

**CUANTIFICACIÓN DE LAS PARTÍCULAS DE POLIETILENO EN
LÍQUIDO SINOVIAL TRAS ARTROPLASTIA TOTAL DE
RODILLA, UTILIZANDO UN POLIETILENO CONVENCIONAL O
UNO ALTAMENTE ENTRECruzADO: ESTUDIO PRELIMINAR Y
PROTOCOLO DE ESTUDIO.**

Autor Principal

Alberto Torres Prats

Dirección

Enric Càceres i Palou

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	3 - 6
ESTUDIO PRELIMINAR	7 – 31
Objetivo	7
Material y método páginas	7 - 10
Resultados	11 - 28
Discusión	29 - 30
Conclusión	31
PROTOCOLO DE ESTUDIO	32 – 43
Objetivos	33 - 34
Material y métodos	35 - 40
Limitaciones del estudio	41
Consideraciones éticas	42 - 43
Presupuesto económico	43
BIBLIOGRAFÍA	44 - 45

INTRODUCCIÓN: JUSTIFICACIÓN DE LA IMPORTANCIA DEL ESTUDIO

Antecedentes y situación actual del tema

La osteolisis es una de las principales causas de fracaso en la artroplastia total de rodilla. Así, a partir de los cinco años, la osteolisis secundaria al desgaste de polietileno es la primera causa de revisión [1,2]

En el caso de la artroplastia de rodilla el mecanismo predominante de desgaste es el de fatiga. Ello produce partículas de mayor tamaño a las producidas en el caso de las artroplastias de cadera, en las que el desgaste se produce por abrasión y adhesión. El tamaño de las partículas es importante, ya que las de menor tamaño tienen mayor actividad biológica y producen mayor osteolisis, lo que explica la mayor afectación en artroplastias totales de cadera [3]

La osteolisis es el resultado de una respuesta a cuerpo extraño, inducida por las partículas procedentes del desgaste del polietileno mayoritariamente, aunque otras partículas, como las de metal o las de polimetilmetacrilato, también inducen a la osteolisis. Esas partículas son fagocitadas por macrófagos y células gigantes, que se activan y liberan citoquinas. La interleukina 1 β es una de ellas; produce inflamación y estimula a los osteoclastos. El osteoclasto activado es la célula responsable de la osteolisis; pero además las citoquinas disminuyen la formación de hueso por parte de los osteoblastos [4]

En un intento por minimizar todo este proceso, la industria ha presentado nuevos modelos protésicos basados en el concepto de reducción del desgaste, así como mejoras en los materiales que se utilizan en los diversos componentes protésicos. Entre estas mejoras encontramos el polietileno altamente entrecruzado X3 (Stryker Orthopaedics, Mahwah, NJ)

La utilización del polietileno altamente entrecruzado(“Highly crosslinked ultrahigh molecular weight polyethylene”: XLPE) se introdujo en 1998 en las artroplastias totales de cadera. Pero existe un debate en cuanto a su utilización en la artroplastia de rodilla. Si bien el XLPE aumenta la resistencia al desgaste, se ha visto que disminuye las propiedades mecánicas del polietileno, como son su límite elástico y su resistencia final a la tensión. Además, el XLPE puede resistir más a la rotura inicial, pero una vez ésta se ha producido la resistencia a su propagación es menor.

En articulaciones con gran congruencia, como en la cadera, el estrés de contacto es menor, predominando el desgaste por abrasión y adhesión. Sin embargo en la rodilla, con menor congruencia articular, el estrés es elevado, y el desgaste se produce por fatiga (delaminación y “pitting”), cobrando especial importancia las propiedades mecánicas del polietileno utilizado. El XLPE aumenta la resistencia al desgaste, pero reduce las propiedades mecánicas, lo que lo hace más apropiado para las artroplastias de cadera que para las de rodilla [14]

Pero encontramos diferencias entre los distintos materiales de polietileno altamente entrecruzado, según su proceso de fabricación. Los polietilenos que

alcanzan temperaturas superiores a su punto de fusión, los XLPE refundidos, están exentos de radicales libres, pero ven reducidas sus propiedades mecánicas y de resistencia a la fatiga. Los polietilenos que no llegan a esas temperaturas, sino que se calientan justo por debajo de su temperatura de fusión, son los XLPE “recocidos” o templados. Éstos mantienen las propiedades mecánicas del polietileno convencional, pero con alto contenido de radicales libres, lo que aumenta su potencial de oxidación, y con ello reduce sus propiedades mecánicas a lo largo del tiempo. Parece que la causa del contenido en radicales es la incapacidad para eliminarlos debido a la baja movilidad de las moléculas en el polietileno altamente entrecruzado.

Para tratar de disminuir el contenido de radicales libres, el polietileno X3, en su proceso de fabricación, sufre tres ciclos consistentes en: irradiación gamma en aire a baja dosis (30 KGy) seguido de templado en aire a 130 °C durante 8 horas. Con ello se eliminan radicales libres mediante el templado, previa irradiación a baja dosis para espaciar los enlaces cruzados. La esterilización se realiza con gas plasma. El XLPE X3 ha demostrado in vitro mejores propiedades mecánicas que el XLPE recocido, y mayor resistencia al desgaste que el polietileno convencional, así como menor cantidad de radicales libres [7]

Así, el polietileno altamente entrecruzado se utiliza desde hace más de diez años en la artroplastia total de cadera, donde ha demostrado mejores resultados in vivo en cuanto a desgaste que el polietileno convencional [5,6]. Sin embargo, los estudios realizados en artroplastia de rodilla, y en los que se basa su uso actual en esta articulación, están realizados in vitro, sobre un simulador [7]. En este estudio, Wang encuentra una reducción del desgaste del

polietileno del 68% y del 64% en artroplastias tipo CR y PS respectivamente, utilizando el X3 versus el polietileno convencional.

No obstante, sabemos que los estudios en simuladores e in vitro no siempre reproducen de una manera fiel las condiciones que se producen en la clínica.

Por ello, sería útil realizar esa comparación entre ambos tipos de polietileno in vivo, en artroplastias sujetas al estrés real que se produce en las rodillas de nuestros pacientes. Ello podría corroborar o invalidar los estudios previos in vitro. En estudios in vivo utilizando la misma técnica de aislamiento de partículas que nosotros reproducimos, Minoda et al. [11] hallan un total de $1.16 \pm 0.57 \times 10^8$ partículas. Este valor es el empleado para el cálculo del tamaño de la muestra.

Aplicabilidad y utilidad práctica de los resultados esperados

Estudiando las partículas de polietileno en líquido sinovial al año de la realización de la artroplastia, podremos comparar el desgaste que se produce en las rodillas en las que usemos uno u otro tipo de polietileno (normal o X3)

Un mayor número de partículas en líquido sinovial traduciría un mayor desgaste para uno de los dos grupos, lo que podría conducir a una mayor osteolisis y por tanto a un mayor riesgo de fracaso de la artroplastia.

ESTUDIO PRELIMINAR

En este primer estudio buscamos el aislamiento in vivo de partículas de polietileno en líquido sinovial tras artroplastia total de rodilla. Reproducimos una técnica de laboratorio ya publicada [9, 10, 11, 12, 13], con el objetivo de evidenciar si con ella somos capaces de aislar partículas de polietileno, y si éstas se pueden contabilizar en número y cuantificar su tamaño.

OBJETIVO

Aislar partículas de polietileno presentes en el líquido sinovial, y comprobar si podemos contabilizarlas y estudiar su tamaño.

MATERIAL Y MÉTODO

En este estudio preliminar se tomaron cuatro muestras de líquido sinovial. Tres de ellas (A,B y C) procedentes de rodillas con artroplastia total, en pacientes sometidos a recambio de la prótesis por aflojamiento mecánico. La cuarta (D) procedente de una rodilla sin artroplastia, como muestra control, de un paciente sometido a artrocentesis evacuadora en el servicio de urgencias por artritis degenerativa.

La obtención de las cuatro muestras se realizó mediante artrocentesis, en quirófano, y previo a la cirugía en las primeras; bajo estrictas medidas de asepsia la cuarta, en el servicio de urgencias. A continuación las muestras se congelaron a $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ a la espera de ser procesadas. El tiempo de congelación fue de 2 días, en el caso de la última muestra obtenida (D), a seis semanas, la primera (A).

En cuanto a las características macroscópicas de cada muestra, debemos decir que A y C presentaban contenido hemático, mientras que A y D el líquido era claro.

Estas muestras fueron procesadas según una técnica ya publicada, que implica su digestión, filtración y ultracentrifugación en gradientes de sacarosa e isopropanol, para después ser examinadas con un microscopio electrónico de barrido, según el protocolo que se describirá a continuación.

El volumen procesado de cada muestra es de tres mililitros, y en cada proceso se pueden tratar seis volúmenes, debido a la capacidad del rotor de la ultracentrifugadora (seis tubos) Dado que se trata de un estudio preliminar, se procesaron tres mililitros de la muestra control D, tres de la A, seis de la B (B1 y B2) y seis de la C (C1 y C2), obteniendo así seis tubos de tres mililitros de líquido sinovial. Ello nos permite comparar volúmenes procedentes de la misma muestra (B y C), que esperamos que presenten resultados similares.

