *cassetes* y cuchillas desechables (Feather R35®).

De cada nivel se tiñó una sección mediante la técnica rutinaria de hematoxilina-eosina (H-E), la cual permitía realizar la evaluación histopatológica de los cartílagos articulares de acuerdo a los criterios establecidos por Mankin y modificados por Pritzker [14], en los que había fisuras en la superficie articular, la densidad de condrocitos y la formación de grupos celulares mediante un sistema de grados. Igualmente, mediante esta tinción valorábamos posibles alteraciones en la sinovia, teniendo en cuenta un sistema estandarizado en el que se evaluaban características tanto de los sinoviocitos como de la respuesta celular y vascular presente en la misma [14]. Con la tinción pentacromática de Movat se diferenciaron las características de la matriz extracelular y se diferenció el tejido conjuntivo de otro tipo de tejidos. Por último, para evaluar la posible pérdida de proteoglicanos de la matriz cartilaginosa se realizó la tinción de Safranina-O / verde luz (Figura 6). Si bien esta tinción tiene una limitación ligada al tipo de fijación y descalcificación realizada durante el

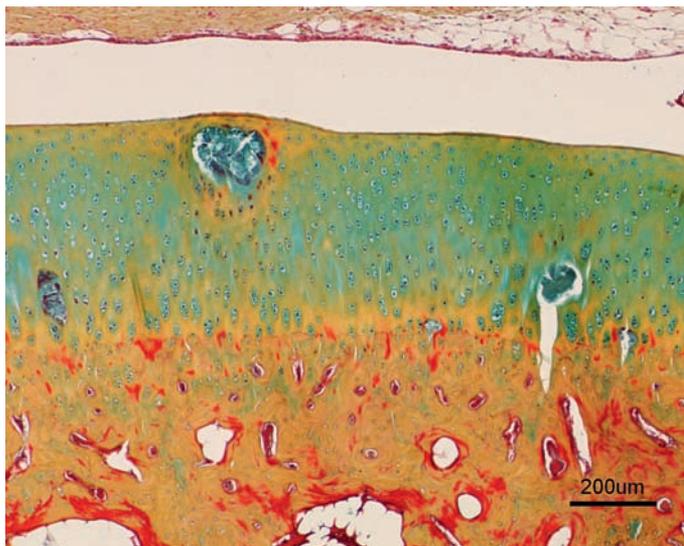


Fig. 7. Cadera operada, cartílago femoral y presencia de tres grupos de condrocitos alterados (Pentacromática de Movat).

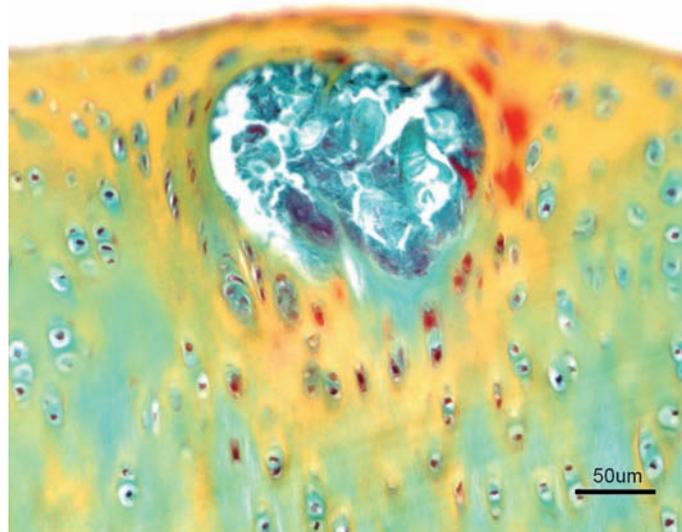


Fig. 8. Formación de condrocitos alterados y en necrosis de la placa articular (Pentacromática de Movat).

procesado de los tejidos, que ocasiona una eliminación de hasta el 15-20% de proteoglicanos. Por ello, el resultado de la tinción fue comparado con el control de la articulación contralateral del mismo animal.

Los resultados se valoraron estadísticamente mediante el programa informático SPSS Statistics 2.0 para Windows. En la comparación de variables cualitativas se empleó el test Chi² y en las cuantitativas se utilizó un ANOVA. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas si la p era menor o igual que 0,05.

Resultados

Resultados clínicos

Los animales no mostraron signos de dolor, como automutilaciones, cojeras, inapetencia o apatía, por lo que podemos considerar que la lesión labral no produjo, en los plazos observados, signos clínicos ni un dolor importante en ninguno de ellos.

Resultados radiográficos

En los conejos de los tres grupos hubo ausencia de signos radiográficos de artrosis tanto en las caderas operadas como en las control. Tan solo identificamos alteraciones leves en ambos grupos, que no pueden considerarse como signos de artrosis. Según la escala de Kellgren y Lawrence, todos los individuos entraban en un rango de artrosis nula o dudosa. Por lo tanto, estadísticamente no se encontraron diferencias significativas, entre el grupo lesionado y el grupo control.

Resultados de la resonancia magnética

Según la escala HOAMS, tampoco se encontraron signos de artrosis ni en las caderas operadas ni en las control. Las puntuaciones en todos los individuos fueron nulas y no había diferencias significativas entre ambos grupos.

Resultados histológicos

En los tres grupos encontramos una ligera reacción sinovial más acusada en las caderas operadas que en las control. Además, en dos de los grupos, 12 y 30 semanas, se observaron daños en el cartílago labral solamente en uno de los animales de los grupos operados. Se observó también, en la placa articular, la presencia de unas formaciones quísticas de condrocitos alterados y en degeneración o necrosis que aunque aparecen tanto en el grupo control como en el lesionado, aumentan en número en el grupo lesionado de 30 semanas en comparación con los grupos de 12 y de 18 semanas.

Discusión

Los desgarros labrales son una causa conocida de dolor en la cadera [18], pero sobre si con causa o consecuencia de la degeneración articular es un tema controvertido [4][8]. La tendencia clásica es pensar que podría ser una causa de la artrosis de la cadera [3][10][19], aunque Byers *et al.* [20] encontraron, en un estudio realizado en cadáveres, que en caderas artrósicas en muchas ocasiones estaban presentes las lesiones labrales. Los mecanismos propuestos por estos autores no están claros; podría ser que una inestabilidad de la cadera originada por la lesión labral pudie-

ra provocar la degeneración, pero no ha podido comprobarse. También se ha propuesto que el cartílago tenga una función esencial amortiguando el peso o el choque fémoro-acetabular [21] sin poderse comprobarse. Eliminar el *labrum* dañado como tratamiento al dolor puede ser razonable, pero en casos en que el daño del cartílago labral no produce dolor el tratamiento preventivo de la artrosis podría ser discutido.

La razón por la que hemos elegido al conejo como modelo para este trabajo es doble. Por un lado, su fácil manejo, permitiéndonos utilizar un número elevado de animales y por otro, la potencia de sus extremidades traseras, que es idónea para estudiar el choque fémoro-acetabular y su influencia en las lesiones labrales [11][12]. El conejo nunca se ha utilizado como modelo para la lesión del *labrum* de la cadera, habiéndose empleado solamente la oveja para este propósito [8], pero sí que se ha utilizado como modelo para estudios de lesiones implicadas en el *labrum* de la articulación del hombro [13]. Miozzari *et al.* [6] desarrollaron un modelo animal ovino en el que eliminaron el *labrum* de la articulación coxofemoral; sus conclusiones fueron que la lesión labral no era causa de una degeneración, al menos a corto plazo, de la cadera ni alteraba su estabilidad en un modelo ovino. Estos hallazgos nos dieron la idea de elaborar un modelo en conejo que salvará algunos defectos del modelo ovino.

En primer lugar, el choque fémoro-acetabular en la cadera de un modelo lagomorfo es mucho mayor debido a la potencia de sus extremidades posteriores en comparación con el modelo ovino. Esto favorecería la aparición de cambios degenerativos si en realidad el cartílago labral amortiguara el choque femoroacetabular hasta tal punto que su lesión pudiera provocar la degeneración de la articulación coxofemoral. Otra ventaja del conejo frente a la oveja es que su vida media es la mitad que la de esta. Esto supone que seis meses –el plazo que se da al modelo ovino para desarrollar cambios degenerativos– en el conejo aportarían relativamente más información a largo plazo. Además, el mantenimiento en estabulación de los conejos es más regular y repetible que en el modelo ovino desarrollado, en el que se dejaba a las ovejas tras el postoperatorio sin actividad controlada, lo que podría alterar los resultados en función del ejercicio que realizaran. Por estas razones, creemos que el conejo supone una mejora en el modelo animal para el estudio de las lesiones labrales.

Los resultados radiológicos y por RM nos indican que en nuestro experimental, al igual que en el modelo ovino, no hay una relación entre la lesión labral y una posterior degeneración de la articulación coxofemoral en el conejo. En al-

gunos individuos se observaron pequeños cambios radiográficos y en la RM, pero son demasiado leves como para considerarlos una degeneración articular y ocurrían por igual en las caderas lesionadas y en las caderas control. El contraste en la resonancia magnética [18][19] tiene como fin encontrar las lesiones labrales. Dado que en nuestro caso la lesión labral la habíamos producido nosotros, no consideramos el uso de contraste necesario para la identificación sólo de signos artrósicos.

En el estudio histológico se observan dos diferencias principalmente en las caderas operadas respecto a las caderas control. Por un lado, una reacción sinovial, más acusada en las caderas lesionadas que en las control. Esto podría explicarse por la capsulotomía necesaria para abordar el cartílago labral. La ausencia de otros signos de degeneración articular, tanto en el estudio radiográfico como en el realizado por RM y en el estudio histológico, apoyan que esta reacción sinovial solo es consecuencia de la capsulotomía. Solo se observaron daños en el *labrum* en uno de los animales en dos grupos, sin encontrar lesiones labrales sin cicatrización de forma significativa, lo que nos lleva a pensar que el cartílago labral tiene cierta capacidad de regeneración, como afirman algunos autores [9], al menos en el modelo animal lagomorfo en los plazos de tiempo estudiados.

Por otro lado, la presencia en la placa articular de las formaciones de condrocitos alterados en degeneración o necrosis es algo que no esperábamos. A pesar de que no existen diferencias significativas entre el número de quistes en el grupo lesión y los controles, tras revisar la bibliografía publicada hasta la fecha no hemos encontrado hallazgos similares en otros estudios. Esto podría ser debido a dos razones: primera, porque sea una lesión artrósica únicamente del conejo, lo cual no tiene mucho sentido ya que habría sido descrita en otros artículos que trataran el tema de la degeneración de la articulación; y segunda, porque esté relacionada directamente con la lesión del *labrum*, pero que el tiempo de espera no haya sido el suficiente para arrojar un resultado significativo. En cualquier caso, este tema requiere más estudios, sobre todo a largo plazo, que es donde estas formaciones de la placa articular cobran mayor importancia (Figuras 7 y 8).

Clínicamente, no parece que tengan importancia, al menos en los periodos de tiempo estudiados, ya que los conejos no mostraron signos de dolor ni cojeras de ningún tipo. Tampoco parece que tengan relación, debido a su ausencia, con otros cambios degenerativos de la articulación coxofemoral del conejo. En nuestro estudio encontramos que, en el modelo animal, no hay una relación significativa entre la lesión labral y los consecuentes cambios artrósicos de la cadera. En cualquiera de los casos, el hallazgo de las forma-

ciones de condrocitos alterados podría abrir una puerta a futuras investigaciones para conocer mejor su etiología, su evolución y cómo podrían afectar a la articulación coxofemoral del conejo. **I**

Agradecimientos

Queremos agradecer a toda las personas que han hecho posible la realización de este proyecto, apoyándonos en todo momento y prestándonos su trabajo y, sobre todo, su tiempo. Especialmente a FUNDACIÓN MAPFRE, al servicio de Anatomía Patológica de la Universidad de León y a la Fundación de Investigación Sanitaria de León (FISLE), así como a la gente que, voluntariamente, ha prestado su ayuda para la realización de este proyecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bharam S. Labral tears, extra-articular injuries, and hip arthroscopy in the athlete. *Clin Sports Med* 2006; 25:279-92.
2. McCarthy JC, Noble PC, Schuck MR, Wright J, Lee J. The Otto E Aufranc Award the role of labral lesions to development of early degenerative hip disease. *Clin Orthop Rel Res* 2001; 393:25-37.
3. Groh MM, Herrera J. A comprehensive review of hip labral tears. *Current Rev Musculosk Med* 2009; 2:105-17.
4. Hunt D, Clohisy J, Prather H. Acetabular tears of the hip in women. *Phys Med Rehabil Clin North Am* 2007; 18:497-520.
5. Lewis CL, Sahrman SA. Acetabular labral tears. *Phys Ther* 2006; 86:110-21.
6. Miozzari HH, Clark JM, Jacob HA, Von Rechenberg B, Nötzli HP. Effects of removal of the acetabular labrum in a sheep hip model. *Osteoarthritis Cartilage* 2004; 12:419-30.
7. Seldes RM, Tan V, Hunt J, Katz M, Winiarsky R, Fitzgerald RH. Anatomy, histologic features, and vascularity of the adult acetabular labrum. *Clin Orthop Rel Res* 2001; 382:232-40.
8. Ikeda T, Awaya G, Suzuki S, Okada Y, Tada H. Torn acetabular labrum in young patients. Arthroscopic diagnosis and management. *J Bone Joint Surg (Br)* 1988; 70-B:13-6.
9. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteo-arthrosis. *Ann Rheum Dis* 1957; 16:494-502.
10. Roemer FW, Hunter DJ, Winterstein A, Li L, Kim YJ, Cibere J, Marnett TC, Guermazi A. Hip osteoarthritis MRI scoring system (HOAMS): reliability and associations with radiographic and clinical findings. *Osteoarthritis Cartilage* 2011; 19:946-62.
11. Lavery S, Girard CA, Williams JM, Hunziker EB, Pritzker KP. The OARSI histopathology initiative-recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rabbit. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18(Suppl 3):S53-65.
12. Xi-Liang S, Jia-Wen Z, Ji-Wu C, Yun-Xia , Shi-Yi C. Features of acetabular labral tears on X-ray, magnetic resonance imaging and hip arthroscopy – the observational pilot study. *Arch Med Sci* 2013; 9:297-302.
13. Altenberg AR. Acetabular labrum tears: A cause of hip pain and degenerative arthritis. *South Med J* 1977; 70:174-5.
14. Fitzgerald RH Jr. Acetabular labrum tears. Diagnosis and treatment. *Clin Orthop Rel Res* 1995; 311:60-8.
15. Byers PD, Contepomi CA, Farkas TA. A post mortem study of the hip joint. Including the prevalence of the features of the right side. *Ann Rheum Dis* 1970; 29:15-31.
16. Ferguson SJ, Bryant JT, Ganz R, Ito K. The acetabular labrum seal: a poroelastic finite element model. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 2000; 15:463-8.
17. Harkness JE. Rabbit husbandry and medicine, *Vet Clin North Am: Small animal practice* 1987; 17-5.
18. Manning P, Ringler D. The biology of the laboratory rabbit. 2nd edition. New York: Academic Press, 1994.
19. Abe H, Itoi E, Yamamoto N, Minagawa H, Tomioka T, Kijima H, Shimada Y. Healing processes of the glenoid labral lesion in a rabbit model of shoulder dislocation. *Tohoku J Exp Med* 2012; 228:103-8.

Conflicto de intereses

Los autores no hemos recibido ayuda económica alguna para la realización de este trabajo. Tampoco hemos firmado ningún acuerdo por el que vayamos a recibir beneficios u honorarios por parte de alguna entidad comercial. Ninguna entidad comercial ha pagado, ni pagará, a fundaciones, instituciones educativas u otras organizaciones sin ánimo de lucro a las que estamos afiliados.

Uso de técnicas de ahorro de sangre en la artroplastia primaria de cadera y rodilla en España. Estudio FILTRO

Blood saving measures in patients undergoing primary elective hip or knee arthroplasty in Spain. The FILTRO study

Peidro L¹, Lozano L¹, Basora M²

¹ Servicio Cirugía Ortopédica. ² Servicio de Anestesiología y Reanimación. Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, España.

Resumen

Objetivo: El estudio FILTRO pretende conocer las medidas profilácticas del sangrado quirúrgico excesivo que se aplican en España y su impacto en la evolución del paciente.

Material y métodos: Estudio epidemiológico retrospectivo en 1.180 pacientes intervenidos de artroplastia total primaria de cadera o rodilla entre enero y septiembre de 2010. El estudio fue aprobado por el CEIC del Hospital Clínic de Barcelona. Antes de la cirugía se administró hierro y/o eritropoyetina en un 4,1% de pacientes. Durante la cirugía, un 2,8% fue tratado con fármacos antifibrinolíticos, en un 11,8% se empleó recuperador de sangre intraoperatorio y en el 12,7% se aplicó la autotransfusión.

Resultados: El valor medio de Hb en el preoperatorio fue de 13,5 g/dL, y antes del alta, de 10,6g/dL. Un 33,2% de los pacientes recibieron transfusión durante el ingreso y se asoció a la utilización de drenaje ($p=0,0033$) y a la autotransfusión ($p=0,0002$). El uso de antifibrinolíticos disminuyó la necesidad de transfusión ($p=0,0025$). Se registraron complicaciones tras la cirugía en el 5,5% de la muestra, sin observarse asociación con las técnicas de ahorro de sangre empleadas.

Conclusión: A pesar de disponer en nuestros hospitales de procedimientos y medidas eficaces para reducir la necesidad de transfusiones de sangre alogénica, no parece que estas se apliquen de forma generalizada en la práctica clínica de los hospitales españoles.

Palabras clave:

Artroplastia de cadera y rodilla, transfusión, técnicas ahorradoras de sangre.

Abstract

Objective: The aim of the FILTRO study was to determine which were prophylactic measures of excessive surgical bleeding that are being implemented in Spain in patients undergoing elective total primary arthroplasty of the hip or knee, and the impact of these measures on the patient outcomes in short term.

Material and methods: We included 1,180 patients, underwent surgery for primary hip and knee replacement. All data were collected retrospectively. Socio-demographic and clinical data were recorded from the clinical history, including techniques and drugs administered, as well as the patient outcomes during admission and after discharge consultation. The blood-saving measures used were: before surgery, iron or erythropoietin in 4.1% of the sample; during surgery, antifibrinolytic drugs in 2.8%, a blood-recovery system in 11.8% and 12.7% used autotransfusion. 33.2% of patients received blood transfusion during hospitalization.

Results: The mean value of Hb before surgery was 13.5 g/dL and before discharge was 10.6 g/dL. The need for transfusion was higher in patients using drainage ($p=0.0033$) and those who opted for autotransfusion ($p=0.0002$). The use of antifibrinolytic drugs decreased the transfusion requirements ($p=0.0025$). Postoperative complications were recorded in 5.5% of the sample: deep venous thrombosis in 0.7% of cases, bleeding in 1.9% and infection in 2.8%, and there was no association between these and the use or not either blood-saving method.

Conclusion: Although Spanish hospitals have procedures and measures to reduce the need for allogeneic blood transfusions, it seems they are still not generally applied in clinical practice.

Key words:

Hip and knee arthroplasty, transfusion, blood-saving techniques.

Correspondencia

L Peidro Garcés
Servicio COT
Hospital Clínic Barcelona. Villarroel, 170. 08036 Barcelona, España.

Introducción

Muchos de los procedimientos de cirugía ortopédica y traumatológica (COT) están asociados a una pérdida de sangre que, a menudo, implica la necesidad de transfundir sangre alogénica. Actualmente, y según datos de la Federación Española de Tecnologías Sanitarias (FENIN), se implantan en España unas 30.000 prótesis de cadera y unas 45.000 de rodilla al año y, teniendo en cuenta el progresivo envejecimiento de la población, se estima un crecimiento exponencial de las mismas en los próximos años.

La posibilidad de transmisión de procesos infecciosos, enfermedades virales y/o reacciones o errores transfusionales [1], así como la escasez crónica de sangre en los hospitales y el coste económico del proceso transfusional en sí, han hecho que se estudien una serie de medidas, farmacológicas y no farmacológicas, con el objetivo de reducir las al mínimo indispensable [2]. Para ello se distinguen cuatro tipos de estrategias [3]: aumentar los niveles preoperatorios de hemoglobina (Hb), con hierro y/o eritropoyetina (EPO); reducir el sangrado durante la cirugía, mediante la administración de fármacos antifibrinolíticos (ácido tranexámico); reutilizar la propia sangre, mediante recuperadores intraoperatorios o autotransfusión de sangre del drenaje postquirúrgico; y aceptar un umbral transfusional bajo.

Si bien dentro de la cirugía ortopédica la artroplastia de cadera y rodilla representa una de las cirugías con mayor pérdida de sangre, también presenta un alto riesgo de enfermedad tromboembólica venosa, siendo esta una causa importante de morbimortalidad en estos pacientes. En consecuencia, la administración de medidas farmacológicas ahorradoras de sangre no deberá aumentar el riesgo tromboembólico del paciente [4].

El objetivo del presente estudio es describir el manejo de la artroplastia primaria de cadera y rodilla en los centros españoles e identificar que técnicas de ahorro de sangre están siendo utilizadas y el impacto de estas en la evolución a corto plazo del paciente intervenido.

Material y métodos

Efectuamos un estudio epidemiológico con recogida de información retrospectiva, multicéntrico, realizado por médicos de 94 centros hospitalarios españoles, 33 de ellos públicos y 61 privados (anexo 1). Cada médico incluyó 10 pacientes consecutivos intervenidos de artroplastia primaria electiva de cadera o rodilla cuya primera visita de seguimiento tras la cirugía estuviese comprendida entre el 1 de enero y el 30 de septiembre de 2010.

A partir de las historias clínicas, se registraron variables socio-demográficas y clínicas de los pacientes junto con los

datos relativos a la artroplastia de cadera o rodilla, incluyendo tipo de cirugía, técnica quirúrgica empleada, tipo de anestesia, técnicas de ahorro de sangre utilizadas, evolución y complicaciones del paciente durante el ingreso y hasta el momento de la consulta de revisión ambulatoria, con objeto de disponer de la información completa del proceso bajo condiciones de práctica clínica habitual. La recogida de datos retrospectiva evita la intervención del investigador en el manejo y seguimiento del paciente como consecuencia del estudio.

Inicialmente fueron incluidos un total de 1.180 pacientes. De ellos, 130 fueron excluidos por haber realizado la visita con posterioridad al 30 de septiembre de 2010, por haber completado la primera visita ambulatoria una vez iniciada la recogida de datos o por haberse detectado inconsistencias en los datos obtenidos. Así, el análisis descriptivo de todas las variables recogidas se ha realizado sobre un total de 1.050 pacientes.

El proyecto fue presentado y aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínic de Barcelona y notificado a la Agencia Española del Medicamento. Dado el diseño retrospectivo del estudio y al hecho de que se basa en la práctica médica habitual, sin intervención terapéutica, no se ha precisado de la obtención del consentimiento informado para la inclusión de los pacientes.

