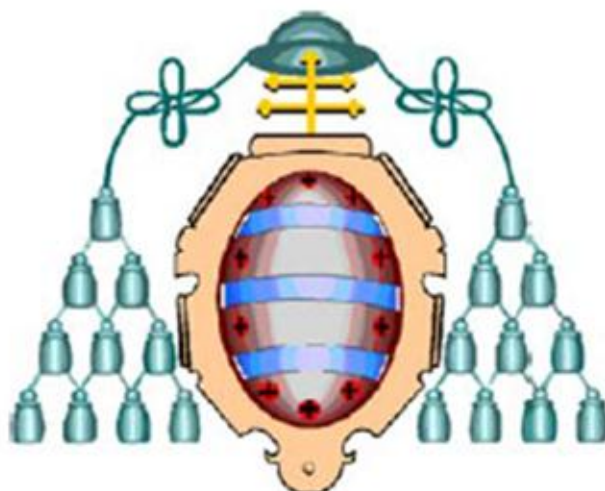


UNIVERSIDAD DE OVIEDO



Programa de doctorado: Investigación en Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas
Departamento de Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas

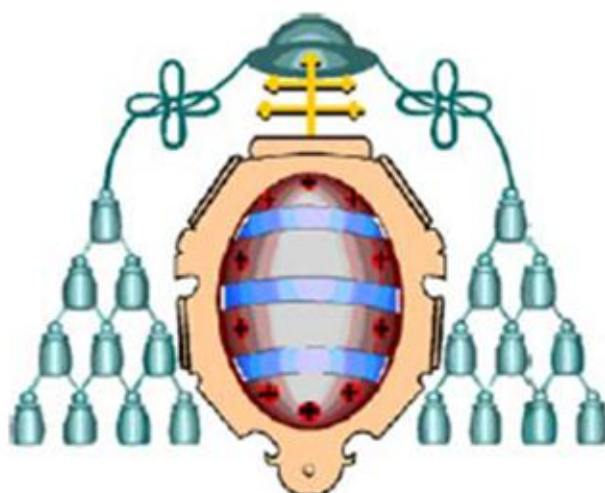
**DETERMINACIÓN DE NIVELES DE CROMO Y COBALTO EN FLUIDOS BIOLÓGICOS
POR ICP-MS Y RELACIÓN CON REACCIONES ADVERSAS A PRÓTESIS METAL-METAL**

MARÍA RODRÍGUEZ DE LA FLOR GARCÍA

TESIS DOCTORAL

2015

UNIVERSIDAD DE OVIEDO



Programa de doctorado: Investigación en Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas
Departamento de Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas

DETERMINACIÓN DE NIVELES DE CROMO Y COBALTO EN FLUIDOS BIOLÓGICOS POR ICP-MS Y RELACIÓN CON REACCIONES ADVERSAS A PRÓTESIS METAL-METAL

Autora

María Rodríguez de la Flor García

Director

Profesor Dr. Daniel Hernández Vaquero

TESIS DOCTORAL

2015



RESUMEN DEL CONTENIDO DE TESIS DOCTORAL

1.- Título de la Tesis

Español: DETERMINACIÓN DE NIVELES DE CROMO Y COBALTO EN FLUIDOS BIOLÓGICOS POR ICP-MS Y RELACIÓN CON REACCIONES ADVERSAS A PRÓTESIS METAL-METAL.

Inglés: DETERMINATION OF CHROMIUM & COBALT LEVELS IN BIOLOGICAL FLUIDS BY ICP-MS AND RELATIONSHIP WITH ADVERSE REACTIONS TO METAL-METAL PROSTHESIS.

2.- Autor

Nombre: MARIA RODRÍGUEZ DE LA FLOR GARCÍA

DNI/Pasaporte/NIE:

Programa de Doctorado: Investigación en Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas.

Órgano responsable: Departamento de Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas.



RESUMEN (en español)

La complicación más importante de las artroplastias de cadera con fricción metal-metal es el desgaste de los componentes con el secundario traspaso de iones metálicos al torrente sanguíneo y partes blandas periprotésicas, sobre todo de Cromo y Cobalto. Se ha publicado que algunos modelos de artroplastias metal-metal pueden producir complicaciones clínicas derivadas de una excesiva presencia de iones metálicos liberados al organismo, sobre todo a nivel renal, hepático, neurológico... originando también pseudotumores articulares denominadas ALVAL (Aseptic lymphocyte-dominant vasculitis-associated lesion).

Objetivo: Nuestro objetivo ha sido estudiar, en pacientes portadores de artroplastias de cadera metal-metal, la presencia de metales en matrices biológicas (suero, orina y cabello) y conocer su evolución con el paso del tiempo o con la extracción del implante.

Pacientes y métodos: En 45 pacientes con una artroplastia de superficie metal-metal se ha realizado una determinación de los niveles de Cromo, Cobalto y Molibdeno en cabello a los 3, 4, 5 y 6 años desde el implante. La edad media fue de 57,5 años, 2 eran mujeres. En 11 pacientes fue necesaria una reintervención para extracción de la artroplastia original e implante de un nuevo modelo con fricción metal-polietileno.

Resultados: Los niveles medios determinados en suero fueron para Cromo 8,29 mg/L (DE 17,97) y para Cobalto 8,38 mg/L (DE 21,97), mientras que en orina, los niveles fueron de 16,20 mg/L (DE 32,55) y 75,40 mg/L (DE 190,86) respectivamente. En cabello, los niveles medios de Cromo fueron de 163,27 mg/g (DE 300,62), Cobalto 61,98 mg/g (DE 126,48), y Molibdeno 31,36 mg/g (DE 37,86). Se observó una elevada concordancia entre las determinaciones de Cromo en orina y en suero y entre el Cobalto en orina y cabello. Se detectó una concordancia moderada entre Cobalto en orina y suero y entre Cobalto en cabello y en suero. Las cifras medias de metales en cabello fueron Cromo 163,27 ppm, Cobalto 61,98 ppm y Molibdeno 31,36 ppm, muy por encima de los niveles referidos en la población general. En los pacientes reintervenidos para extracción de la artroplastia, se observó al año de la intervención, una disminución del 43,8% en los niveles de Cromo, del 51,1% en Molibdeno y del 90,3% en Cobalto.

Conclusiones: En las artroplastias de cadera con fricción metal-metal se aprecia una alta concentración de metales en sangre, orina y cabello, que disminuye cuando dicho implante es extraído. La determinación de iones en cabello puede ser un buen marcador de la intoxicación por metales que sucede en estos modelos artroplásticos.



RESUMEN (en Inglés)

Introduction: The most important complication of hip arthroplasty with metal-metal friction is the component wear with the secondary transfer of metal ions into the bloodstream and periprosthetic soft tissue, especially Chromium and Cobalt. It has been reported that some models of metal-metal arthroplasty can produce clinical complications resulting from excessive presence of metal ions released into the body, especially at renal, hepatic, neurological level... also causing joint called pseudotumor ALVAL (Aseptic lymphocyte-dominant vasculitis-associated lesion).

Objective: Our aim was to study the presence of metals in biological matrices (serum, urine and hair) and to track trends over time or implant removal in patients with metal-metal hip replacements.

Patients and methods: A determination of Chromium, Cobalt and Molybdenum hair levels at 3, 4, 5 and 6 years after implantation, in 45 patients with metal-metal hip resurfacing, was made. The mean age was 57,5 years, 2 were women. In 11 patients, reintervention for removal of the original arthroplasty, and implantation of a new model with friction metal-polyethylene was necessary.

Results: In hair, the average levels of Chromium were 163,27 mg/g (SD 300,62), Cobalt 61,98 mg/g (SD 126,48), and Molybdenum 31,36 mg/g (SD 37,86). Concordance between Chromium determinations in urine and serum and between Cobalt determinations in urine and hair was observed. A moderate correlation between urinary and serum Cobalt levels and between hair and serum Cobalt levels was detected. The average figures of metals in hair were 163,27 ppm Chromium, 61,98 ppm Cobalt and 31,36 ppm Molybdenum, well above the levels reported in the general population. In patients reoperated for removal of arthroplasty was found, a year after surgery, a 43,8% decrease in the levels of Chromium, 51,1% Molybdenum and 90,3% Cobalt.

Conclusions: In hip arthroplasty with metal-metal friction a high concentration of metals in blood, urine and hair can be seen, decreasing when the implant is removed. The determination of ions in hair may be a good marker for metal poisoning, that happens in these devices.

- SR. DIRECTOR DE DEPARTAMENTO DE de Cirugía y Especialidades Médico Quirúrgicas.
- SR. PRESIDENTE DE LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA DE DOCTORADO EN Investigación en Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas.

Dedicado a mis padres...

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera mostrar mi más sincero agradecimiento al director de la presente Tesis, el Prof. Dr. Daniel Hernández Vaquero por su constante apoyo durante estos cuatro años. Al Servicio de Bioquímica del Hospital San Agustín, por su soporte técnico. Al Dr. José Manuel Fernandez-Carreira a través de la Unidad de Apoyo a La Investigación del Hospital San Agustín. Al Servicio de Extracciones. A los Servicios Científico Técnicos de la Universidad de Oviedo y, en particular, a las Unidades de: Microscopía Fotónica y Proceso de Imágenes (Prof. Dr. José Manuel López García, Dr. Ángel Martínez Nistal y Dra. Marta Alonso Guervós), Microscopía Electrónica (Dr. Alfredo J. Quintana García), Espectroscopía foto-electrónica, UV-Visible e IR (Dr. Alfonso Fernández González) y, especialmente, a la Unidad de Espectrometría de Masas (Dra. Cristina Sariego Muñiz).

Esta Tesis ha sido llevada a cabo con el apoyo de la Fundación SECOT (Sociedad Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología) mediante una beca concedida en el Concurso de Ayudas a la Investigación del año 2011 a través de una convocatoria abierta y competitiva.

ÍNDICE

ÍNDICE

A. INTRODUCCIÓN	1
A.1. PRÓTESIS E IMPLANTES	1
A.1.1. Prótesis articular de cadera	3
A.1.2. Historia de la prótesis total de cadera	6
<i>A.1.2.1. Estado actual de la artroplastia total de cadera</i>	12
<i>A.1.2.2. Modelo ASR® de la compañía de implantes DEPUY</i>	13
<i>A.1.2.3. Resultados de las artroplastias de superficie y sus complicaciones</i>	17
A.1.3. Materiales y diseños en la fabricación de implantes ortopédicos	21
A.1.4. Degradación de los implantes ortopédicos	25
A.1.5. Respuesta biológica a las partículas de desgaste liberadas desde implantes ortopédicos	30
<i>A.1.5.1. Osteólisis periprotésica</i>	31
<i>A.1.5.2. Implicaciones sobre la actividad de osteoblastos por metales Cromo y Cobalto</i>	37
<i>A.1.5.3. Hipersensibilidad retardada tipo IV</i>	39
A.2. MUTAGENIA, TERATOGENIA Y CÁNCER	40
A.3. METALES: QUÍMICA Y DAÑO GENÉTICO	43
A.4. TOXICIDAD DE LOS METALES	44
A.4.1. Cromo	44
A.4.2. Cobalto	46
A.4.3. Molibdeno	47
<i>A.4.3.1. Metabolismo del Molibdeno</i>	48
<i>A.4.3.2. Efectos tóxicos</i>	49
A.5. METODOLOGÍAS ANALÍTICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS METALES PROCEDENTES DE IMPLANTES ORTOPÉDICOS EN FLUÍDOS BIOLÓGICOS	52
A.6. ESPECTROMETRÍA DE MASAS CON FUENTE DE PLASMA DE ACOPLAMIENTO INDUCTIVO (ICP-MS)	55
A.6.1. Espectrometría de masas elementales con fuentes de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS)	59
A.6.2. ICP-MS de alta resolución o doble enfoque (HR-ICP-MS)	60
A.6.3. Evidencia experimental del análisis de trazas metálicas en cabello humano	64
B. OBJETIVOS	69
C. PACIENTES Y MÉTODOS	75
C.1. PROTOCOLO DE ACTUACIÓN. RECOGIDA DE DATOS	77