Protocolo de procesamiento de la muestra [9, 10, 11, 12, 13]

Inicialmente todas las soluciones son filtradas a través de un filtro de Nylon de 0.2 micras, para eliminar posibles partículas contaminantes. La muestra, descongelada, es digerida con hidróxido de sodio a una concentración de 10 mol/l, a 65 °C durante 12 horas. A continuación es aplicada a un gradiente continuo de sacarosa (concentraciones al 5%, 10% y 20%) en un tubo de 14 ml de Poliallomer y ultracentrifugada a 28.000 rpm durante 3 horas a 4 °C. Seguidamente se toma el nivel superior de tubo y se aplica a un gradiente de isopropanol-agua (densidades de 0.90 y 0.96) en un tubo de 40 ml de Poliallomer, que también se ultracentrifuga a 28.000 rpm durante una hora a temperatura ambiente. Finalmente se toma la línea de la interfase, que se filtra a través de un filtro de policarbonato de 0.1 micras, donde quedarán retenidas las partículas de polietileno. El filtro se coloca en una placa de Petri para ser remitido al servicio de microscopía electrónica de barrido.

El filtro se monta sobre una lámina de latón con cinta bioadhesiva conductora y plata coloidal; se recubre con una lámina de oro de 40 nm, y es analizada con el microscopio electrónico de barrido.

El servicio de microscopía realiza las fotografías a 10000 aumentos, en las que se pueden contabilizar y medir las partículas. En este estudio se realizan varias fotografías a distintos aumentos, para observar partículas de distinta naturaleza.

El microscopio utilizado es un Microscopio Electrónico de Barrido Ambiental (ESEM) Quanta 200 (FEI,Co).

En caso de duda acerca de su naturaleza, las partículas son analizadas con el sistema de microanálisis por separación de energías de rayos-X (EDAX Genesi y díodo de polvorización catódica Polaron E5000). Con ello podemos saber la composición de la partícula analizada, y si se trata realmente de una partícula de polietileno (encontraríamos carbono, oxígeno y oro) o bien de una partícula contaminante (habría además otros componentes).

RESULTADOS

Como cabía esperar en la muestra control no se aísla ninguna partícula de polietileno. En las tres muestras procedentes de pacientes con artroplastia total de rodilla, se visualizan partículas de polietileno, permitiendo su cuantificación y el estudio de su forma y tamaño. A continuación se presentan las imágenes obtenidas de cada una de las muestras, especificando las peculiaridades de cada una de ellas.

Muestra A

La superficie del filtro está muy limpia y sus poros son visibles. En algunas zonas se observan rayas muy marcadas como consecuencia de la presión a la hora de filtrar el líquido.

La imagen A1 nos muestra una visión general de la superficie de la muestra, donde se observan algunas partículas de gran tamaño, probablemente contaminantes.

Las imágenes A2, A3 y A4 nos muestran diferentes zonas del filtro con la misma magnificación. En ellas vemos partículas de polietileno que presentan distinta morfología: unas redondeadas y otras alargadas o filiformes. El tamaño de estas partículas es inferior a $1 \mu\text{m}$.

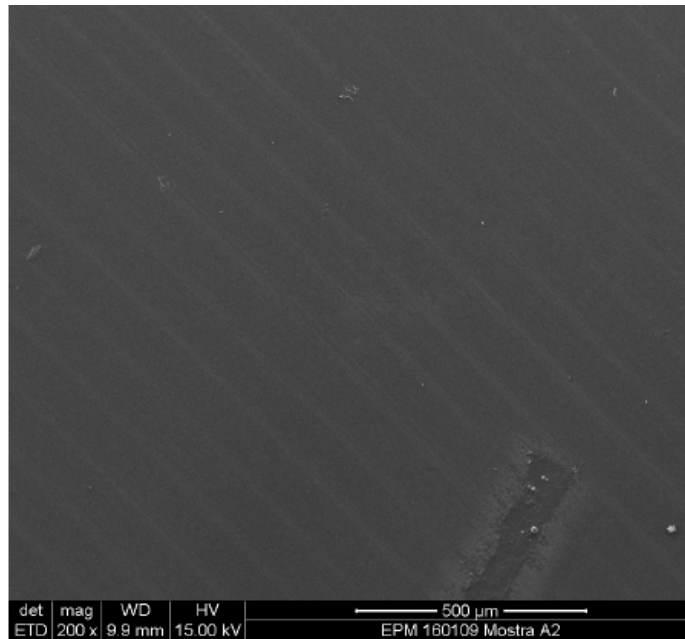


Imagen A1: 200 aumentos. Visión general con partículas contaminantes. Se observa una marca producida por la pinza con la que se maneja el filtro.

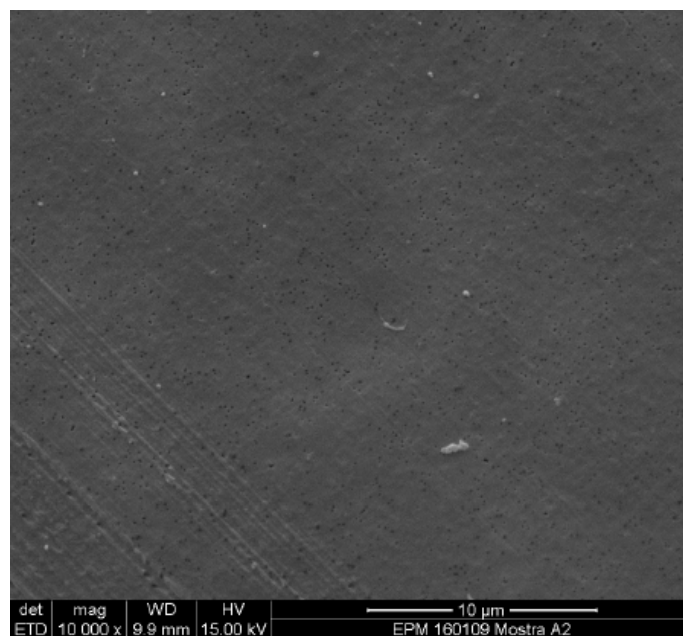


Imagen A2: 10000 aumentos. Partículas de polietileno.
Rayas en el filtro

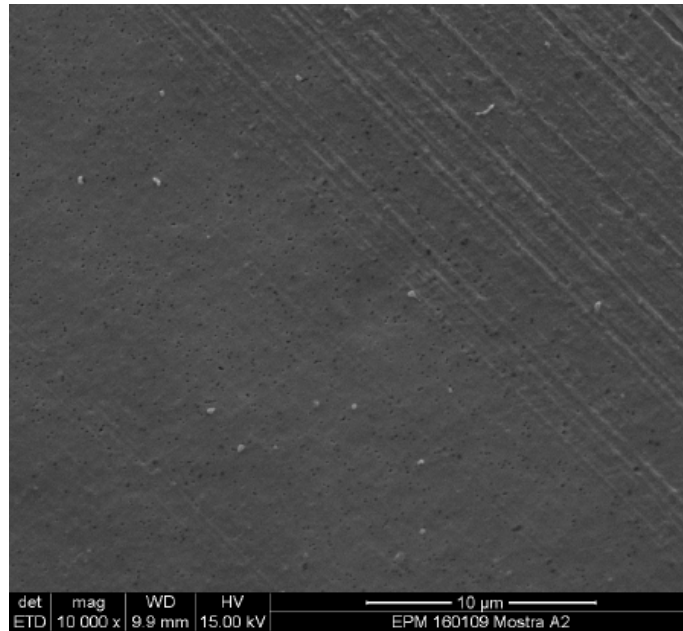


Imagen A3: 10000 aumentos. Partículas de polietileno.
Rayas en el filtro

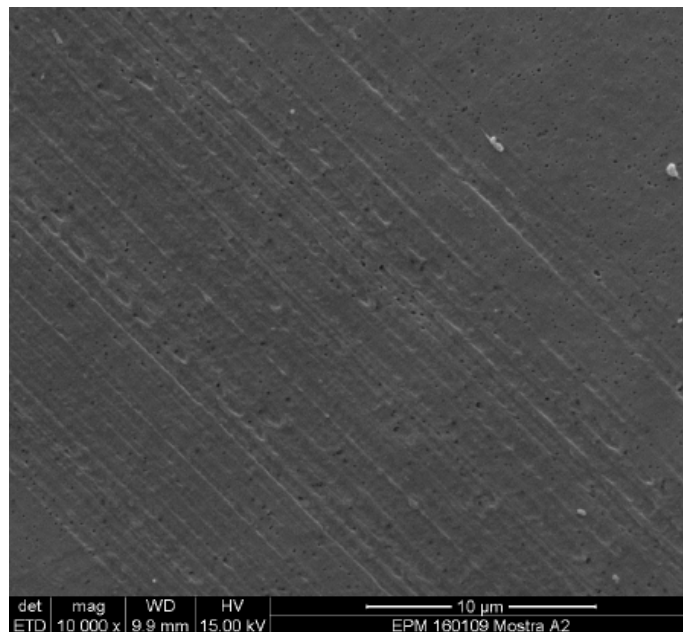


Imagen A4: 10000 aumentos. Partículas de polietileno.
Rayas en el filtro.