Tabla 1. Características de la población analizada y valores de Hb

	X (%)
Sexo: varones, n (%)	398 (38,16)
Edad (media) (DE) años	69,72 (DE: 8,67)
Edad > 65 años, n (%)	786 (75,00)
IMC (media) (DE) Kg/m ²	28,58 (3,86)
IMC > 30 Kg/m ² , n (%)	279 (30,03)
Tto. concomitante, n (%)	797 (76,00)
AINEs, n (%)	571 (54,48)
Anticoagulantes orales, n (%)	57 (5,44)
Antiagregantes plaquetarios, n (%)	128 (12,21)
Otros, n (%)	381 (36,35)
Tipo de cirugía	
Cadera, n (%)	378 (36,00)
Rodilla, n (%)	672 (64,00)
Valor medio Hb (g/dL)	
Hb pre cirugía (g/dL)	13.52 (DE: 1,46)
Hb post cirugía *(g/dL)	10.62 (DE: 1,43)

*n=1.050; *Último valor de Hb antes del alta; DE: desviación estándar; IMC: índice de masa corporal; Hb: hemoglobina.*

Tabla 2. Descripción de la cirugía, anestesia y complicaciones postquirúrgicas

Características	Cadera	Rodilla
Técnica quirúrgica, n (%)		
Anterior	57 (15,20)	–
Lateral	286 (76,27)	–
MIS	31 (8,27)	–
Lateral y MIS	1 (0,27)	–
Navegación	–	4 (0,60)
Central o convencional	–	68 (10,13)
Manguito isquemia	–	39 (5,81)
Navegación e isquemia	–	35 (5,22)
Central e isquemia	–	515 (76,75)
Navegación, central e isquemia	–	10 (1,49)
Tipo de anestesia, n (%)		
General	35 (9,28)	20 (2,98)
Espinal	235 (62,33)	418 (62,30)
Epidural	115 (30,50)	241 (35,92)
Bloqueo plexo lumbar	4 (1,06)	8 (1,19)
Bloqueo nervio femoral	8 (2,12)	50 (7,45)
Tiempo de intervención (minutos)	104 (DE: 40)	98 (DE: 37)
Estancia hospitalaria (días)	6,34 (DE: 3,03)	6,43 (DE: 3,14)
Complicaciones postquirúrgicas	24 (6,43)	33 (4,97)
Tromboembólicas	3 (0,80)	4 (0,60)
Hemorrágicas	9 (2,41)	11 (1,66)
Infecciosas	11 (2,95)	18 (2,71)
Desconocida	1 (0,27)	–

El 61,8% de la población fueron mujeres con una edad media de 70 (DE: 9) años y un 75% de la muestra eran mayores de 65 años. El índice de masa corporal (IMC) medio fue de 28,6 (DE: 3,9) kg/m², con un 30% de la población que presentaba obesidad (IMC≥30 kg/m²). El 76% de los pacientes recibieron algún tratamiento farmacológico en el momento de la entrada en el estudio –de ellos, el 54,5% AINEs–, el 12,2% estaban medicados con antiagregantes plaquetarios y el 5,4% con anticoagulantes orales (Tabla 1).

La distribución, según el tipo de cirugía, fue del 64% de intervenidos con artroplastia de rodilla y el 36% con artroplastia de cadera. La anestesia utilizada para ambos procedimientos fue predominantemente intradural. No hubo diferencias significativas en cuanto a la duración de la intervención entre una y otra cirugía, con un tiempo medio para la muestra total de alrededor de 100 minutos (Tabla 2). En el 94,8% se dejó drenaje aspirativo tras la cirugía.

Todos los pacientes recibieron profilaxis tromboembólica. En el 13,1% (132/1008) se inició la víspera de la intervención, en el 68,2% (688/1008) el mismo día de la inter-

vencción (postoperatoriamente) y en el 18,7% (188/1008) se inició el siguiente día de la cirugía (Figura 1). Tras el alta hospitalaria, un 34,9% de los pacientes prosiguieron el

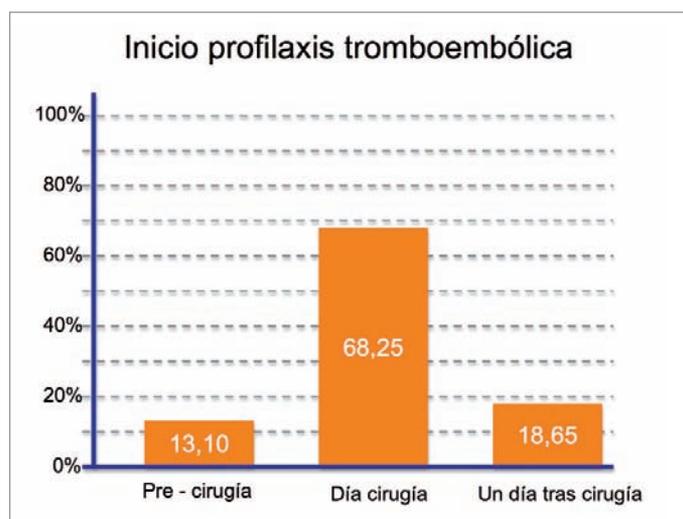


Fig. 1. Inicio de profilaxis tromboembólica.

tratamiento con HBPM, mientras que el resto recibieron anticoagulantes orales (rivaroxaban o dabigatran). En cualquier caso, la profilaxis se mantuvo por espacio medio de 30 días.

Como variable principal de valoración del estudio se evaluó el uso, bajo práctica clínica habitual, de fármacos ahorradores de sangre y su impacto en el proceso postoperatorio de los pacientes sometidos a artroplastia total de cadera o rodilla. Para ello, se cuantificó la proporción de pacientes que recibieron técnicas o fármacos ahorradores de sangre, así como el tipo de fármaco.

Las variables cuantitativas fueron descritas mediante su media, mediana, desviación estándar, mínimo, máximo y el número total de pacientes con datos disponibles. Las variables cualitativas, mediante su distribución de frecuencias absolutas y relativas. Las pruebas estadísticas que se han realizado durante el análisis con las variables de resultados han usado el test chi-cuadrado o Estadístico Exacto de Fisher, dependiendo de la distribución de la variable, para variables categóricas, y el test de Mann-Whitney para variables cuantitativas. El nivel de significación con el que se trabajó fue del 0.05. Todos los análisis estadísticos se han realizado con el *software* SAS 8.2.

I Resultados

Valores de Hb pre y postoperatorios

La prevalencia de pacientes con Hb preoperatoria (en la evaluación anestésica) inferior a 13 g/dL fue del 31,7%. En este grupo de pacientes, el 5,7% recibió EPO con o sin hierro (Tabla 3) frente al 94,3% que no recibió ninguno de los anteriores. El 45,7% de los pacientes fueron trasfundidos. El 2% de la muestra total presentaba valores preoperatorios de Hb menores a 11 g/dL.

El valor medio de la hemoglobina en nuestros pacientes, antes de la intervención y la analítica previa al alta fue de 13,5 (DE: 1,5) g/dL y de 10,6 (DE:1,4) g/dL respectivamente. La disminución media de Hb tras la intervención fue de 2,95 (DE: 1,57) g/dL en artroplastia de cadera y 2,84 (DE: 2,9) g/dL en artroplastia de rodilla. Esta disminución media fue significativamente mayor en los pacientes intervenidos de artroplastia de rodilla con uso de manguito de isquemia que en aquellos en los que no se utilizó ($p=0,0229$).

En aquellos pacientes que iniciaron la profilaxis el día anterior a la cirugía, la reducción media de la Hb tras la intervención fue significativamente menor que en aquellos pacientes que iniciaron la profilaxis el mismo día de la cirugía

Tabla 3. Medidas ahorradoras de sangre y transfusión

	Cadera n (%)	Rodilla n (%)
Fármacos ahorradores de sangre antes de cirugía	12 (3,19)	31 (4,67)
Eritropoyetina	1 (0,27)	5 (0,75)
Administración Fe IV	4 (1,06)	13 (1,96)
Administración Fe VO	8 (2,13)	16 (2,41)
Utilización de recuperador de sangre	40 (11,20)	76 (12,16)
Autorrecuperador	1 (2,5)	1 (1,3)
Bellovac ABT	2 (5,0)	8 (10,5)
Cbc II	2 (5,0)	1 (1,3)
Técnica recuperador mecánico	1 (2,5)	1 (1,3)
Orthopat	2 (5,0)	10 (13,2)
Redax		1 (1,3)
Redon	7 (17,5)	1 (1,3)
Desconocido	25 (62,5)	53 (69,7)
Autotransfusión	38 (10,35)	92 (13,98)
Utilización fármacos antifibrinolíticos	11 (2,97)	18 (2,76)
Ac. tranexámico	11 (2,97)	17 (2,61)
AECA		1 (0,15)
Uso de sellantes o geles de plaquetas		
Aprotinina		
Transfusión de sangre durante el ingreso	124 (33,79)	218 (32,83)

($p=0,0013$) o al día siguiente de la misma ($p=0,0006$). El 83,4% de los pacientes recibieron durante su ingreso profilaxis inyectable con heparina de bajo peso molecular (HBPM).

Técnicas de ahorro de sangre

Antes del alta, el 44,6% de los pacientes presentaban Hb alterada ($Hb < 10$ g/dL en mujeres; $Hb < 11$ g/dL en hombres). Observamos valores de Hb significativamente superiores en aquellos pacientes en los que no se utilizó drenaje ($p=0,0017$) y en aquellos que requirieron una transfusión durante el ingreso ($p < 0,0001$).

Durante la cirugía, el 2,8% de los pacientes recibieron fármacos antifibrinolíticos y en un 11,8% se empleó recuperador de sangre intraoperatorio. La autotransfusión fue la opción elegida en el 12,7% de las intervenciones (Tabla 3).

Transfusión de sangre

El 33,2% de los pacientes requirieron transfusión de sangre durante el ingreso y el 75,7% de estos recibieron dos unidades de concentrado de hematíes, seguido del 16,1% que recibieron una unidad y el 8,2% necesitaron más de dos unidades.

La transfusión de hematíes durante el ingreso (Figura 2) fue mayor para aquellos casos en los que se utilizó drenaje ($p=0,0033$). También en los que se empleó la autotransfusión ($p=0,0002$); en cambio, fue menor cuando se emplearon fármacos antifibrinolíticos ($p=0,0025$).

Complicaciones

Se presentaron complicaciones postquirúrgicas en el 5,5% de la muestra, siendo el 0,7% complicaciones tromboembólicas, el 2,8% infecciosas y el 1,9% hemorrágicas.

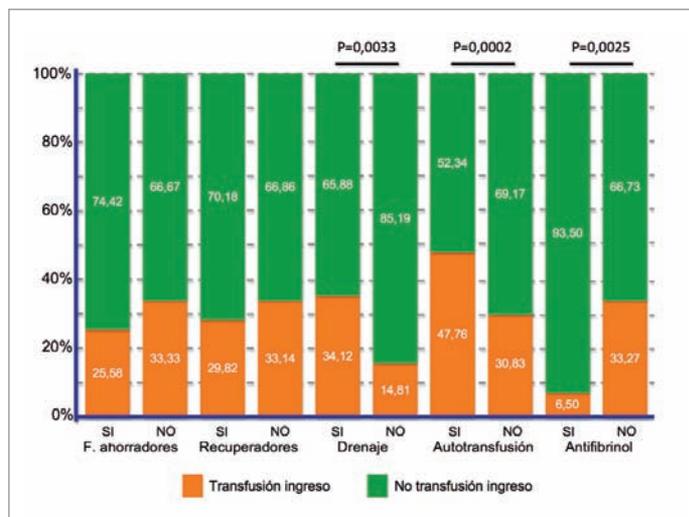


Fig. 2. Necesidad de transfusión en función de las medidas ahorradoras de sangre.

No encontramos una asociación entre el uso de medidas ahorradoras de sangre y la presencia o ausencia de alguna de las complicaciones citadas. En el alta, al 41,1% de los pacientes se pautaron con hierro oral, al 4,7% hierro endovenoso y un 14,7% recibieron tratamiento antibiótico. De estos últimos, al 72,2% se les recomendó como medida profiláctica.

La estancia hospitalaria para los pacientes intervenidos de cadera o de rodilla no mostró diferencias significativas, con una media de seis días en ambos casos. La media de días de hospitalización fue superior en pacientes con complicaciones frente a pacientes sin complicaciones (9 y 6 días, respectivamente); igualmente fue superior en los casos que presentaron alguna complicación tromboembólica o infecciosa que para los casos que tuvieron complicación hemorrágica (sangrado excesivo), cuya estancia media fue de seis días.

Fueron reingresados 18 de 1.037 pacientes, dos por complicaciones tromboembólicas (trombosis venosa profunda), uno por accidente isquémico transitorio y otro por hematoma de la herida quirúrgica; tres pacientes lo fueron por infección: dos por infección respiratoria y uno por infección urinaria. Los ocho reingresos restantes estaban relacionados con alteraciones mecánicas de la prótesis implantada. Se desconoce el motivo del reingreso de tres pacientes.

Discusión

La importante pérdida de sangre asociada a la cirugía ortopédica mayor y el alto número de pacientes que se somete a ella anualmente hacen de la implantación de los programas ahorradores de sangre una necesidad real. Sin embargo, resulta sorprendente constatar que, a pesar de las reivindicaciones actuales relativas a la necesidad de programas de ahorro de sangre en los hospitales, en nuestros pacientes estas medidas solo se han aplicado de forma minoritaria (4,1%), mientras que el porcentaje de pacientes transfundidos alcanza un respetable 33,2%. En nuestro estudio, la prevalencia del diagnóstico de anemia preoperatoria grave (< 11 g/dL) ha sido muy baja (2%) y eso probablemente tenga relación con el porcentaje de pacientes que han recibido tratamiento preoperatorio con hierro intravenoso y/o eritropoyetina, que ha sido también muy reducido, siendo predominante el uso de hierro sobre el uso de la eritropoyetina. Probablemente, este dato puede explicarse porque exista en la práctica clínica habitual una tendencia a limitar la indicación de estas estrategias farmacológicas solo a los pacientes con valores de Hb preoperatoria significativamente bajos (< 11 g/dL), aceptando como tolerables valores de Hb entre 11 y 13 g/dL que posiblemente son insuficientes frente a una cirugía ortopédica mayor. Sin em-

bargo, existe evidencia de que la corrección de los niveles de Hb antes de la intervención, mediante la administración de EPO con o sin hierro endovenoso u oral, permite reducir la necesidad y el número de transfusiones alogénicas también en pacientes con anemia leve, y de que el valor de Hb previo a la intervención es el factor predictivo más determinante de la necesidad de transfusión durante el ingreso. Esto ha quedado claramente reflejado en los datos que hemos obtenido, al comprobar que la incidencia de la transfusión es del 45,66%, con valores de Hb preoperatorios menores a 13 g/dL. Estudios previos indican que la prevalencia de la transfusión supera el 76%, con valores de Hb preoperatorios menores a 11 g/dL, descendiendo progresivamente hasta un 31% para los pacientes con Hb mayor a 13 g/dL en una población quirúrgica general [5]. Igualmente, la aplicación de medidas de ahorro de sangre en los ancianos, población con alta prevalencia de anemia, se ha demostrado segura y eficaz [6-9]. En nuestro estudio, estas medidas únicamente se utilizaron en el 4,1% de los pacientes, a pesar de que el 33% de nuestra población presentó valores de Hb preoperatorio entre 10 g/dL y 13 g/dL y podían haberse beneficiado de su aplicación.

Todavía más infrautilizados han sido los fármacos antifibrinolíticos, a pesar de su incontestable eficacia en la prevención de transfusiones alogénicas en los pacientes tributarios de artroplastia total de rodilla. Lozano *et al.* [10] han publicado una serie de 400 pacientes en la que los sujetos que tuvieron que ser transfundidos pasaron de un 54% a un 17% cuando se usó TXA. Además, el uso de TXA no se asoció con un incremento del número de complicaciones tromboembólicas. Posiblemente sea esta la causa de la infrautilización de este fármaco, puesto que existe cierta prevención para universalizar su uso por su teórico mayor riesgo de eventos tromboembólicos.

En cambio, el uso de recuperadores de sangre intraoperatoria se ha realizado en el 11,8% de nuestras cirugías. Si bien este es un método que se ha demostrado útil en la prevención de transfusiones, sin encontrar efectos adversos o complicaciones que puedan desaconsejarla, es una técnica de costos elevados cuya eficacia solo ha sido demostrada cuando la pérdida hemática es superior a 900 ml [11], siendo la calidad de la sangre recuperada un factor clave en el éxito de la técnica. En cuanto a la recuperación de sangre postoperatoria, si bien prácticamente en todas las intervenciones se utiliza drenaje posquirúrgico y podría ser factible su generalización, se estima que su rendimiento es escaso y existe discusión en la bibliografía sobre su efectividad real, por lo que se aconseja su uso solo como complementario a otras medidas [12].

La autotransfusión a partir de donación autóloga preoperatoria es considerada una medida cara y con una relación coste-eficacia dudosa. Además, su eficacia en la disminución de transfusiones es muy variable entre un hospital y otro, por lo que tiende a utilizarse cada vez menos [5]. A pesar de ello, nosotros reportamos que se ha empleado en un 12,7% de casos, en frecuencia muy superior a la del hierro preoperatorio y sin clara justificación.

Llama la atención que se haya detectado un mayor sangrado cuando la profilaxis tromboembólica se iniciaba postoperatoriamente, el día de la cirugía. La única explicación plausible sería que, en condiciones de práctica clínica habitual, no se tenga en cuenta la hora de finalización de la cirugía para instaurar la primera dosis postoperatoria de profilaxis y esta se administre a una hora fija para todos los pacientes, de forma que los operados más tarde acaben iniciándola prematuramente.

Este es el primer estudio multicéntrico del que tenemos constancia en el que se analiza información de un gran número de pacientes distribuidos por toda la geografía española sobre artroplastia total de cadera y rodilla, en condiciones de práctica clínica habitual. A pesar de que es bien conocido que existen centros en España muy concienciados en las estrategias de ahorro de sangre, la realidad es que tanto el hierro intravenoso como el ácido tranexámico son muy poco utilizados en la práctica clínica habitual de muchos otros hospitales, ya sea por falta de protocolos al respecto o por falta de adhesión a ellos. El valor preoperatorio de Hb no parece que se utilice como criterio a la hora de establecer antes de la cirugía medidas que puedan reducir la necesidad de transfusiones, excepto en casos extremos. Mejorar la evaluación prequirúrgica, en el sentido de prestar más atención a los valores de hemoglobina < 13 mg/dL antes de la cirugía, permitiría determinar la estrategia de ahorro de sangre más adecuada para cada paciente y de mejor relación coste-eficacia, así como disminuir el elevado porcentaje de ellos que precisan transfusión. La hora de inicio de la profilaxis tromboembólica tras la cirugía debe individualizarse para cada paciente, de acuerdo a la hora de la finalización de la cirugía y las características del fármaco utilizado, para no incurrir en un inicio prematuro de la misma y en un aumento consiguiente del sangrado. ■

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sculco TP. Blood management in orthopedic surgery. *Am J Surg* 1995; 170 (Suppl):60S-3S.
2. García Caballero MA, Gómez Luque MA, Pavia Molina J, Villalobos Talero JA, García Vallejo JJ, Muñoz Gómez M.

- Medidas farmacológicas de ahorro de sangre en cirugía. *Cir Esp* 2001; 69:146-58.
3. Colomina MJ, Basora M. Ahorro de sangre en cirugía ortopédica. En: *Anestesia en COT*. Basora, Colomina. Ed. Panamericana 2011; 5.1:75-77.
 4. Páramo JA. Hemorragia, hemostasia y trombosis en cirugía. *Cir Esp* 2009; 85(supl):2-6.
 5. Basora M, Colomina MJ, Moral V, *et al.* Descriptive study of perioperative transfusion practices in Spanish hospitals. *Transfus Altern Transfus Med* 2007; 10:9-16.
 6. Muñoz M, Naveira E, Seara J, Palmer JH, Cuenca J, García-Erce JA. Role of parenteral iron in transfusion requirements after total hip replacement. A pilot study. *Transfus Med* 2006; 16:137.
 7. Muñoz M, Breymann C, García-Erce JA, Gómez-Ramírez S, Comin J, Bisbe E. Efficacy and safety of intravenous iron therapy as an alternative/adjunct to allogeneic blood transfusion. *Vox Sang* 2008; 94:172.
 8. Cuenca J, García-Erce JA, Martínez F, Pérez-Serrano L, Herrera A, Muñoz M. Perioperative intravenous iron, with or without erythropoietin, plus restrictive transfusion protocol reduce the need for allogeneic blood after knee replacement surgery. *Transfusion* 2006; 46:1112-9.
 9. García-Erce JA, Cuenca F, Martínez R, Cardona L, Pérez-Serrano J y Muñoz M. Perioperative intravenous iron preserves iron stores and may hasten the recovery from post-operative anaemia after knee replacement surgery *Transfus Med* 2006; 16: 335-41.
 10. Lozano M, Basora M, Peidro L, Merino I, Segur JM, Pereira A, *et al.* Eficacia y seguridad de la administración de ácido tranexámico durante la artroplastia total de rodilla. *Vox Sanguinis* 2008; 95:39-44.
 11. Zarza-Pérez A, Hernández-Cortés P. Eficacia del uso del drenaje de autotransfusión en la cirugía primaria de prótesis de cadera y rodilla. *Rev Ortop Traumatol* 2005; 49: 187-92.
 12. Rosenblatt MA. Strategies for minimizing the use of allogeneic blood during orthopedic surgery *Mt Sinai J Med* 2002; 69:83-7.