C.2. INSTRUMENTACIÓN ANALÍTICA	83
C.3. MATERIALES, REACTIVOS Y DISOLUCIONES	84
C.4. MATERIALES DE REFERENCIA Y MUESTRAS	86
C.5. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES	86
C.5.1. Protocolos de limpieza	86
C.5.2. Optimización de los parámetros instrumentales	92
C.6. METODOLOGÍAS DE CÁLCULO	94
C.6.1. Medida de las relaciones isotópicas: cálculo del factor de discriminación de masas y tiempo muerto del detector del ICP-MS	94
<i>C.6.1.1. Tiempo muerto del detector</i>	94
<i>C.6.1.2. Discriminación de masas</i>	95
C.6.2. Calibración externa utilizando HR-ICP-MS para la determinación de la concentración total de metales	96
C.6.3. Tratamiento de datos estadísticos	96
C.7. INSTRUMENTACIÓN EMPLEADA EN LOS ANÁLISIS COMPLEMENTARIOS	97
C.7.1. Análisis XPS (X-Ray photoelectrons spectroscopy)	97
C.7.2. Análisis mediante Microscopio electrónico de barrido	99
C.7.3. Análisis mediante Microscopio óptico	102
C.7.4. Análisis microestructural de la superficie de la prótesis de cadera de recubrimiento M-M ASR [®] mediante Estereomicroscopio	104
C.7.5. Análisis de metales no protocolizados en suero, orina y cabello (Al, Mn, Mo, Ni, Ti)	106
D. RESULTADOS	109
D.1. RESULTADOS DE LOS PARÁMETROS CLÍNICOS Y RADIOGRÁFICOS EVALUADOS EN CONSULTA	111
D.2. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS DE IONES METÁLICOS	112
D.2.1. Estudio de la presencia de iones metálicos (Cromo, Cobalto y Molibdeno) en cabello de pacientes con artroplastias de cadera con fricción M-M y su modificación con el paso del tiempo	112
D.2.2. Validación de la técnica mediante un estudio comparativo con la medición de estos iones en suero y orina	115
D.2.3. Determinación de los niveles de metales en suero y orina tras la cirugía de revisión e implante de un modelo artroplástico metal-polietileno	115
D.2.4. Comprobación de la superposición y equivalencia en el descenso de iones respecto al encontrado en cabello tras la cirugía de revisión	116
D.3. ANÁLISIS COMPLEMENTARIO DEL MATERIAL PROTÉSICO Y TEJIDOS EXTRAÍDOS, Y DE LOS METALES MINORITARIOS DE LA ALEACIÓN EN SUERO, ORINA Y CABELLO (AL, MN, MO, NI, Ti).	118

D.3.1. Análisis complementario del material protésico y tejidos extraídos	118
<i>D.3.1.1. Resultados del análisis XPS(X-Ray photoelectrons spectroscopy), Espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X</i>	118
<i>D.3.1.2. Resultados del análisis de tejido ALVAL mediante microscopio electrónico de barrido.</i>	120
<i>D.3.1.3. Resultados del análisis del microscopio óptico</i>	125
<i>D.3.1.4. Resultados del análisis microestructural de la superficie de la prótesis de cadera de recubrimiento M-M ASR[®] mediante Estereomicroscopio</i>	127
D.3.2. Análisis complementario de los metales minoritarios de la aleación en suero, orina y cabello (Al, Mn, Mo, Ni, Ti)	128
E. DISCUSIÓN	137
E.1. RESULTADOS DE LOS HALLAZGOS CLÍNICOS Y RADIOGRÁFICOS.	141
E.2. RESULTADOS DE LOS NIVELES DE IONES OBTENIDOS EN ESTE ESTUDIO Y EVALUACIÓN DEL RIESGO RESPECTO A LA BIBLIOGRAFÍA ESTUDIADA EN PACIENTES EXPUESTOS A METALES	142
E.3. ANÁLISIS COMPLEMENTARIOS	146
E.3.1. Hallazgos del análisis XPS(X-Ray photoelectrons spectroscopy), Espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X	147
E.3.2. Hallazgos en los estudios de microscopía electrónica de barrido y microscopía óptica	148
E.3.3. Hallazgos en los estudios mediante Estereomicroscopio	149
E.3.4. Hallazgos en los análisis de metales no protocolizados	150
E.4. POSIBILIDAD DE SUSTITUCIÓN DE LA DETERMINACIÓN DE METALES EN CABELLO DE PACIENTES PORTADORES DE ARTROPLASTIAS DE SUPERFICIE M-M POR LA DETERMINACIÓN DE ESOS MISMOS METALES EN SUERO Y ORINA EN EL CONTROL EVOLUTIVO DE ESOS MODELOS	155
E.5. VENTAJAS E INCONVENIENTES DEL ANÁLISIS DEL CABELLO	156
E.6. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	157
F. CONCLUSIONES	161
G. ANEXOS	167
G.1. ANEXO 1: RESOLUCIÓN COMITÉ DE ETICA REGIONAL	169
G.2. ANEXO 2: RESOLUCIÓN DE PREMIOS A PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN, FUNDACIÓN SECOT 2011	170
G.3. ANEXO 3: SISTEMA DE EVALUACIÓN DE CADERA DE OXFORD	171
H. PUBLICACIONES Y COMUNICACIONES DERIVADAS DE ESTE ESTUDIO	175
H.1. PUBLICACIONES Y COMUNICACIONES A CONGRESOS DERIVADAS DE ESTA TESIS	177
H.1.1. Artículos científicos	177

H.1.2. Comunicaciones SEIQ (Sociedad Española de Investigaciones Quirúrgicas) 2013	177
H.1.3. Comunicaciones SECOT (Sociedad Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología) 2013 (Resolución de premios a Proyectos de Investigación 2011)	177
H.1.4. Comunicación INVESCOT (Asociación Española de Investigación en Cirugía Ortopédica y Traumatología) 2014	178
H.1.5. Posters EFORT (European Federation of National Associations of Orthopaedics and Traumatology) 2014	178
H.1.6. Posters Congreso EAHP (European Association of Hospital Pharmacists) 2014	178
H.1.7. Posters Congreso EFORT (European Federation of National Associations of Orthopaedics and Traumatology) 2015	179
I. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	203

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Dedo falso encontrado en una momia enterrada cerca de Luxor.	1
Figura 2: Representación de diversas localizaciones donde pueden ser implantados prótesis y otros biomateriales en el cuerpo humano.	2
Figura 3: Comparación de una cadera normal y con artrosis.	4
Figura 4: Tipos de artroplastias de cadera.	5
Figura 5: Cúpula de Vitalio de Smith-Peterse	7
Figura 6: Radiografía tras implante de cúpula de Smith Petersen.	7
Figura 7: Prótesis original de Judet de material acrílico.	8
Figura 8: Prótesis de Moore y Thompson.	8
Figura 9: Prótesis de Wiles.	9
Figura 10: Prótesis de McKee-Farrar.	10
Figura 11: Prótesis de Sivash.	10
Figura 12: Prótesis de Charnley.	11
Figura 13: Prótesis de recubrimiento ASR®.	14
Figura 14: Cabeza femoral extraída con presencia de tejido tipo ALVAL.	19
Figura 15: Corrosión de un metal en condiciones fisiológicas.	28
Figura 16: Secuencia de procesos de disolución parcial y reprecipitación de la capa de pasivado de un material metálico (en disolución acuosa e in vivo).	30
Figura 17: Ilustración esquemática de los caminos hipotéticos por los que las partículas de CrCo micrométricas y nanométricas entran en las células y sus efectos subsiguientes.	33
Figura 18: Clasificación de metales procarcinogénicos en melanomogénesis.	42
Figura 19: Esquema del equipo de ICP-MS Agilent 7500 ce.	57
Figura 20: Detalle de la interfase de extracción.	59
Figura 21: Esquema del ICP-MS de alta resolución con geometría de Nier-Johnson inversa.	61
Figura 22: Imagen del ICP-MS de doble enfoque, ELEMENT 2.	61
Figura 23: Imagen del nebulizador del ICP-MS de doble enfoque, ELEMENT 2.	62

Figura 24: Sistema interno del ICP-MS de doble enfoque, ELEMENT 2.	62
Figura 25: Escala analógica visual actualizada.	80
Figura 26: Radiografía de cadera en paciente portador de ASR® de recubrimiento con las mediciones señaladas.	81
Figura 27: RNM en la que se puede apreciar un pseudotumor constatado posteriormente como ALVAL.	81
Figura 28: Balanza de alta precisión.	84
Figura 29: Sistema Milli-Q Advance.	85
Figura 30: Campana de extracción con muestras preparadas para la digestión en microondas.	89
Figura 31: Muestras dispuestas en bombas para digestión en microondas.	89
Figura 32: Muestras de cabello preparadas para baño de ultrasonidos.	90
Figura 33: Baño de ultrasonidos.	91
Figura 34: Secado de muestras de cabello en horno.	91
Figura 35: Lámpara de infrarrojos para obtención de ácido nítrico sub-boiling.	91
Figura 36: Espectrómetro de fotoelectrones de rayos X (XPS) Specs.	97
Figura 37: Imagen ampliada de la muestra en el momento del análisis mediante XPS.	99
Figura 38: Imagen del programa informático empleado para la obtención de los espectros.	99
Figura 39: MEB JEOL-6610LV con microanálisis.	100
Figura 40: Señales generadas al interactuar un haz de electrones con un material.	101
Figura 41: Esquema del funcionamiento de un microscopio electrónico de barrido.	101
Figura 42: Pantalla en la que se visualiza el tejido analizado mediante microscopía electrónica de barrido.	102
Figura 43: Fotografía intraoperatoria de un gran “pseudotumor” adyacente a la prótesis.	103
Figura 44: Estereomicroscopio Leica M205FA.	105
Figura 45: Estereomicroscopio Leica M205FA y software empleado para la construcción de imágenes.	105
Figura 46: Niveles de metales en suero y orina durante el periodo de seguimiento 3-6 años.	114

Figura 47: Niveles de metales en cabello durante el periodo de seguimiento 3-6 años.	114
Figura 48: Niveles de metales antes y después de la cirugía de revisión debida a metalosis.	117
Figura 49: Descenso de niveles de metales en los casos de metalosis.	117
Figura 50: Espectro de XPS para calcio con las posibles asignaciones.	118
Figura 51: Espectro XPS para Cobalto con las posibles asignaciones.	119
Figura 52: Espectros de XPS para el Cromo con las posibles asignaciones.	119
Figura 53: Espectros de XPS para Molibdeno con las posibles asignaciones.	120
Figura 54: Imagen de tejido ALVAL obtenida a través de microscopio electrónico de barrido.	121
Figura 55: Imagen de tejido ALVAL con presencia de linfocitos.	121
Figura 56: Imagen de una macropartícula metálica de desgaste de prótesis de cadera ASR®.	121
Figura 57: Espectro mediante microscopio electrónico de barrido.	122
Figura 58: Imagen de una macropartícula metálica de desgaste de prótesis de cadera ASR®.	122
Figura 59: Espectro mediante microscopio electrónico de barrido.	123
Figura 60: Imagen de una macropartícula metálica de desgaste de prótesis de cadera ASR®.	124
Figura 61: Espectro mediante microscopio electrónico de barrido.	124
Figura 62: Imagen de tejido ALVAL a través de microscopio óptico x4.	125
Figura 63: Imagen de tejido ALVAL obtenida a través de microscopio óptico x40.	125
Figura 64: Sección de tejido perivascular teñido con hematoxilina-eosina, con presencia de tejido fibroconectivo con necrosis y áreas con vasos sanguíneos, x200.	126
Figura 65: Tejido osteogénico y presencia de linfocitos, x400.	126
Figura 66: Imagen de la superficie de la prótesis obtenida a través de Estereomicroscopio.	127
Figura 67: Imagen de la superficie de la prótesis obtenida a través de Estereomicroscopio.	127
Figura 68: Imagen obtenida a través de Estereomicroscopio en la que se pueden observar surcos y líneas de fricción.	128
Figura 69: Imagen obtenida a través de Estereomicroscopio en la que se pueden observar surcos y líneas de fricción.	128

Figura 70: Comparación entre medianas en orina de población de estudio y control respectivamente.	129
Figura 71: Comparación entre medianas en suero de población de estudio y control respectivamente.	130
Figura 72: Niveles de metales (Al, Ti, Mn, Ni, Mo) determinados en orina de grupos de pacientes estratificados en función de los años que han sido portadores de la prótesis M-M.	132
Figura 73: Niveles de metales (Al, Ti, Mn, Ni y Mo) determinados en suero de grupos de pacientes estratificados en función de los años que han sido portadores de la prótesis M-M.	132
Figura 74: Niveles de metales (Al y Mo) determinados en cabello de grupos de pacientes estratificados en función de los años que han sido portadores de la prótesis M-M.	133
Figura 75: Niveles de metales (Ti, Mn y Ni) determinados en cabello de grupos de pacientes estratificados en función de los años que han sido portadores de la prótesis M-M.	133
Figura 76: Niveles de metales (Al, Ti, Mn, Ni) determinados en cabello de grupos de pacientes estratificados en grupo recambiado y no recambiado.	134