Muestra B1

La superficie del filtro está muy limpia y sus poros son visibles. En algunas zonas observamos de nuevo rayas muy marcadas como consecuencia de la presión de filtrado. Se han obtenido cuatro imágenes a 10000 aumentos. En ellas se observan diferentes partículas de polietileno, algunas de forma redondeada y pequeño tamaño. La imagen B13 muestra una partícula de forma alargada, a la derecha de la imagen. Las partículas pueden contabilizarse con facilidad.

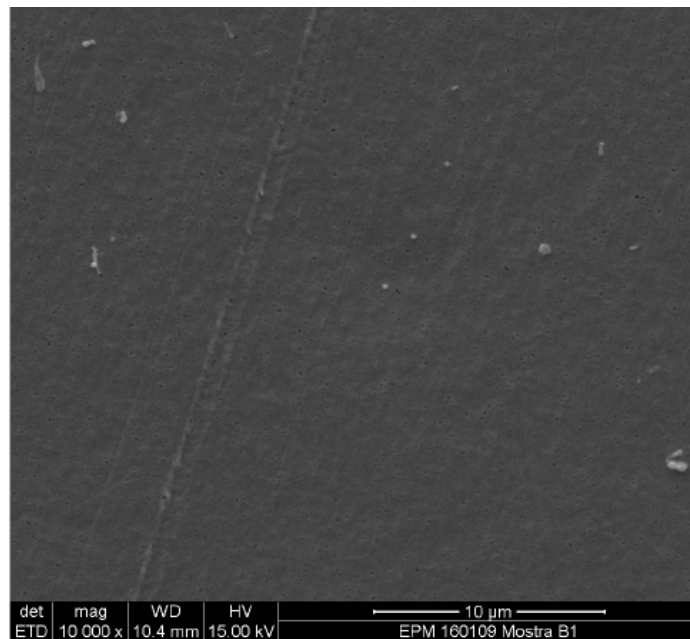


Imagen B11: 10000 aumentos. Partículas de polietileno.

Rayas en el filtro.

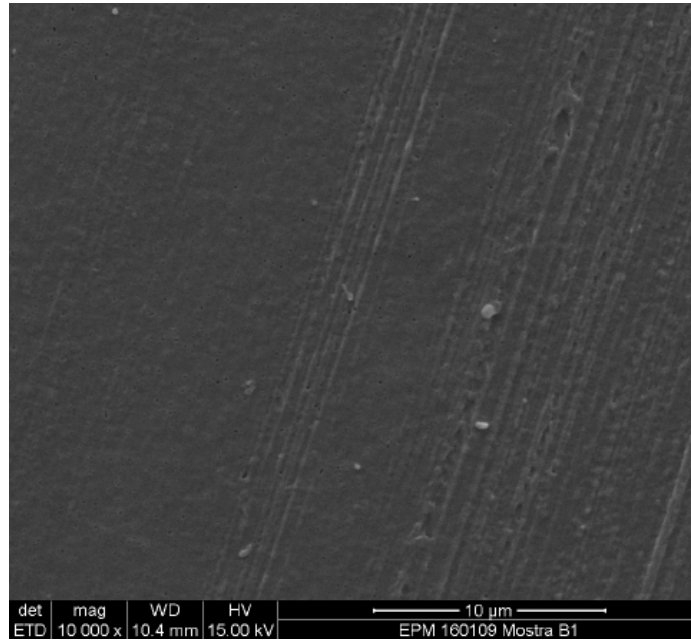


Imagen B12: 10000 aumentos. Partículas de polietileno.
Rayas en el filtro

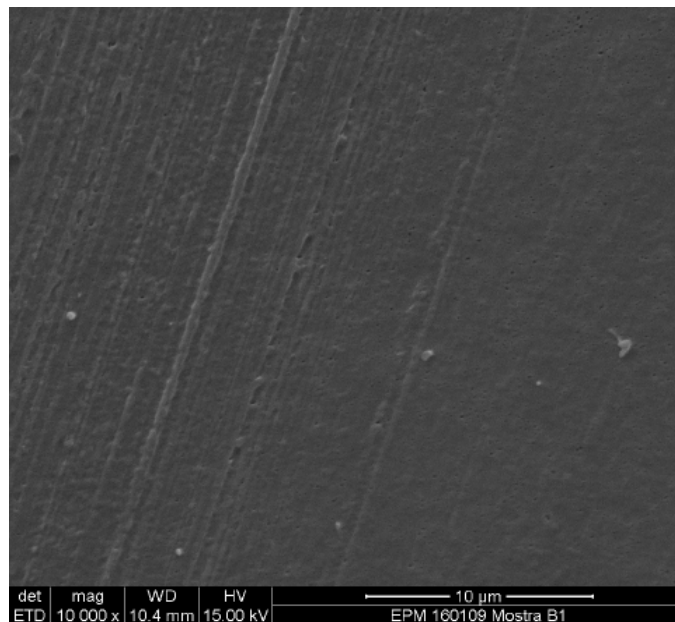


Imagen B13: 10000 aumentos. Partículas de polietileno.
Rayas en el filtro.

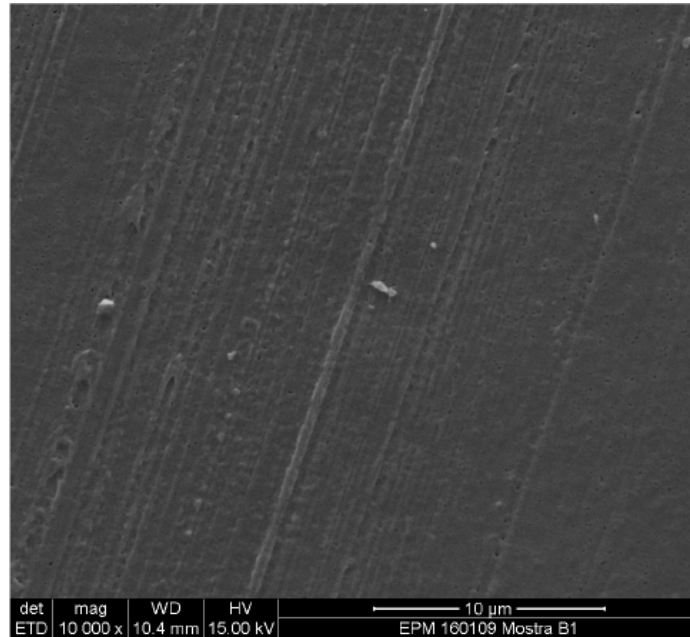


Imagen B14: 10000 aumentos. Partículas de polietileno.
Rayas en el filtro.

Muestra B2

La superficie del filtro está muy limpia y sus poros son visibles. En algunas zonas se observan rallas muy marcadas como consecuencia de la presión de filtrado. Se han adquirido cuatro imágenes con una magnificación de 10000 aumentos. En ellas se observan diferentes partículas de polietileno, algunas redondeadas y pequeño tamaño. En las imágenes se marcan con un círculo rojo algunas de las partículas. La mayoría son redondeadas, pero las hay de morfología alargada y fibrosa.

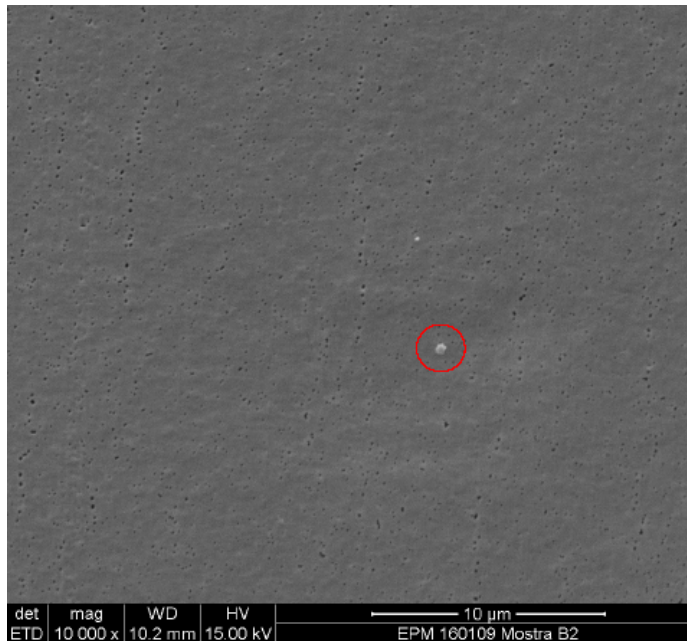


Imagen B21: 10000 aumentos. Partículas esférica.