Anexo 1. Listado de centros y cirujanos participantes:

Hospital Ntra. Señora de Fátima. Javier González-Babe Ozores. Clínica Mediterráneo. Antoine Nicolás Najem Rizk. Hospital de Molina. César Hernández García. Hospital Cruz Roja de Madrid. Pablo Durán Giménez-Rico. Clínica Centro. Raúl Torres Eguía. Hospital Puerta de Hierro. José Carlos de Lucas Villarrubia. Hospital La Paz. Gregorio Arroyo Salcedo, Primitivo Gómez Cardero. USP San Camilo. Elvira Iglesias Durán. Hospital de Madrid. Carlos T. Simorte Moreno. Hospital Modelo. Jaime Durán Neila, Javier Vázquez Domínguez, Jorge González

González-Zabaleta, Víctor Moreno Barrueco. Hospital de Galdakao-Usansolo. Jesús Moreta Suárez, José Guimera Ribas. Complejo asistencial de Burgos. José María García Pesquera. HCU Salamanca. Ángel Prieto Prat. Hospital Virgen de la Vega. José Alfonso de Cabo Rodríguez. Hospital Nueve de Octubre. Miguel Alfonso Porcar. Hospital Virgen de la Luz. Atilano Izquierdo Martín. Hospital Son Dureta. Óscar Tendero Gómez. Hospital de León. Juan José Chico Álvarez. Hospital San Francisco de Asís. Borja Merry del Val. Clínica privada San Ciriaco. Gabriel Gaggiotti. Policlínica Miramar. Miguel Durán Morell. Hospital Infanta Cristina. Gabriel Pérez Almenares. Hospital Infanta Luisa. Rafael Muela Velasco. Ruber. Esther García-Sáiz Pérez. Consulta privada Dr. Valverde. Francisco Valverde Cámara. IVRE. Flavia Elena Mora Pascual. Hospital Universitario de Valencia. Vicente José Estrems Martín, Rafael Colomina Rodríguez. Hospital de Montepíncipe. Jaime Abascal Castañón. Hospital Casa de Salud. Juan José Satorres Ferris. Hospital Serranía de Ronda. Manuel Dorado Vázquez, Rubén Emilio Fayos Gutiérrez, Alejandro de Figueroa Mata, José Manuel García Sánchez. Clínica El Ángel. Francisco Hernández Negre, Juan Antonio Alba Tercedor. VIAMED Santa Ángela de la Cruz. Juan Ribera Zabalbeascoa. Hospital General de Valencia. Isabel Cabanes Ferrer. Centro médico Teknon. Santiago Solsona Espín. Hospital La Moraleja. Pedro Guerra Vélez. Hospital Tres Culturas de Toledo. Mohammed-Nidhal Kubba Hamameh, Enrique Díaz Alejo. Hospital La Zarzuela. David García Fernández. Hospital San Juan de Dios. Fernando Vega Acero, Antonio Luque Galán, Juan Antonio González Villalba. HUCA Asturias. Daniel Núñez Batalla. Clínica Los Manzanos. Andrés Komor. Hospital Montecanal. Emilio Luis Juan García. Consulta propia. Juan Ignacio Otermín Maya. Consulta Dr. Pérez Sanz. Carlos Pérez Sanz. POLUSA. Javier Ramones Garcés. Hospital Rosaleda. Francisco Guitián Lema, Gabriel Domecq Fernández de Bobadilla. Hospital San Rafael. Rafael Álvarez Paredes. Privado. Fernando López Vizcaya. Privado. Francisco Javier Medina Cebrián. Consulta Dr. Jurado. Francisco Jurado Carmona. Hospital San Agustín, Linares. José María León Coloma. Hospital Torre Cárdenas. José Antonio Olivo Carrión. Hospital Santa María Rosell. Cartagena. Antonio Frutos Rodríguez. Hospital Universitario Virgen Arrixaca. Pablo Puertas García-Sandoval. Clínica Sant Josep. Althaia, Manresa. Joan Camí Biayna. Clínica Sagrat Cor, Barcelona. Joan Miquel Cidraque Manuel. Hospital de Barcelona. Xavier Hernández Remón. Hospital Creu Roja Dos de Maig. Félix Castillo García. Hospital Del Vendrell, Tarragona. Jaime José Morales de Cano. Hospital Quirón, Barcelona. Andrés Combalia Aleu. Clínica Sagrada Familia, Barcelona. Pere Torner Pifarre. Clínica Remei, Barcelona. Emilio Alcántara Vila. Santa Caterina, Girona. Ramón Roig Busquets. Clínica Girona. María José Martínez Ruiz. Hospital Viladecans, Barcelona. Carlos Dolz

Jordi. Centro médico Lenox-Clinica Corachán, Barcelona. José Juan Iglesias Diéguez. Clínica Vistahermosa. Manuel Morales Santías, Jesús Javier Mas Martínez. Hospital General Universitario Alicante. Carlos Sánchez Díaz, Joaquín Ferrer Ferrando, Mariano Manuel Esteve Dura. Hospital General de Elche. Joaquín Paya Rico, José Nieto Sarmiento. MAZ. Antonio Sánchez-Fortun Pérez. Hospital Universitario de Getafe. Francisco Manuel Mesa Simón. Hospital de Liencres. Luis Pérez Carro, Manuel Sumillera García, Ignacio Calvo de La Fuente. Hospital San Agustín. Avilés. Carlos Corona Fernández. Hospital Comarcal de Jarrío. Asturias. Ángel del Couz García. Hospital de la Reina. Mario Bruno Rodríguez-Abella González. Clínica del Carmen. Óscar Montero Rodríguez. Clínica Ubarmín. Ángel Pereda García, Emilio Gómez Arteta. Hospital Viamed Santiago-Huesca. Antonio F. Lacleriga Giménez.

Clinica Quirón. Luis Herrero Barcos. Complejo Hospitalario de Albacete. Eduardo Rodríguez-Vellando Rubio. Hospital La Plana. Alfonso Jiménez Fernández. USP La Colina. Juan Carlos Gómez Castilla. Hospital San Juan. Carlos Morales Berenguer. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria. Plácido Zamora Navas, Antonio Padilla Márquez, Manuel Benavente Casajus. Hospital Universitario Dr. Peset. Jose Manuel Pelayo de Tomás. Clínica privada Dr. Poyatos. María José Serrano de la Cruz Fernández. Hospital Miguel Servet. Jorge Cuenca Espiérrez. COT Sevilla. Francisco Javier Montilla Jiménez. USP Clínica Sagrado Corazón (consulta). Fernando Ávila España. Clínica Dr. Mascarell. Valencia. Vicent Climent Peris. Hospital Virgen de la Macarena. Harvey Acosta Patiño. Hospital de Valme. Francisco Jiménez Gómez.

Conflicto de intereses

El estudio ha sido financiado por Química Farmacéutica Bayer S.L., siendo la empresa Phidea Marvin, SLU la encargada de realizar la base de datos, su introducción, validación y análisis, y el informe estadístico. Los autores L. Peidro y L. Lozano y los cirujanos participantes han sido compensados económicamente. Los autores no hemos firmado ningún otro acuerdo por el que vayamos a recibir beneficios por parte de alguna entidad comercial. Ninguna entidad comercial ha pagado, ni pagará otras cantidades a fundaciones, instituciones educativas u otras organizaciones sin ánimo de lucro a las que los autores estamos afiliados.

Fractura-luxación de Lisfranc pediátrica. A propósito de dos casos

Lisfranc fractures in children. Two clinical cases

Hernaiz Alzamora A, Peña Arantzibia H, García de Cortázar Antolín U, Espinazo Arce O

Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología. Hospital de Basurto. Basurto, Bilbao, España.

Resumen

Objetivo: Presentamos dos casos clínicos con lesiones de Lisfranc, raras en niños y adolescentes. Aunque clínicamente son sutiles, los casos no tratados pueden predisponer a dolor crónico y discapacidad en el adulto.

Material y metodología: Se trataron quirúrgicamente dos lesiones de Lisfranc que se redujeron de forma inmediata en quirófano de urgencias mediante reducción cerrada y fijación interna. Se realizó seguimiento clínico-radiológico, así como un cuestionario final de función y dolor en el pie.

Resultados: Se logró reducción anatómica en ambos casos. No se apreció en las revisiones dolor, malestar ni limitación funcional en el pie afectado.

Conclusión: La valoración clínica y radiográfica es crucial para detectar lesiones de Lisfranc en niños y adolescentes. El diagnóstico y tratamiento tempranos posibilitan buenos resultados clínicos y radiográficos.

Palabras clave:

Lisfranc, fractura-luxación, pie, niños.

Abstract

Objective: Lisfranc injuries are rarely seen in children and adolescents. Although clinically subtle, untreated cases can predispose to chronic pain and disability in the adult life.

Material and methods: Two Lisfranc injuries of adolescents were treated operatively in Hospital de Basurto in 2012. Both patients were treated immediately in the emergency's theatre with closed reduction and internal fixation. Clinical and radiological follow-up was done, as well as a final questionnaire concerning the function and pain of the foot.

Results: Anatomical reduction was achieved in both cases. None claimed harm, discomfort or physical limitation in the injured foot.

Conclusions: Clinical and radiological evaluation is crucial in detecting Lisfranc injuries in children and adolescents. Prompt diagnosis and treatment provide clinical and radiological good results.

Key words:

Lisfranc, fracture-dislocation, foot, children.

Introducción

La lesión de Lisfranc es una lesión infrecuente en niños y adolescentes, y su diagnóstico pasa fácilmente desapercibido, supone menos del 0,2% de todas las fracturas del esqueleto [1]. En los últimos años ha experimentado un ligero aumento debido a la alta tasa de accidentes de circulación y su identificación ha mejorado gracias al desarrollo de técnicas de imagen

que permiten el diagnóstico de lesiones que antes pasaban desapercibidas [2]. Su tratamiento se basa en las conclusiones obtenidas a partir de estudios realizados en adultos [3]. Aunque puede ocurrir a cualquier edad, es una lesión que se observa raramente en niños, ya que el extenso componente cartilaginoso del pie hace que sea bastante resistente a la fractura [4]. Su incidencia aumenta con la edad y es más frecuente en la tercera década de la vida, y en el sexo masculino. Pueden ser lesiones de bajo o de alto impacto; las de bajo impacto resultan de una torsión en flexión plantar y carga axial del pie (bailarinas, futbolistas), mientras que las de alto impacto son lesiones por aplastamiento (accidentes de tráfico, caídas desde altura) [5].

Correspondencia

A Hernaiz Alzamora.
Hospital de Basurto. Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología
Av Montevideo 18. 48013 Bilbao, Vizcaya, España.
email: annahernaiz@yahoo.es

Al principio la clínica puede ser sutil, manifestándose únicamente como tumefacción en el mediopié e incapacidad para la carga de peso. Se calcula que el diagnóstico radiográfico inicial en urgencias es impreciso en un 20% de casos [6]. Las lesiones de Lisfranc no tratadas pueden predisponer al paciente a padecer dolor crónico, discapacidad e incluso pérdida de la extremidad [7].

CASO 1

Niña de 13 años que fue remitida al servicio de urgencias con lesiones en el pie izquierdo tras caída con el pie en flexión plantar al saltar una valla, mientras entrenaba atletismo, quedando con imposibilidad posterior para la carga de peso. La exploración clínica evidenció inflamación del dorso del pie, con dolor a la palpación superficial en el tercio medio dorsal del pie. La exploración neuro-vascular distal mostraba pulso pedio débil pero presente y buen estado sensitivo local y distal. Las radiografías revelaron una luxación de Lisfranc comprometiendo a las cinco articulaciones tarso-metatarsianas del pie, tipo A de Hardcastle (Figura 1a).

La paciente fue trasladada a quirófano urgente para reducción y fijación de su luxación mediante agujas de Kirschner. Se redujo la luxación y se estabilizó mediante dos agujas-K. La primera desde el primer metatarsiano hasta la segunda cuña y la segunda desde el quinto metatarsiano hasta la tercera cuña. Las agujas se doblaron y se dejaron sobre la piel. Se inmovilizó mediante férula de yeso posterolateral (Figura 1b).

Durante su estancia en el hospital se pautó tratamiento antiinflamatorio, manteniendo la extremidad en alto con controles neurovasculares dentro de la normalidad. Presentó un cuadro de fiebre de 38° C autolimitada que fue etiquetada por el servicio de pediatría como viriasis por rino-rrhea. Fue dada de alta a las 48 horas de la cirugía, recomendándose la descarga de la extremidad intervenida. Las revisiones clínico-radiológicas posteriores fueron correctas. Se mantiene descarga durante cuatro semanas, carga parcial las siguientes dos semanas y se retiraron las agujas-K a las seis semanas de seguimiento.

A los ocho meses de la cirugía no se observó tumefacción ni dolor en el pie, con una ligera angulación en el dorso del mismo. Aquejaba molestias leves en los dedos al inicio de la marcha, pero 15 meses después de la cirugía el resultado de la escala funcional del mediopié AOFAS era de 100. No había evidencia de dolor o malestar en el pie, con una EVA de 0. Se mantenía la reducción anatómica en el último control radiográfico (Figura 1c)



Fig. 1. Caso 1. A) Radiografía inicial. Luxación de Lisfranc tipo A de Hardcastle, B) Radiografía postquirúrgica. Reducción con agujas Kirschner. C) Control radiográfico a los 15 meses.

CASO 2

Niño de 9 años que fue remitido con lesiones en el pie izquierdo tras atropello con atrapamiento del pie bajo una de las ruedas del vehículo, con imposibilidad posterior para la carga de peso. La exploración clínica evidenció tumefacción del dorso del pie, con dolor a la palpación superficial en el tercio medio dorsal del pie. La exploración neuro-vascular distal mostraba pulso pedio débil pero presente y

buen estado sensitivo local y distal. Las radiografías revelaron una fractura-luxación de Lisfranc afectando a las cinco articulaciones tarso-metatarsianas del pie, tipo B2 de Hardcastle. Presentó una fractura de la base del cuarto metatarsiano con epifisiolisis tipo 2 de primer metatarsiano y arrancamiento en el cuboides (Figura 2a).



Fig. 2. Caso 2. A) Radiografía inicial. Luxación de Lisfranc tipo B2 de Hardcastle, B) Radiografía postquirúrgica. Reducción con agujas Kirschner. C) Control radiográfico a los 15 meses.

El paciente fue trasladado a quirófano urgente para reducción y fijación de su luxación mediante agujas de Kirschner de 1,4 mm. Se redujo la luxación y se estabilizó mediante dos agujas-K, colocadas desde el quinto metatarsiano hasta la tercera cuña. Las agujas se doblaron y se dejaron sobre la piel. Se inmovilizó mediante férula de yeso postero-lateral (Figura 2b). Durante su estancia en el hospital se pautó tratamiento antiinflamatorio, manteniendo la extremidad en alto. Presentó un cuadro doloroso que precisó de aflojamiento de la inmovilización, observándose tumefacción y hematoma dorsal con exploración neuro-vascular distal dentro de la normalidad.

Fue dado de alta a las 48 horas de la cirugía, recomendándose la descarga de la extremidad intervenida. Durante las primeras revisiones precisó curas de la zona aquilea por necrosis local, con buena evolución del cuadro tras curas sucesivas. La evolución radiológica posterior fue correcta y se retiraron las agujas-K a las ocho semanas de seguimiento.

A los tres meses de la cirugía se observó un leve edema dorsal residual sin dolor en el pie. Se permitió el inicio progresivo de la actividad deportiva, con buena tolerancia. A los 15 meses, según la escala funcional del mediopié AOFAS, no existía dolor, malestar ni limitación funcional, con un resultado excelente (100 puntos). La valoración EVA fue 0. Se valoraron los resultados radiográficos, evidenciando la correcta reducción anatómica y ausencia de signos degenerativos (Figura 2c).

Resultados

Presentamos dos casos de lesiones de Lisfranc pediátricas tratadas en el Hospital de Basurto en el año 2012. Para cuantificar la presencia de dolor y determinar la pérdida de calidad de vida tras una fractura-luxación de Lisfranc se han usado la Escala Analógica Visual (EAV) de satisfacción subjetiva –con valores que van de 0 a 10 puntos– y la Escala del mediopié de la American Orthopaedic Foot and Ankle Society (AOFAS) –de 0 a 100 puntos– [8]. La escala AOFAS valora la función, el dolor y el alineamiento, sin incluir hallazgos radiográficos ni el arco de movilidad de cada articulación al no poder medirse clínicamente. La clasificación de los diferentes tipos de lesiones se ha realizado mediante la escala de Hardcastle, modificada por Meyerson.

Para valorar la reducción anatómica de la lesión se han empleado los criterios radiológicos de Myerson [9], considerándose articularmente reducida cuando la distancia entre las bases del primer y segundo metatarsiano es ≤ 2 mm y la articulación tarsometatarsiana está alineada (2° MTT alineado con 2^{a} cuña en RX AP o ausencia de subluxación dorsal de los MTT con respecto al mediopié en L). Se consi-

deran tolerables hasta 5 mm de diástasis entre las bases del primer y segundo metatarsianos.

La lesión de Lisfranc se debe sospechar en cualquier niño que se presente con dolor en el mediopie, ya sea plantar o dorsal, durante la carga de peso. La presencia de equimosis medioplantar, dolor con la abducción-pronación del pie o lesión importante de las partes blandas del pie con una radiografía aparentemente normal deben despertar sospechas.

Las radiografías con proyección estándar, anteroposterior y oblicuas, que se realizan en urgencias inicialmente suelen ser imprecisas; si hubiera dudas, habría que realizar proyecciones en carga, comparativas con el otro pie [10].

Hay pistas para sospechar este tipo de lesiones en una radiografía anteroposterior [11]. Anatómicamente, el primer metatarsiano debe estar alineado con la cuña medial. El borde medial del cuarto metatarsiano se alinea con el borde medial del cuboides. El borde medial del segundo metatarsiano es paralelo al borde medial de la segunda cuña. El primer y segundo espacios intermetatarsianos deben ser paralelos con los espacios entre las cuñas. Cuando las lesiones no se pueden confirmar con radiografías simples, se debe recurrir al TC o la RMN [12], siendo esta última superior para identificar lesiones ligamentosas sutiles.

No hay que olvidar que la arteria pedia dorsal discurre sobre la base del segundo metatarsiano y es susceptible de dañarse en este tipo de lesiones. Es imprescindible un examen minucioso del estado neuro-vascular del pie y, si es necesario, completar la evaluación con un eco-Doppler [13].

Chiodo y Myerson [14] clasificaron las lesiones tarsometatarsianas según una teoría columnar, enfatizando en los segmentos móviles del mediopie. Así, habría tres columnas mecánicas en el pie: la medial (primera tarso-metatarsiana y articulación escafo-primera cuña), media (2º y 3º tarso-metatarsianas y 2ª y 3ª cuña) y lateral (4º y 5º tarso-metatarsiana con el cuboides). Los metatarsianos en una misma columna funcionan como una unidad [15]. La desviación más frecuente es la supero-externa (lateral dorsal de todos los metatarsianos), siendo la divergente menos frecuente.

La lesión se produce tras una flexión plantar forzada del pie, desplazando al primer metatarsiano entre la cuña medial y el segundo metatarsiano. Esto se acentúa por la concavidad ventral proximal del primer metatarsiano y la oblicuidad horizontal de la cuña medial. También contribuyen a este efecto las fuerzas ejercidas por los tendones del tibial anterior y del peroneo largo [16].

La mejor estrategia de tratamiento es controvertida. Algunos autores sugieren la necesidad de reducción quirúrgica inmediata, mientras otros prefieren esperar uno o dos días para permitir la curación de las lesiones de partes blandas [17]. La

lesión neuro-vascular o el síndrome compartimental son indicaciones absolutas para la reducción de urgencia. La reducción e inmovilización con yeso, aunque aceptada inicialmente [18], se ha asociado a desplazamientos secundarios conllevando una tórpida evolución posterior. Queda fuera de discusión la necesidad de una estabilización quirúrgica, siendo la reducción cerrada útil en la mayoría de situaciones. Casos más complejos deben ser tratados con reducción abierta [19]. Hay defensores de la osteosíntesis mediante agujas de Kirschner [20] o tornillos [21]. El uso de agujas de Kirschner tiene la ventaja de ser un método cerrado, con bajos índices de pérdida de reducción y gran estabilidad. El postoperatorio es de menor duración que en los casos de cirugía abierta. La estabilización más correcta implicaría el uso de dos agujas para el primer metatarsiano, fijando siempre el segundo y el quinto, y opcionalmente el tercero [22]. Los tornillos proporcionan una fijación más estable que permite una movilización e incluso carga precoz, favoreciendo la disminución del edema y la consolidación temprana. Sin embargo, requieren una segunda cirugía para su retirada a partir de los tres meses.

No obstante, lo que se ha demostrado importante en el resultado de estas lesiones es una reducción anatómica y estable tarso-metatarsal. Tras la fijación interna, se debe mantener la pierna en escayola durante 3-4 semanas, retirándose las agujas de Kirschner a las 6-8 semanas, previamente a la carga del peso [23].

Algunas de las complicaciones asociadas a esta lesión son la isquemia del antepie, necrosis cutánea, dolor ocasional en el pie lesionado y cambios degenerativos tardíos [24]. La artrosis postraumática no estaría relacionada con el retraso diagnóstico sino con el grado de congruencia articular lograda tras la reducción [25]. Los malos resultados se asocian, generalmente, a la gravedad de las lesiones primarias. Cuando existe un defecto de reducción, la deformidad residual más frecuente es un pie plano del adulto [26]. Los resultados a largo plazo en niños son inciertos.

Los buenos resultados en los casos presentados, con una reducción anatómica y ausencia de dolor o limitación funcional en la actividad física de los pacientes, confirman las conclusiones de otros estudios que recomiendan el tratamiento quirúrgico temprano de las lesiones de Lisfranc pediátricas. Sin embargo, solo la evolución a largo plazo nos dará información de las secuelas reales de este tipo de lesiones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sands AK, Grose A. Lisfranc injuries. *Injury*. 2004; 35:71-6.
2. Lu J, Ebraheim NA, Skie M, Porshinsky B, Yeasting RA. Radiographic and computed tomographic evaluation of Lis-

- franc dislocation: a cadaver study. *Foot Ankle Int* 1997; 18:351-5.
3. Polyzois VD, Vasiliadis E, Zgonis T, Ayazi A, Gkiokas A, Beris AE. Pediatric fractures of the foot and ankle. *Clin Podiatr Med Surg* 2006; 23:241-55.
 4. Kay RM, Tang CW. Pediatric foot fractures: evaluation and treatment. *J Am Acad Orthop Surg* 2001; 9:308-19.
 5. Burroughs KE, Reimer CD, Fields KB. Lisfranc injury of the foot: a commonly missed diagnosis. *Am Fam Phys* 1998; 58:118-24.
 6. Vuori JP, Aro HT. Lisfranc joint injuries: trauma mechanism and associated injuries. *J Trauma* 1993; 25:40-5.
 7. Yap L, Yates E, Ul-Haque M, Sarin R. Lisfranc fracture dislocation in a child. *Eur J Orthop Surg Traumatol* 2009; 19:437-41.
 8. García Renedo RJ, Carranza A, Fernández J, Gómez del Álamo G, Fernández C. Estudio de valoración del dolor en pacientes con fractura-luxación de Lisfranc. *Rev Esp Cir Osteoart* 2010; 242:33-8.
 9. Myerson M. The diagnosis and treatment of injuries to the Lisfranc Joint complex. *Orthop Clin North Am* 1989; 20:655-64.
 10. Edward L. Musculoskeletal what's different in children: playing; injury to the ankle/foot; limping. *Emerg Radiol* 2012; 19:87-8.
 11. Stein RE. Radiological aspects of the tarsometatarsal joints. *Foot Ankle* 1983; 3:286-9.
 12. González M, Barrera R, Binetti J, Moreno J. Fractura-luxación de Lisfranc. *Rev Hosp Priv Comun*. <http://www.hpc.org.ar/images/revista/239-v5p35.pdf>
 13. Englanoff G, Anglin D, Hutson HR. Lisfranc fracture-dislocation: a frequently missed diagnosis in the emergency department. *Ann Emerg Med* 1995; 26:229-32.
 14. Benejam CE, Potaczek SG. Unusual presentation of Lisfranc fracture dislocation associated with high-velocity sledding injury: a case report and review of the literature. *J Med Case Reports* 2008; 2:266.
 15. Chiodo CP, Myerson MS. Developments and advances in the diagnosis and treatment of injuries to the tarsometatarsal joint. *Orthop Clin North Am* 2001; 32:11-20.
 16. Teo Y, Verhoeven W. Plantar dislocation of lateral tarsometatarsal joint: a case of subtle Lisfranc injury. *Case Report. Annals Acad Med* 2004; 33:362-4.
 17. Junewick J. Bunk bed fracture. *Advanced radiology services teaching*. 2009.
 18. Harwood MI, Raikin SM. A Lisfranc fracture-dislocation in a football player. *J Am Board Fam Pract* 2003; 16:69-72.
 19. Aitken AP, Poulson D. Dislocations of the tarso-metatarsal joint. *J Bone Joint Surg (Am)* 1963; 45-A:246.
 20. Ribbans WJ, Natarajan R, Alavala S. Pediatric foot fractures. *Clin Orthop Relat Res* 2005; 432:107-15.
 21. Hardcastle PH, Reschauer R, Kutscha-Lissberg E, Schoffmann W. Injuries to the tarsometatarsal joint: incidence, classification and treatment. *J Bone Joint Surg (Br)* 1982; 64-B:349-56.
 22. Arntz CT, Veith RG, Hansen ST. Fracture and fracture-dislocations of the tarsometatarsal joint. *J Bone Joint Surg (Am)* 1988; 70-A:173-81.
 23. Zabalbeascoa R, Baquero F, Santos A, Montilla F, Fernández M, Carranza A. Fractura-luxación de Lisfranc. *Rev Ortop Traumatol* 2001; 45:23-9.
 24. Mayr J, Peicha G, Grechenig W, Hammerl R, Weiglein A, Sorantin E. Fractures and dislocations of the foot in children. *Clin Podiatr Med Surg* 2006; 23:167-89.
 25. Veijola K, Laine H-J, Pajulo O. Lisfranc injury in adolescents. *Eur J Pediatr Surg* 2013; 23:297-303.
 26. Kuo RS, Tejwani NC, Digiovanni CW. Outcome after open reduction and internal fixation of Lisfranc joint injuries. *J Bone Joint Surg (Am)* 2000; 62-A:1609-18.
 27. Sánchez-Gómez P, Lajara F, Salinas JE, Lozano JA. Fractura-luxación de Lisfranc. Osteosíntesis con tornillos frente a agujas de Kirschner. *Rev Esp Cir Ortop Traumatol* 2008; 52:130-6.