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Algoritmo de clasificación del riesgo de los pacientes con prótesis M-M.	20
Tabla 2. Metales y aleaciones metálicas implantables.	23
Tabla 3. Niveles de Co y Cr en muestras de suero, sangre y orina de personas sin implantes (controles) y portadoras de prótesis articulares de cadera M-M (pacientes) mediante ICP-MS así como de Molibdeno en cabello.	54
Tabla 4. Principales interferencias espectrales que afectan a Co, Cr, Mo, Ni, Ti, Al, V así como la resolución necesaria para poder separarlas.	64
Tabla 5. Cuestionario cumplimentado en cada consulta.	82
Tabla 6. Programa de microondas utilizado para la digestión de las muestras de sangre.	88
Tabla 7. Programa de microondas utilizado para la digestión de las muestras de cabello.	92
Tabla 8. Condiciones instrumentales de trabajo en ICP-MS óptimas.	92
Tabla 9. Concentración de Cr, Co y Mo en cabello y de Cr y Co en suero y orina.	113
Tabla 10. Concordancia entre los análisis en cabello, suero y orina.	115
Tabla 11. Resultados tras la remoción del implante M-M.	115
Tabla 12. Resultados comparativos tras la extracción del implante.	116
Tabla 13. Composición cuantitativa de los elementos de una macropartícula metálica de desgaste de prótesis de cadera ASR® encontrada en tejido ALVAL.	122
Tabla 14. Composición cuantitativa de los elementos de una macropartícula metálica de desgaste de prótesis de cadera ASR® encontrada en tejido ALVAL.	123
Tabla 15. Composición cuantitativa de los elementos de una macropartícula metálica de desgaste de prótesis de cadera ASR® encontrada en tejido ALVAL.	124
Tabla 16. Niveles de Aluminio, Titanio, Manganeso, Níquel y Molibdeno en orina de pacientes con prótesis M-M.	129
Tabla 17. Niveles de Aluminio, Titanio, Manganeso, Níquel y Molibdeno en suero de pacientes con prótesis M-M.	130
Tabla 18. Niveles de Aluminio, Titanio, Manganeso y Níquel en cabello de pacientes portadores de prótesis de cadera tipo ASR® DePuy y sometidos a cirugía de recambio.	131
Tabla 19. Concentraciones de metales en cabello.	143

Tabla 20. Comparativa de las posiciones y anchuras de picos para las distintas especies de Cromo según nuestro análisis y otros trabajos.

148

LISTA DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AAOS	<i>American Academy of orthopaedic Surgeons</i>
AEDT	Ácido etilendiaminotetracético / <i>Ethilenediaminetetraacetic acid</i>
AISI	<i>American Iron and Steel Institute</i>
Al	Aluminio
ALVAL	<i>Aseptic Lymphocyte-dominant Vasculitis-associated Lesion</i>
ASR	<i>Articular Surface Replacement</i>
ASTM	<i>American Society of Testing and Materials</i>
ATC	Artroplastia total de cadera
BHR	<i>Birmingham Hip Resurfacing</i>
BSI	<i>British Standards Institution</i>
Ca	Calcio
Co	Cobalto
Cps	Cuentas por segundo
Cr	Cromo
Cu	Cobre
ERO /ROS	Especies reactivas de oxígeno / <i>Reactive oxygen species</i>
FDA	Food and Drugs Administration
Ga	Galio
GSH	Glutation oxidado
HDPE	Polietileno de alta densidad/ <i>High Density Polyethylene</i>
ICP-MS	Espectrometría de masas elemental con fuente de plasma de acoplamiento

inductivo/ *Inductively coupled plasma mass spectrometry*

IARC	International Agency for Research into Cancer
HR-ICP-MS	ICP-MS de alta resolución o doble enfoque / <i>High resolution ICP-MS or double focusing ICP-MS.</i>
MHC	Complejo mayor de histocompatibilidad
MHRA	Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency
M-M	Metal-metal
Mn	Manganeso
Mo	Molibdeno
M-P	Metal-polietileno
MS	Espectrometría de masas / <i>Mass spectrometry</i>
Ni	Níquel
OIB	Oficina de Investigación Biosanitaria
OPG	Osteoprotegerina
ppb	Partes por billón
ppm	Partes por millón
PMMA	Polimetilmetacrilato
PMUE	Peso molecular ultra elevado
RANKL	Receptor activador del ligando del factor nuclear kappaB / <i>Receptor Activator for Nuclear Factor κ B Ligand</i>
SECOT	Sociedad Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología
Ti	Titanio
Tl	Talio

LISTA DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

Y Ytrio

XPS Espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X/ *X-Ray photoelectrons spectroscopy*

A. INTRODUCCIÓN

A.1. PRÓTESIS E IMPLANTES

Se trata de dispositivos artificiales utilizados para mejorar o sustituir (total o parcialmente), una estructura (órgano, tejido...etc.) o una función fisiológica del cuerpo humano. Esta definición abarca, por tanto, una amplia gama de dispositivos desde dientes postizos hasta artroplastias (de cadera, rodilla...), bandas gástricas, válvulas cardiacas...



Figura 1: Dedo falso encontrado en una momia enterrada cerca de Luxor. Imagen tomada de J L Finch con permiso del Museo Egipcio, Cairo, Egipto¹.

La primera prótesis conocida se encuentra en El Cairo, Egipto y se estima que fue construida entre los años 1000 y 600 A.C. Está compuesta por madera y cuero conformando un pie artificial (Figura 1). A lo largo de la historia distintas disciplinas (Química, Bioingeniería, Medicina...) han aunado su conocimiento para desarrollar prótesis de materiales adecuados para diversos fines². En los últimos tiempos este desarrollo ha sido exponencial debido al aumento de la esperanza de vida de la población. Se estima que en el año 2050 la población que ronde los 80 años se multiplicará por cinco. Dicha longevidad, junto con el desarrollo de las técnicas quirúrgicas y la necesidad social de mantener la calidad de vida, han incrementado el perfeccionamiento de estos dispositivos y su utilización. En la actualidad, se estima que

más de cincuenta millones de personas son portadoras de alguna prótesis. En la Figura 2 podemos observar la diversa disponibilidad y aplicación de las prótesis.

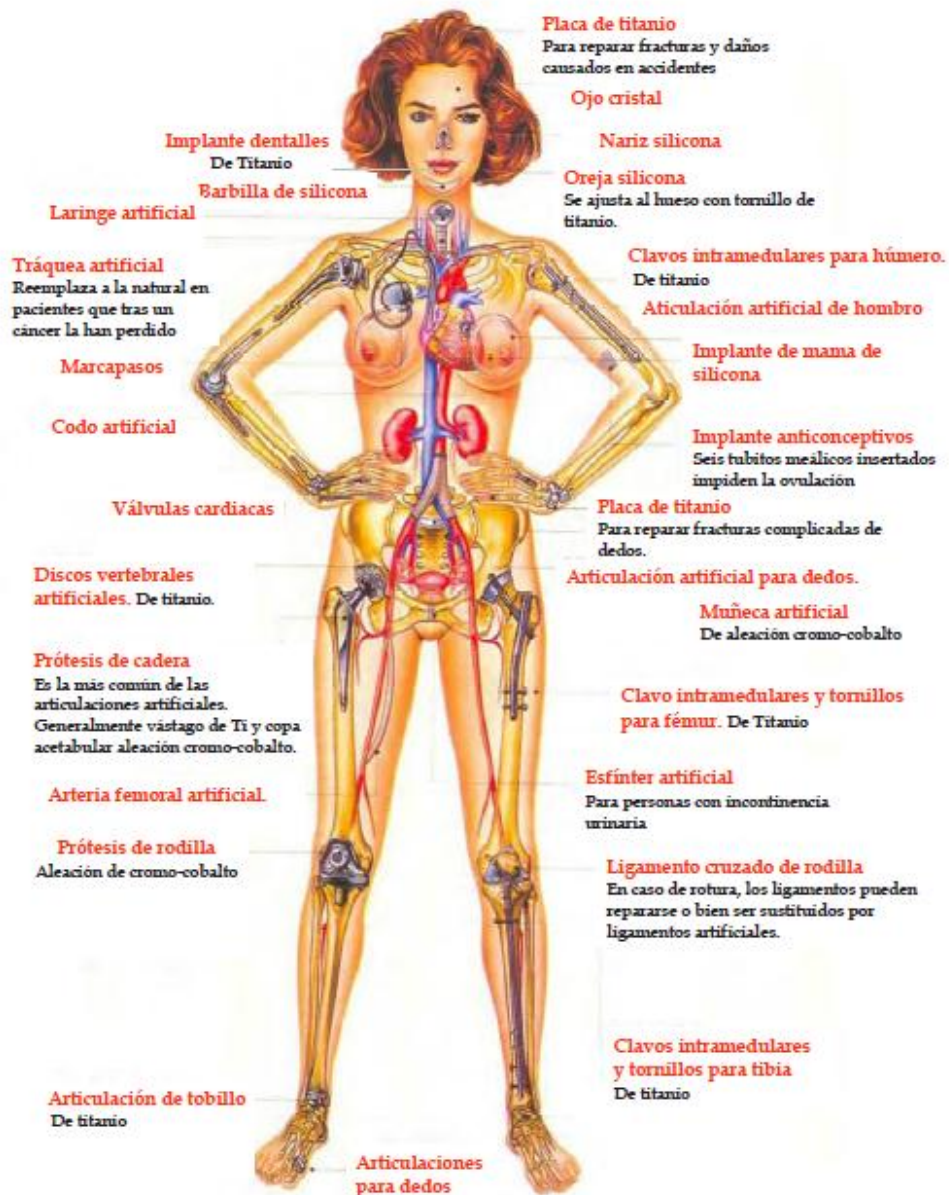


Figura 2: Representación de diversas localizaciones donde pueden ser implantados prótesis y otros biomateriales en el cuerpo humano. Imagen tomada del sitio:<http://www.unizar.es/icma/divulgacion/pdf/iberZentrum/biomaterialesHombreBionico.pdf>³.

Las posibles localizaciones son:

- ✓ Sistema esqueleto-muscular: articulaciones y miembros artificiales permanentes.
- ✓ Sistema cardiovascular: corazón (válvula, pared, marcapasos, corazón entero), arterias y venas.
- ✓ Sistema digestivo: esófago, conductos biliares e hígado.
- ✓ Sentidos: córneas, cristalino, implantes cocleares.
- ✓ Implantes cosméticos: maxilofaciales, implantes mamarios, etc.
- ✓ Sistema genitourinario: riñones, uréter, uretra y vejiga.
- ✓ Sistema nervioso.

Los implantes más utilizados son las prótesis articulares y las dentales.

A.1.1. Prótesis articular de cadera

Las prótesis articulares son dispositivos destinados a suplir la función de una articulación dañada. Las principales indicaciones para su utilización son:

- ✓ Osteoartritis o artrosis, en las que se produce degeneración del cartílago y del hueso adyacente.
- ✓ Procesos reumáticos: inflamación de la membrana sinovial que produce dolor y rigidez.
- ✓ Enfermedades generales o locales de la articulación: infección, traumatismos, necrosis óseas, etc.

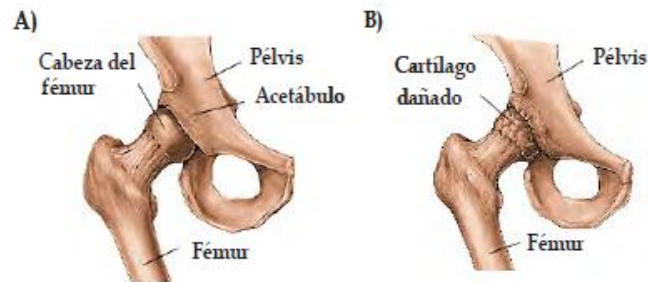


Figura 3: Comparación de una cadera normal a) y con artrosis b). Imagen tomada del sitio http://www.micadera.es/en/unidad_cadera/patologias/artrosis_cadera⁴.

La causa más común es la artrosis (Figura 3) que aumenta con la edad afectando al 85% de la población anciana e invalidando a un 10% de los mayores de 60 años⁵.

Se denomina artroplastia a la operación quirúrgica mediante la que se procede a implantar una prótesis articular. Es una de las intervenciones de mayor impacto en la actividad de los servicios de cirugía ortopédica en los hospitales de todo el mundo.⁶ En Europa se estima una tasa de 550.000 artroplastias de cadera al año mientras que en España las artroplastias de cadera rondan las 35.000 y de rodilla en torno a 20.000^{7,8}.

La artroplastia total de cadera (ATC) es una técnica habitual que surgió en el último tercio del siglo XX gracias a la colaboración de Sir John Charnley (cirujano ortopédico inglés) entre otros y a equipos de ingenieros biomecánicos e industriales. Con el tiempo, se han ido desarrollando prótesis de rodilla, hombro, codo..., que se practican con menos frecuencia que las de cadera.