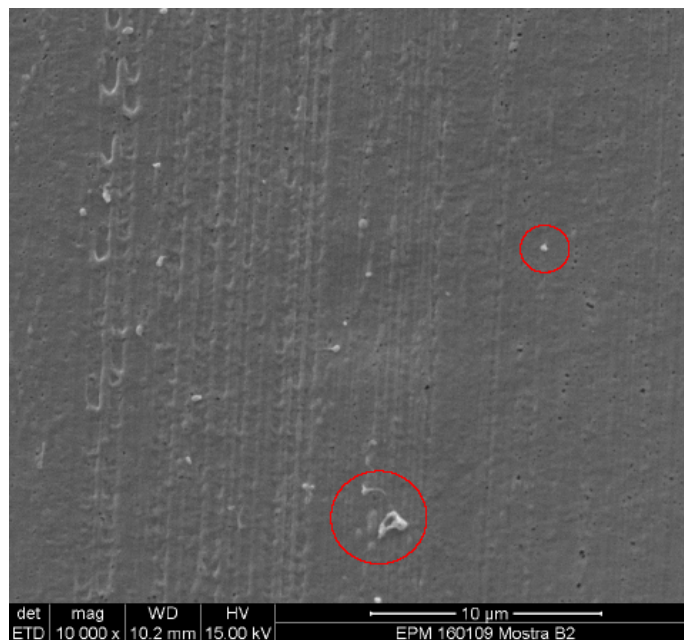


Imagen B22: 10000 aumentos. Partícula de forma irregular

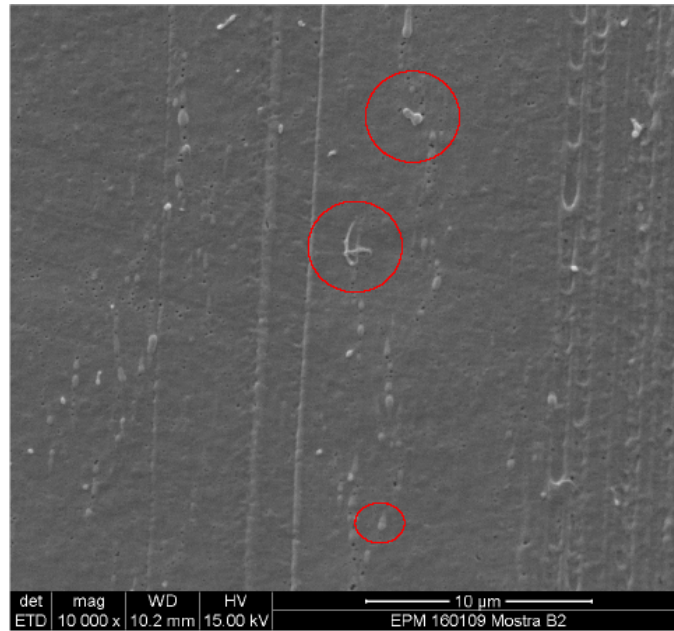


Imagen B23: 10000 aumentos. Diversas formas.

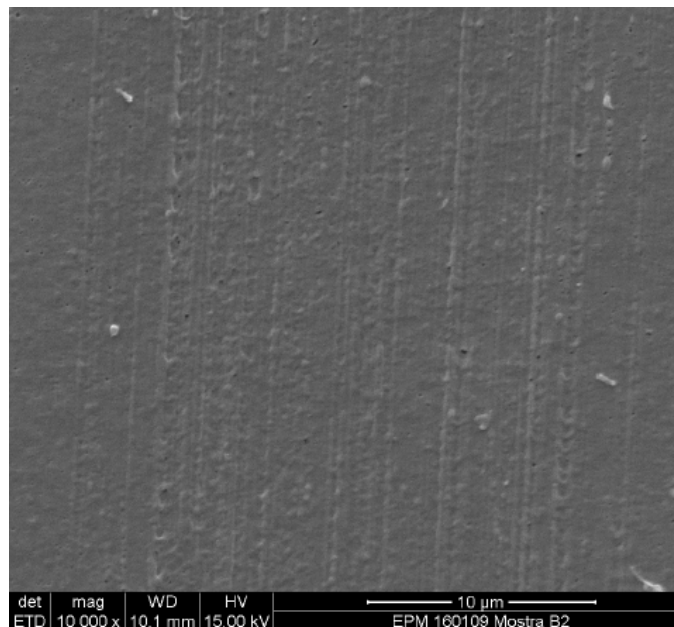
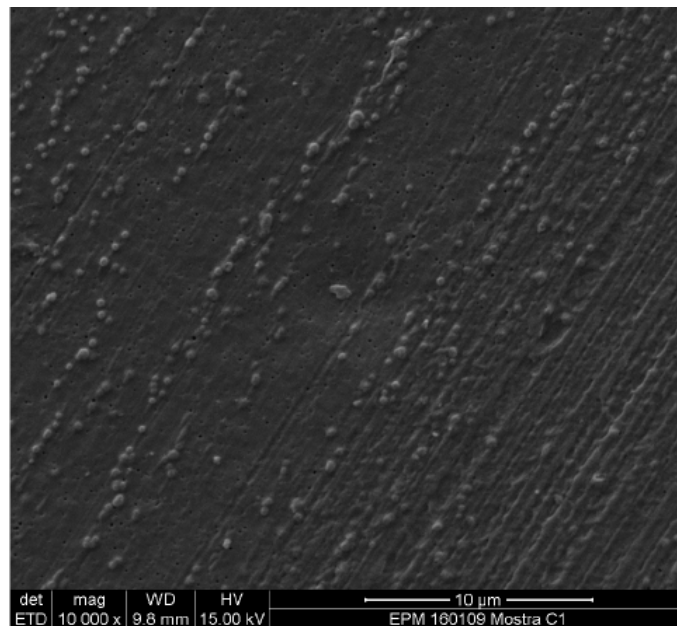


Imagen B24: 10000 aumentos. Partículas y rayas en el filtro.

Muestra C1:

La superficie del filtro está muy limpia y sus poros son visibles. En algunas zonas se observan rallas muy marcadas como consecuencia de la presión de filtrado. En algunas zonas los poros del filtro están muy hinchados, lo que podría ser causado por una mala digestión en el proceso de la muestra. La imagen C11 nos muestra este fenómeno.



ImagenC11: 10000 aumentos. Los poros están inchados.

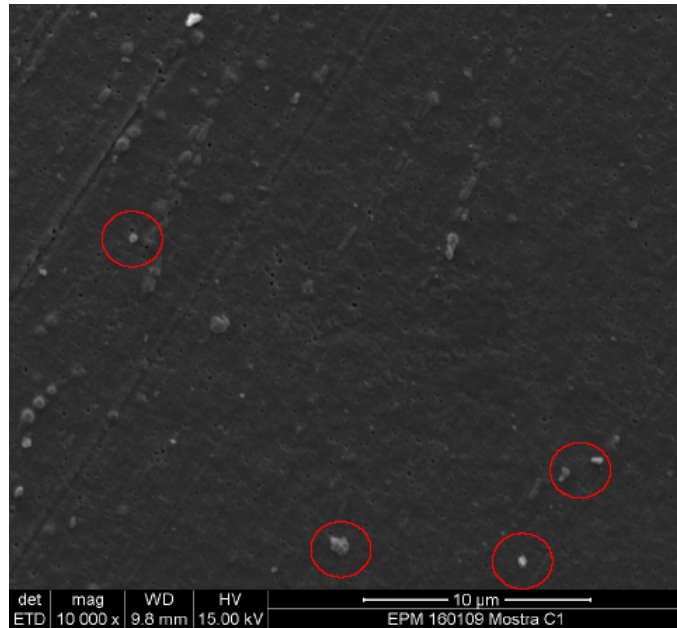


Imagen C12: 10000 aumentos. Partículas y poros hinchados

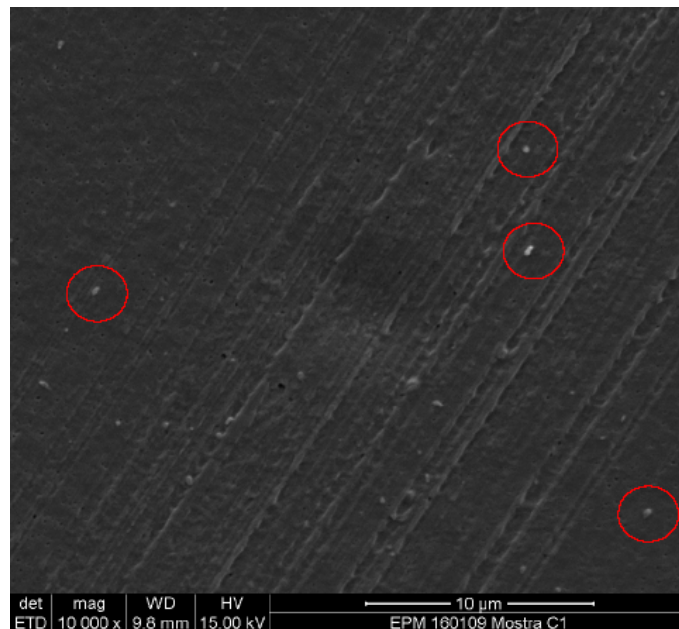


Imagen C13: 10000 aumentos. Partículas y rayas.