Conflicto de intereses

Los autores no hemos recibido ayuda económica alguna para la realización de este trabajo. Tampoco hemos firmado ningún acuerdo por el que vayamos a recibir beneficios u honorarios por parte de alguna entidad comercial. Ninguna entidad comercial ha pagado, ni pagará, a fundaciones, instituciones educativas u otras organizaciones sin ánimo de lucro a las que estamos afiliados.

La elevada glucosa altera la respuesta anti-apoptótica del estímulo mecánico en osteocitos de ratón MLO-Y4

High glucose alters the antiapoptotic response to mechanical stimulation in MLO-Y4 osteocytic cells

Maycas M¹, Bravo-Molina B², Fernández de Castro L², Pozuelo JM², Forriol F², P Esbrit¹, Rodríguez de Gortázar A²

¹ Laboratorio de Metabolismo Mineral y Óseo, IISS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, España. ² IMMA-Facultad de Medicina, Universidad San Pablo-CEU, Madrid.

Resumen

El estrés oxidativo es clave en el envejecimiento y en los estados diabéticos. La carga mecánica es decisiva para mantener la masa ósea. La respuesta del hueso a los estímulos mecánicos parece reducirse con el envejecimiento y probablemente en la enfermedad ósea provocada por la diabetes. Entender los mecanismos mediante los que el estrés oxidativo afecta a la función de las células óseas, y en concreto a la mecanotransducción en el osteocito, podría proporcionar nuevas dianas moleculares para mejorar los tratamientos actuales y el diseño de otros nuevos para prevenir la pérdida de masa ósea. Nuestros resultados indican que un medio de alta glucosa («diabético») ejerce un efecto negativo sobre la capacidad de los osteocitos para responder a estímulos mecánicos, a través de la interacción con la β -catenina. Además, estos hallazgos sugieren que el estímulo mecánico promueve la viabilidad osteocítica, al menos en parte, a través de la producción de la proteína relacionada con la parathormona (PTHrP).

Palabras clave:

Estrés oxidativo, diabetes, osteocito, PTHrP.

Abstract

Oxidative stress is a key factor in aging and diabetes. Mechanical loading is critical to maintain bone mass. The response of bone to mechanical stimuli appears to be reduced with aging and probably in bone disease caused by diabetes. Understanding the mechanisms by which oxidative stress affects function of bone cells, and specifically to osteocyte mechanotransduction, may provide new molecular targets to improve current treatments and design new treatments to prevent bone loss. Our results indicate that high glucose medium («diabetic») has a negative effect on the ability of osteocytes to respond to mechanical stimuli affecting β -catenin and apoptosis. Moreover, these findings suggest that the mechanical stimulus promotes viability osteocytic, at least in part, through production of parathyroid hormone related protein (PTHrP).

Key words:

Oxidative stress, diabetes, osteocytes, PTHrP.

Introducción

La mecánica es fundamental para la integridad del esqueleto. Los osteocitos, células mayoritarias del tejido óseo, son los principales responsables de «sentir» los estímulos mecánicos y de transformarlos en una respuesta biológica,

en un proceso denominado mecanotransducción [1]. La estimulación mecánica inhibe la apoptosis de los osteocitos mediante un mecanismo que implica la fosforilación de MAP quinasas (ERKs) [2][3]. La vía de señalización Wnt/ β -catenina parece estar involucrada en los mecanismos de supervivencia tras el estrés mecánico en estas células [4-6]. La diabetes mellitus induce efectos deletéreos en el crecimiento y la función de los osteoblastos mediante mecanismos poco definidos, asociados a una disminución de la proteína relacionada con la PTH (PTHrP) y su receptor tipo 1 (PTH1R)

Correspondencia

A Rodríguez de Gortázar
Universidad San Pablo-CEU. Campus de Montepríncipe
28667 Boadilla del Monte, Madrid, España
e-mail: argortazar@ceu.es

[7]. Nuestro grupo ha demostrado un aumento en la apoptosis osteoblástica y osteocítica *in vivo* en ratones con diabetes tipo 1 [8]. Sin embargo, no hay estudios previos que hayan explorado si el estado diabético puede afectar a la respuesta de supervivencia de los osteocitos tras el estímulo mecánico. Nuestro objetivo en el presente trabajo fue analizar el efecto de la alta glucosa (AG) sobre el efecto antiapoptótico inducido por estímulos mecánicos en la línea osteocítica bien caracterizada de ratón MLO-Y4.

I Material y métodos

Cultivo celular y estímulos mecánicos

La línea celular osteocítica MLO-Y4 (donada por la doctora Lynda Bonewald) y las células MLO-Y4-GFP (donadas por la doctora Teresita Bellido) se cultivaron en α -MEM con 2,5% de suero fetal bovino (SFB), 2,5% de suero de ternera (SC) y penicilina-estreptomina al 1%, en 5% de CO₂ a 37 ° C. Para los experimentos, se sembraron 20.000 células/cm² en una matriz de colágeno tipo 1, incubadas con o sin alta glucosa (AG) (25 mM) (o manitol, control osmótico) durante 24 horas. Posteriormente, las células se sometieron o no (controles) a un flujo laminar de fluido (FF) (10 dinas/cm² durante 5 minutos) en un sistema Flexcell® Streamer® [4][9], o a un medio hipotónico (240 mOsm) durante 1 hora; como control se utilizó una solución isotónica (317 mOsm) [10]. En algunos casos, las células se pre-incubaron con PTHrP (1-36) (100 nM) antes de añadir el tampón isosmótico control, o con el antagonista del PTH1R, [Asn¹⁰, Leu¹¹, D-Trp¹²] PTHrP (7-34) amida [PTHrP (7-34)] [7].

Ensayos de muerte celular/apoptosis

Las células MLO-Y4 se trataron con el agente pro-apoptótico etopósido (50 μ M) durante 6 horas después del estímulo mecánico. La muerte celular se cuantificó por exclusión de azul tripán, y la apoptosis se evaluó mediante la condensación de la cromatina y la fragmentación nuclear (utilizando células MLO-Y4-GFP). Para cada condición experimental, se calculó el porcentaje de células no viables frente al total de células. La muerte celular inducida por el etopósido en células sin estímulo mecánico representó 13,6 \pm 0,8 % o 30,3 \pm 0,4 % (normalizado a 100% en cada caso), evaluado por exclusión de azul tripán o por morfología nuclear, respectivamente; comparado con 1 \pm 0,5 % en las células no tratadas con etopósido.

PCR a tiempo real

El ARN total celular se extrajo con Trizol (Invitrogen, Groningen, Holanda). La síntesis del ADNc y la PCR a tiempo

real se llevaron a cabo en el sistema ABI PRISM 7500 (Applied Biosystems, Foster City, CA) siguiendo un protocolo descrito [4][5]. Se utilizaron cebadores y sondas TaqMan específicos de ratón para los genes PTHrP, PTH1R, DKK-1 (Assay-by-DesignSM; Applied Biosystems). Los resultados se expresaron en número de copias de ARNm, calculado para cada muestra usando el valor del ciclo umbral (Cycle Threshold, Ct). La amplificación del ARNr 18S (control constitutivo) se realizó en paralelo con el resto de genes.

Análisis de transferencia *western*

La proteína total se extrajo de las células MLO-Y4 con una solución de lisis estándar (RIPA). Las proteínas (40 μ g) se separaron por SDS-PAGE (10-12% poli(acrilamida)) y se transfirieron a membranas de nitrocelulosa (GE-Amersham, Buckinghamshire, UK). Se bloqueó con 2,5% de leche desnatada en 0,05% Tween-salino fosfatado, a 4° C toda la noche; seguido de incubación con anticuerpo monoclonal de ratón anti- β -catenina (Abcam, Cambridge, MA); y los anticuerpos policlonales de conejo anti-p-GSK3 β (Cell Signalling, Beverly, MA), anti-ERK 1/2 y anti-p-ERK 1/2 (Thr²⁰²/Tyr²⁰⁴) (Cell Signalling). Se utilizó un anticuerpo policlonal de cabra anti- β -actina (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) como control de carga. Tras incubación con la correspondiente IgG-peroxidasa de rábano, se reveló con ECL (GE, Healthcare); y la intensidad de las bandas se cuantificó por densitometría.

Análisis estadístico

Los resultados son media \pm EEM. Los resultados se expresan como media \pm desviación estándar. La significación estadística ($p < 0,05$) de las diferencias fue evaluada por pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis o Mann Whitney, en su caso), utilizando un paquete estadístico (SPSS).

I Resultados

Efectos de la AG sobre la viabilidad celular

Para determinar si concentraciones elevadas de glucosa en el medio de cultivo ejercen algún efecto sobre la protección ejercida por el estímulo mecánico en los osteocitos, sometimos las células de ratón MLO-Y4 a una concentración de 5 mM (normoglucosa, NG) o 25 mM (AG) de glucosa, o manitol como control osmótico, 24 horas antes de aplicarles el estímulo mecánico (FF) durante 5 minutos. Tras este tiempo, las células fueron tratadas con etopósido durante 6 horas para inducir la apoptosis. Observamos que el estímulo mecánico protegió de la muerte solo en células en normoglucosa, pero no en las células incubadas en AG ni en

las células tratadas con 25 mM de manitol, sugiriendo que el efecto deletéreo de la AG puede deberse, al menos en parte, al efecto osmótico (Figura 1).

Efectos de la AG en la activación de la vía Wnt/ β -catenina

La estimulación mecánica inducida por el FF o por choque hiposmótico indujo la fosforilación de la glucógeno sintasa quinasa (GSK)-3 β y la consecuente estabilización de β -catenina. La concentración elevada de glucosa revirtió este efecto de la estimulación mecánica (Figura 2).

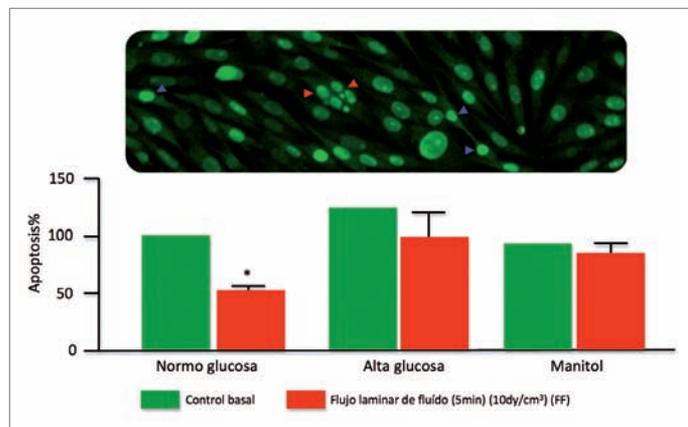


Fig. 1. Alteraciones en la apoptosis (mediante morfología nuclear) por inducción de estímulo mecánico mediante FF en células MLO-Y4, pre-incubadas en AG o NG durante 24 h, seguidas de la adición de etopósido (50 μ M) durante 6 h (panel inferior). Los resultados son medias \pm EEM de tres experimentos independientes por triplicado. * $p < 0.05$ vs el resto de condiciones. Imagen representativa de células MLO-Y4-GFP apoptóticas (panel superior).

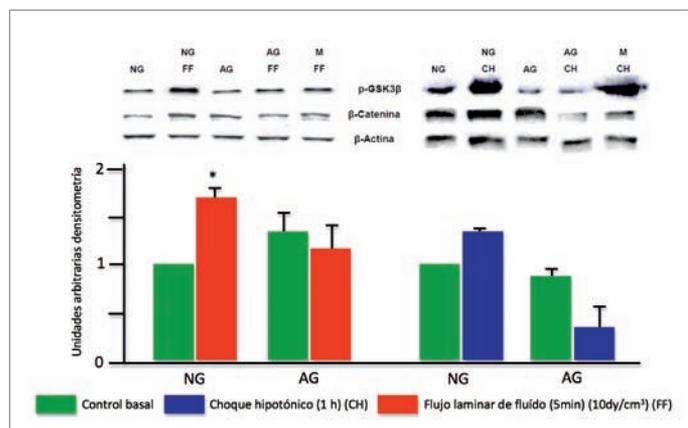


Fig. 2. Cambios en la fosforilación de GSK3 β y en la estabilización de β -catenina inducidos por estímulos mecánicos en células MLO-Y4, pre-incubadas en AG o NG durante 24 h (panel izquierdo). Se muestran los resultados correspondientes a los cambios en β -catenina como medias \pm EEM de 2 experimentos independientes por triplicado. Se muestran autodiagramas representativos en cada caso. * $p < 0.05$ vs NG.

Implicación del sistema PTHrP/PTH1R sobre los efectos de la AG

A continuación, quisimos evaluar el papel de la AG en la expresión génica del sistema PTHrP/PTH1R tras estimulación mecánica. Observamos que la expresión del ARNm del PTH1R disminuyó 6 horas después de la aplicación de los estímulos mecánicos, tanto por el FF como por el choque hipotónico. La AG tuvo un efecto similar, disminuyendo también la expresión de este receptor (Figura 3). Por otra parte, la estimulación mecánica estimuló la expresión de la PTHrP y este efecto no fue modificado por la presencia de concentraciones elevadas de glucosa en el medio de cultivo (Figura 3).

El tratamiento con el péptido N-terminal de la PTHrP reprodujo los efectos de la estimulación mecánica sobre la viabilidad celular. En cambio, el antagonista del PTH1R, PTHrP (7-34), abolió el efecto protector de la estimulación mecánica por choque hipotónico (Figura 3).

Estos resultados indican que la AG afecta negativamente a la capacidad de los osteocitos para responder a los estímulos mecánicos, a través de la interacción con la β -catenina. Además, estos datos sugieren que el estímulo mecánico promueve la viabilidad osteocítica, al menos en parte, a través de la PTHrP. |

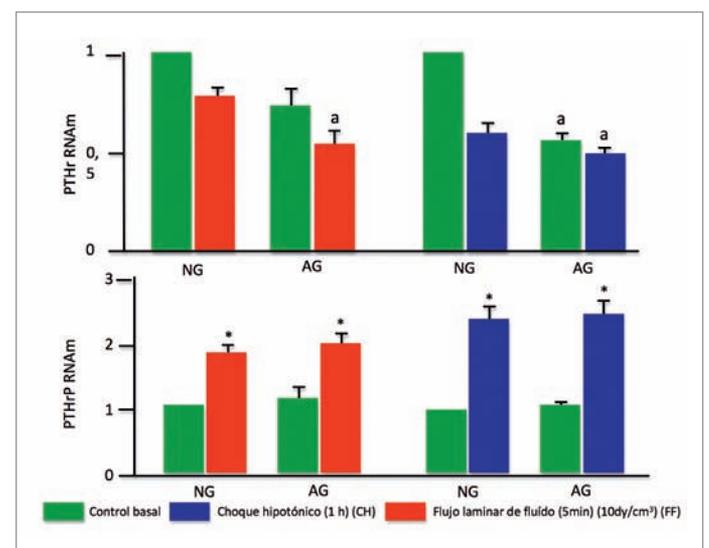


Fig. 3. Alteraciones en la expresión génica de PTH1R (panel superior izquierdo) y PTHrP (panel inferior izquierdo) tras el estímulo mecánico en células MLO-Y4, pre-incubadas en AG o NG durante 24 h. Los resultados son medias \pm EEM de al menos dos experimentos independientes por triplicado. ^a $p < 0.05$ vs NG; * $p < 0.05$ vs valor correspondiente sin estímulo mecánico.

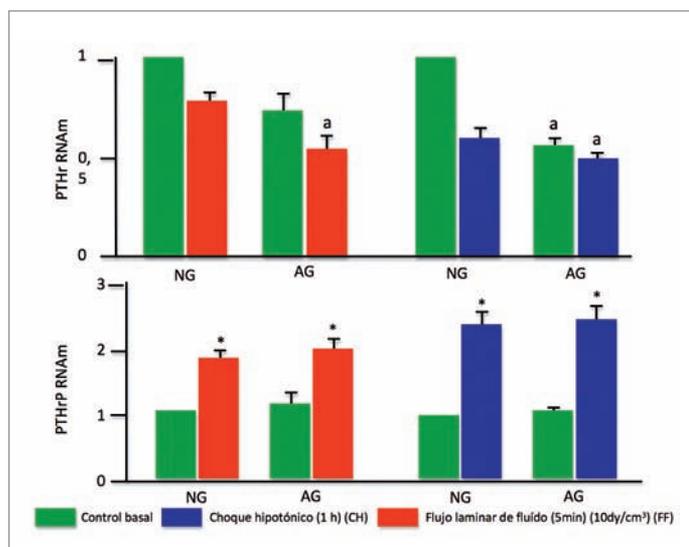


Fig. 4. Cambios en la viabilidad celular (mediante exclusión de azul tripán) por inducción de estímulo mecánico mediante choque hipotónico en células MLO-Y4, pre-incubadas en AG o NG durante 24 h (panel superior); o en NG con o sin PTHrP (1-36) o el antagonista PTHrP (7-34) durante 1 h (panel inferior), seguido de la adición de etopósido (50 μ M) durante 6 h. Los resultados son medias \pm EEM de tres experimentos independientes por triplicado. * $p < 0.05$ vs el resto de condiciones.

Agradecimientos

El presente trabajo ha sido realizado gracias a una Ayuda a la Investigación concedida por FUNDACIÓN MAPFRE MEDICINA. M. Maycas es becaria de la Fundación Conchita Rábago de Jiménez Díaz.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bonewald LF. Mechanosensation and transduction in osteocytes. *Bonekey Osteovision* 2006; 3:7-15.
- Plotkin LI, Mathov I, Aguirre JI, Parfitt AM, Manolagas SC, Bellido T. Mechanical stimulation prevents osteocyte apoptosis: requirement of integrins, Src kinases, and ERKs. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 289:633-43.
- Aguirre JI, Plotkin LI, Gortázar AR, O'Brien CA, Manolagas SC, Bellido T. A novel ligand-independent function of the estrogen receptor is essential for osteocyte and osteoblast mechanotransduction. *Biol Chem* 2007; 282:25501-8.
- Gortázar AR, Martín-Millán M, Bravo B, Plotkin LI, Bellido T. Crosstalk between caveolin-1/extracellular signal-regulated kinase (ERK) and β -catenin survival pathways in osteocyte mechanotransduction. *J Biol Chem* 2013; 288:8168-75.
- Sawakami K, Robling AG, Ai M, Pitner ND, Liu D, Warden SJ, *et al.* The Wnt co-receptor LRP5 is essential for skeletal

mechanotransduction but not for the anabolic bone response to parathyroid hormone treatment. *J Biol Chem* 2006; 281:23698-711.

- Robinson JA, Chatterjee-Kishore M, Yaworsky PJ, Cullen DM, Zhao W, Li C, *et al.* Wnt/beta-catenin signalling is a normal physiological response to mechanical loading in bone. *J Biol Chem* 2006; 281: 31720-8.
- Lozano D, De Castro LF, Dapía S, Andrade-Zapata I, Manzarbeitia F, Álvarez-Arroyo MV, *et al.* Role of parathyroid hormone-related protein in the decreased osteoblast function in diabetes-related osteopenia. *Endocrinology* 2009; 150:2027-35.
- Portal-Núñez S, Lozano D, De Castro LF, De Gortázar AR, Nogués X, Esbrit P. Alterations of the Wnt/beta-catenin pathway and its target genes for the N- and C-terminal domains of parathyroid hormone-related protein in bone from diabetic mice. *FEBS Lett* 2010; 584:3095-100.
- Brown TD. Techniques for mechanical stimulation of cells in vitro: a review. *J Biochem* 2000; 33:3-14.
- Chen X, Macica CM, Ng KW, Broadus AE. Stretch-induced PTH-related protein gene expression in osteoblasts. *J Bone Miner Res* 2005; 20:1454-61.

Conflicto de intereses

Los autores no hemos recibido ayuda económica alguna para la realización de este trabajo. Tampoco hemos firmado ningún acuerdo por el que vayamos a recibir beneficios u honorarios por parte de alguna entidad comercial. Ninguna entidad comercial ha pagado, ni pagará, a fundaciones, instituciones educativas u otras organizaciones sin ánimo de lucro a las que estamos afiliados.

Prevalencia de colonización y epidemiología de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en portadores nasales en los residentes de centros de larga estancia del área norte de Tenerife

Prevalence of colonisation and epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in nasal carriers in residents from long term care facilities in northern Tenerife, Canary Islands

B Gómez-Alonso ¹, B Castro ¹, Y Pedroso ¹, C Rodríguez ², M Lecuona ¹

¹ Servicio de Microbiología y Medicina Preventiva. Hospital Universitario de Canarias. La Laguna, Santa Cruz de Tenerife, España.

² Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Universidad de La Laguna, Santa Cruz de Tenerife.

Esta investigación ha sido financiada por FUNDACIÓN MAPFRE

Resumen

Objetivo: Determinar la prevalencia de colonización por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en residentes de centros de larga estancia (CLE) de Tenerife. Identificación de factores asociados a dicha colonización. Análisis de la sensibilidad a mupirocina en los aislados de SARM.

Material y métodos: Muestreo nasal y encuesta individual con variables clínico-epidemiológicas de los residentes en CLE. Los hisopos se sembraron en medio de cultivo selectivo y caldo de enriquecimiento. Las colonias sospechosas de SARM se identificaron fenotípica y molecularmente. Se determinó la sensibilidad a mupirocina.

Resultados: Se incluyeron 624 individuos, de los cuales 161 (25,8%) estaban colonizados por SARM. Se obtuvo un 19,8% de resistencia a mupirocina y tres complejos clonales por PFGE.

Conclusión: Los residentes en CLE de nuestra área constituyen un importante reservorio de SARM. Se debería considerar la necesidad de establecer un circuito estandarizado de derivación-tratamiento-readmisión de pacientes colonizados entre los centros hospitalarios y los CLE.

Palabras clave:

Centros de larga estancia, SARM, prevalencia.

Abstract

Objective: To determine methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) prevalence, factors associated with MRSA nasal carriage, molecular typing and susceptibility to mupirocin in residents from long term care facilities (LTCF) in Tenerife.

Material and methods: Nasal swabs and clinical and epidemiological variables were collected among residents living in LTCF. Swabs were cultured in a selective MRSA agar medium and in a selective staphylococcal enrichment broth. Suspected MRSA colonies were identified phenotypically and molecularly. Susceptibility testing to mupirocin was performed.

Results: Six hundred and twenty four subjects were included, 161(25.8%) were colonized by MRSA. We observed 19.8% resistance to mupirocin and three clonal complexes by PFGE.