La articulación de la cadera está formada por la cabeza femoral (parte superior del fémur) que se articula en el acetábulo (cavidad situada en la pelvis). La artroplastia de cadera convencional consiste en la sustitución de estos componentes por otros artificiales. Como consecuencia, la prótesis total de cadera consta de una copa acetabular que se fija a la pelvis y sirve de asiento a una esfera (cabeza femoral), cuyo vástago (tallo femoral) es incrustado en el fémur. Las artroplastias de recubrimiento consisten en la sustitución de la zona superficial de la cabeza mediante la implantación de un componente a modo de copa, que se articula sobre otra copa acetabular. Ambas

copas pueden ir sujetas al hueso mediante cemento óseo o a través de superficies porosas (Figura 4).

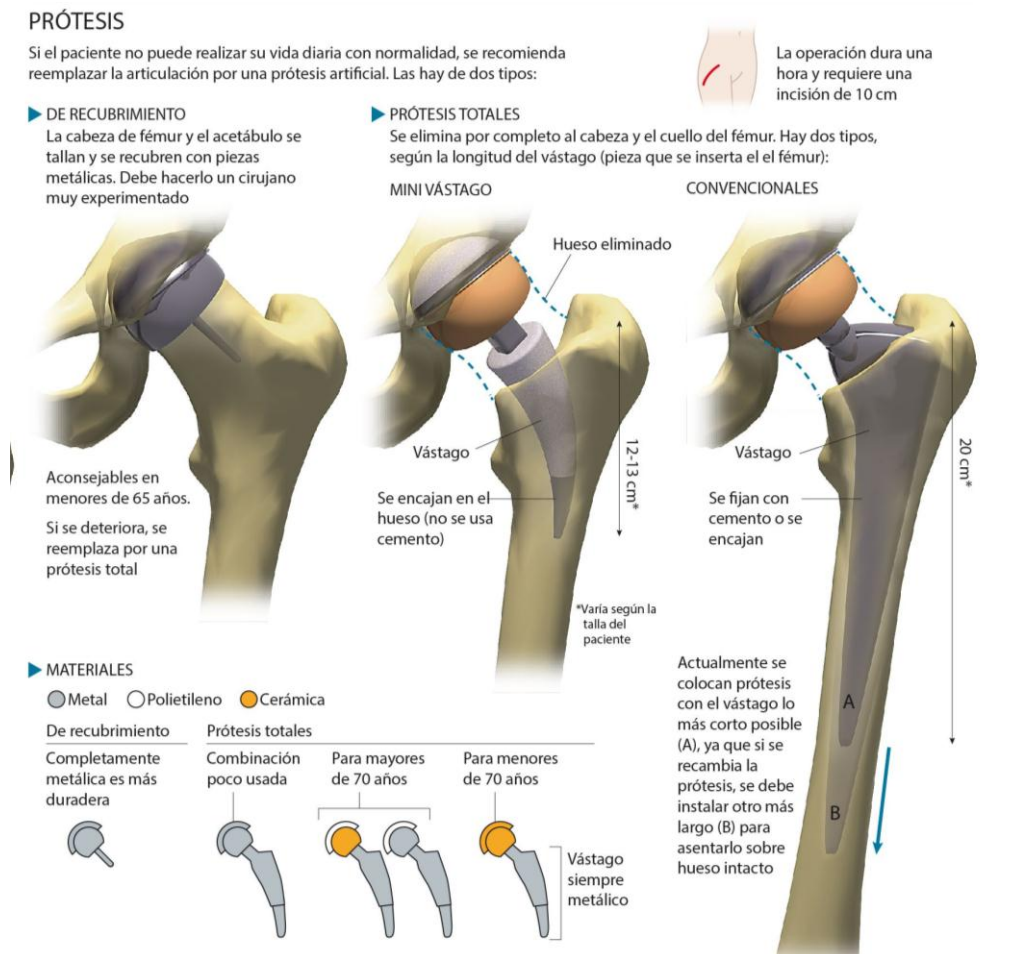


Figura 4: Tipos de artroplastias de cadera. Imagen tomada del sitio <http://www.cun.es/material-audiovisual/infografia/protesis-cadera>⁹.

Los objetivos de ambos tipos de artroplastias son obtener una articulación funcional, preservar el hueso y conseguir una fijación correcta. Hay una serie de factores importantes en el proceso de fabricación de estos implantes que influyen de manera determinante sobre esos objetivos como es la geometría de las superficies, la esfericidad, la rugosidad y la composición de la aleación metálica. Estas características influyen también en la tasa de desgaste de los materiales.

A pesar de que en la actualidad los resultados de las ATC son satisfactorios ya que la tasa de supervivencia de la prótesis se sitúa en un 95 % a los 10 años de su

implantación existen varios problemas que pueden suponer el fracaso de la prótesis con el paso de los años. Uno es la dificultad de fijación de los componentes de la prótesis al hueso, otro el desgaste y otro los problemas causados por los productos liberados como consecuencia de la degradación de los materiales que constituyen estos dispositivos.

A.1.2. Historia de la prótesis total de cadera

La artroplastia total de la cadera ha supuesto un inmenso avance en el campo de la cirugía ortopédica a lo largo de su historia. Paulatinamente, desde los inicios en los que se realizaron los primeros intentos para sustituir una cadera lesionada por un elemento artificial, se han empleado diversos materiales con resultados dispares.

Durante el primer cuarto de siglo XX se emplearon materiales biológicos e inorgánicos. Se trataba de artroplastias de interposición con tejidos blandos periarticulares¹⁰. Verneuil en 1860 empleó tejido muscular, grasa y fascia. Posteriormente Murphy¹¹ en 1902 utilizó colgajos musculares, fascia rodeada de grasa y fascia sola como material de interposición. Loewe¹² en 1913 utilizó piel y Robert Jones en 1912 comenzó a utilizar materiales inorgánicos como láminas de oro. Incluso se utilizó submucosa de vejiga de cerdo (Baer en 1918). Putti en 1921, Campbell en 1926 y MacAusland utilizaron injertos de fascia lata como material de interposición. Los resultados de estos primeros intentos de remodelación articular eran impredecibles, siendo el dolor residual y la rigidez articular la principal causa de fracaso. En 1923, Smith-Petersen introdujo el concepto de “artroplastia de molde” como una alternativa a la membrana de interposición. En un inicio se eligió cristal para ser posteriormente sustituido por materiales más resistentes y elásticos como la celulosa, la cual fue abandonada por inducir importantes reacciones a cuerpo extraño. Se probaron otros materiales más duraderos (Pirex® en 1933, baquelita en 1937) pero se desecharon debido a su fragilidad. No fue hasta el desarrollo del vitalium en 1938 cuando se dispuso de implantes de duración suficiente (Figuras 5 y 6).



Figura 5: Cúpula de Vitalio de Smith-Petersen. Imagen tomada del sitio: http://www.sirirajmedj.com/content.php?content_id=2691



Figura 6: Radiografía tras implante de cúpula de Smith Petersen. Imagen tomada del sitio: http://www.sirirajmedj.com/content.php?content_id=2691¹³.

En 1957, Aufranc¹⁴ obtuvo resultados positivos en un 82% de las 1.000 caderas intervenidas con la copa de Vitalium de Smith-Petersen. En 1952 los hermanos Judet¹⁵ publicaron los resultados de 300 casos de su prótesis de cabeza femoral acrílica (Figura 7).



Figura 7: Prótesis original de Judet de material acrílico. Imagen tomada del sitio http://www.charnleyresearch.co.uk/early_years.html¹⁶.

La experiencia con este implante evidenció que la fragmentación del material acrílico con el desgaste resultante producía una reacción tisular intensa incluyendo destrucción ósea.

El siguiente paso en la evolución de la artroplastia de cadera consistió en el diseño de endoprótesis metálicas con vástagos medulares para la fijación esquelética. Los dos modelos más populares fueron desarrollados en Estados Unidos por Fred Thompson¹⁷ en 1950 y A.T. Moore¹⁸ en 1952(Figura 8).



Figura 8: Prótesis de Moore (izda.) y Thompson (dcha). Imagen tomada del sitio <http://www.museumofhealthcare.ca/explore/exhibits/joints/early-designs.html>¹⁹.

Los vástagos más largos permitían la transmisión de las fuerzas de soporte de peso a lo largo del eje del fémur, en lugar de generar fuerzas de cizallamiento a nivel del cuello femoral como ocurría en la prótesis acrílica de los hermanos Judet. El primer intento de sustituir ambas superficies articulares se realizó en 1938 con la prótesis de Wiles (Fig. 9).



Figura 9: Prótesis de Wiles. Imagen tomada del sitio:<http://www.museumofhealthcare.ca/explore/exhibits/joints/early-designs.html>¹⁹.

Wiles desarrolló una articulación metal-metal (M-M) con un componente acetabular y otro femoral con un vástago corto en cuello femoral y fijado al fémur proximal con una placa. Se implantaron 8 de estas prótesis, sin que se conozcan hoy en día los resultados a largo plazo, puesto que toda la documentación se perdió durante la Segunda Guerra Mundial²⁰.

En los años cincuenta se desarrollaron las endoprótesis totales. Los primeros diseños fueron los realizados por McKee y Farrar¹⁰. Las primeras prótesis de McKee estaban hechas de acero. En 1956 se sustituyó por una aleación de Cromo (Cr)-Cobalto (Co). En 1965 este cirujano desarrolló un nuevo sistema con un cuello más delgado junto con J. Farrar por lo que actualmente se conoce como prótesis de McKee-Farrar. (Fig. 10). En 1965 investigó también en el vástago de la prótesis y lanzó al mercado un diseño de cuello más delgado.



Figura 10: Prótesis de McKee-Farrar. Imagen tomada del sitio: <http://bonesmart.org/forum/threads/hello-nearly-4-weeks-post-lthr.5840/page-2>²¹.

En Moscú, K.M. Sivash implantó en 1959 el primer cotilo sin cementar de una articulación M-M (Figura 11). En un principio se fabricó en acero y, posteriormente, en Cobalto²⁰.



Figura 11: Prótesis de Sivash. Imagen tomada del sitio: <http://www.healio.com/orthopedics/hip/journals/ortho/2009-3-32-3/{aaf8638d-a6ad-41cd-a16d-91df4b68ce0b}/the-sivash-constrained-acetabular-cup>²².

Ring²³, en Inglaterra desarrolló en 1964 un cotilo sin cementar atornillado a la pelvis, también con articulación M-M que combinó con una prótesis clásica de Moore (Fig. 8). Todas estas prótesis empleaban el par M-M y, no dieron resultados satisfactorios

(dolor y aflojamiento temprano). El punto de inflexión en este campo fue llevado a cabo por los trabajos de Sir John Charnley^{24,25,26,27,28,29}.

El principal cambio que llevó a la era del par metal-polietileno fue la utilización del cemento acrílico fraguado al frío (polimetilmetacrilato o PMMA) para la fijación al hueso de los componentes protésicos, y la utilización de materiales plásticos como el polietileno en el lado acetabular para la fricción con el componente metálico de la cabeza femoral. Posteriormente se fueron introduciendo modificaciones como la cementación tanto del vástago femoral como de la copa de plástico con cemento para fijar con seguridad los componentes en el hueso y transferir las fuerzas de un modo más uniforme. Más tarde, debido al desgaste y a la reacción tisular excesiva, sustituyó el politetrafluoretilo por polietileno de alta densidad (HDPE) y más adelante por polietileno de peso molecular ultra elevado (PMUE) (Figura 12).



Figura 12: Prótesis de Charnley. Imagen tomada del sitio: http://charnleyresearch.co.uk/low_friction.html³⁰.

Este nuevo par de fricción aportó mejores resultados clínicos inmediatos que el par M-M utilizado hasta entonces y como consecuencia, se abandonó el empleo de las prótesis fabricadas enteramente de metal. Los trabajos publicados en los años posteriores (década de los setenta) y de seguimiento a largo plazo evidenciaron el buen resultado clínico de estas prótesis^{31,32,33,34}.

Actualmente, el concepto básico de Charnley de artroplastia de baja fricción y la utilización del par metal-polietileno es aún el “gold-estándar” de la artroplastia total de

cadera. Los resultados clínicos de la prótesis de Charnley son hoy día referencia obligada para evaluar el rendimiento de otras artroplastias. En la historia de las ATC han quedado modelos denominados de doble cúpula como los diseñados por Wagner, Freeman, etc. que sólo se utilizaron unos años y se abandonaron por los malos resultados ofrecidos a corto plazo.