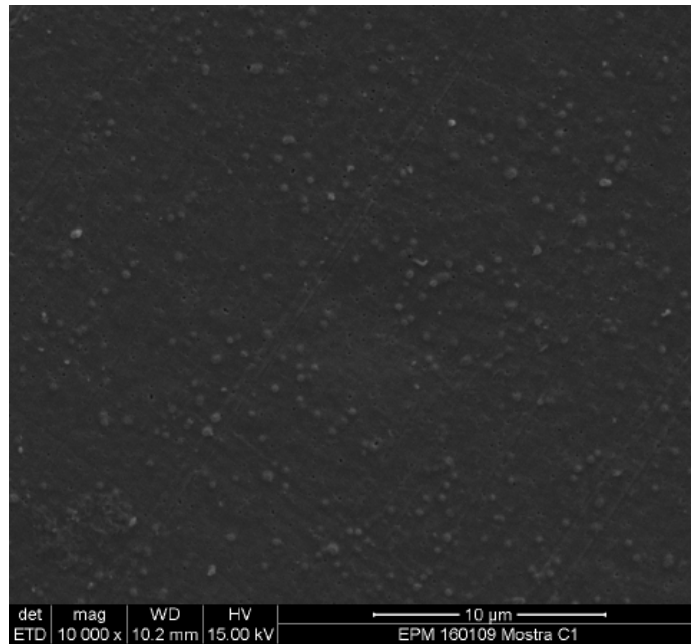


Imagen C14: 10000 aumentos

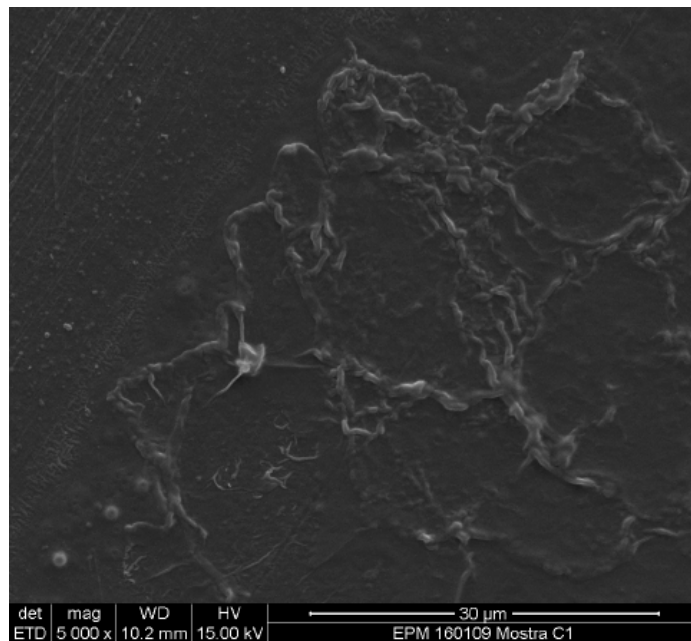


Imagen C15: 5.000 aumentos. Membrana de material orgánico que obtura los poros del filtro

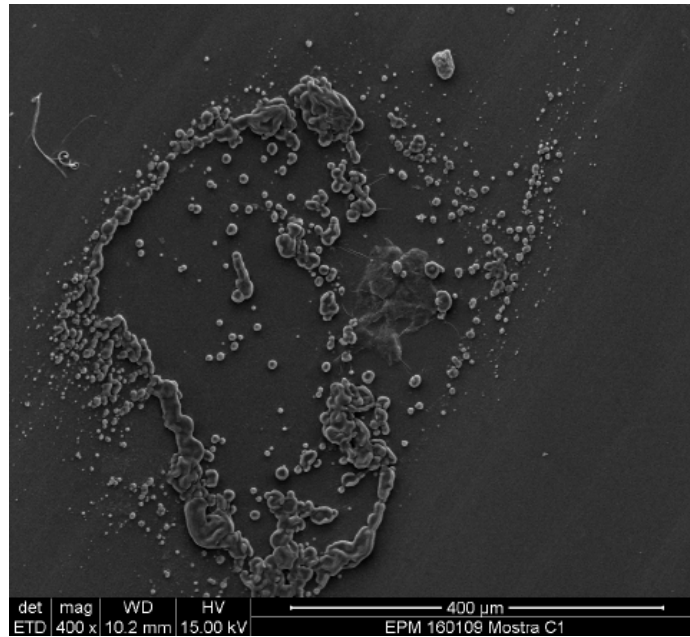


Imagen C16: 400 aumentos. Zona de acúmulo de glóbulos rojos

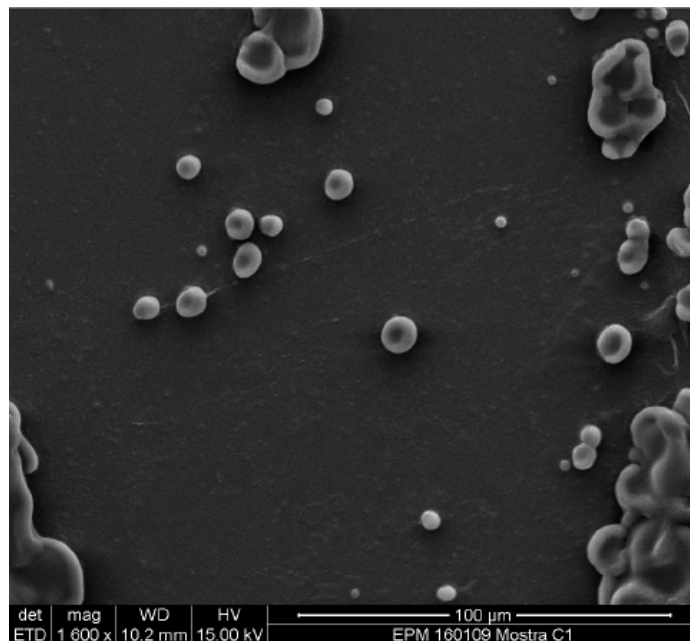


Imagen C17: 1.600 aumentos. Detalle de los glóbulos rojos.

Muestra C2:

La superficie del filtro está muy limpia, y los poros son visibles. En algunas zonas se observan rallas muy marcadas como consecuencia de la presión de filtrado. Se observan zonas del filtro donde los poros están hinchados, lo que puede ser debido a una mala digestión de la muestra en su proceso. La imagen C21 muestra este fenómeno.

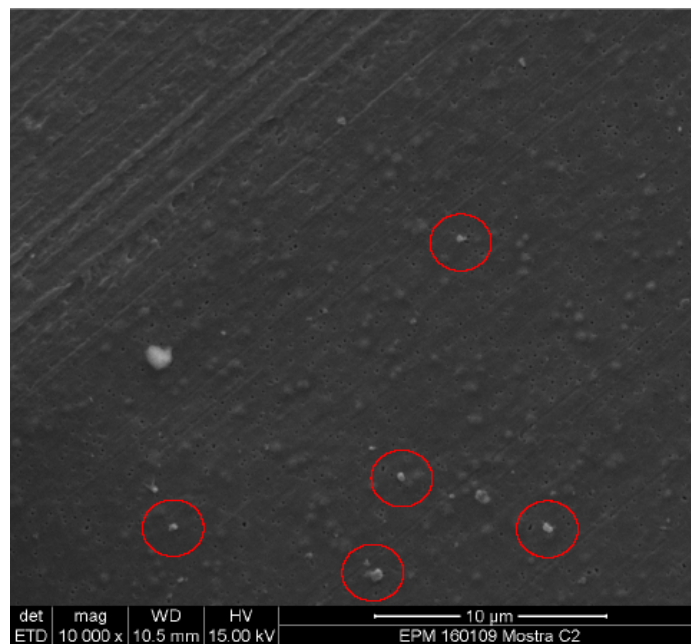
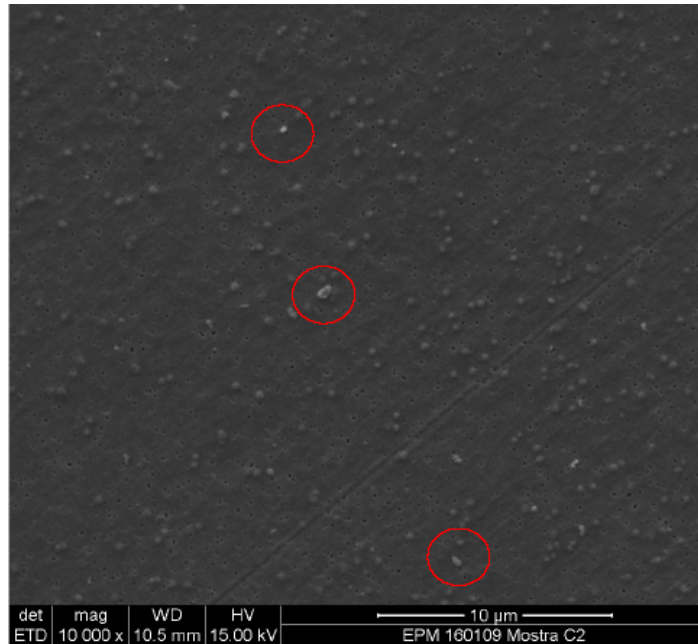


Imagen C21: 10000 aumentos. Los poros parecen hinchados



ImagenC22: 10000 aumentos. Superficie del filtro con poros hinchados.



Imagen C23: 10000 aumentos. Partículas y poros hinchados.