Conclusion: Residents in LTCF of our area constitute an important reservoir of MRSA. It should be considered the need to establish a standardized circuit derivation-treatment-readmission of patients colonised by MRSA between hospital centers and LTCF.

Key words:

Long term care facilities, MRSA, prevalence.

Correspondencia

B Gómez-Alonso

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Canarias
Ofra s/n La Cuesta. 38320 La Laguna. Santa Cruz de Tenerife, España.
barbaragomezalonso@hotmail.com

Introducción

Los primeros brotes producidos por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en España, en el ámbito hospitalario, se detectaron en Madrid y Barcelona en el año 1988 [1][2]. Desde entonces es bien conocida la amplia diseminación de SARM en los hospitales españoles. Como consecuencia de esta epidemia se observó un incremento exponencial de las infecciones nosocomiales producidas por este microorganismo multirresistente, por lo que la respuesta de los hospitales a este problema fue la instauración de programas de control basados en la experiencia de otros países [3]. Se incorporaron medidas como el registro continuado de casos, la detección de portadores asintomáticos entre pacientes y personal sanitario o la vigilancia activa (VA), precauciones de contacto y descontaminación de los portadores. Sin embargo, estas medidas no fueron llevadas a cabo en centros de larga estancia.

El término centros de larga estancia (CLE) engloba a un conjunto heterogéneo de instituciones que proveen cuidados sanitarios a un amplio grupo de pacientes con diferentes necesidades asistenciales. La mayoría son pacientes geriátricos, pero también incluye a pacientes con alteraciones psiquiátricas. Estos pacientes requieren diferentes niveles de cuidados sanitarios en función de su grado de dependencia y residen en estas instituciones de forma permanente o por un periodo relativamente prolongado de convalecencia. Pero la mayoría de los CLE alberga a gente mayor que reside de forma permanente.

Estudios observacionales informan de manera reiterada que ser un residente en un CLE aumenta el riesgo de colonización por SARM [4]. Dicha colonización puede ser persistente en más del 40% de los residentes. Además, el estado de portador de SARM en aquellos residentes que no reciben tratamiento para la descolonización puede permanecer de media hasta 40 meses [5], ocasionando una elevada transmisión de SARM dentro de los propios CLE [6].

Dado que el intercambio de pacientes entre los hospitales de agudos y los CLE es muy frecuente, y aunque el impacto de la colonización por SARM sea claramente diferente en los hospitales de agudos que en los CLE, las medidas de control del SARM deberían estar coordinadas entre ambos.

El objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia y los factores asociados a la colonización por SARM, además de la caracterización molecular y sensibilidad al antimicrobiano de primera línea recomendado para el tratamiento de descolonización, en los residentes de CLE del área norte de la isla de Tenerife.

Material y métodos

Los CLE que participaron en el estudio fueron 11 (9 públicos y 2 privados), con un total de 669 camas (mediana 60, rango de 20 a 99 camas) distribuidos en: cuatro centros de <50 camas (36,4%), cuatro de entre 50-75 camas (36,4%) y tres de >75 camas (27,3%). Los CLE estaban repartidos en 10 de los 17 municipios que componen el área geográfica de influencia de nuestro hospital (área norte de la isla de Tenerife). Se consideró, por tanto, que la muestra de los CLE seleccionados por municipio y tamaño había sido representativa del área. El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario de Canarias.

Las habitaciones eran de 1, 2, 3 o 4 camas. Todos los CLE tenían ocupadas todas sus plazas en el momento del estudio y todos tenían servicio médico propio, excepto dos centros, y uno de ellos tenía un área exclusiva de enfermos mentales. Ninguno de los CLE tenía medidas estandarizadas sobre vigilancia y descolonización de SARM.

Se incluyó en el estudio a todos los residentes internos de los 11 CLE. De ellos, 45 fueron excluidos (cuatro por negarse a participar), 21 por estar derivados en un centro hospitalario de agudos y 20 por encontrarse fuera de las instalaciones del centro en el momento de la recogida de la muestra). De 669 residentes internos de los 11 CLE visitados se entrevistó a 628 (93,9%). Los residentes que finalmente aceptaron a participar en el estudio fueron 624 (93,3%). Las características asociadas a todo el conjunto de residentes están recogidas en la Tabla 1.

De cada residente se recogieron las siguientes variables, a partir de la revisión de las historias clínicas y en colaboración con el personal sanitario de cada centro visitado: edad, sexo, tiempo en residencia, uso de habitación individual, nivel de requerimientos sanitarios que precisaban, factores de riesgo intrínsecos (diabetes, lesiones en la piel, enfermedad vascular periférica y/o enfermedad renal crónica), factores de riesgo asociados a dispositivos (sondaje vesical, sonda nasogástrica, sonda de gastrostomía percutánea, catéter venoso, diálisis y/o otros), ingreso hospitalario en los tres últimos meses, unidad de ingreso y duración del ingreso.

Las variables clínicas y epidemiológicas se registraron en una ficha diseñada previamente y los datos se volcaron en un archivo Excel para su análisis posterior.

Recogida y procesamiento de las muestras biológicas

La recogida de las muestras biológicas se llevó a cabo entre abril y junio de 2012 mediante una torunda de algodón por paciente, con medio de transporte de *Amies ra-*

Tabla 1. Características de la muestra de 624 residentes estudiados

Variable	Valor n (%)
Sexo mujer	432 (69)
Edad (años) (a)	80 ± 10
<50 (años)	115 (18)
50-75 (años)	231 (37)
>75 (años)	278 (45)
Centros Larga Estancia públicos	505 (81)
Centros Larga Estancia privados	119 (19)
Tiempo en CLE (meses) (b)	32 (2 - 156)
Habitación individual	70 (11)
Requerimientos sanitarios	
Bajos	218 (35)
Medios	143 (23)
Altos	263 (42)
Factores de riesgo intrínsecos	376 (60)
Diabetes	227 (36)
Lesiones en la piel	174 (28)
Enfermedad vascular periférica	145 (23)
Enfermedad renal crónica	67 (11)
Factores de riesgo extrínsecos	35 (6)
Diálisis	3 (1)
Catéter intravenoso	3 (1)
Sonda urinaria	15 (2)
Sonda gastrostomía percutánea	12 (2)
Traqueostomía	1 (0,2)
Colostomía	3 (1)
Sonda nasogástrica	2 (0,3)
Talla suprapúbica	1 (0,2)
Ingreso en centro de agudos tres últimos meses	98 (16)

(a) Media ± DE. (b) Mediana (P5-P95).

yon, que se introdujo en ambas fosas nasales. Los hisopos se mantuvieron a temperatura ambiente y fueron procesados el mismo día de su recogida. Se sembraron en placas de agar cromogénico (chromID® MRSA, bioMérieux) y en medio líquido de enriquecimiento Caldo Corazón-Cerebro (BHI) con 7% ClNa (Oxoid). Los medios se incubaron a 37° C. A las 24 horas de incubación del medio líquido de enriquecimiento BHI se subcultivó en un nuevo agar cromogénico. Se hicieron lecturas de las placas de agar a las 24 y 48 horas de incubación. A las colonias sospechosas de *S. aureus* se les realizó la prueba de estafilasa con el kit Slidex® Staph Plus bioMérieux y se comprobó

la expresión de las PBP2a mediante el *kit* MRSA-Screen®, Denka-Seiken. Se determinó la sensibilidad a mupirocina mediante la técnica de difusión en disco, y de acuerdo a las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), a todos los aislados de SARM. Para los aislados donde la interpretación del halo de inhibición resultó resistente para mupirocina [7] se determinó de forma adicional la Concentración Mínima Inhibitoria [7] (CMI) mediante E-test. En esta fase los aislamientos de SARM fueron conservados en BHI con un 15% de glicerol y congeladas a -80° C.

El tipado molecular de todos los aislados de SARM se realizó mediante macrorrestricción del ADN cromosómico, seguido de electroforesis en gel por campo pulsante (PFGE). El ADN fue digerido con la enzima SmaI y los fragmentos de restricción fueron separados empleando el sistema CHEF-DRII (BioRad). Los patrones de bandas obtenidos fueron interpretados de acuerdo a los criterios de Tenover [8] y para la comparación y relación epidemiológica se empleó el programa informático InfoQuest® FP software®.

La muestra de 624 residentes empleada en el estudio permite estimar una prevalencia relevante de SARM de al menos el 20%, con un intervalo de confianza del 95% y una precisión del 3%, así como emplear modelos de regresión logística para la estimación de asociaciones entre SARM y otros factores con un máximo de 12 variables explicatorias, previa comprobación de su diferencia o asociación en un análisis simple.

Análisis estadístico

La muestra se describió resumiendo las variables nominales con la frecuencia relativa de sus categorías componentes, las ordinales y de escala no normales con mediana (p5-p95) y las de escala con distribución cercana a la normal con la media ± la desviación estándar (DE). Las comparaciones simples de variables entre los grupos SARM positivo y negativo se realizaron mediante la prueba χ^2 de Pearson para las variables nominales, U de Mann-Whitney para las ordinales y de escala no normales y t-Student para las de escala con distribución normal. Las variables con diferencia de al menos $p \leq 0,10$ en estas comparaciones simples se seleccionaron para participar como factores de modelos de regresión logística binaria multivariable con la colonización por SARM como variable de efecto, empleando la técnica de modelo lleno con pasos hacia atrás y la estrategia de Wald. Los cálculos se realizaron con ayuda del paquete estadístico informático para entorno Windows SPSS v 21.0 (SPSS, Chicago, Illinois, USA).

Resultados

De entre los 624 residentes estudiados se obtuvieron 161 aislamientos de SARM, de forma que la prevalencia global de residentes colonizados fue del 25,8%. El rango de prevalencia por CLE varió entre el 5,3% y el 57,7%.

Las principales características de los residentes colonizados y no colonizados por SARM se muestran en la Tabla 2.

Los factores de riesgo intrínsecos más prevalentes de los residentes colonizados fueron padecer diabetes (27%) y presentar lesiones en la piel (33%), mientras que los factores de riesgo extrínsecos más prevalentes fueron presentar sonda urinaria (47%) seguido de sonda de gastrostomía percutánea (50%).

Los factores asociados con la colonización por SARM en el estudio univariante y multivariante se recogen en la Tabla 2.

La presencia de lesiones en la piel, presencia de dispositivos externos o haber ingresado en un centro hospitalario en los tres meses previos fueron las variables independientes que se relacionaron con la colonización por SARM.

De los 161 SARM aislados, 32 (19,8%) resultaron ser resistentes a mupirocina. Sobre estos 32 aislamientos se observó que 29 (90,6%) presentaban una resistencia de alto nivel (HLR) (>512 µg/mL) y 3 (9,4%) resistencia de bajo nivel (LLR) (8-512 µg/mL)

En el tipado molecular por PFGE, de los 161 aislados de SARM se detectaron 11 patrones de bandas diferentes correspondientes, según criterios de Tenover⁸, con varios subtipos de tres clones de SARM: siete subtipos del clon ST-5 MRSA-IVa, dos subtipos del clon ST-22 MRSA-IV y dos subtipos del clon ST-36 MRSA-II. El clon que se detectó mayoritariamente fue el ST-5 MRSA-IV (75,8%), conocido como clon pediátrico, seguido del clon ST-22 MRSA-IV (18%), conocido como EMRSA-15, y del clon ST-36 MRSA-II (6,2%), conocido como EMRSA-16. Según los CLE estudiados, en cuatro centros se detectaron los tres clones (ST-5 MRSA-IV, ST-22 MRSA-IV y ST-36 MRSA-II), en cuatro centros se detectaron dos clones (en tres centros los clones ST-5 MRSA-IV y ST-22 MRSA-IV;

Tabla 2. Comparación de características de residentes colonizados y no colonizados por SARM

Variable	SARM (n=161)	no SARM (n=463)	p univariante	p multivariante	OR (IC 95%)
Sexo mujer, n (%)	112 (26)	320 (74)	0,915		
Edad(a) (años)	83 (59-93)	82 (60-94)	0,358		
Tiempo en CLE(a) (meses)	34 (2-160)	31 (2-146)	0,772		
Habitación individual	17 (24)	53 (76)	0,758		
Requerimientos sanitarios			0,098	0,742	1,15 (0,49-2,69)
Bajos, n (%)	47 (22)	171 (78)			
Medios, n (%)	35 (25)	108 (75)			
Altos, n (%)	79 (30)	184 (70)			
Factores de riesgo intrínsecos, n (%)	102 (27)	274 (73)	0,351		
Diabetes, n (%)	62 (27)	165 (73)	0,514		
Lesiones en la piel, n (%)	58 (33)	116 (67)	0,007	0,013	1,65 (1,11 - 2,43)
Enfermedad vascular periférica, n (%)	41 (28)	104 (72)	0,437		
Enfermedad renal crónica, n (%)	21 (31)	46 (69)	0,272		
Factores de riesgo extrínsecos, n (%)	18 (51)	17 (49)	<0,001	0,003	2,88 (1,43 - 5,82)
Diálisis, n (%)	0 (0)	3 (100)	0,573		
Catéter intravenoso, n (%)	1 (33)	2 (67)	1,000		
Sonda urinaria, n (%)	7 (47)	8 (53)	0,074	0,998	0,99 (0,04 - 26,13)
Sonda gastrostomía percutánea	6 (50)	6 (50)	0,087		
Traqueostomía, n (%)	0 (0)	1 (100)	<0,001		
Colostomía	3 (100)	0 (0)	0,003		
Sonda nasogástrica, n (%)	1 (50)	1 (50)	0,450		
Talla suprapúbica, n (%)	1 (100)	0 (0)	0,258		
Ingreso en centro de agudos tres últimos meses	39 (40)	59 (60)	0,001	0,002	2.05 (1,29 - 3,26)

en un centro los clones ST-5 MRSA-IV y ST-36 MRSA-II) y en tres centros solo se detectó un clon (ST-5 MRSA-IV). Los tres clones de SARM hallados en este estudio se corresponden con clones ampliamente detectados en centros hospitalarios de agudos, es decir, son clones típicamente de origen nosocomial.

I Discusión

En nuestro estudio, la prevalencia de colonización por SARM detectada en residentes de CLE es superior a los datos publicados por García-García *et al.* [9] (10,6%) y Manzur *et al.* [10] (16,8%) en CLE de otras comunidades autónomas españolas [7][8] y de la media europea [6][11-16] (22% en Reino Unido, 21% en Francia, 19,5% en Bélgica, 9,3% en Eslovenia, 8,6% en Irlanda, 7,8% en Italia, 2,4% en Alemania). En EE. UU., la mayoría de los estudios realizados se han llevado a cabo en centros de veteranos de guerra, donde se ha determinado una prevalencia de 16% de los residentes [17]. Debido a que estos centros poseen una epidemiología particular, los datos no pueden extrapolarse a otros CLE. Estas diferencias de prevalencia observadas dependen de varios factores, como prevalencia de SARM en el hospital de referencia al que pertenece el residente, características de los residentes y calidad del control de la colonización o infección por SARM en el CLE [10].

En nuestro trabajo solo se tomaron cultivos de fosas nasales como cribado, lo cual puede constituir una limitación, ya que la toma de muestras para cultivo en caso de existir lesiones cutáneas y heridas está indicada [3]. Observamos además, que la prevalencia de colonización se distribuye en un amplio rango entre los CLE que han participado; sin embargo, el mayor y menor valor de prevalencia corresponden a centros con menos de 50 camas. Estudios previos han mostrado resultados discordantes en función del tamaño de las residencias estudiadas [9][10][14][19]. Esta variabilidad de colonización por SARM que ocurre en los centros en función de su tamaño puede ser atribuida a que las características epidemiológicas de los centros son diferentes en cada área geográfica.

La presencia de lesiones en la piel resultó ser un factor independiente asociado a la colonización por SARM, hecho ampliamente constatado por otros autores en trabajos previos [10][14][18-20]. Sin embargo, al contrario de lo que indican otros autores [9], no se demostró asociación relacionada con padecer diabetes, a pesar de que resultó ser la patología más frecuente entre los residentes de los CLE de nuestra área.

La presencia en general de factores de riesgo extrínseco [8] resultó ser otro factor independiente asociado a la colo-

nización por SARM, pero no se pudo demostrar de forma individual una asociación estadísticamente significativa con ninguno de los factores de riesgo extrínsecos registrados.

Otro aspecto interesante que resultó ser factor independiente relacionado con la colonización por SARM fue el haber tenido un ingreso hospitalario en los tres meses previos a estudio. Un resultado similar ha sido demostrado en otros trabajos [9][14][19][21] donde además habían registrado los ingresos anteriores dentro de los seis y 12 meses previos.

Otras variables incluidas mostraron que los residentes con sonda urinaria, sonda de gastrostomía, traqueostomía y colostomía tenían mayor probabilidad de estar colonizados por SARM que los sujetos que no tenían estas características ($p \leq 0,1$), aunque no se observó asociación estadísticamente significativa. Sin embargo, el escaso número de residentes portadores de dichas condiciones pudiera ser la causa de la falta de relación con el hecho de estar colonizado por SARM.

La sensibilidad a los antimicrobianos de primera línea recomendados para el tratamiento de descolonización ha sido escasamente evaluada en trabajos previos [18]. En nuestro caso hemos hallado un porcentaje de resistencia muy elevado para mupirocina y casi la totalidad de los aislamientos de SARM resistentes a mupirocina presentaron una resistencia de alto nivel. Este hecho nos indica la necesidad de conocer la sensibilidad al tratamiento de descolonización de los residentes procedentes de estas instituciones, bien porque se inicie tratamiento de descolonización en su CLE o, más importante aún, cuando sea derivado a un centro hospitalario.

Por último, hemos detectado poca variedad de clones de SARM circulantes en los CLE de nuestra área, donde además son todos relacionados con un origen nosocomial. Montesinos *et al.* [21] y Pérez-Roth *et al.* [22] han comunicado la diseminación del clon internacional ST-36 MRSA-II en Tenerife. Además, Pérez-Roth *et al.* [22] han asociado dicho clon con alta resistencia a mupirocina. Sin embargo, este clon fue el que se encontró en minoría en nuestro estudio y, además, se asoció con el clon que presentaba menor tasa de resistencia a mupirocina.

En resumen, los CLE de nuestra área constituyen un importante reservorio de SARM y, dado que el intercambio de pacientes entre los centros hospitalarios y estas instituciones es cada vez mayor, se hace necesario coordinar las medidas de control del SARM entre ambos centros así como establecer recomendaciones de vigilancia y control de microorganismos multirresistentes adaptadas a los mismos. Se debería considerar la necesidad de establecer un

circuito reglado y estandarizado de derivación-tratamiento-readmisión de pacientes colonizados por SARM entre los centros hospitalarios y los CLE. ■

Agradecimientos

A FUNDACIÓN MAPFRE, por haber confiado en nuestro equipo para la financiación de este proyecto. Al IASS de Tenerife, por habernos permitido llevar a cabo esta investigación en sus dispositivos asistenciales. A todos los directores de los centros incluidos en el estudio, por haber accedido a participar en el proyecto, y a todo el personal asistencial de los mismos por su colaboración desinteresada. Al personal de administración de la Fundación Rafael Clavijo del Hospital Universitario de Canarias, por su continuo apoyo en esta y otras tareas de investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Parras F, Rodríguez M, Bouza E *et al.* Epidemic outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a general hospital. Preliminary report. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1991; 9: 200-7.
2. Trilla A, Marco F, Moreno A, Prat A, Soriano E, Jiménez de Anta MT. Clinical epidemiology of an outbreak of nosocomial infection caused by *Staphylococcus aureus* resistant to methicillin and aminoglycosides: efficacy of control measures. *Comité de Control de Infecciones. Med Clin (Barc)* 1993; 100: 205-9.
3. Rodríguez-Baños J, Bischofberger C, Álvarez-Lermac F, Asensio A, Delgado T, García-Arcal D, *et al.* Vigilancia y control de *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina en hospitales españoles. Documento de consenso GEIH-SEIMC y SEMPSPH. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008; 26:285-98.
4. Tarzi S, Kennedy P, Stone S, Evans M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: psychological impact of hospitalization and isolation in an older adult population. *J Hosp Infect* 2001; 49:250-4.
5. Ammerlaan HSM, Kluytmans JA, Berkhout H, Buiting J, Brauwer EIGB, Van den Broek PJ, *et al.* Eradication of carriage with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: effectiveness of a national guideline. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66:2409-17.
6. Manzur A, Domínguez MA, Ruiz de Gopegui E, Mariscal D, Gavalda L, Segura F, *et al.* Natural history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization among residents in community long term care facilities in Spain. *J Hosp Infect.* 2010; 76:215-9.
7. Malaviolle X, Nonhoff C, Denis O, Rottiers S, Struelens MJ. Evaluation of disc diffusion methods and Vitek 2 automated system for testing susceptibility to mupirocin in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chem* 2008; 62:1018-23.
8. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, *et al.* Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995; 33:2233-9.
9. García-García JA, Santos-Morano J, Castro C, Bayoll-Serradilla E, Martín-Ponce ML, Vergara-López S, *et al.* Prevalencia y factores asociados a la colonización por *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina en centros de larga estancia en el sur de España. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2011; 29:405-10.
10. Manzur A, Gavalda L, Ruiz de Gopegui E, Mariscal D, Domínguez MA, Pérez JL. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and factors associated with colonization among residents in community long-term-care facilities in Spain. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14:867-72.
11. Manzur A, Gudiol F. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in long-term-care facilities. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15(Suppl 7):26-30.
12. Dulon M, Haamann F, Peters C, Schablon A y Nienhaus A. MRSA prevalence in european healthcare settings: a review. *BMC Infectious Diseases* 2011; 11:138.
13. Jain R, Kralovic SM, Evans ME, Ambrose M, Simbartl LA, Obrosky DS, *et al.* Veterans Affairs initiative to prevent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med* 2011; 364:1419-30.
14. Barr B, Wilcox MH, Brady A, Parnell P, Darby B, Tompkins D. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization among older residents of care homes in the United Kingdom. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007; 28:853-9.
15. Talon D, Bertrand X. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in geriatric patients: usefulness of screening in a chronic-care setting. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; 22:505-9.
16. O'Sullivan NP, Keane CT. The prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among the residents of six nursing homes for the elderly. *J Hosp Infect* 2000; 45:322-9.
17. Jain R, Kralovic SM, Evans ME, Ambrose M, Simbartl LA, Obrosky DS, *et al.* Veterans Affairs initiative to prevent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med* 2011; 364:1419-30.
18. Ruiz de Gopegui E, Oliver A, Ramírez A, Gutiérrez O, Andreu C, Pérez JL. Epidemiological relatedness of methicillin-

- resistant *Staphylococcus aureus* from a tertiary hospital and a geriatric institution in Spain. *CMI*, 10:332–48.
19. Von Baum H, Schmidt C, Svoboda D, Bock-Hensley O, Wendt C. Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage in residents of German nursing homes. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002; 23:511-5.
 20. Vovko P, Retelj M, Zohar T, Jutersek B, Harlander T, Kolman J, *et al.* Risk factor for colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a long-term-care facility in Slovenia. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26:191–5.
 21. Montesinos I, Delgado T, Riverol D, Salido E, Miguel MA, Jimenez A, *et al.* Changes in the epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with the emergence of EMRSA-16 at a University hospital. *J Hosp Infect* 2006; 64:257-63.
 22. Pérez-Roth E, López-Aguilar C, Alcoba-Flórez J, Méndez-Álvarez S. High-level mupirocin resistance within methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pandemic lineages. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:3207-11.