A.1.2.1.Estado actual de la artroplastia total de cadera

Actualmente se continúa investigando en el campo de las ATC para mejorar resultados, sobre todo en referencia al grupo de pacientes más jóvenes.

En cuanto a los materiales que conforman el vástago, se ha pasado del acero inoxidable a aleaciones Cromo-Cobalto, y de estas, a las de Titanio, más resistentes y biocompatibles. La cabeza femoral ha modificado su tamaño, y en lugar del acero se prefiere Cr-Co, así como también la utilización de compuestos cerámicos (Aluminio o Circonio). Se ha aumentado el peso molecular del polietileno del cotilo. El anclaje de este último al acetábulo se ha visto reforzado mediante una cúpula metálica (“metal-back”) que soporta al componente de polietileno. Se ha tratado de eliminar el uso del cemento para la fijación de los componentes empleando nuevas técnicas de fijación como el bloqueo mecánico (“press fit”) y el recubrimiento poroso del vástago para aumentar su superficie en un intento de que el crecimiento óseo fije el vástago. Además se ha añadido un recubrimiento de los componentes con hidroxiapatita para intentar que el tejido óseo se una químicamente a la hidroxiapatita, y que sea dicha unión la que produzca la fijación del implante. Finalmente se han introducido nuevas técnicas para mejorar la cementación: preparación del cemento mediante centrifugación y vacío para reducir su porosidad, inyección a presión en el canal y oclusión del conducto medular para aumentar su llenado y favorecer la presurización del cemento, centrado del vástago para garantizar una correcta capa de cemento, etc.

A medida que los avances técnicos mejoran la duración de los implantes, surgen nuevos problemas, en especial los relacionados con el desgaste de las superficies

articulares. El desarrollo de nuevos materiales como las cerámicas trata de mejorar el par de fricción para disminuir este desgaste. En este sentido se fueron desarrollando y mejorando pares de fricción abandonados hace años como el par M-M. Con el objetivo de ser más conservadores a la hora de preservar el máximo “stock” óseo posible, especialmente en pacientes más jóvenes, se han ido desarrollando nuevos implantes como las modernas prótesis de recubrimiento retomando la antigua idea de la prótesis de recubrimiento de Smith-Petersen, o la utilización de minivástagos femorales. Debido a la existencia de un amplio abanico de modelos de ATC en el mercado, aumenta la dificultad en la labor de revisión cronológica de los principales desarrollos. En general, los diseños y las técnicas quirúrgicas actuales han incrementado la vida media prevista de las prótesis totales de cadera a más de 15 o 20 años. La supervivencia de los primeros diseños se conoce, pero no así de los nuevos implantes para los que el tiempo transcurrido no ha sido suficiente para presentar fracasos. Estudios clínicos demuestran que la supervivencia de estos implantes pueden superar el 96% de supervivencia a los 20 años³⁴. Las preocupaciones principales se deben al desgaste de la superficie de carga y la pérdida de substrato óseo, como consecuencia de la osteólisis generada por las partículas de desgaste, y que constituye el principal factor de aflojamiento aséptico tardío de la prótesis.

A pesar de estos problemas, actualmente se puede afirmar que las tasas de buenos resultados con estos dispositivos son muy elevadas junto con el grado de satisfacción de los pacientes.

A.1.2.2. Modelo ASR® de la compañía de implantes DEPUY

Debido al éxito de algunas prótesis de cadera, de recubrimiento o superficie, sobre todo la llamada Birmingham Hip Resurfacing (BHR), otras compañías tenían que realizar un nuevo diseño para no perder cuota de mercado por lo que comenzó una díscola competición entre las distintas empresas fabricantes de implantes de cadera. Así sucedió con la prótesis que estudiaremos a continuación y que fue comercializada por la compañía De Puy a principios de la primera década del presente siglo.

El 24 de Agosto de 2010, la compañía DePuy, filial Americana de la multinacional Johnson & Johnson, retiró las prótesis ASR® (articular Surface Replacement) del mercado. Las alteraciones patológicas que estas prótesis producían eran variadas. Las partículas de desgaste generaban una reacción que destruía los tejidos blancos circundantes, produciendo una gran discapacidad a largo plazo. Los iones Cr y Co alcanzaban niveles elevados en sangre y fluido espinal de algunos pacientes. Los efectos a largo plazo son inciertos pero la FDA (Food and Drugs Administration) americana, otras agencias y sociedades científicas recomendaron la monitorización de los pacientes analizando efectos sistémicos, principalmente cardiovasculares, neurológicos, renales, y a nivel de tiroides³⁵.

El número de implantes de este modelo practicados en España se sitúa en torno a unas 3.000 prótesis, 40.000 en la Unión Europea y 93.000 en todo el mundo.



Figura 13: Prótesis de recubrimiento ASR®. Imagen tomada del sitio: <http://www.bmj.com/content/342/bmj.d2905.full.pdf+html>³⁶.

La prótesis ASR® es una prótesis de cadera M-M fabricada con aleación Cr-Co (Figura 13). Estaba disponible en distintos tamaños tanto para la artroplastia total (ASR® XL) como para la de recubrimiento (ASR® resurfacing). Con los últimos avances producidos en términos de ingeniería, las prótesis idóneas para pacientes jóvenes consistirían en superficies M-M que, en condiciones favorables, no presentarían un importante desgaste ya que entre las superficies se atraparía una capa de fluido que lo impediría^{37,38}.

En 2003 los dispositivos ASR® DePuy llegaron al mercado europeo clasificados como dispositivos IIb, lo que significa que no necesitaban ser testados en pacientes antes de ser comercializados en el mercado europeo. De acuerdo con la compañía DePuy se realizaron en algunos laboratorios pruebas con simuladores para evaluar el desgaste con el tiempo, los materiales empleados y la fortaleza de los dispositivos. No obstante, esta información no tiene acceso público y es conocida por la compañía y el cuerpo notificado³⁹, que en este caso fué la compañía británica BSI “British Standards Institution”⁴⁰. Debe remarcarse que la BSI es una de las compañías privadas que realiza las aprobaciones precomercialización en nombre de los gobiernos de la Unión Europea.

La ausencia de ensayos clínicos precomercialización continúa siendo una causa de preocupación desde el caso 3M Capital Hip, modelo de ATC que hubo que retirar hace años por los malos resultados ofrecidos. Por otra parte, la inglesa Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency (MHRA) afirma que los ensayos clínicos deben ser lo suficientemente pequeños y cortos para detectar problemas precomercialización. Se sabe que las primeras complicaciones emergieron alrededor de 2 años después de la implantación del modelo ASR®. Debe remarcarse que los test de simulación no son fiables por completo ya que, como se expone en una publicación de la compañía Smith and Nephew, los simuladores no representan el ambiente biológico⁴¹.

Debido a la normativa más estricta en Estados Unidos, se consideraba que el recubrimiento era una nueva técnica y que tenía que ser aprobada por la FDA en un riguroso proceso precomercialización. La FDA instó a DePuy a realizar un ensayo clínico y finalmente desestimó su aprobación. En 2008, la agencia francesa Haute Autorité de Santé denegó la financiación del sistema ASR® debido al elevado ratio de fractura a los 2 años (4,9%)⁴⁰.

Otro hecho paradójico es la aprobación por la FDA mediante la vía de equivalencia similar de la prótesis total de cadera ASR® XL. Mediante esta vía las compañías sólo tienen que demostrar que su producto es similar a otros existentes en el mercado.

Pero incluso pequeños cambios pueden tener efectos substanciales a largo plazo⁴². Esta vía es por la que se aprueban en torno al 90% de los dispositivos en Estados Unidos y hay una serie de discrepancias entre la necesidad de ofrecer nuevas alternativas a los pacientes y asegurar su eficacia y seguridad al mismo tiempo⁴³. Según los datos aportados por el informe de 2010 del Australian Joint Registry, existen más de 1539 combinaciones de componentes vástago/acetábulo pero sólo 72 se emplean habitualmente⁴⁴.

En cuanto a la campaña de marketing llevada a cabo por DePuy, debe reseñarse que las imágenes que mostraban un menor desgaste del sistema ASR® en comparación con BHR se debían a que el fluido era más claro. Eran imágenes tomadas en tiempos distintos según se indicaba en el artículo acompañante^{45,46}. El problema en el espacio europeo reside en que, ante la falta de estudios independientes, la industria puede promover e interpretar sus propios estudios. Por ello, además de la publicidad engañosa hacia los profesionales, habría que añadir que, a diferencia de los medicamentos bajo prescripción, en Europa no existe una legislación en la que advierta a los consumidores de las posibles complicaciones de estos dispositivos.

En 2008 se publicó que el subgrupo de pacientes mujeres, con el modelo de ASR® de menor tamaño era más susceptible a presentar concentraciones elevadas de metales. En cuanto a la comunicación de reacciones adversas, en el Reino Unido depende de los fabricantes, médicos y pacientes comunicar los problemas directamente a la MHRA. Esta entidad ha sido crítica en los déficits de seguimiento postcomercialización⁴⁷. Según la MHRA es responsabilidad del fabricante monitorizar el resultado de los dispositivos mientras estén en uso y asegurar su eficacia y seguridad. En el caso de las ASR®, se desconoce las reacciones adversas comunicadas por pacientes y doctores y qué tipo de vigilancia se llevó a cabo por la compañía. En Reino Unido, por tanto, la decisión de suspender la comercialización dependió en todo momento de la entidad fabricante y no de la entidad reguladora. En 2006 se discutió, mediante un grupo de expertos de la MHRA, la evidencia de que algunos dispositivos M-M estaban asociados a un aumento de los daños en el DNA, que podrían originar genotoxicidad para los pacientes⁴⁸. Debido a que se desconocía la implicación clínica de estos hallazgos y se

supuso que era un riesgo teórico se mantuvo como información confidencial por ser un tema sensible.

En 2009 la prótesis ASR® se retiró del mercado australiano de forma voluntaria. En 2010 la MHRA lanzó una alerta acerca de todos los dispositivos M-M. En agosto de 2010 DePuy retiró voluntariamente este modelo debido a los datos pendientes de publicar por la National Joint Registry con un 12% de revisiones a 5 años en los modelos de superficie y 13 % para el sistema ASR® XL. A pesar de que la compañía se prestó a ofrecer un soporte económico, en cuanto a las pruebas de monitorización de los pacientes e incluso a la cirugía de revisión, esto ha supuesto un coste extraordinario para los sistemas de salud y un aumento de riesgos para los pacientes, ya que las revisiones tienen mayor frecuencia de fallo⁴⁹. Paralelamente, un estudio de seguimiento a dos años de 144 pacientes, mostró un incremento en los niveles de metales en sistemas M-M de gran tamaño fabricados por otras compañías como Zimmer, Biomet, y Smith & Nephew⁵⁰.

La historia de la prótesis ASR® evidencia el poder de las compañías de implantes ortopédicos en torno a la decisión sobre el destino de sus dispositivos y la falta de poder regulatorio en Europa. El resultado subóptimo del dispositivo de cadera 3M ocurrido una década antes supuso un inicio en la demanda de normas regulatorias similares a las establecidas para la comercialización de fármacos, que engloban ensayos clínicos, procesos de licencia y estudios postcomercialización. Está claro que es inevitable que aparezcan efectos no deseados en el desarrollo de nuevos productos, pero la regulación de estos procesos aseguraría que los efectos fueran limitados en escala y detectados rápidamente.

A.1.2.3. Resultados de las artroplastias de superficie y sus complicaciones

Los implantes M-M, en general, muestran índices de supervivencia inferiores a otras prótesis totales de cadera compuestas con otro tipo de pares de fricción tanto en metaanálisis publicados como en registros nacionales. Por ejemplo en el Australian

Registry⁵¹, el índice de revisión de todos los implantes M-M tras 11 años es de un 14,1% mientras que para prótesis totales de cadera con otro tipo de fricción está entre 5,1-9,5%.

Las prótesis totales de cadera M-M presentan índices de supervivencia de entre 94-98%, con un peor pronóstico para el grupo de cabeza de gran tamaño. En cuanto a las prótesis de cadera de recubrimiento, los datos reflejan índices de supervivencia inferiores respecto a implantes convencionales (94% vs 99%), a pesar de que, en condiciones favorables (pacientes varón, mínimo tamaño necesario de cabeza, buen funcionamiento y buena posición) los resultados serían equiparables.