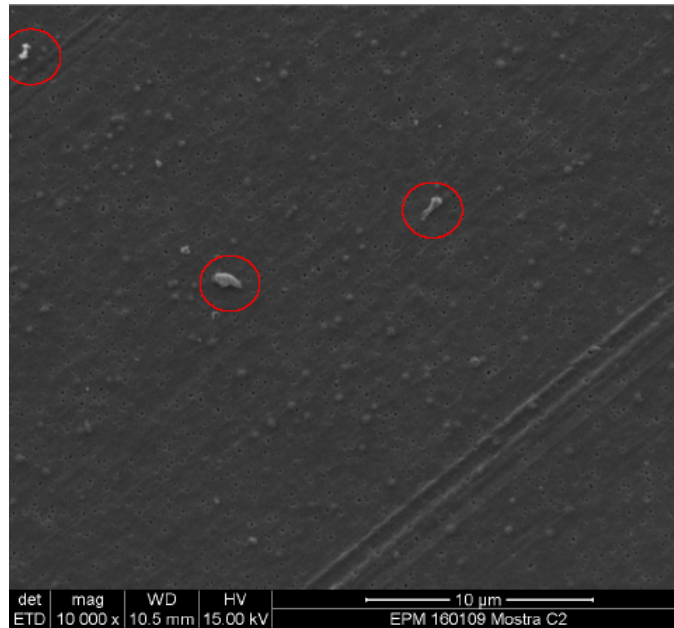


Imagen C24: 10000 aumentos. Partículas y poros hinchados.

Muestra D (Control)

Las imágenes D1 y D2, a 10000 aumentos, no muestran partículas de polietileno. En una visión más general, imágenes D3 y D4, se ven partículas contaminantes de diferente naturaleza (orgánicas, silicatos, carbonatos de calcio)

Vemos en el gráfico 1 el espectro de una partícula contaminante, no de polietileno.

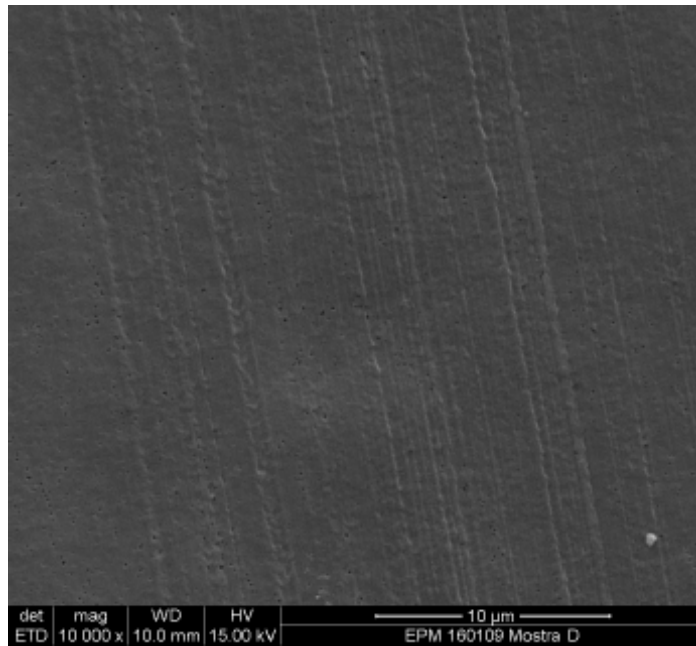


Imagen D1: 10000 aumentos. Rayas en el filtro. Partícula contaminante.

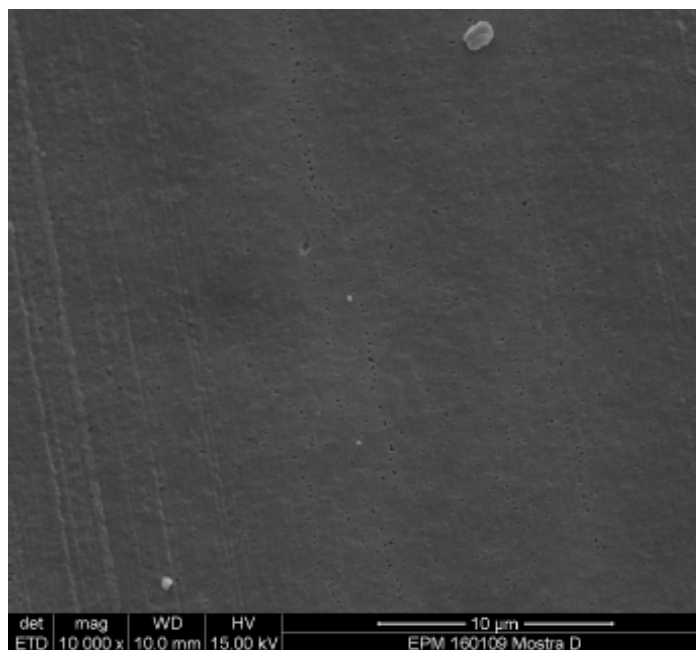


Imagen D2: 10000 aumentos. Partículas contaminantes.

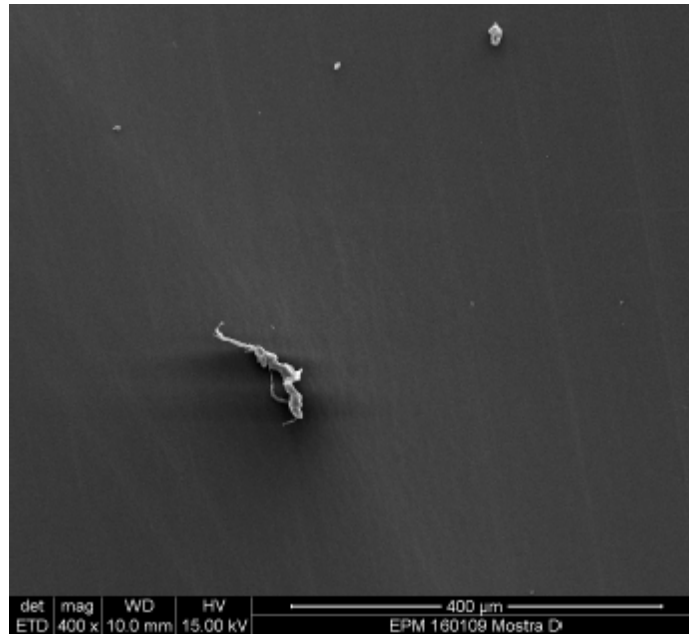


Imagen D3: 400 aumentos. Partícula contaminante.