Conflicto de intereses

Los autores hemos recibido ayuda económica de FUNDACIÓN MAPFRE para la realización de este trabajo. No hemos firmado ningún acuerdo por el que vayamos a recibir beneficios u honorarios por parte de alguna entidad comercial o de FUNDACIÓN MAPFRE.

Control de la concentración de metilmercurio en productos pesqueros para el consumo humano mediante el empleo de polímeros de impronta molecular y de nanopartículas derivatizadas

Control of the methylmercury concentration in fish and seafood products for human consumption using molecularly imprinted polymers (MIPs) and derivatized nanoparticles

Rodríguez Fernández R, Peña Vázquez E, Moreda Piñeiro A, Bermejo Barrera P

Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Facultad de Química, Universidad de Santiago, Santiago de Compostela, A Coruña, España.

Esta investigación ha sido financiada por FUNDACIÓN MAPFRE

Resumen

Objetivo: Desarrollar un polímero de impronta molecular para la determinación de metilmercurio en muestras de alimentos de origen marino.

Material y métodos: Se sintetizó un polímero de impronta molecular (MIP) que emplea fenobarbital como ligando no vinilado para unirse al metilmercurio. Se utilizó la técnica de polimerización por precipitación. El MIP sintetizado fue empleado para funcionalizar nanopartículas magnéticas con el fin de mejorar el proceso de extracción del metilmercurio de las muestras.

Resultados: El MIP con fenobarbital fue aplicado para la determinación de la concentración de metilmercurio en dos materiales de referencia de concentración certificada para el análisis de muestras de alimentos marinos (BCR-463, tejido de atún, y TORT-2, hepatopáncreas de langosta). Los valores de concentración experimentales obtenidos fueron de $3,04 \pm 0,16$ $\mu\text{g/g}$ y $0,152 \pm 0,013$ $\mu\text{g/g}$ respectivamente, coincidiendo con los valores certificados de forma estadísticamente significativa (test t, 95% confianza).

Conclusiones: Se ha sintetizado un MIP para la determinación de la concentración de metilmercurio a bajas concentraciones en muestras de alimentos de origen marino.

Palabras clave:

Metilmercurio, polímero impronta molecular, atún, extracción selectiva.

Abstract

Objective: The development of a molecularly imprinted polymer support for methylmercury determination in fish and seafood samples.

Materials and methods: A molecularly imprinted polymer was synthesized using the precipitation technique and phenobarbital as a non-vinylated ligand for binding methylmercury. The synthesized MIP was used for the functionalization of magnetic nanoparticles in order to improve the process of methylmercury extraction from the samples.

Results: The MIP prepared with phenobarbital was applied to the determination of methylmercury concentration in two certified reference materials used for fish and seafood samples analysis (BCR-463, tuna fish, and TORT-2, lobster hepatopancreas). The experimental values (3.04 ± 0.16 $\mu\text{g/g}$ and 0.152 ± 0.013 $\mu\text{g/g}$ respectively) and the certified values showed no statistically significant difference (t test, 95% confidence level).

Conclusions: We have synthesized a MIP for determining methylmercury in fish and seafood samples at low concentrations.

Key words:

Methylmercury, molecularly imprinted polymer, tuna fish, selective extraction.

Correspondencia

P Bermejo Barrera

Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología

Avda. das Ciencias s/n, Santiago de Compostela, 15782 A Coruña, España

Introducción

Los niveles de mercurio en el medio ambiente debido a la actividad humana han aumentado considerablemente en los últimos años debido a procesos como la utilización de combustibles fósiles, la minería o la incineración de residuos. El mercurio tiene gran facilidad para formar especies orgánicas en los medios naturales, siendo éstas las más peligrosas debido a su elevada toxicidad. Una de estas especies, el metilmercurio, es generada en los medios naturales por acción microbiana o por el metabolismo de los organismos marinos, con una mayor acumulación en los animales de mayor tamaño, como es el caso del atún o el pez espada. Al tratarse de una especie liposoluble, sortea fácilmente la barrera hematoencefálica y actúa como un potente neurotóxico, afectando principalmente al sistema nervioso central. Adicionalmente, existen evidencias crecientes de que los sistemas cardiovascular e inmunológico también pueden ser afectados. El metilmercurio se absorbe posiblemente como cloruro de metilmercurio en el tracto intestinal, por inhalación o a través de la piel. La intoxicación provoca inicialmente ataxia, dificultades en la audición y el habla, y constricción del campo visual. En casos extremos conduce al coma y a la muerte [1]. La Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) ha desaconsejado el consumo de atún y pez espada por parte de embarazadas y niños menores de tres años [2]. Por todo ello, la peligrosidad del metilmercurio a muy bajas concentraciones pone de manifiesto la necesidad de desarrollar un método sensible y selectivo para su determinación en muestras de alimentos marinos.

De entre todos los métodos de extracción y determinación de mercurio y metilmercurio, la extracción en fase sólida empleando polímeros de impronta molecular (MIP-SPE) como sorbentes altamente selectivos, nos permite analizar concentraciones bajas debido a su capacidad para preconcentrar las especies de interés al mismo tiempo que eliminamos posibles interferencias para la determinación. La técnica de la impronta molecular se basa en la preparación de un polímero altamente entrecruzado alrededor de un analito «plantilla», en presencia de un monómero adecuado. A continuación, se realiza la polimerización en presencia de un entrecruzante. Por último, el polímero debe ser sometido a un proceso de limpieza para eliminar el analito de las cavidades formadas, que serán capaces, posteriormente, de retener selectivamente el analito en una muestra compleja [3]. El objetivo de nuestro trabajo es desarrollar un polímero de impronta molecular para la determinación de metilmercurio en muestras de alimentos de origen marino.

Material y métodos

Para la síntesis del polímero se empleó cloruro de metilmercurio (Sigma-Aldrich, MO, EE.UU.), fenobarbital (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania), ácido metaacrílico (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania), etilenglicoldimetacrilato (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania), 2,2' azobisisobutironitrilo (Fluka, Steinheim, Alemania), acetoneitrilo (Scharlau, Barcelona, España), tolueno (Scharlau, Barcelona, España) y tiourea (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania). Además se han utilizado nanopartículas de óxido de hierro (Fe_3O_4) y PEG-6000 (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania). Los materiales de referencia certificados utilizados para comprobar la exactitud del método fueron el BCR-463 (tejido de atún) (Community Bureau of Reference BCR, Bruselas, Bélgica) y el TORT-2 (hepatopáncreas de langosta) (National Research Council, Ottawa, Canadá).

Para la síntesis polimérica se empleó una incubadora de temperatura controlable (JP-Selecta, Barcelona, España) y un Roller Movil-Rod® (JP-Selecta, Barcelona, España) para agitación. Para la determinación de la concentración de metilmercurio de las muestras se empleó un equipo de absorción atómica de fuente continua de alta resolución ContrAA® 300 acoplado a un sistema de generación de vapor frío (CV-HRCSAAS) (Analytik Jena, Jena, Alemania). Para la caracterización de los polímeros sintetizados se emplearon los siguientes instrumentos: un analizador elemental Flash 1112 (Termo Finnigan, Waltham, EE.UU.), un analizador elemental EA 1108 (Carlo Erba, Milán, Italia), un espectrómetro de fluorescencia de rayos X con ánodo de molibdeno y otro con ánodo secundario de pirografito y hierro, de manufactura propia de la Universidad de Santiago de Compostela, un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo FESEM Ultra Plus (Zeiss, Oberkochen, Alemania) y un espectrómetro FT-IR-UATR Spectrum Two (PerkinElmer, Waltham, EE.UU.).

Para la síntesis del polímero de impronta molecular se utilizó cloruro de metilmercurio como plantilla, fenobarbital como ligando para formar el complejo con el metilmercurio, ácido metaacrílico (MAA) como monómero y etilenglicol dimetacrilato (EGDMA) como entrecruzante. Como disolvente de polimerización se empleó una mezcla de acetoneitrilo y agua. La polimerización se llevó a cabo bajo agitación lenta a 60° C durante 24 horas. Para el polímero blanco o NIP, el procedimiento de síntesis fue el mismo pero sin añadir la plantilla de metilmercurio. Las masas de reactivos utilizadas en la síntesis de estos polímeros se muestran en la Tabla 1. Antes de poder emplear el MIP para realizar la extracción, la plantilla de metilmercurio tuvo

Tabla 1. Cantidades de reactivos para sintetizar el MIP de fenobarbital y masa de polímero obtenida

	Plantilla (MeHg ⁺)	Ligando (Fenobarbital)	Monómero (MAA)	Entrecruzante (EGDMA)	Iniciador (AIBN)	Masa Polímero
MIP	18,3 mg	61 mg	51,2 µL	365 µL	43,3 mg	1,7915 g
NIP	-	61 mg	51,2 µL	365 µL	43,3 mg	1,5129 g

que ser eliminada de la matriz polimérica, pasando una disolución concentrada acuosa de tiourea y ácido clorhídrico a través del cartucho en un proceso que se denomina sangrado. Una vez sangrado el polímero, el cartucho quedó listo para realizar la SPE.

Extracción del MeHg⁺

Para liberar el metilmercurio de los productos pesqueros se realizó una extracción en medio orgánico (tolueno), utilizando un método desarrollado a partir del Kwasiak *et al.* [4]. Porciones de 200 mg de cada muestra se llevaron a tubos de centrifuga. Cada porción se lavó primero con acetona, y después se le añadieron 2,5 mL de HCl 6M y 2,5 mL de tolueno. Los tubos se colocaron en un baño de ultrasonidos durante 30 minutos a 60° C y los extractos se centrifugaron otros 30 minutos a 3.500 rpm a temperatura ambiente. La fracción orgánica se recogió, se repitió la extracción con otros 2,5 mL de tolueno y finalmente se juntaron los extractos.

MIP-SPE

Para la extracción del metilmercurio en fase sólida (SPE) se empaquetó una porción de MIP (150 mg) en un cartucho. El extracto orgánico obtenido previamente a partir de la muestra de alimento se hizo pasar a través del cartucho, previamente acondicionado al pH adecuado (8,5), a un flujo bajo (0,5 mL/min), produciéndose la retención del metilmercurio en el MIP empaquetado. Tras la carga de la muestra, el metilmercurio fue eluido del cartucho con una disolución de tiourea acidificada.

Resultados

En los experimentos preliminares a la síntesis del polímero se realizaron experimentos con distintos agentes complejantes para evaluar su capacidad de retención y su afinidad por el mercurio inorgánico y el metilmercurio. Los ligandos seleccionados para el estudio fueron el amonio pirrolidin ditiocarbamato (APDC), el ditiocarbamato (DDTC), el EDTA, el fenobarbital y la ditizona. Se realizaron extracciones (en duplicado) líquido-líquido en cloroformo empleando patrones de Hg(II) y metilmercurio

(MeHg⁺) para poder comparar el poder complejante con respecto a las dos especies.

Asumiendo que el complejo entre el ligando y el mercurio pasa a la fase orgánica, se analizaron las fases acuosas para comprobar qué cantidad de mercurio o metilmercurio quedaba sin complejar (a menor cantidad en la fase acuosa, mayor retención por parte del ligando). Los resultados indicaron que el fenobarbital extrae el metilmercurio a un nivel similar a la ditizona, pero extrae peor el Hg(II). Es decir, es más selectivo para el metilmercurio que la ditizona (Figura 1).

Tras la selección del fenobarbital se repitió el experimento sólo para este ligando, tamponando la fase acuosa a diferentes pHs entre 4,5 y 10,5. De nuevo se analizó la cantidad de mercurio que no quedaba retenida y que permanecía en la fase acuosa, dando como resultado que la mayor retención por parte del fenobarbital se produce a un pH en torno a 8,5 (Figura 2).

Síntesis del polímero de impronta molecular

El MIP de fenobarbital se sintetizó utilizando el método de precipitación según el procedimiento experimental detallado con anterioridad. Las masas de polímero obtenidas

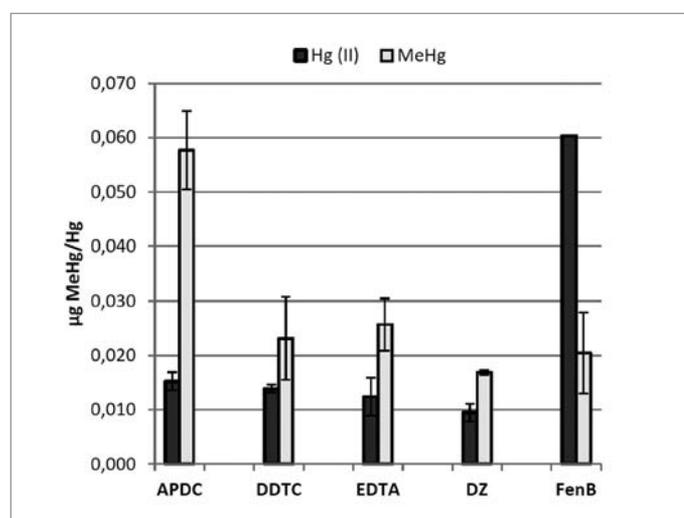


Fig. 1. Evaluación de la eficacia de diferentes complejantes para Hg(II) y MeHg⁺ (µg de Hg no retenidos).

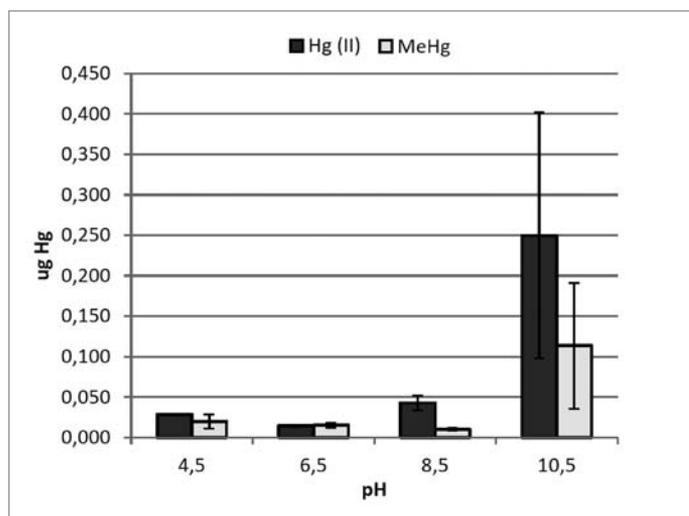


Fig. 2. Eficacia de extracción de Hg(II) y MeHg⁺ para el fenobarbital a diferentes pH (µg no retenidos).

para el MIP que empleaba fenobarbital como complejante del metilmercurio y el NIP se muestran en la Tabla 1. Las diferencias entre uno y otro podrían deberse a diferencias en el grado de hidratación tras el proceso de secado en estufa.

Caracterización del MIP de fenobarbital

El polímero sintetizado fue caracterizado mediante distintas técnicas: análisis elemental (Tabla 2), espectroscopía infrarroja, fluorescencia de rayos X (XFR) y microscopía electrónica de barrido. Los espectros de fluorescencia permitieron observar la presencia del mercurio en la matriz polimérica del MIP y cómo se elimina en la etapa de sangrado (Figura 3). Las imágenes de microscopía muestran las diferencias en la morfología entre el MIP de fenobarbital y el NIP o polímero blanco, sintetizado sin la presencia de la plantilla de metilmercurio (Figura 4). Estas diferencias en cuanto a porosidad podrían deberse al distinto grado de hidratación. En cuanto a los espectros infrarrojos, no se observaron diferencias significativas entre los espectros de MIP, MIP sangrado y NIP.

Tabla 2. Análisis elemental del MIP de fenobarbital

Elemento	MIP fenobarbital	MIP fenobarbital (sangrado)
Nitrógeno	57,19%	55,26%
Carbono	7,42%	7,23%
Hidrógeno	0,62%	0,74%
Azufre	-	2,08%
Oxígeno	21,18%	20,92%

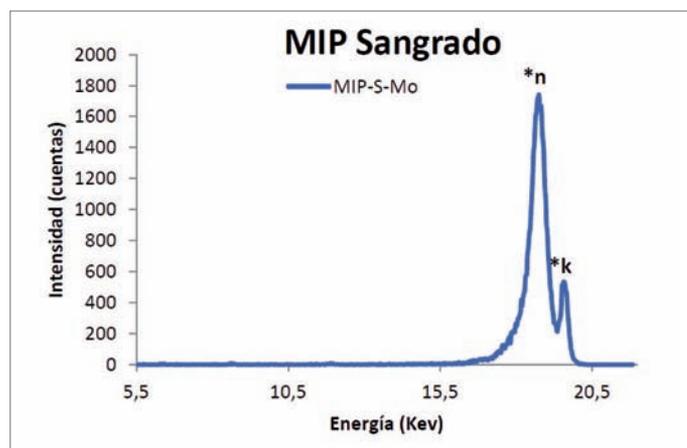
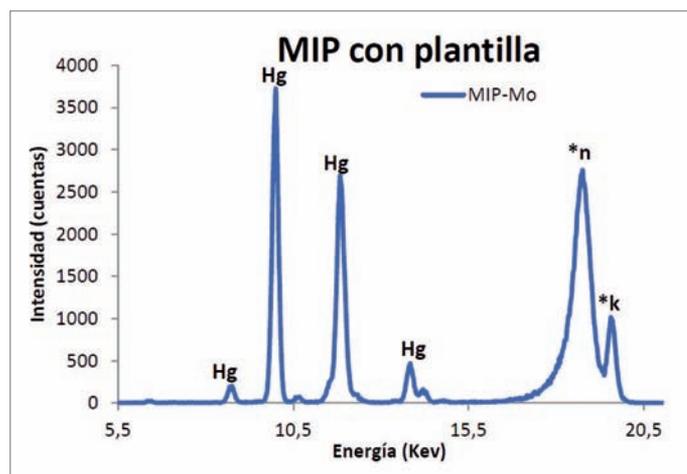


Fig. 3. Espectros XRF del MIP de fenobarbital con plantilla de MeHg⁺ y sangrado.

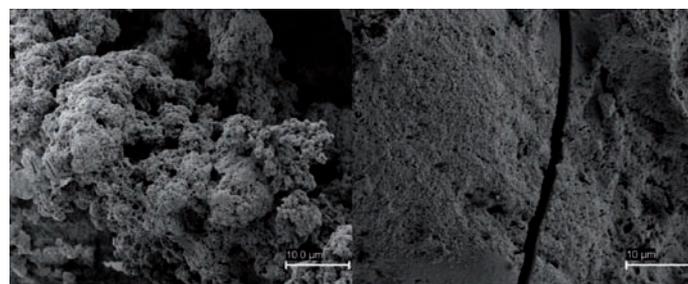


Fig. 4. Micrografías del MIP de fenobarbital (izquierda) y el NIP (derecha).

Determinación de metilmercurio en materiales de referencia certificados

Los resultados de la medida de los extractos obtenidos en triplicado a partir de los materiales de referencia analizados se muestran en la Tabla 3. El material de referencia BCR-463, se trata de una muestra de tejido de atún liofilizado en el que la práctica totalidad del mercurio se encontraba como metilmercurio. Sin embargo, el material TORT-2 era

Tabla 3. Comparación entre los valores de concentración obtenidos para los materiales de referencia y sus valores certificados

Material de referencia	Valor certificado ($\mu\text{g/g}$)	MIP fenobarbital ($\mu\text{g/g}$)
BCR-463 (músculo de pescado)	$3,04 \pm 0,16$	$3,14 \pm 0,20$
TORT-2 (hepatopáncreas de langosta)	$0,152 \pm 0,013$	$0,155 \pm 0,006$

Tabla 4. Cantidades de reactivo añadidas y masa obtenida de nanopartículas derivatizadas (NMIP)

	Plantilla (MeHg ⁺)	Ligando	Monómero (MAA)	Entrecruzante (EGDMA)	Iniciador (AIBN)	NPs funcionalizadas (Fe ₃ O ₄ -PEG)	Masa de polímero
NMIP fenobarbital	9,15 mg	30,5 mg	25,6 μL	233,5 μL	21,65 mg	250 mg	316,9 mg

una muestra de hepatopáncreas de langosta con un contenido en mercurio total de $0,27 \pm 0,06 \mu\text{g/g}$, es decir, solamente el 55% es metilmercurio. Mediante el método desarrollado, se pudo diferenciar, por tanto, entre concentración de metilmercurio y mercurio total.

Síntesis de nanopartículas magnéticas funcionalizadas con polímeros de impronta molecular

Una vez obtenido el polímero de impronta molecular, se utilizó para el desarrollo de un nuevo método de extracción en fase sólida empleando nanopartículas magnéticas funcionalizadas con dicho polímero. La utilización de nanopartículas nos permitió trabajar con partículas esféricas más regulares y de menor tamaño, aumentando el área superficial y, por tanto, la capacidad de absorción de las mismas, además de lograr mayor reproducibilidad entre réplicas.

Las nanopartículas funcionalizadas con MIPs (NMIPs) se sintetizaron siguiendo la técnica descrita por Hu *et al.* [5]. En tubos de vidrio se introdujeron las cantidades correspondientes de fenobarbital y metilmercurio como molécula plantilla. Sobre la mezcla sólida se añadieron 6 mL de dimetilformamida (DMF) como disolvente y se agitó hasta una disolución completa. Por último, se añadió el monómero (MAA) y se conservó la mezcla en oscuridad 12 horas. Pasado este tiempo, se añadió la mezcla anterior sobre una disolución acuosa de nanopartículas funcionalizadas con polietilenglicol (PEG), formándose una emulsión entre la fase orgánica y la acuosa en la que se produjo la polimerización. Se agregó el entrecruzante (EGDMA) y el iniciador (AIBN) y se colocó el recipiente en un baño de ultrasonidos durante 4 horas a 60° C.

También se sintetizaron nanopartículas con polímero blanco NIP, con idéntico procedimiento pero sin añadir la

plantilla de metilmercurio. Las masas obtenidas de NMIPs se muestran en la Tabla 4. Al igual que ocurre con el MIP libre, las nanopartículas funcionalizadas tienen que ser sometidas a un proceso de sangrado para eliminar la plantilla de metilmercurio. En este caso ha de controlarse la disolución del extractante, ya que las nanopartículas de hierro se disuelven en un medio elevadamente ácido. Se seleccionó una mezcla de tiourea 1M en ácido acético al 20% y metanol al 50% como disolución extractante, consiguiendo la eliminación prácticamente completa del metilmercurio de la matriz (Figura 5). Los experimentos preliminares con estas nanopartículas derivatizadas son prometedores pero se deben optimizar los parámetros de la carga y elución, tales como el tiempo de agitación o el pH de la muestra, además de tratar de mejorar el procedimiento para la eliminación de la plantilla. Una vez optimizado el proceso, el siguiente paso sería la aplicación a muestras reales de pescados y moluscos.

Discusión

Los polímeros sintetizados para la determinación de mercurio suelen emplear ligandos que poseen átomos de azufre en su estructura, por la facilidad para unirse al mercurio. Se ha determinado mercurio inorgánico en aguas utilizando MIPs sintetizados mediante polimerización por dispersión empleando un tiazol como ligando [6] o en muestras de suero con MIPs sintetizados a partir de derivados de la cisteína [7]. Otros trabajos que emplean esta técnica de polimerización para determinar mercurio en muestras acuosas realizan la polimerización sobre superficies o sílice modificada [8][9]. En el caso de la especie metilmercurio, se han empleado los MIPs sintetizados por precipitación para el análisis de muestras de suelo o pelo humano [10], y los sintetizados por dispersión para el análisis de muestras de agua de mar [11].