Sin embargo, la mayoría de los estudios de supervivencia, no tienen en cuenta las reacciones tisulares a las partículas de desgaste metálicas, que pueden ocurrir incluso en casos de buen funcionamiento. En cuanto al dispositivo ASR®, según el Australian Arthroplasty Registry presenta un índice de revisión a 7 años del 23,4% y se posiciona como el implante con peores resultados. Tras ponderar los resultados, no se observa una función clínica superior ni una mejor calidad de vida con prótesis de cadera M-M que con prótesis totales de cadera convencionales. No obstante, subgrupos de pacientes (hombres jóvenes y activos) pueden presentar beneficios clínicos a corto-medio plazo con prótesis de cadera de recubrimiento. A pesar de la evidencia de estos problemas, algunos modelos de prótesis M-M se siguen utilizando de manera exitosa aunque están sujetos a mayores controles clínicos y analíticos.

Debido a que este tipo de implantes liberan iones que circulan a través de los fluidos corporales, se acumulan en nódulos linfáticos, médula ósea y órganos internos produciendo complicaciones locales y/o sistémicas. En cuanto a los efectos adversos de tipo local, la terminología ha sufrido una evolución hacia lo que se denominan reacciones adversas a las partículas de desgaste metálicas que engloban las reacciones ALVAL^{52,53,54} (aseptic lymphocyte-dominant vasculitis-associated lesion, Figura 14), neogénesis linfoide, inflamación granulomatosa, metalosis, quistes asintomáticos y pseudotumores.



Figura 14: Cabeza femoral extraída con presencia de tejido tipo ALVAL.

En un metaanálisis⁵⁵ reciente se estima una incidencia de pseudotumor/ALVAL de 0,6%. Los efectos sistémicos producidos por la exposición a los iones Cr y Co engloban:

- ✓ Toxicidad en diversos órganos: cardiomiopatía, hipotiroidismo, neuropatía periférica, fatiga, tinnitus, sordera, alteraciones inmunológicas, etc.

- ✓ Carcinogenicidad: aberraciones cromosómicas, cáncer de próstata, cáncer melanoma.

- ✓ Teratogenia: a pesar de que se conoce el potencial teratogénico de Cr y Co no hay casos clínicos documentados. No se recomienda, por tanto, implantar este tipo de prótesis en mujeres en edad fértil. Existen datos que demuestran la elevación del nivel de iones en semen respecto a población normal.

Debido a las distintas variables que pueden verse implicadas en estos fenómenos es difícil cuantificar el riesgo en función de los niveles de iones en sangre y que posteriormente se acumulan en diversos órganos⁵⁶.

Basándose en lo anterior, diversas agencias sanitarias (Food and Drug Administration , Medical and Healthcare Products Regulatory Agency, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios) y organizaciones médicas (Sociedad Española de Cirugía de Cadera, American Association of Hip and Knee Surgeons) han desarrollado en los últimos años protocolos de seguimiento de los pacientes con prótesis M-M actualizando los criterios para la toma de decisiones a llevar a cabo como podemos observar en la Tabla 1.

	Bajo riesgo	Riesgo moderado	Riesgo elevado
Factores del paciente	Baja actividad	Displasia	Mujer + displasia
Síntomas	Asintomático	Actividad moderada Sintomático	Actividad elevada Sintomático
Examen clínico	Sin cambios	Cambios en forma de andar No debilidad abductor No hinchazón	Cambios en la marcha Debilidad abductor Hinchazón
Tipo de implante	Pequeño diámetro cabeza (<36mm)	Cabeza femoral > 36mm Implante MOM retirado del mercado Recubrimiento de cadera con factores de riesgo asociados (mujer + displasia)	Cabeza femoral de gran diámetro >36 mm Implante retirado del mercado
Radiografías	Orientación copa (40º ±10 inclinación) No osteólisis/aflojamiento	Orientación copa acetabular óptima No osteólisis/aflojamiento	Orientación de copa acetabular subóptima Osteólisis implante/aflojamiento
Infección	Límites normales	Límites normales	Límites normales
Niveles de metales	Bajos (<3 ppb)	Moderados-severos 3-10 ppb	Elevados >10 ppb
Pruebas de imagen	No afectación tisular u ósea	Reacciones tisulares anormales SIN afectación ósea o muscular Quistes sin pared adelgazada	Reacción tisular anormal con afectación de músculos circundantes y/o hueso Lesiones solidas Lesiones quísticas con pared adelgazada
Recomendaciones de tratamiento	Seguimiento anual	Seguimiento a los 6 meses	Considerar cirugía de revisión
Cirugía de revisión		Considerar revisión quirúrgica si: progeso sintomático, imágenes anormales y/o elevación de los metales a los 6 meses	

Tabla 1. Algoritmo de clasificación del riesgo de los pacientes con prótesis M-M⁵⁷.

A.1.3. Materiales y diseños en la fabricación de implantes ortopédicos

La finalidad de los implantes ortoprotésicos consiste en que su diseño y fabricación no produzca ningún daño en el organismo y que sean efectivos para el fin al que están destinados. Así por ejemplo, las prótesis articulares deben permitir una movilidad similar a la previa de la articulación. En el cuerpo humano los implantes ortopédicos están en contacto con una variedad de tejidos y fluidos que los rodean. Estos fluidos son altamente agresivos; el fluido extracelular y sanguíneo es una solución acuosa salina, con conductividad eléctrica, pH 7,4 y 37°C de temperatura con un 1% de ClNa entre otras sales y compuestos con carga eléctrica. Por tanto, la interacción de estos implantes con los fluidos puede dar lugar a efectos adversos de distinto tipo en función de la naturaleza del dispositivo implantado. Como consecuencia, estos dispositivos deben ser fabricados con materiales que cumplan con una serie de parámetros de calidad muy estrictos y específicos a los que se denominan biomateriales.

Se entiende por biomaterial a todo compuesto, natural o sintético, utilizado para la manufactura de implantes diseñados para interactuar con sistemas biológicos durante un determinado periodo de tiempo⁵⁸. La biocompatibilidad de un material queda definida por la capacidad que presenta para encontrarse en armonía con el ambiente biológico circundante desempeñando una función específica en el paciente. Se puede afirmar que, esta característica no solo depende de la naturaleza del material, sino que también depende de la naturaleza, grado, frecuencia y duración de la exposición del material al sistema biológico⁵⁹.

Por otra parte, es conveniente no confundir biocompatibilidad con el término “inerte”, ya que ningún material puede serlo en un medio tan agresivo como el cuerpo humano. Para establecer la biocompatibilidad de un material se practican tests de citotoxicidad localizada, se evalúa la respuesta sistémica, la alergenicidad y carcinogenicidad⁶⁰ cumpliéndose además los siguientes criterios:

- ✓ No contener sustancias tóxicas que se puedan difundir, liberar y absorber al sistema circulatorio e impliquen una respuesta toxica sistémica.

- ✓ No debe ser lesivo para los tejidos circundantes, deben estar libres de sustancias o agentes que puedan llegar a causar respuestas alérgicas y .no presentar potencial carcinogénico.

Además deben presentar una naturaleza química resistente al medio electrolítico en el que hay iones cloruro y oxígeno responsables de la corrosión. También, sus características físicas y mecánicas (resistencia, dureza, ductilidad, etc.) deben ser compatibles con su función en el cuerpo humano ya que los implantes están sometidos a fuerzas y tensiones severas. Como consecuencia es importante que tengan las propiedades:

- ✓ Buena resistencia mecánica.
- ✓ Tiempo de fractura largo.
- ✓ Bajo coeficiente de fricción.
- ✓ Densidad y peso adecuados.
- ✓ Desde un punto de vista económico debe tratarse de materiales relativamente baratos y fáciles de fabricar para su producción a gran escala.

Atendiendo a su composición química podemos clasificarlos en:

- ✓ Biomateriales inorgánicos metálicos (metales y aleaciones metálicas).
- ✓ Biomateriales inorgánicos no metálicos (cerámicos).
- ✓ Biomateriales orgánicos (plásticos o polímeros).

Los que presentan mejores características químicas, físicas y mecánicas son los materiales metálicos. En la Tabla 2 se representan los materiales más frecuentemente

empleados para la fabricación de implantes por presentar características físico-químicas más adecuadas. Las composiciones químicas, microestructuras y las propiedades mecánicas de estas aleaciones se encuentran registradas según normas nacionales e internacionales (ASTM, AISI) para asegurar unas especificaciones mínimas y garantizar una calidad a largo plazo.

Los aceros inoxidable son un conjunto de aleaciones de hierro y carbono (menos del 2%) que contienen un mínimo del 11% de Cromo para hacerlos resistentes a la corrosión. Los más utilizados en la manufactura de implantes orgánicos son los aceros inoxidable austeníticos, que se obtienen agregando Ni a la aleación, dando lugar a una transformación de su estructura cristalina en austenita que aumenta su tenacidad. Los tipos más usuales son el AISI 316 (16-18% Cr, 10-14% Ni y 2-3% Mo) que contiene Mo para aumentar la resistencia a la corrosión, especialmente en entornos que contienen cloruros, y el AISI 316L que es el resultado de reducir el contenido en carbono del acero inoxidable 316 del 0,08% al 0,03%, para obtener mejor resistencia a la corrosión.

MATERIAL	COMPOSICION	PROCESO DE MANUFACTURA
Acero inoxidable austenítico: AISI 316 AISI 316L	Fe-18Cr-14Ni-2Mn-2,5Mo Fe-18Cr-14Ni-2Mn-2,5Mo	Forjado Forjado
Aleaciones de Cromo-Cobalto ASTM F75 ASTM F90 ASTM F799 ASTM F562	Co-28Cr-6Mo-0,5Ni-1Mn Co-20Cr-15W-10Ni Co-20Cr-15W-10Ni Co-35Ni-20Cr-6Mo	Colado Pulvimetalurgia Forjado Trabajado en frío
Titanio comercialmente puro (cpTi): ASTM F67 Aleaciones de Titanio:	Ti >99.9%	Forjado
ASTM F136 ASTM F1295 ASTM F1813 ASTM F1713	Ti-6Al-4V Ti-6Al-7Nb Ti-12Mo-6Zr-2Fe Ti-13Nb-13Zr	Forjado Forjado Forjado Forjado

ASTM: American Society of Testing and Materials; **AISI:** American Iron and Steel Institute; **L:** bajo contenido en carbón (reduce la susceptibilidad de los materiales a ser corroídos); **Al** (Aluminio), **Fe** (Hierro), **Mn** (Manganeso), **Ni** (Níquel), **Nb** (Niobio), **Ti** (Titanio), **V** (Vanadio), **W** (Wolframio), **Zr** (Zirconio).

Tabla 2. Metales y aleaciones metálicas implantables.

Estos materiales se han empleado durante años debido a su bajo coste, maleabilidad y ductilidad aunque presentan como inconvenientes su menor resistencia a la corrosión que las aleaciones Cr-Co y Titanio. El Titanio comercialmente puro presenta 4 grados normalizados para implantes quirúrgicos, dependiendo del contenido de elementos intersticiales (nitrógeno (N), carbono (C), hidrógeno (H) y hierro (Fe)). A mayor cantidad de estos elementos el grado aumenta siendo el 1 el más puro (más de 99,5% Ti) y el 4 con mayor cantidad de impurezas (98,9% Ti) y, por tanto, con mayor resistencia mecánica.

Las aleaciones de Cr-Co empleadas como materiales implantables se pueden dividir en dos tipos de aleaciones:

- ✓ Co-Cr-Mo producidas por colada (ASTM F75) o por forjado (ASTM F799). El forjado presenta mejores propiedades mecánicas.
- ✓ Co-Ni-Cr-Mo producidas mediante trabajo en frío (ASTMF62).

En ambos casos, los dos elementos básicos de la aleación son el Co (65%) y el Cr (20-28%), el cual se añade para aumentar la resistencia a la corrosión. Además, la presencia de Mo, permite obtener un material con mayor resistencia mecánica después de moldear o forjar mientras que la presencia de Ni y el manufacturado en frío aumentan la resistencia a la fatiga y la tenacidad de la aleación. Asimismo, su uso clínico prolongado ha probado que estas aleaciones son excepcionalmente buenas por su biocompatibilidad y tienen una mayor resistencia al desgaste que las aleaciones de Titanio. Por ello estas aleaciones son idóneas para aplicaciones ortopédicas. De hecho, en las primeras prótesis de cadera todos los componentes estaban fabricados con aleaciones Cr-Co. Estas prótesis que se denominaron de fricción metal-metal (M-M) y con diferentes diseños: McKee-Farrar y Ring en el Reino Unido, Mueller y Huggler en Suiza, Sivash en URSS, fueron empleados durante los años sesenta del pasado siglo como ya se ha escrito anteriormente^{61,62}.