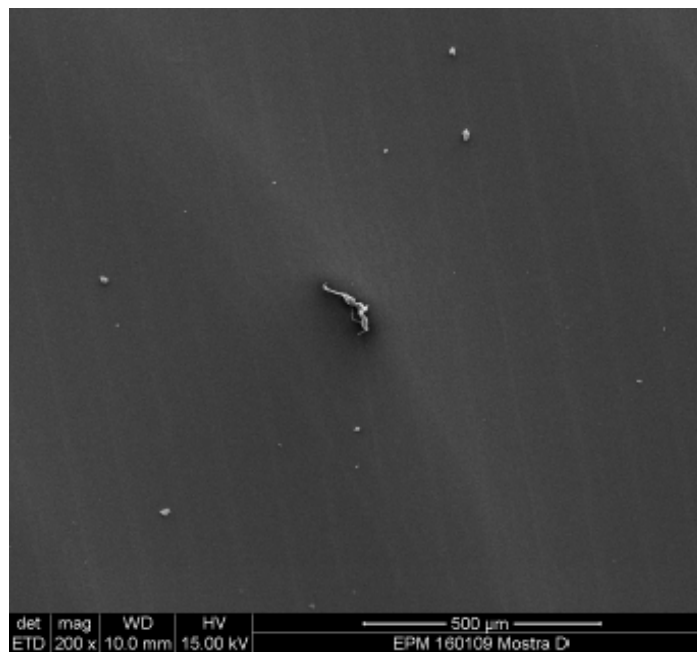


Imagen D4: 200 aumentos. Partículas contaminantes

Label A: EPM 160189 Mostra D Partícula contaminant

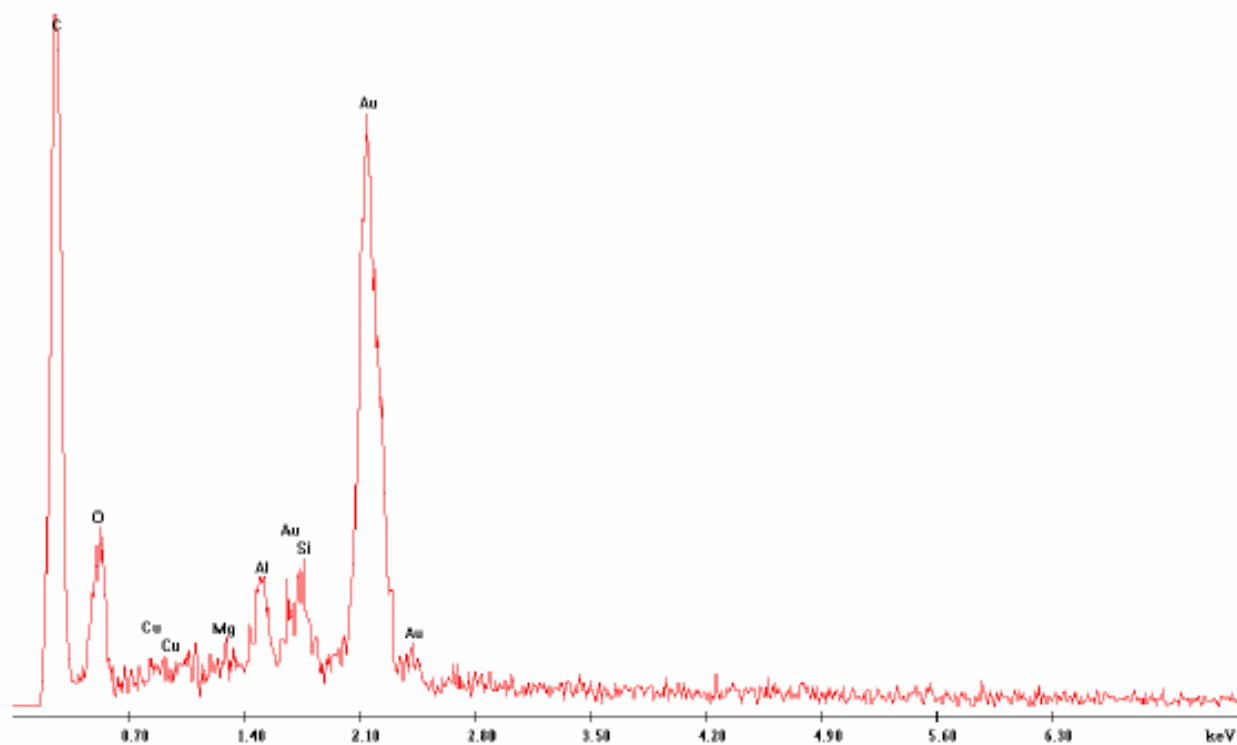


Gráfico 1: sistema de microanálisis por separación de energías de rayos-X. Muestra presencia de silicatos y aluminio, por lo que se trata de una partícula contaminante.

DISCUSIÓN

En este estudio preliminar reproducimos una técnica de laboratorio ya validada y publicada en la literatura. Nuestro objetivo no es otro que el de averiguar si, en nuestras manos, podemos con esa técnica observar las partículas de polietileno, y con ella abrir una línea de estudio.

En nuestros resultados podemos observar partículas de polietileno, fácilmente cuantificables y con la posibilidad de estudiar su forma y tamaño. Las rayas que aparecen en los filtros, si bien no parecen dificultar en ningún caso el recuento de partículas, bien podrían minimizarse disminuyendo la presión de filtrado.

En las muestras C1 y C2, procedentes del mismo paciente, observamos una alteración en los poros del filtro. Éstos aparecen hinchados, confundándose con las partículas de polietileno, lo que dificulta su cuantificación precisa y pudiendo llevar a error. En los filtros de estas muestras encontramos membranas de material biológico que obturan distintas áreas del filtro. Al disminuir el área de filtrado, la presión aumenta, lo que produce la lesión de los poros. Además, en las áreas con material biológico no podemos identificar con facilidad las partículas. Como se ve en las imágenes, incluso se identifican elementos que podrían corresponderse con eritrocitos (atendiendo a su forma y tamaño), algo verosímil si tenemos en cuenta que la muestra C, al igual que la A, presentaba características macroscópicas hemáticas. Hemos atribuido la causa de este problema a una mala digestión de la muestra, por error en el proceso. Una mala digestión explica la persistencia de material biológico. El

proceso de digestión [8] se aplica a cada una de las muestras A, B, C y D, y los volúmenes a procesar se extraen de cada una de ellas tras el mismo. Esto explica que el problema se repita en las muestras C1 y C2, y no aparezca en la muestra A, que también era hemática.

En los distintos artículos citados en cuanto a la técnica descrita, podemos encontrar pequeñas variaciones. Por ejemplo, en algún caso se utiliza la ultrasonicación previa al filtrado final para evitar la aglomeración de partículas [13,10], que impediría su recuento. Nosotros no observamos este fenómeno a pesar de no haber utilizado la ultrasonicación. No descartamos utilizarla si en un futuro objetiváramos aglomeración de partículas.

El volumen procesado es siempre de 3 ml; no se puede procesar toda la muestra extraída, ya que la técnica nos obliga a trabajar con volúmenes idénticos y la capacidad de los rotores no permite mayor volumen. Pero conociendo el volumen total, se podría calcular la concentración total a partir del número de partículas en un volumen de 3 ml.

Las imágenes han sido obtenidas por un experto en microscopía electrónica, con experiencia en partículas de polietileno, que lleva a cabo la preparación del filtro para el microscopio, realiza las fotos y analiza las imágenes, siendo la posibilidad de error a la hora de definir una partícula de polietileno mucho menor que si el análisis lo realizáramos los clínicos. Las imágenes que se obtienen en microscopía electrónica son superponibles a las imágenes publicadas en los estudios que utilizan la misma técnica.

CONCLUSIONES

Con esta técnica podemos cuantificar partículas de polietileno en líquido sinovial, así como estudiar su forma y su tamaño.

Podemos utilizar la técnica en estudios comparativos para conocer qué técnica, diseño o situación produce más o menos desgaste de polietileno, in vivo.

Dentro del protocolo de procesamiento de la muestra, cobra importancia la correcta digestión de la misma para no alterar los resultados.

PROTOCOLO DE ESTUDIO

**CUANTIFICACIÓN DE LAS PARTÍCULAS DE POLIETILENO EN
LÍQUIDO SINOVIAL TRAS ARTROPLASTIA TOTAL DE
RODILLA, UTILIZANDO UN POLIETILENO CONVENCIONAL O
UNO ALTAMENTE ENTRECruzADO**

OBJETIVOS

Pregunta de investigación

¿La utilización de un polietileno altamente entrecruzado comporta una reducción del número de partículas liberadas en la práctica clínica?

Hipótesis

Utilizando el polietileno X3 se reduce el número de partículas de polietileno procedentes del desgaste, en comparación con el polietileno convencional. Por ello, el recuento de partículas será menor en el grupo de pacientes portadores del polietileno altamente entrecruzado.

Objetivo principal

Comparar el número de las partículas de polietileno aisladas en líquido sinovial tras artroplastia total de rodilla primaria, según se utilice un polietileno convencional o el altamente entrecruzado.

Objetivo secundario

Comparar los tamaños de las partículas de ambos grupos, ya que sabemos que partículas de menor tamaño presentan mayor actividad biológica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Ensayo clínico prospectivo randomizado a doble ciego.

Materiales y técnicas utilizadas

El modelo protésico utilizado es el Triathlon PS (Stryker Orthopedics), prótesis modular cementada de cromo-cobalto.

El polietileno convencional es polietileno de alto peso molecular GUR 1020 irradiado con 30 KGy (irradiación gamma) en nitrógeno.

El polietileno X3 es polietileno de alto peso molecular altamente entrecruzado, que se somete a tres ciclos de irradiación a 30 KGy en aire seguida de recocido en aire a 130 °C durante 8 horas. La esterilización tras los tres ciclos se realiza con gas- plasma.

Durante la cirugía, en el momento de colocar el polietileno definitivo, la enfermera circulante abrirá un sobre cerrado en el que se especificará cuál de los dos tipos de polietileno será colocado. Un adhesivo con los datos del polietileno implantado quedará en la hoja de recogida de datos del paciente.

La obtención del líquido sinovial se realizará mediante artrocentesis al año de seguimiento. La artrocentesis se realizará en la consulta, bajo estrictas

medidas de asepsia, y el líquido obtenido se congelará inmediatamente a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su procesamiento, en un tubo estéril.

Para el procesamiento de las muestras se utiliza una técnica ya descrita y validada [8, 9, 10, 11, 12,13]. Inicialmente todas las soluciones son filtradas a través de un filtro de Nylon de 0.2 micras (MILLEX-GS. Cat. No SLGS03355), para eliminar posibles partículas contaminantes. La muestra es digerida con hidróxido de sodio a una concentración de 10 mol/l, a $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 12 horas. A continuación es aplicada a un gradiente continuo de sacarosa (concentraciones al 5%, 10% y 20%) en un tubo de 14 ml de Poliallomer (Beckman Polyallomer 14 ml) y ultracentrifugada a 28000 rpm durante 3 horas a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Seguidamente se toma el nivel más superior de tubo y se aplica a un gradiente de isopropanol-agua (densidades de 0.90 y 0.96) en un tubo de 40 ml de Poliallomer (Beckman Polyallomer 40 ml), que también se ultracentrifuga a 28000 rpm durante una hora a temperatura ambiente. Finalmente se toma la línea de la interfase, que se filtra a través de un filtro de policarbonato de 0.1 micras (WHATMAN -Nucleopore Track-Etch Membrana- n° 110605), donde quedarán retenidas las partículas de polietileno. Previamente al filtrado se homogeinizan las partículas en disolución para facilitar el reparto por toda el área del filtro.

El filtro se coloca en una placa de Petri para ser remitido al servicio de microscopía electrónica de barrido. Allí el filtro se monta sobre una lámina de latón con cinta bioadhesiva conductora y plata coloidal; se recubre con una lámina de oro de 40 nm, y es analizada con el microscopio electrónico de barrido.