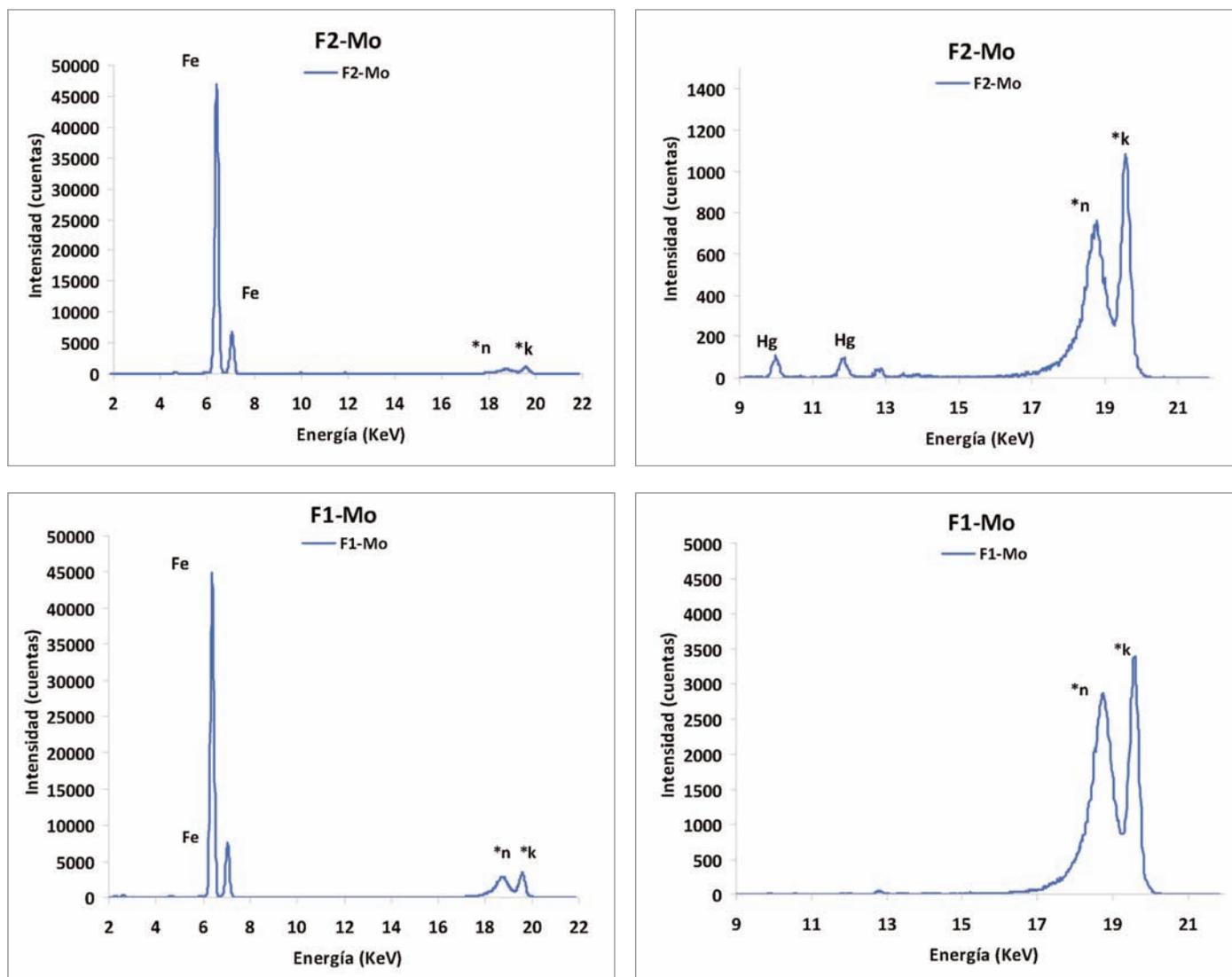


Fig. 5. Espectros XRF de las nanopartículas magnéticas funcionalizadas con el MIP de fenobarbital sangrado (F1) y con plantilla (F2). En los espectros de la derecha se observa la desaparición de la señal correspondiente al Hg.

Otros trabajos recogidos en la bibliografía también estudian la determinación de metilmercurio y principalmente mercurio inorgánico mediante la utilización de nanopartículas metálicas. Así, las nanopartículas de plata y especialmente de oro derivatizadas se utilizan para la determinación colorimétrica [12-16], y los *quantum dots* (nanopartículas semiconductoras) para la detección fluorimétrica [17-19]. Las nanopartículas magnéticas, principalmente de óxido de hierro, y derivatizadas con MIPs aumentan la capacidad de extracción del analito de la disolución, simplificando los métodos de SPE, y han sido utilizadas para la posterior determinación de mercurio mediante técnicas atómicas [20][21].

El polímero de fenobarbital es el segundo que se sintetiza en este grupo de investigación para la determinación de

MeHg⁺. Anteriormente se había desarrollado un MIP que empleaba ditizona como ligando y 4-vinilpiridina como monómero, el cual se basaba principalmente en anteriores trabajos sobre polímeros de impronta iónica para el níquel, como los realizados por Otero *et al.*, [22] y Saraji *et al.*, [23]. El polímero que emplea el fenobarbital se basó en los métodos tradicionales colorimétricos para la determinación de barbitúricos y en los MIPs sintetizados para la determinación de este fármaco [24-27].

Con este nuevo polímero, se han conseguido mejorar algunas de las características del procedimiento de SPE desarrollado que utilizaba el MIP de ditizona. La síntesis del MIP de ditizona generaba partículas más grandes e irregulares, impidiendo empaquetar correctamente el mismo en cartuchos y

que con éstos se pudiesen obtener resultados reproducibles. Tanto la eliminación de la plantilla de metilmercurio como la SPE se tenía que realizar en modo discontinuo (modo *batch*), el cual, a pesar de lograr resultados precisos y exactos, es un método que necesita de unas etapas de filtrado y recuperación del MIP que resultan lentas y tediosas, además de la inevitable pérdida de masa de polímero en cada uno de los ciclos. El modo *batch* consiste en añadir una cantidad conocida de polímero a la disolución de la que se quiere extraer el analito. Tras la extracción es necesario recuperar las partículas de polímero mediante filtración. El modo cartucho del MIP de fenobarbital evita estas etapas de filtrado, no se producen pérdidas de polímero y se acortan los procesos de sangrado, carga y elución, pudiéndose además controlar los flujos de muestra o eluyente que pasan a través del cartucho mediante la bomba peristáltica acoplada. La posibilidad de hacer la SPE tanto de muestras acuosas como en disolventes orgánicos con recuperaciones próximas al 100% aporta versatilidad a la hora de tratar diferentes tipos de muestras y extractos. La principal ventaja de la carga de los MIPs con la fase orgánica radica en que, habitualmente, al realizarse una extracción de este tipo de analitos con tolueno, éstos necesitan ser separados y determinados mediante cromatografía de gases [28], o si no realizar una nueva etapa de reextracción a fase acuosa, con el fin de determinar estas especies por absorción atómica [20].

La novedad con respecto a otros trabajos sobre polímeros de impronta molecular para la determinación de MeHg⁺ es que se ha conseguido aplicar los MIPs para metilmercurio al modo columna. Büyüktiryaki *et al.*, [11] realizan todos los experimentos utilizando el modo *batch* y Liu *et al.* [10] nombran el modo en columna pero realiza casi todos los experimentos en modo *batch*, lo que da a entender que los resultados en modo columna no fueron del todo satisfactorios.

El pH óptimo para la extracción en fase sólida del MIP sintetizado es de 8,5. Es ligeramente superior al de los otros trabajos anteriores, ya que el polímero sintetizado por Büyüktiryaki *et al.* [11], utilizando metacrililoil-(L)-cisteína metilester (MAC) como agente complejante, tiene su máximo de adsorción a pH 7,0. No podemos observar si se produce una caída en la retención del polímero a pHs más básicos debido a que solo evalúa la retención hasta pH 8. El MIP desarrollado por Liu tiene ese máximo a pH 5, utilizando en este caso 4-etenilfenil-4-formato-6-fenil-2,2'-bipiridina como ligando, aunque la retención se mantiene estable en el intervalo de pH 4-6.

El método de polimerización por precipitación utilizado en este trabajo es más sencillo que la polimerización por

dispersión empleada en los trabajos anteriormente citados, así como el método de extracción de la plantilla. Liu *et al.* [10], por ejemplo, tratan el polímero sintetizado en una disolución de tiourea 1M en HCl 6M durante 48 horas y calentando a 60° C, mientras que el sangrado completo de las jeringas del MIP de fenobarbital se consigue en un período de 3-4 horas. A pesar de que este polímero ha sido sintetizado preferentemente con el objetivo de aplicarlo al análisis de muestras de productos pesqueros, en vista de su versatilidad (puede emplearse con muestras acuosas o extractos orgánicos), podría utilizarse para la determinación de metilmercurio en otras matrices diferentes, y por tanto destinarse al análisis de, por ejemplo, aguas naturales o residuales, muestras de sedimentos y suelos (MSPD) [29]. ■

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer a FUNDACIÓN MAPFRE por la financiación de la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Casas JS. Química bioinorgánica. Madrid: Síntesis; 2002.
2. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. http://www.aesan.msc.es/AESAN/web/rincon_consumidor/s_ubseccion/mercurio_pescado.shtml. Último acceso: 12/06/2014.
3. Sellergren B. Molecularly imprinted polymers: Man-made mimics of antibodies and their applications in analytical chemistry. Germany: Elsevier; 2001.
4. Kwásniak J, Falkowska L, Kwásniak M. The assessment of organic mercury in Baltic fish by use of an in vitro digestion model. Food Chem 2012; 132:752-758.
5. Hu Y, Li Y, Liu R, Tan W, Li G. Magnetic molecularly imprinted polymer beads prepared by microwave heating for selective enrichment of β -agonists in pork and pig liver samples. Talanta 2011; 84:462-70.
6. Dakova I, Karadjova I, Georgieva V, Georgiev G. Ion-imprinted polymethacrylic microbeads as new sorbent for pre-concentration and speciation of mercury. Talanta 2009; 78:523-9.
7. Andaç M, Mirel S, Senel S, Say R, Ersöz A, Denizli A. Ion-imprinted beads for molecular recognition based mercury removal from human serum. Int J Biol Macromol 2007; 40:159-66.
8. Güney O, Cebeci FC. Molecularly imprinted fluorescent polymers as chemosensors for the detection of mercury ions in aqueous media. J Appl Polym Sci 2010; 117:2373-9.

9. Wang Z, Wu G, He C. Ion-imprinted thiol-functionalized silica gel sorbent for selective separation of mercury ions. *Microchim Acta* 2009; 165:151-7.
10. Liu Y, Zai Y, Chang X, Guo Y, Meng S, Feng F. Highly selective determination of methylmercury with methylmercury-imprinted polymers. *Anal Chim Acta* 2006; 575:159-65.
11. Büyüktiryaki S, Say R, Denizli A, Ersöz A. Mimicking receptor for methylmercury preconcentration based on ion-imprinting. *Talanta* 2007; 71:699-705.
12. Knecht MR, Sethi M. Bio-inspired colorimetric detection of Hg²⁺ and Pb²⁺ heavy metal ions using Au nanoparticles. *Anal Bioanal Chem* 2009; 394:33-46.
13. Lin Y, Huang C, Chang H. Gold nanoparticle probes for the detection of mercury, lead and copper ions. *Analyst* 2011; 136:863-71.
14. Zhang F, Zeng L, Yang C, Xin J, Wang H, Wu A. A one-step colorimetric method of analysis detection of Hg²⁺ based on an in situ formation of Au@HgS core-shell structures. *Analyst* 2011; 136:2825-30.
15. Ramesh GV, Radhakrishnan TP. A universal sensor for mercury (Hg, HgI, HgII) based on silver nanoparticle-embedded polymer thin film. *ACS Appl Mater Interfaces* 2011; 3:988-94.
16. Chang H, Hsiung T, Huang Y, Huang C. Using rhodamine 6G-modified gold nanoparticles to detect organic mercury species in highly saline solutions. *Environ Sci Technol* 2011; 45:1534-9.
17. Yuan C, Zhang K, Zhang Z, Wang S. Highly selective and sensitive detection of mercuric ion based on a visual fluorescence method. *Anal Chem* 2012; 84:9792-801.
18. Jaiswal A, Ghosh SS, Chattopadhyay A. Quantumdot impregnated-chitosan film for heavy metal ion sensing and removal. *Langmuir* 2012; 28:15687-96.
19. Wang Y, Liu Y, He X, Li W, Zhang Y. Highly sensitive synchronous fluorescence determination of mercury (II) based on the denatured ovalbumin coated CdTe QDs. *Talanta* 2012; 99:69-74.
20. Park M, Seo S, Lee IS, Jung JH. Ultraefficient separation and sensing of mercury and methylmercury ions in drinking water by using aminonaphthalimide-functionalized Fe₃O₄@SiO₂ core/shell magnetic nanoparticles. *Chem Commun* 2010; 46:4478-80.
21. Mehdinia A, Roohi F, Jabbari A. Rapid magnetic solid phase extraction with in situ derivatization of methylmercury in seawater by Fe₃O₄/polyaniline nanoparticle. *J Chromatogr A* 2011; 1218:4269-74.
22. Otero-Romaní J, Moreda-Piñeiro A, Bermejo-Barrera P, Martín-Esteban A. Synthesis, characterization and evaluation of ionic-imprinted polymers for solid-phase extraction of nickel from seawater. *Anal Chim Acta* 2008; 630:1-9.
23. Saraji M, Yousefi H. Selective solid-phase extraction of Ni(II) by an ion-imprinted polymer from water samples. *J Hazard Mater* 2009; 167:1152-7.
24. Hu S, Wang S, He X. An amobarbital molecularly imprinted microsphere for selective solid-phase extraction of phenobarbital from human urine and medicines and their determination by high-performance liquid chromatography. *Analyst* 2003; 128:1485-9.
25. Beltran A, Borrull F, Cormack PAG, Marcé RM. Molecularly imprinted polymer with high-fidelity binding sites for the selective extraction of barbiturates from human urine. *J Chromatogr A* 2011; 1218:4612-8.
26. Mohajeri SA, Ebrahimi SA. Preparation and characterization of a lamotrigine imprinted polymer and its application for drug assay in human serum. *J Sep Sci* 2008; 31:3595-602.
27. De Bruijn D. Quantitative barbiturate determination in urine and serum. *Clin Chim Acta* 1974; 53:385-8.
28. Marsálek P, Svobodová Z. Rapid determination of methylmercury in fish tissues. *Czech J Food Sci* 2006; 24:138-42.
29. Gañán J, Gallego-Picó A, Gacinuño RM, Fernández-Hernando P, Morante S, Sierra I, *et al.* Development of a molecularly imprinted polymer-matrix solid-phase dispersion method for selective determination of β -estradiol as anabolic growth promoter in goat milk. *Anal Bioanal Chem* 2012; 403:3025-9.

Conflicto de intereses

Los autores hemos recibido ayuda económica de FUNDACIÓN MAPFRE para la realización de este trabajo. No hemos firmado ningún acuerdo por el que vayamos a recibir beneficios u honorarios por parte de alguna entidad comercial o de FUNDACIÓN MAPFRE.

Thomas Georg Morton. 1835-1903

Epónimo asociado

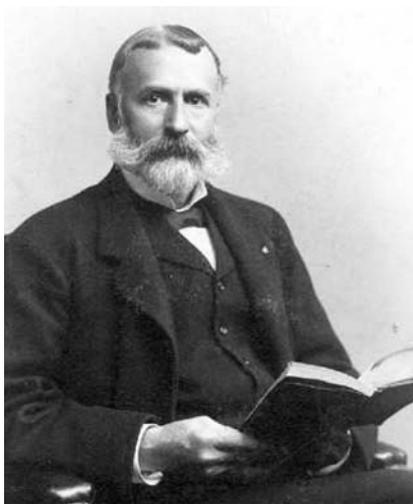
Neuroma de Morton: descrito en 1876, es una fibrosis perineural y degeneración nerviosa del nervio interdigital a nivel de la cabeza del metatarsiano, generalmente en el espacio entre el tercer y cuarto metatarsiano. Está causado por la irritación y compresión del nervio por el ligamento intermetatarsiano. Fue descrito inicialmente por Lewis Durlacher en 1845, pero el término de «neuralgia de Morton» lo introdujo Lewin en 1876.

Biografía

Nació en Filadelfia (EE. UU.), hijo del científico Samuel Georg Morton. Obtuvo su grado de doctor en 1856 en la Universidad de Pensilvania. Durante la guerra civil norteamericana organizó numerosos hospitales militares y con David H. Agnew, entre 1862 y 1865, dirigió el Mary Hospital de Filadelfia, el mayor en aquellos tiempos, con 500 camas. En 1866 fue nombrado director médico del hospital de Pensilvania. Escribió sobre los temas más variados, como la transfusión sanguínea o la metatarsalgia. En 1886 fue uno de los primeros en realizar con éxito una apendicectomía. Murió de cólera en 1903.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hwang S, Schneider R. Eponyms of tumors and tumorlike lesions in the musculoskeletal system: who were the people and what are the lesions? Pictorial review. *AJR* 2010; 195:S50-S61.



Thomas Georg Morton.

2. Morton TG. The classic: a peculiar and painful affection of the fourth metatarso-phalangeal articulation. *Clin Orthop Rel Res* 1979; 142:4-9.

Maurice Müller. 1918-2009

Epónimos asociados

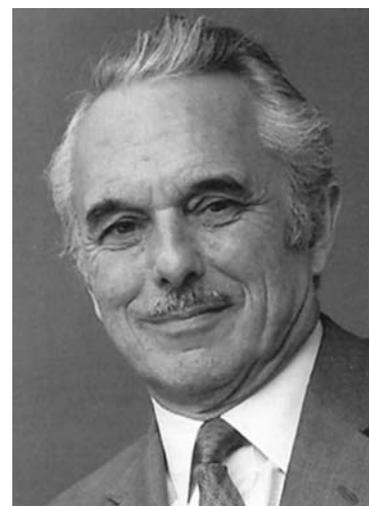
Prótesis de Müller

Clasificación de las fracturas de Müller

Biografía

Fundador del grupo y de la técnica AO, diseñó más de 80 instrumentos para el manejo quirúrgico de las fracturas. Inspirado en el trabajo de John Charnley, desarrolló su modelo de prótesis de cadera. Se calcula que durante su vida realizó unas 20.000 intervenciones quirúrgicas.

Nació en Biel (Suiza), estudiando medicina en Neuchatel y Berna y licenciándose en Lausana en 1944. Su interés por la especialidad se agudizó al visitar a un excombatiente de la Segunda Guerra Mundial, portador de un clavo de Küntscher. Se formó en la clínica Balgrist de Zúrich y se doctoró en esta Universidad en 1946. El mismo año contrajo matrimonio y un año después viajó, con su esposa, al hospital de Jimma (Etiopía), donde se ofreció al emperador Haillie Selassie para organizar la red asistencial traumatológica, pero este insistió en su interés por prevenir el tracoma. Müller se afanó por operar y por desarrollar el plan contra el tracoma. A su vuelta pasó por los hospitales de Liestal, Friburgo y Zúrich.



Maurice Müller.

Durante una estancia en Bélgica, en 1950, contactó en Bruselas con Robert Denis, el cirujano pionero de la reducción anatómica, la fijación interna y la consolidación «sin callo visible» de las fracturas. De aquel encuentro surgió la idea de la AO suiza, fundada en 1958 con Martin Allgöwer, Hans Willenegger y Robert Schneider. Se desarrollaron implantes e instrumentos y se publicó un manual con los principios para el tratamiento de cada tipo de fractura. La AO también creó un centro de documentación de los casos clínicos tratados con la técnica AO para analizar los éxitos y los fracasos.

En 1960 fue nombrado jefe del servicio del Hospital de Sant Gallen (Suiza), donde colocó su primera prótesis total de cadera tipo Charnley. En 1963 fue nombrado profesor de la Universidad de Berna y jefe del servicio del Insel Spital, donde permaneció hasta 1980. Fue president de SICOT entre 1981 y 1984.

Maurice y su esposa, Martha Lüthi, donaron 33 millones de euros para la construcción y equipamiento del Centro Cultural Paul Klee de Berna, sorprendente edificio singular diseñado bajo su inspiración y que acoge un museo con más de 4.000 obras de arte. Fue autor de 250 trabajos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Orozco L. Legado de Maurice Müller a España (1918–2009). *Rev Esp Cir Ortop Traumatol* 2009; 53:

Claude Pouteau. 1725-1775

Epónimo asociado

Fractura de Pouteau-Colles: es el nombre aplicado, en la literatura francesa, a la fractura de Colles.

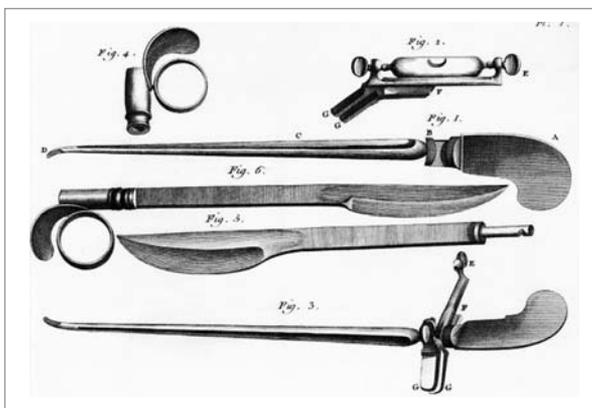


Fig. 1.



Claude Pouteau.

Biografía

Cirujano de Lyon (Francia), fue un avanzado de la limpieza quirúrgica, exigiendo el lavado de manos y la utilización de material desechable. Fue, también, uno de los primeros litotomistas que extraían cálculos vesicales a través de una incisión en el periné con el paciente, sin anestesiarse, en posición de litotomía y una mortalidad muy baja.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pouteau C. Contenant quelques reflexions sur quelques fractures de l'avant-bras, sur les luxations incompletes du poignet et sur le diastasis. En: *Obres posthumes de M Pouteau*, Paris: Pierres 1783.
2. Fischer L, Touil K. [Claude Pouteau (1725-1775), surgeon at the l'Hôtel-Dieu de Lyon: his «asepsis» using water, fire and ligne propre]. *Hist Sci Med* 1998; 32:27-37.

Heinrich Moritz Romberg. 1795-1873

Epónimos asociados

Síndrome de Parry-Romberg: trastorno muy raro caracterizado por la atrofia progresiva de algunos o todos los tejidos en un lado de la cara. También puede afectar a otras partes del cuerpo.

Signo de Romberg: balanceo o caída del cuerpo cuando el paciente se pone de pie con los pies juntos y cierra los ojos. Se observa en el tabes dorsal y enfermedades que afectan a los cordones posteriores de la médula espinal.



Heinrich Moritz Romberg.

Prueba de Romberg: si el paciente, con los ojos cerrados, presenta torpeza de los movimientos, así como en la bipedestación y durante la marcha, nos encontramos ante una ataxia periférica. Si no se producen estos cambios se tratará de una ataxia cerebelosa.

Espasmo de Romberg: trismo, o trastorno del n. trigémino que produce espasmo de los músculos masticadores, dificultando la abertura de la boca. Síntoma propio de las primeras fases del tétanos.