Pese a los excelentes resultados iniciales obtenidos con las prótesis de fricción metal-polietileno(M-P) al finalizar los años ochenta del siglo pasado, se produjeron

cuantiosos casos de aflojamiento debido a fenómenos de osteólisis originado por la elevada tasa de partículas de polietileno liberadas por erosión de la copa acetabular. Primero se atribuyó al cemento óseo y luego se confirmó que el problema estaba situado en la copa de polietileno. Por este motivo resurgieron las prótesis M-M de “nueva generación”^{63,64} y, especialmente, las denominadas “dobles cúpula”, ya referidas anteriormente, que consistían en una cúpula femoral que se articulaba con una copa acetabular, ambas fijadas con cementación y que permitía un autopulido para una fricción más suave. Además atraen el agua permitiendo que se autolubriquen^{65,66}. Por estas características, se ha demostrado que resisten 50 veces más al desgaste frente a las prótesis M-P^{67,68}. Finalmente, podía afirmarse que por este motivo eran las más indicadas para población joven y con mayor actividad. A su vez presentaban la ventaja de preservar mayor cantidad de hueso ya que se engastaban directamente sobre la cabeza del fémur y, en caso de desgaste de algún elemento, era sustituible sin tener que cambiar la prótesis en su totalidad. También fracasaron estos modelos, quedando en el olvido hasta los primeros años de este siglo cuando surgen nuevos tipos de cúpulas que ahora se denominan artroplastias de superficie y que se fijan al fémur mediante cementación y al acetábulo a través de fijación directa.

A.1.4. Degradación de los implantes ortopédicos

El hecho de que los materiales metálicos empleados en la construcción de una prótesis articular sean biocompatibles, no quiere decir que sean inertes, ya que con el tiempo se erosionan en un mayor o menor grado. Este fenómeno es negativo por dos razones; fundamentalmente; disminuye la integridad estructural del implante (pudiendo alterar su función) y liberan partículas metálicas que pueden originar reacciones adversas locales o sistémicas⁶⁹.

La liberación de iones metálicos, que pueden complejarse con proteínas y la formación de nanopartículas de desgaste, han alcanzado una elevada importancia en cuanto a su potencial hipersensibilidad y genotoxicidad. Los estudios histológicos de los tejidos que rodean a los implantes de segunda generación tipo M-M, generalmente tienen una

razón justificada para su utilización, ya que la extensión de la reacción inflamatoria y la presencia de cuerpos extraños en células gigantes parece ser mucho menos marcada que en tejidos próximos a componentes M-P. Sin embargo, lo que últimamente ha suscitado un aumento en la preocupación acerca de las artroplastias M-M, es la frecuencia de publicaciones sobre reacciones adversas locales en los tejidos de forma inesperada, lo cual compromete la funcionalidad y supervivencia de estos implantes. En algunos casos, incluso se asocian complicaciones sistémicas severas a estos implantes. Estas reacciones adversas son preocupantes ya que las prótesis M-M, en sus diferentes diseños, constituyen aproximadamente el 35% del más de 300.000 reemplazamientos primarios realizados anualmente en los Estados Unidos (USA)⁷⁰.

El desgaste se define como: la pérdida de material de un sistema tribológico como resultado de la disipación de la energía. Habitualmente la energía se introduce por fricción. El desgaste no es una propiedad del material (como la dureza, ductilidad o resistencia) pero si depende de la estructura tribológica del sistema. Esto significa que el material de la interfase (lubricante, partículas intrínsecas o extrínsecas) y el medio ambiente (la temperatura o el pH del medio circundante) son igualmente importantes en la generación de desgaste. De hecho, las condiciones específicas definen frecuentemente el mecanismo de actuación de desgaste, el cual en sí mismo define cuantas partículas por golpe o incremento de tiempo se generan. Actualmente, hay cuatro mecanismos mayoritarios de desgaste, los cuales son tanto mecánicamente (abrasión y fatiga superficial) como electromecánicamente dominantes (adhesión y reacciones tribológicas)⁷¹. Los mecanismos de desgaste de un material metálico son principalmente dos: desgaste mecánico y disolución electroquímica (corrosión) así como una combinación sinérgica de ambos. El desgaste mecánico se produce por la pérdida de material de una superficie solida cuando se mueve respecto a otra, con la que está en contacto⁷². Entre los distintos tipos de desgaste, los principales son:

- Desgaste por adhesión o fricción: se produce como resultado del rozamiento entre superficies en contacto.

- Desgaste por abrasión: resulta del corte o rayado de las superficies de fricción, debido a asperezas en dichas superficies o por la presencia de partículas de alta dureza.
- Desgaste por fatiga: debido a la deformación de las superficies en contacto por acción de tensiones (esfuerzos) variables y repetidas.

El tipo y magnitud del desgaste está condicionado por una serie de factores:

- Las condiciones de operación en la implantación de la prótesis (carga aplicada, tiempo de trabajo, fricciones...).
- Las características de las superficies en contacto (material, composición química, dureza, dimensiones, forma, microestructura...).
- Las características del medio en el que se encuentra la prótesis (carácter corrosivo, presencia de partículas abrasivas, presencia de lubricantes...).

El resultado de este desgaste es la liberación de partículas metálicas del orden de nanómetros que están presentes en el líquido sinovial y tejidos periprotésicos^{73,74}. En estudios post mortem se han detectado en ganglios linfáticos, hígado y bazo. Se ha descrito que las partículas generadas en prótesis M-M pueden alcanzar $6,7 \times 10^{12}$ a $2,5 \times 10^{14}$ partículas por año, con un tamaño medio de partícula de 50 nm⁶⁶.

La corrosión, por otra parte, se puede definir como la disolución de un metal por reacción electroquímica con su entorno. Los fluidos corporales son soluciones electrolíticas que contienen cloruro y oxígeno disueltos que originan reacciones redox sobre la superficie de los materiales metálicos (Figura 15).

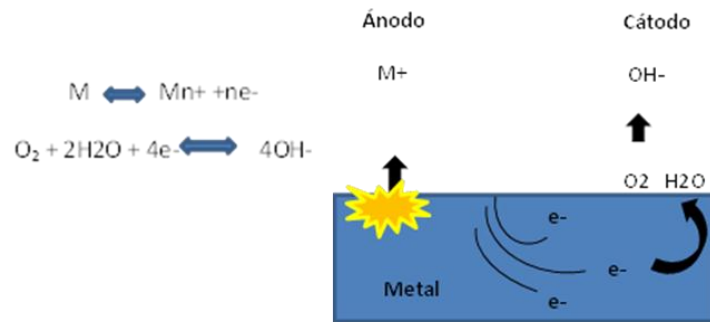


Figura 15: Corrosión de un metal en condiciones fisiológicas.

El proceso de corrosión puede tener lugar de diferentes formas:

- ✓ Corrosión generalizada: cuando afecta a toda la superficie.
- ✓ Corrosión por fisura: cuando en zonas agrietadas accede el fluido biológico.
- ✓ Corrosión por picadura: cuando afecta de forma puntual a través de orificios originados como en el caso de corrosión por fisura.

Los factores que serán determinantes en la corrosión son la fuerza termodinámica (variación en la energía libre de Gibbs) que empuja al proceso de corrosión (reacción redox) a producirse. Por otra parte serán las barreras cinéticas las que limiten la velocidad de este proceso. Los materiales metálicos empleados en la fabricación de prótesis deben su resistencia a la corrosión a la formación espontánea de una película superficial de óxido (pasivación del metal) que actúa de barrera cinética contra la corrosión²⁰.

La capa de pasivado que se forma espontáneamente sobre la superficie del metal está compuesta, fundamentalmente por Cr_2O_3 ⁷⁵. Esta capa actúa como barrera cinética disminuyendo la velocidad del proceso de corrosión. Para ello, debe presentar una serie de características:

- ✓ No ser porosa.
- ✓ Limitación estructural para la migración de iones y electrones.
- ✓ Mantenerse íntegra incluso en condiciones de tensión mecánica y/o desgaste.

El equilibrio existente entre la capa de pasivado y su disolución se ve alterado in vivo ya que los fluidos extracelulares son altamente corrosivos (iones cloruro, oxígeno, fosfatos, citratos, óxidos, hidróxidos, proteínas)⁷⁶. Todos estos agentes aumentarían la velocidad de disolución de la capa de pasivado, incluso, migrarían hacia otros tejidos del organismo, donde podrían acumularse o excretarse (ej. orina). Esta alteración in vivo, incrementaría la velocidad del proceso de disolución de la capa de pasivado y en consecuencia la superficie del metal quedaría potencialmente expuesta a la agresión del medio^{77,78,79}. Por tanto, la capa protectora de pasivado se rompe incrementándose la corrosión cuando el material se ve sometido a fuerzas mecánicas estáticas (corrosión por estrés), cíclicas (corrosión por fatiga) o por desgaste mecánico (corrosión por desgaste)⁸⁰. Además, las partículas liberadas en el proceso de desgaste también se corroen y dado su pequeño tamaño (20-90 nm) presentan una gran área superficial que aumenta la velocidad de corrosión^{81,82,83}. Por otra parte incrementaría la erosión del material actuando como agentes abrasivos. La alteración de la capa de pasivado in vivo da lugar, mediante mecanismos todavía desconocidos, a un aumento de la velocidad del proceso de disolución que provoca que la superficie metálica del implante quede expuesta al medio biológico corrosivo con la consiguiente liberación de iones metálicos^{84,85,86}. Adicionalmente, otro proceso que potencia la corrosión de las prótesis metálicas es el inmunológico como una consecuencia de reacción hacia un cuerpo extraño en el que los macrófagos, principales células del sistema inmune responsables de fagocitar los cuerpos extraños, se unen a la superficie del material. Los macrófagos pueden desencadenar la formación enzimática de H₂O₂, que interacciona con la capa de pasivado oxidando aún más a los metales que la forman y favoreciendo su disolución (Figura 16).

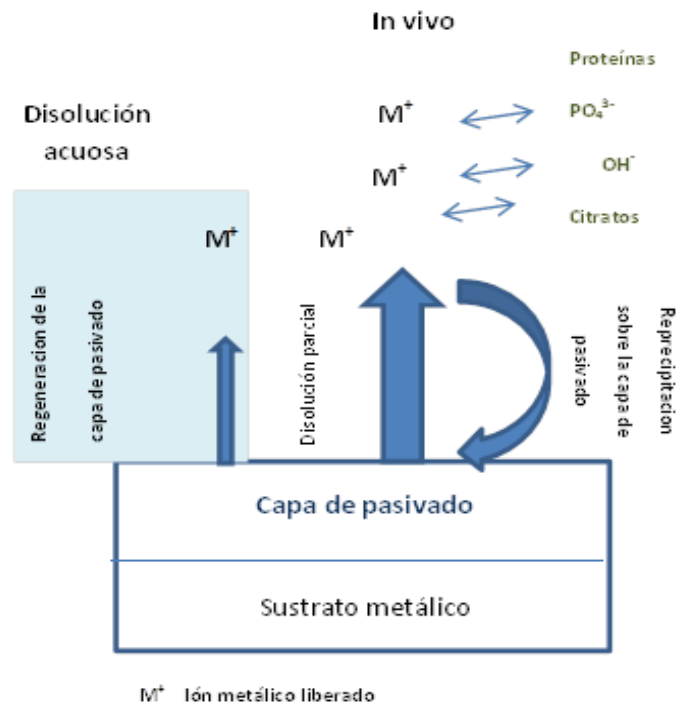


Figura 16: Secuencia de procesos de disolución parcial y reprecipitación de la capa de pasivado de un material metálico (en disolución acuosa e in vivo).

Los procesos de corrosión y desgaste se ven por tanto influenciados por el material del implante, el ambiente biológico (pH, temperatura, concentración de iones, contenido de oxígeno, proteínas, etc.), la química de los iones liberados, el diseño, la manufactura (grietas, irregularidades, etc.) y la función del implante. Se han detectado niveles elevados de metales procedentes de implantes en sangre, suero y orina^{87,88}.

A.1.5. Respuesta biológica a las partículas de desgaste liberadas desde implantes ortopédicos

Aún se desconoce la naturaleza exacta y el destino de los productos metálicos de desgaste junto con los efectos locales o sistémicos que puedan producirse a corto o largo plazo. Los efectos que pueden observarse son reacciones inflamatorias, pérdida de masa ósea (osteólisis), reacciones de hipersensibilidad, riesgo de mutagénesis, carcinogénesis y toxicidad. Dichos efectos dependen de la dinámica de desgaste de la prótesis. Debe considerarse la cantidad, tamaño y naturaleza de las partículas de

desgaste. Es imprescindible realizar un seguimiento y estudio de este tipo de materiales debido a las implicaciones que tiene su uso en pacientes jóvenes.