El servicio de microscopía envía diez fotografías a 10000 aumentos, en las que se pueden contabilizar y medir las partículas. Conociendo el número de partículas en el área de las diez fotos (0.75 mm^2) podemos extrapolar el valor al área total del filtro (380 mm^2), lo que nos dará el número de partículas. Al conocer el volumen extraído en la artrocentesis, podemos calcular también la concentración de partículas en líquido sinovial.

El microscopio utilizado es un Microscopio Electrónico de Barrido Ambiental (ESEM) Quanta 200 (FEI,Co).

En caso de duda acerca de su naturaleza, las partículas son analizadas con el sistema de microanálisis por separación de energías de rayos-X (EDAX Genesi y díodo de polvorización catódica Polaron E5000), mediante el que podemos saber si se trata realmente de una partícula de polietileno o bien si es una partícula contaminante.

El nivel de actividad del paciente es evaluado preoperatoriamente y al año de la cirugía mediante la Escala de Actividad de la Universidad de California-Los Ángeles.

El estado clínico del paciente es evaluado mediante la escala Knee Society Score preoperatoriamente y al año de la cirugía.

Pacientes estudiados

Pacientes afectados de gonartrosis que tengan indicación de artroplastia total de rodilla.

Criterios de inclusión

- Pacientes con gonartrosis con indicación de artroplastia total.
- Edad comprendida entre los 60 y 85 años, ambos incluidos.
- Aceptan voluntariamente participar en el estudio y firman el consentimiento informado.

Criterios de exclusión

- Pacientes con patología distinta a gonartrosis.
- Edad menor de 60 años y mayor de 85 años.
- Alteraciones de la alineación de la extremidad en varo o valgo mayores a 12°.
- No cumplimentación del consentimiento informado.

Variables estudiadas

- Edad
- Sexo
- Tipo de polietileno: X3 o Convencional, según aleatorización.
- Grosor del polietileno
- Talla del componente femoral insertado
- Talla del componente tibial
- Ángulo fémoro-tibial prequirúrgico: Medido entre la línea que va desde el centro de rotación de la cabeza femoral y las espinas tibiales y la línea que va desde éstas al centro de la cúpula astragaliina, en una radiografía telemétrica anteroposterior en carga de las extremidades inferiores, antes de la cirugía.
- Ángulo fémoro-tibial postquirúrgico: Medición del mismo ángulo descrito, un año tras la artroplastia.
- Índice de masa corporal: Peso del paciente (en kilogramos) dividido por su talla (en metros) al cuadrado.
- Peso
- Nivel de actividad física: Valorada según el cuestionario de la Universidad de California-Los Ángeles, al año de la artroplastia.
- Estado clínico del paciente: Valorada según el cuestionario de Knee Society Score. Será valorado de forma preoperatoria y al año de la cirugía.

Pruebas estadísticas

En primer lugar se realizará un análisis descriptivo. Las variables cualitativas se describirán mediante frecuencias y porcentajes; y las variables cuantitativas mediante media y desviación estándar o mediana y rango según si las variables tienen distribución normal.

Posteriormente se procederá a realizar el análisis bivariado, en el cual la relación entre dos variables cuantitativas se comprobará mediante correlación de Pearson o Rho de Spearman según proceda. Las variables cualitativas se analizarán mediante el test de Ji al cuadrado o exacto de Fisher; y la relación entre una variable categórica con una cuantitativa se comprobará mediante el test T de Student en caso de tratarse de variables con distribución normal o el test no paramétrico de U de Mann-Whitney en caso contrario.

Finalmente, y si fuera conveniente, se procederá a realizar un modelo de regresión lineal múltiple con las variables que hayan resultado estadísticamente significativas o marginalmente significativas en el análisis bivariado, con el fin de obtener el mejor modelo explicativo posible.

En todos los análisis se considerará como estadísticamente significativo valores de p menores de 0.05. Los análisis se realizarán con el paquete estadístico SPSS 15.0.

Cálculo del tamaño de la muestra: Aceptando un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta de 0.20 en un contraste bilateral, se precisan 16 sujetos en el grupo con polietileno convencional y 16 en el grupo con polietileno X3 para detectar una diferencia de total de partículas igual o superior a 0.6×10^8 unidades (reducción del 50 %), asumiendo que la desviación estándar común es de 0.6×10^8

Limitaciones del estudio

Debemos tener en cuenta que no todas las partículas de polietileno se encuentran en el líquido sinovial; muchas se encontrarán adheridas a la cápsula articular y a la membrana sinovial, y no serán aspiradas en la artrocentesis. Incluso es posible que tampoco se recojan todas las partículas del líquido sinovial con la artrocentesis. Sin embargo, para realizar una comparativa entre dos tipos de polietileno con supuestos grados distintos de desgaste, creemos que esta técnica nos permitirá detectar esa diferencia mediante el recuento de las partículas según la técnica descrita.

Con las diez fotografías realizadas cubrimos un área de 0.75 mm^2 , que podríamos ampliar realizando un mayor número de fotografías. La limitación en este punto la encontramos en el coste económico de la microscopía electrónica, que supone un gasto elevado que impide abordar el problema. Sin embargo creemos que las diferencias en el número de partículas, de haberla, podría ser detectada con el área estudiada. La homogenización con agua de las partículas antes del filtrado facilitará que así sea.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Participación voluntaria e informada

Los pacientes participarán de manera completamente voluntaria en el presente estudio, y serán debidamente informados antes de su inclusión en el mismo. La información se transmitirá de manera verbal, en la consulta, y escrita, con una hoja de información. Una vez leída la hoja y contestadas las posibles dudas del paciente, éste deberá cumplimentar la hoja de consentimiento informado, bien en ese momento o bien en la siguiente consulta si lo prefiere. Sólo cumplidos estos trámites podrá ser incluido en el estudio un paciente.

En cualquier momento el paciente podrá decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

Privacidad

Todo el personal que participa en el estudio respetará la intimidad del paciente. Su historia clínica es confidencial; y por tanto sus datos personales no serán proporcionados a personas no autorizadas según la ley orgánica 15/1999 sobre confidencialidad.

Riesgos o beneficios para los sujetos a estudiar

No se espera ningún riesgo o beneficio clínicamente significativo para los sujetos a estudiar, excepto las molestias secundarias a la punción articular para la toma de muestra de líquido sinovial.

PRESUPUESTO ECONÓMICO

N de 32 pacientes (16 en cada grupo de estudio)

Coste económico por paciente:

- Material de laboratorio (tubos, reactivos, filtros)	50 euros/muestra
- Análisis por microscopia electrónica:	240 euros/muestra
- Total:	290 euros/muestra

Gastos de Custodia y Administración (Fundación IMIM) 2400 euros (20%)

Presupuesto Total:

290 euros/muestra X 32 muestras = 9280 euros + 2400 = **11680 euros**

Este estudio cuenta con la ayuda de una beca SECOT.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fehring TK. Early failures in total knee arthroplasty. Clin Orthop Relat Res 2001; 392.
2. Sharkey PF, Hozak WJ, Rothman RH, et al. Insall Award paper. Why are total knee arthroplasty failing today? Clin Orthop Relat Res 2002; 404:7.
3. Schmalzried TP. Polyethylene wear debris and tissue reactions in knee as compared to hip replacement prostheses. J Appl Biomater 1994; 5:3.
4. Gupta SK, Chu A, Ranawat AS, et al. Review Article: osteolysis after total knee arthroplasty. J Arthroplasty 2007; 22:6.
5. Dorr LD, Wan Z, Shahrddar C, et al. Clinical performance of a Durasul Highly cross-linked polyethylene acetabular liner for total hip arthroplasty. J Bone Joint Surg Am 2004; 86:748.
6. Manning DW, Chiang PP, Martell Jm, et al. In vivo comparative wear study of traditional and highly cross-linked polyethylene in total hip arthroplasty. J Arthroplasty 2005; 20:880.
7. Wang A, Yau S, Essner A, et al. A highly crosslinked UHMWPE for CR and PS total knee arthroplasty. J Arthroplasty 2008; 23:4.

8. Campbell P, Ma S, Schmalzried T, et al. Tissue digestion for wear debris particle isolation. *J Biomed Mater Res* 1994; 28: 523-526.
9. Kobayashi A, Bonefield W, Kadoya Y, et al. The size and shape of particular polyethylene wear debris in total joint replacements. *Proc Inst Mech Eng [H]* 1997; 211: 11-15.
10. Kobayashi A, Freeman MAR, Bonefield W, et al. Number of polyethylene particles and osteolysis in total joint replacements. *J Bone Joint Surg* 1997; 79B: 844-848.
11. Minoda Y, Kobayashi A, Iwaki H, et al. Polyethylene wear particles in synovial fluid after total knee arthroplasty. *Clin Orthop* 2003; 410: 165-172.
12. Minoda Y, Kobayashi A, Iwaki H, et al. Characteristics of polyethylene particles isolated from synovial fluid after mobile-bearing and posterior-stabilized total knee arthroplasties. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 2004; 71B:1-6
13. Minoda Y, Kobayashi A, Iwaki H, et al. Polyethylene wear particle generation in vivo in an alumina medial pivot total knee prosthesis. *J Biomaterials* 2005; 26: 6034-6040.
14. Michael D. Ries. Highly cross-linked polyethylene. *J Arthroplasty* 2005; 4 suppl. 2