Biografía

Nació en Meiningen (Alemania) y estudió medicina en Berlín, donde obtuvo su doctorado en 1817 con una tesis sobre el raquitismo, que ofrecía su descripción de la acondroplasia como «raquitismo congénito». Estuvo en Viena con Johann Peter Frank (1745-1821) estudiando las enfermedades de la médula espinal. Frank fue también fundador de la higiene pública moderna. De nuevo en Berlín, en 1820, trabajó con pacientes indigentes, llegando a ser el primer neurólogo clínico. Durante las epidemias de cólera de Berlín en los años 1831 y 1837 trabajó desinteresadamente con estos pacientes. En 1838 fue nombrado profesor y en 1840 se le encomendó la dirección de la clínica universitaria, donde obtuvo la cátedra de Patología Especial y Terapia y la dirección de la clínica. Su principal contribución a la neurología fue la descripción del signo que lleva su nombre, pero su libro de texto, en tres volúmenes, *Lehrbuch der Nervenkrankheiten des Menschen* (*Manual de las enfermedades nerviosas*) fue la base de todos los manuales publicados posteriormente. Murió de una enfermedad cardíaca crónica a los 78 años de edad. |

Robert Bruce Salter. 1924-2010

Epónimos asociados

Clasificación de Salter y Harris: 1963, para las fracturas que afectan al cartílago de crecimiento

Osteotomía innominada de Salter: para el tratamiento de la luxación congénita de cadera

Biografía

Cirujano canadiense, nacido en Stratford, Ontario, y reconocido por sus investigaciones, en modelos experimentales, sobre el efecto del movimiento pasivo continuo en el cartílago articular y, además, por ser uno de los pioneros de la ortopedia infantil. Se graduó en la Universidad de Toronto en 1947, trabajando dos años en el Grenfell Medical Mission, en Newfoundland. Ese mismo año trabajó con Ham, autor del famoso tratado de Histología, escribiendo el capítulo sobre la consolidación de las fracturas. Efectuó su residencia, durante tres años, con WE Gallie, recibiendo el premio Reeves. Posteriormente, con el McLaughlin Fellow, estuvo un año en Oxford (Gran Bretaña) y en el London Hospital junto con *sir* Reginald Watson-Jones, quien defendía, para el tratamiento de las fracturas, la inmovilización completa, rígida y prolongada. Salter rechazó estos principios, demostrando el efecto perjudicial de la inmovilización y desarrollando su principio de la movilidad pasiva continua. En 1955 volvió al Hospital for Sick Children de Toronto, donde obtendría la jefatura del departamento. Proyectó un sistema para corregir



Robert Bruce Salter.

la luxación congénita de cadera y desarrolló, junto con Harris, un sistema para clasificar las fracturas que afectan al cartílago de crecimiento. También ideó en 1960 una osteotomía para reorientar el acetábulo en la luxación congénita de cadera. De su libro, *Disorders and Injuries of the Musculoskeletal System*, traducido a seis idiomas, se han vendido 195.000 copias. Defensor de la investigación en los centros ortopédicos, definió la «investigación transformacional» como aquella que transforma el tratamiento de los pacientes y permite su utilización mundial. Recibió numerosas condecoraciones y nominaciones canadienses e internacionales. Su jubilación fue muy corta: después de impartir su último seminario, murió a las seis semanas, el 10 de mayo de 2010.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Polenakovic M, Dzolev G. In memoriam: Dr. Robert Bruce Salter (1924-2010). *Prilozi*. 2011; 32:337-8.
2. Alman B, Wedge J. Robert Bruce Salter, C.C., MD, FRCS. Dec 15, 1924–May 10, 2010. *J Child Orthop* 2010; 4:275-6.

Gunnar Georg Fredrik Wiberg. 1902-1988

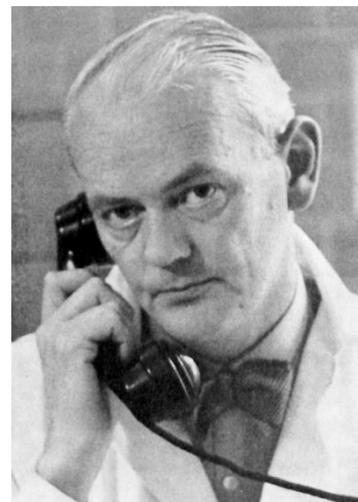
Epónimos asociados

Ángulo de Wiberg o ángulo centro-borde: ángulo entre una línea perpendicular a la línea de Perkins que pasa por el centro de la cabeza del fémur y otra línea que desde el centro de la cabeza del fémur pasa tangente por el borde externo del acetábulo. Wiberg encontró un rango normal en adultos entre 20 y 40°.

Clasificación de la morfología rotuliana: en tres tipos.

Biografía

Ortopeda sueco, nacido en Goteborg, directivo en numerosas sociedades médicas y diseñador del actual logotipo de las sociedades de ortopedia escandinavas. Recomendaba transferir las fracturas, una vez tratadas, a los servicios de ortopedia. Publicó sobre sus investigaciones en la displasia de cadera, la rótula y la cirugía de la columna lumbar. Su tesis doctoral *Studies on dysplastic acetabula and congenital subluxation of the hip joint*, de 1939, demostraba la importancia del recubrimiento de la cabeza femoral en las displasias residuales de la cabeza femoral en pacientes jóvenes para prevenir la artrosis.



Gunnar Georg Fredrik Wiberg.

Fue un jugador apasionado de tenis hasta poco antes de su muerte, así como un reconocido carpintero, especializado en cómodas estilo siglo XVIII. Creó una fundación para conseguir fondos para el departamento de ortopedia vendiendo los zuecos quirúrgicos de madera que él mismo diseñaba.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bauer GCH. Gunnar Wiberg (1902-1988). *Acta Orthop Scand* 1988; 59:732-7.
2. Wiberg G. Studies on dysplastic acetabula and congenital subluxation of the hip joint. *Acta Orthop Scand (supplement)* 1939; 58:1-132.
3. Wiberg G. Roentgenographic and anatomic studies on the femoropatellar joint. *Acta Orthop Scand* 1941; 12:319-410.
4. Gunnar Wiberg. *Acta orthop Scandinav* 1969; 40:411-2.



Los galardonados de los Premios Sociales 2013 posan junto a Su Majestad la Reina, altos cargos de MAPFRE y de FUNDACIÓN MAPFRE y la Secretaria de Estado de Servicios Sociales e Igualdad.

Su Majestad la Reina preside la entrega de los Premios Sociales 2013

Los galardones recayeron en el doctor Barraquer, el SEPRONA y las fundaciones Michou y Mau y NIPACE

FUNDACIÓN MAPFRE entregó el pasado 20 de mayo, en Madrid, sus Premios Sociales 2013, que reconocen a las personas o instituciones que han realizado actuaciones destacadas en beneficio de la sociedad, y cuya dotación global asciende a 120.000 euros.

La ceremonia, presidida por Su Majestad la Reina, contó con la participación de Susana Camarero, Secretaria de Estado de Servicios Sociales e Igualdad, Teófilo Domínguez, Director de FUNDACIÓN MAPFRE, y Antonio Huertas, Presidente de FUNDACIÓN MAPFRE, quien destacó que este acto «reconoce públicamente la labor de instituciones y personas que, con dedicación y esfuerzo, de una manera muchas veces callada, contribuyen a transformar nuestro mundo en un lugar mejor». El Presidente de la Fundación subrayó además que «iniciativas de esta índole son muy necesarias en un contexto como el actual donde, en ocasiones, parece que el egoísmo prima por encima de todo».

La Fundación Michou y Mau IAP de México ha sido reconocida por estos premios, que tienen carácter inter-

nacional y a los que se han presentado más de 400 candidatos procedentes de España, Portugal e Iberoamérica. Virginia Sendel, Presidenta y fundadora de esta fundación, recogió el Premio a la Mejor Acción de Prevención de Accidentes y de Daños a la Salud, destinado a una iniciativa encaminada a prevenir los accidentes y promover la salud. Esta institución, creada en 1998, tiene como principal objetivo contribuir a prevenir los incendios y proporcionar la mejor atención médica especializada a niños que hayan sufrido quemaduras graves, una circunstancia que en este país es la segunda causa de fallecimiento entre menores.

Arsenio Fernández de Mesa y Díaz del Río, Director General de la Guardia Civil, recogió el Premio a la Mejor Gestión Medioambiental, que este año ha recibido el Servicio de Protección de la Naturaleza (SEPRONA) de la Guardia Civil, por su contribución a preservar el medio ambiente. Las líneas de trabajo de la primera policía ambiental de la Unión Europea están dirigidas, principalmen-



Su Majestad la Reina entrega el Premio a la Mejor Prevención de Accidentes a Virginia Sendel, Presidenta de la Fundación Michou y Mau.



Arsenio Fernández de Mesa, Director de la Guardia Civil, recibe el Premio a la Mejor Gestión Medioambiental para el SEPRONA.



El doctor Joaquín Barraquer, que recibió el Premio José Manuel Martínez a Toda una Vida Profesional, se dirige a los asistentes.



El Premio a la Mejor Acción Solidaria recayó en la Fundación NIPACE, cuyo Presidente, Ramón Rebollo, aparece junto a su mujer y su hija.

te, a la defensa de los espacios naturales, a la prevención, investigación y extinción de incendios forestales, al control de vertidos y a la lucha contra la contaminación del medio ambiente, entre otros.

El doctor Joaquín Barraquer Moner (Barcelona, 1927) recibió el Premio José Manuel Martínez a Toda una Vida Profesional, que distingue la trayectoria social y profesional de una persona mayor de 70 años en una actividad al servicio de la sociedad. El jurado del premio ha valorado su fecunda vida profesional, que siempre ha estado ligada a la investigación y al desarrollo de avances pioneros en oftalmología y cirugía ocular.

Otro de los galardones, el de Mejor Acción Solidaria, ha recaído en esta ocasión en la Fundación NIPACE, por su proyecto Ayuda a Niños y Jóvenes con Lesión Cerebral. Esta entidad sin ánimo de lucro, creada en 2004 y con sede en Guadalajara, tiene como principal objetivo rehabilitar a niños y jóvenes con lesión cerebral y trastornos neuromotores. Para ello, cuenta con uno de los principales centros de rehabilitación neurológica en España y Europa, que contribuye a mejorar los movimientos de estos pacientes –unos 300 al año–, estimular su desarrollo intelectual, incrementar su nivel de comunicación e intensificar su relación social. Este galardón fue recogido por Ramón Rebollo, Presidente de esta entidad. ■

Para conocer con mayor profundidad cada uno de los proyectos ganadores:

www.fundacionsalaprensa.mapfre.com

Uno de cada tres accidentes infantiles se produce en verano

FUNDACIÓN MAPFRE realiza un informe en el que destaca que el 18 por ciento de las familias desconoce a qué teléfono debe llamar en caso de emergencia. También da a conocer un decálogo con las recomendaciones más importantes para prevenir un accidente

Pese a que las mayoría de las familias se preocupan por tomar las medidas de protección adecuadas para prevenir accidentes en sus hijos, cerca del 10 por ciento de los menores se quedan solos en el domicilio en algún momento, lo que representa un mayor riesgo de accidente, que en España es la tercera causa de muerte entre los menores de 15 años. Así lo revela el *Estudio sobre accidentes en la población infantil española*, realizado por FUNDACION MAPFRE y la Asociación Española de Pediatría de Atención Primaria (AEPap).

Dicho informe, en el que han colaborado más de 200 pediatras de atención primaria que trabajan en centros de salud de toda España, destaca además que la edad de los niños es un factor de riesgo para sufrir determinados tipos de accidentes. Las caídas y los golpes son los accidentes más frecuentes a cualquier edad, las intoxicaciones se producen con mayor frecuencia en los menores de dos años, y los ahogamientos, atragantamientos y quemaduras son más habituales entre los dos y cuatro años.

También destaca que el 72 por ciento de los niños necesitaron atención médica, que recibieron mayoritariamente en un centro de salud, y que un 4 por ciento fueron ingresados en un hospital.

Como aspectos positivos, el informe pone de manifiesto que nueve de cada diez padres cumplen con algunas de las medidas de protección más relevantes, entre las que destacan: dejar a los niños en las zonas de juego que son más adecuadas a su edad, comprobar las etiquetas de los juguetes a la hora de comprarlos, mantener fuera del alcance de los niños productos de limpieza y medicamentos, y proteger los enchufes adecuadamente, entre otras.

Con el objetivo de prevenir los accidentes infantiles, FUNDACIÓN MAPFRE y



De izda. a dcha., Guadalupe del Castillo, coordinadora del estudio, Antonio Guzmán, Director del Área de Salud y Prevención de FUNDACIÓN MAPFRE, y Begoña Domínguez, presidenta de AEPap.

AEPap distribuirán en centros de salud y entre las familias un decálogo con medidas clave de prevención, que incluye, entre otras, las siguientes recomendaciones: no dejar nunca solo a un niño pequeño en casa, proteger las ventanas y escaleras, no cocinar en ningún caso con un bebé en brazos, y prestar mucha atención a los objetos que están al alcance del menor para evitar posibles atragantamientos, entre otros incidentes.

FUNDACIÓN MAPFRE también recomienda extremar la precaución, especialmente durante los meses de verano, que es cuando se producen uno de cada tres accidentes en los más pequeños. En esta línea también aconseja mantener las medidas de protección que habitualmente se tienen en el lugar donde se disfruta de las vacaciones, así como no perder de vista a los menores en playas y piscinas, y recordar a las familias que ante cualquier emergencia se debe llamar al 112, un teléfono que según dicho informe desconoce el 18 por ciento de los padres. ■



Puedes acceder al estudio y decálogo en el siguiente link <http://www.fundacionsalaprensa.mapfre.com/>

FUNDACIÓN MAPFRE y la Federación Catalana de Tenis promueven hábitos de vida saludables

La Fundación firma un acuerdo de colaboración con la Federación Catalana de Tenis para promover el deporte y la alimentación saludable a través de cursos y talleres que tendrán lugar en distintos clubes de tenis de Cataluña

FUNDACIÓN MAPFRE y la Federación Catalana de Tenis (FCT) han firmado en Barcelona, un convenio de colaboración para realizar conjuntamente actividades dirigidas a promover hábitos saludables a través del deporte y la alimentación entre cerca de 1.000 niños catalanes con edades comprendidas entre los 5 y los 13 años.

En la firma del acuerdo participaron S.A.R. la Infanta Doña Elena, Directora de Proyectos Sociales y Culturales de FUNDACIÓN MAPFRE; Ferrán Martínez, Director General Territorial de MAPFRE en Cataluña; Antonio Guzmán y Antonio García Infanzón, Director y Subdirector de las Áreas de Acción Social y Salud y Prevención de FUNDACIÓN MAPFRE, respectivamente; y Joan Navarro y Antoni Cuadrada, Presidente y Director General de la FCT, respectivamente.

Este acuerdo permitirá desarrollar 40 talleres educativos en las escuelas de tenis de la Federación. Estos talleres tienen como objetivo transmitir a los escolares, de forma amena y divertida, conceptos relacionados con la salud, especialmente en relación a la actividad física y a la alimentación.

En estos talleres, además, se distribuirán materiales educativos desarrollados para la campaña Vivir en Salud. A

través de un cuento o cómic personalizado según la edad del niño y mediante el uso de la competencia lectora, se facilita la comprensión de los conceptos transmitidos durante el taller. Además, se entregará un cuaderno de actividades para dar continuidad a la actividad. Las familias recibirán la guía *Vivir en salud, claves para estar bien*, que anima a los tutores de los niños a facilitar un entorno saludable en el hogar.

El acuerdo de colaboración permitirá además promover la práctica del tenis entre cerca de 400 personas con discapacidad física e intelectual de Barcelona, Girona, Lleida y Tarragona. Estas personas tendrán la ocasión de iniciarse en este deporte en alguna de las 13 escuelas que la Federación Catalana de Tenis tiene repartidas por diferentes clubes e instalaciones de Cataluña y participar de forma activa en los campeonatos y torneos que dicha entidad organice a lo largo de 2014.

La campaña Vivir en Salud lleva en marcha más de cinco años, en los que han pasado por sus talleres más de 100.000 niños en España y en países como Brasil, Puerto Rico, El Salvador, Panamá, Turquía o Malta. Más información sobre la campaña en www.vivirensalud.com. |



De izquierda a derecha,
Antonio Guzmán, Joan Navarro, Ferrán Martínez, Elena de Borbón y Antonio García.

El latigazo cervical, a debate en las jornadas de valoración del daño corporal

FUNDACIÓN MAPFRE organiza en Badajoz un encuentro para ayudar a los profesionales médicos y técnicos de seguros, entre otros, a mejorar sus conocimientos sobre la valoración del daño corporal

FUNDACIÓN MAPFRE, en colaboración con los Institutos de Medicina Legal de Cáceres y Badajoz, organizó el pasado 23 de mayo la jornada *Estudio del nexo causal en el latigazo cervical. Aspectos jurídicos, técnicos y médico-legales*.

Dicho encuentro, que reunió a más de 260 profesionales, entre profesionales médicos, especialistas en medicina legal y forense, técnicos de seguros y representantes de los distintos cuerpos de la Policía Local y Guardia Civil de Tráfico, tuvo como objetivo principal debatir sobre el esguince cervical, una patología clínica polémica debido a que con frecuencia tiende a considerarse como una enfermedad y a ser objeto de fraude.

El acto de inauguración, celebrado en el hotel Confortel de Badajoz, corrió a cargo de José Antonio Patrocinio, Presidente de la Audiencia Provincial de Badajoz; Antonio Enrique Mendoza, Director del Instituto de Medicina Legal de

Badajoz; y Francisco Javier Guillén, Subdirector Técnico de MAPFRE en Extremadura.

Entre las mesas que se desarrollaron durante la jornada, se trató los estudios biomecánicos en las lesiones cervicales, la importancia del nexo causal en la valoración del daño corporal, los aspectos médico legales, la detección de simulación en la patología espinal, y las repercusiones jurídicas en el ámbito de la simulación.

Germán López Iglesias, Delegado del Gobierno en Extremadura, que clausuró el acto, mostró su preocupación por las estadísticas presentadas durante la jornada, que revelan el alto índice de fraude en la simulación de lesiones leves por supuestos accidentes ocurridos en las ciudades más importantes de la región. También hizo un llamamiento a todos los asistentes a la jornada pidiéndoles su compromiso para evitar en un futuro próximo la preocupante cifra de 2.300 fraudes confirmados durante el año 2013 en Extremadura. ■



Los ponentes de la jornada, que reunió a más de 260 profesionales de la medicina, los seguros y las fuerzas de seguridad.

El 60 por ciento de los hogares de personas mayores registra algún accidente

Presentación en Valladolid de la campaña Con Mayor Cuidado, con talleres y materiales renovados

FUNDACIÓN MAPFRE, en colaboración con la Consejería de Familia e Igualdad de la Junta de Castilla y León y el Ayuntamiento de Valladolid, presentó en Valladolid la campaña de sensibilización Con Mayor Cuidado. El objetivo de esta iniciativa es informar a las personas mayores sobre los principales riesgos que pueden existir dentro y fuera del hogar, contribuir a que los mayores tengan un hogar más seguro y proporcionar a los profesionales y familiares material práctico que ayude a evitar un accidente.

Para ello realizará talleres de prevención, impartidos por voluntarios de la Confederación Estatal de Asociaciones y Federaciones de alumnos y exalumnos de los Programas Universitarios de Mayores (CAUMAS), y distribuirá vídeos y guías preventivas con el fin de transmitir recomendaciones y consejos para que estas personas aprendan a prevenir accidentes y sepan cómo actuar ante determinadas situaciones de emergencia.

La campaña se apoya en el estudio *La vivienda del mayor: condiciones y riesgos*, que analiza la realidad de los hogares de las personas mayores de 65 años con el objetivo de identificar los principales factores de riesgo que pueden influir en los accidentes y determinar las medidas de prevención más adecuadas que contribuyan a mejorar la seguridad en el hogar.



De izquierda a derecha, Antonio Guzmán, Rosa Isabel Hernández, Milagros Marcos y Siro Giralda, durante la jornada.

El informe pone de manifiesto que las viviendas de los mayores de 65 años cuentan en general con las instalaciones básicas, pero no se adaptan a la evolución física y cognitiva de estas personas a medida que envejecen. Ello se refleja en que en casi seis de cada diez hogares se ha producido algún tipo de accidente durante el último año, siendo las caídas, heridas y quemaduras los más habituales entre este colectivo.

Durante la presentación se repartieron entre los asistentes las nuevas guías de prevención específicas para este colectivo y para geriatras, médicos de familia, enfermeros y cuidadores, entre otros profesionales.

En la presentación de la campaña, celebrada en el Centro Cívico Jose Luis Mosquera, en Valladolid, participaron Antonio Guzmán, Director del Área de Salud y Prevención de FUNDACIÓN MAPFRE; Siro Giralda, Director General Territorial de MAPFRE en Castilla y León; Milagros Marcos, Consejera de Familia e Igualdad de la Junta de Castilla y León; y Rosa Isabel Hernández, Concejala de Bienestar Social y Familia del Ayuntamiento de Valladolid. ■

Para más información: www.conmayorcuidado.com

La seguridad del paciente, a debate

Jornada sobre prácticas clínicas seguras en los centros sanitarios

FUNDACIÓN MAPFRE organizó el pasado mes de mayo la jornada Prácticas Clínicas Seguras en colaboración con el Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública del Hospital Universitario Ramón y Cajal y el Departamento de Salud Pública de la Universidad Miguel Hernández. A esta jornada asistieron más de 120 personas entre los que se encontraban responsables de calidad, miembros de comisiones de seguridad y profesionales sanitarios interesados en la mejora continua de la seguridad del paciente.

En la inauguración intervinieron Daniel Álvarez, Director del Hospital Universitario Ramón y Cajal; Carmen Hernando de Larramendi, Jefe de Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Ramón y Cajal; Jesús Aranaz, Jefe de Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública del Hospital Universitario Ramón y Cajal; y Antonio Guzmán, Director del Área de Salud y Prevención de FUNDACIÓN MAPFRE.

En la jornada participaron expertos de diferentes instituciones en las que cabe destacar la Dirección General de Salud Pública, Calidad e Innovación del Ministerio de Sanidad y la Subdirección de Calidad del Servicio Madrileño de Salud. Las distintas mesas se ocuparon de abordar cuestiones como las prácticas clínicas seguras en la Unión Europea, su papel como compromiso institucional, la atención a las segundas víctimas, la utilidad de las rondas de seguridad o el riesgo generado por procesos innecesarios.

No hay que olvidar que en nuestro país se estima que un 10 por ciento de los pacientes que acuden a un hospital sufren un evento adverso. Las tres causas más frecuentes son el uso inadecuado de medicamentos, las complicaciones perioperatorias y la infección nosocomial. Por otro lado, el



De izquierda a derecha, Antonio Guzmán, Daniel Álvarez, Carmen Hernando de Larramendi y Jesús Aranaz, en un receso de la jornada.

estudio EVADUR (Eventos Adversos ligados a la asistencia en los servicios de Urgencias españoles) ha situado en al menos un 12 por ciento la incidencia de pacientes visitados en urgencias que sufren algún tipo de incidente relacionado con la asistencia sanitaria, de los que, aproximadamente, un 70 por ciento pueden ser evitables.

Por ello, FUNDACIÓN MAPFRE ha puesto en marcha, en colaboración con la Sociedad Española de Medicina de Urgencias y Emergencias (SEMES), la campaña En Urgencias, la Seguridad del Paciente Está en tus Manos, dirigida a mejorar la seguridad del paciente. Más información en www.fundacionmapfre.org

FUNDACIÓN **MAPFRE**

www.fundacionmapfre.org