A.1.5.1. Osteólisis periprotésica

El organismo, mediante determinados mecanismos de defensa frente a material extraño, produce una serie de respuestas inflamatorias ya que la presencia de partículas metálicas en contacto con los tejidos provoca una alteración de la homeostasis ósea. La activación de los macrófagos por parte de estas partículas conlleva la liberación de citoquinas proinflamatorias (TNF α , IL-6 y IL-1, etc.) y prostaglandina E2. Estos mediadores estimulan a los osteoclastos e inhiben a los osteoblastos, produciéndose el fenómeno de osteólisis, con el subsiguiente aflojamiento de la prótesis. Este fenómeno es el que causa más habitualmente el fallo aséptico de las artroplastias. No obstante, debería remarcar que este fenómeno es más acusado con polietileno que con metales, ya que las partículas generadas son mayores y activan con mayor potencia a los macrófagos. En el caso de prótesis metálicas se atribuye el fallo a una reacción de hipersensibilidad retardada tipo IV.

En un estudio⁸⁹ realizado en ratones se ha analizado la respuesta biológica a inyecciones de partículas metálicas CrCo y a nanopartículas CrCo. Se ha demostrado que las partículas micrométricas están implicadas en una reacción de hipersensibilidad tipo IV conducida por linfocitos TH1 y su remoción vía macrofágica mientras que, en el caso de nanopartículas, presentan corrosión con una pérdida de iones Co. Las partículas nanométricas pueden entrar en cualquier célula mediante vías no fagocíticas o, corroerse fuera de la célula y generar iones metálicos, que entran en la célula a través de transportadores de iones (Figura 17).

Una vez dentro de la célula las partículas pueden corroerse mediante procesos celulares y generar iones y especies reactivas de oxígeno (ERO/ROS). Los iones, ROS y las partículas pueden entrar al núcleo y, tanto individualmente como combinados, dañar el DNA celular a través de la ruptura de las hebras. Las partículas micrométricas

y proteínas endógenas pueden ser fagocitadas por células presentadoras de antígeno y retiradas a nódulos linfáticos. Las partículas y las proteínas son expuestas a un medio ácido y a proteasas en el endosoma generando iones metálicos y péptidos (procedentes de las proteínas).

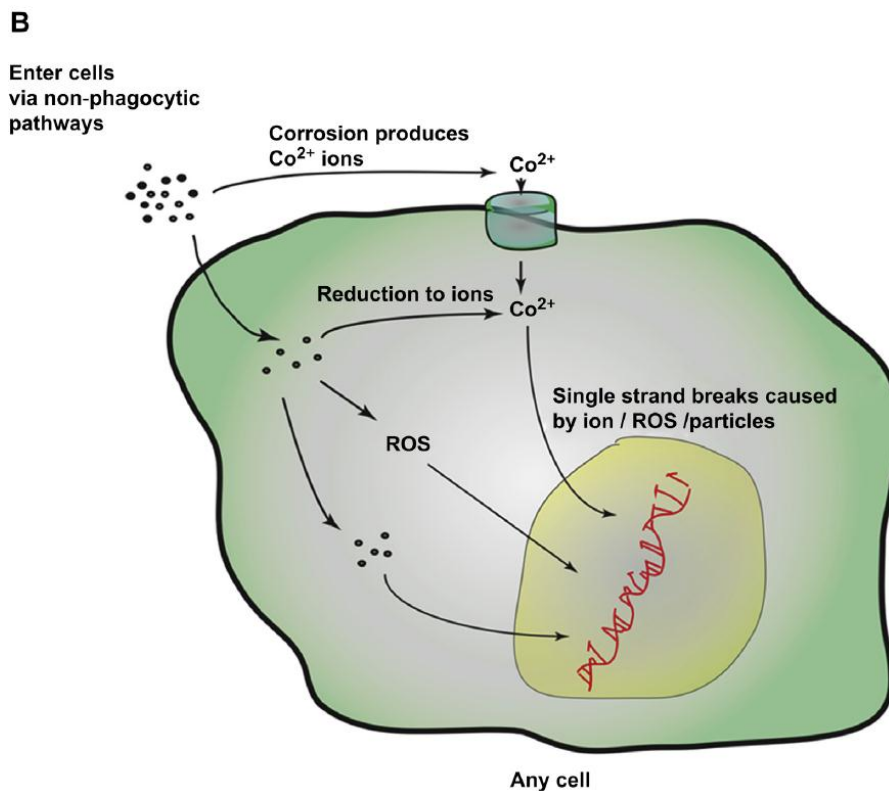
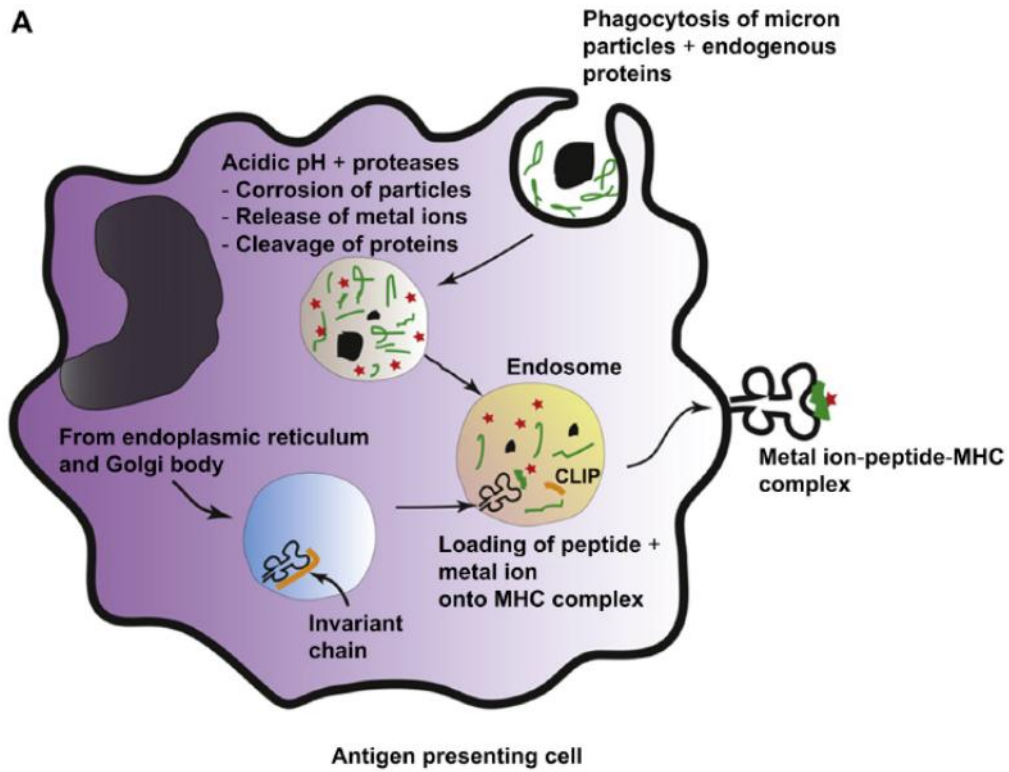


Figura 17: Ilustración esquemática de los caminos hipotéticos por los que las partículas de CrCo micrométricas (A) y nanométricas (B) entran en las células y sus efectos subsiguientes. Imagen tomada de Brown C et al ⁹².

El endosoma se fusiona con vesículas, que contienen el complejo mayor de histocompatibilidad II y la cadena invariante, resultando esto en el desplazamiento de la cadena invariante y en la carga del péptido-complejo metálico sobre el complejo mayor de histocompatibilidad II. Entonces, el complejo ión metálico-MHC-péptido se presenta en la superficie de la célula presentadora de antígeno, actuando como un neoantígeno y estimulando células T CD4+.

Los iones Co y Cr presentan varias implicaciones clínicas para la salud ósea tras artroplastias M-M. La supresión de la actividad de los osteoblastos puede explicar la pérdida aséptica temprana así como el fracaso de osteointegración primaria. Esto se corresponde con una publicación en la que se describe un ratio del 15% de fallo para la prótesis acetabular Durom en 207 caderas durante dos años de implantación⁹⁰. En todos los casos salvo uno se produjo fallo aséptico de la prótesis y en 13 examinados en detalle mostraban un fallo en la osteointegración del hueso sobre la superficie de fijación. El estrechamiento del cuello femoral puede ser un factor contribuyente de riesgo de fractura. Se ha sugerido que el estrechamiento ocurre como resultado de las elevadas presiones hidrostáticas del fluido en estos pacientes; sin embargo, un mecanismo alternativo puede ocurrir a través de la activación de osteoclastos en la superficie del hueso debida a metales iónicos a niveles elevados. Esto es posible, ya que se han observado aumentos del número de osteoclastos en superficies del periostio, en casos de fractura con estrechamiento de cuello en pacientes con implantes M-M. Los iones metálicos liberados pueden ser suficientes para impactar sobre la actividad osteoplastia celular y sobre el número de estos, afectando a la masa ósea y a la remodelación, partiendo de un nivel de salud ósea sistémica correcto.

Se han realizado estudios⁹¹ en los que simula el efecto crónico de la exposición de osteoblastos y osteoclastos humanos primarios a iones Co y Cr, a concentraciones equivalentes a las detectadas en suero y fluido sinovial de pacientes con prótesis M-M. Los resultados son coherentes con estudios in vitro con células animales, en los que se observa que, dosis suprafisiológicas de estos iones producen la apoptosis de osteoblastos humanos-like, de forma dependiente a la dosis, y suprimen la función sintética del osteoblasto. Se observa que Co y Cr³⁺ no presentan un efecto importante

en la viabilidad o función sintética a concentraciones similares a las encontradas en pacientes con prótesis total de cadera M-M. Pero con Cr^{6+} , se observa un profundo efecto en la viabilidad celular, a concentraciones equivalentes a las de pacientes con fricción M-M. El efecto sobre osteoclastos primarios ocurre bajo el rango de concentraciones mencionado y varía con la madurez celular. A nivel sistémico, la concentración de estos iones pueden tener un efecto suave de estimulación del desarrollo de osteoclastos, pero a concentraciones mayores y en osteoclastos maduros, su efecto es inhibitorio. La razón de esta diferencia, puede explicarse por la actividad de resorción del sustrato de células expuestas, ya que los osteoclastos maduros en resorción pueden acumular más metales intracelulares mediante acción fagocítica frente a los osteoclastos en desarrollo y, por tanto, demuestran un efecto tóxico mayor debido a una mayor internalización del metal.

Se ha observado que, Co en solución o incorporado a fosfato cálcico recubierto de plástico a concentraciones relevantemente clínicas, incrementan la diferenciación de osteoclastos murinos y la resorción in vitro. Mientras que los iones Co no se localizan a nivel de hueso, las sales de Cr presentan afinidad por él, siendo atrapadas en la matriz ósea y, por tanto, los niveles en el microambiente óseo pueden exceder a los presentes en suero.

Se ha sugerido⁹² una posible ruta indirecta de activación de osteoclastos en respuesta a metales iónicos, ya que la exposición de células mononucleares de sangre periférica expuestas a Co^{2+} in vitro resulta en una Up-regulation (regulación por incremento) de $\text{IL1}\alpha$, $\text{IL1}\beta$ e IL6 que puede resultar en un aumento del ratio de generación de osteoclastos y de la resorción. Cuando los niveles de Co^{2+} son tres o cinco veces superiores a la etapa reimplante pueden originar procesos toxicológicos en los osteoclastos similares a la toxicidad pulmonar. Las altas concentraciones de Co^{2+} pueden inducir daño celular mediante la estabilización de factores inducibles de hipoxia (HIF) que se unen al DNA e inician la expresión del gen relacionado con hipoxia y que normalmente se degrada bajo presiones normales de oxígeno, resultando en la activación de la vía de HIF y en la apoptosis celular^{93,94}. Las diferencias en la respuesta a Co, Cr^{3+} y Cr^{6+} son bastante complejas ya que hay varios mecanismos operando a veces

simultáneamente. Los complejos iónicos Co^{2+} y Cr^{6+} son altamente solubles y pasan rápidamente la barrera celular vía transportador aniónico. Mientras que Cr^{3+} , forma complejos menos solubles a pH fisiológico y la permeabilidad a la membrana es baja. Estas características fisicoquímicas explican en parte la baja toxicidad de Cr^{3+} en relación con otros iones. La alta toxicidad de Cr^{6+} se explica por su rápido transporte a través de la membrana celular y su reducción a Cr^{3+} , mediante glutatión (GSH), generando un aumento del estrés oxidativo celular, que conlleva la muerte de la célula.

Aún no está claro por qué las especies de Cr se liberan de las superficies de las prótesis tras la realización de artroplastia de recubrimiento M-M. La liberación de iones metálicos es un resultado de corrosión, distinto a los procesos de desgaste, el cual ha sido identificado como un contribuyente significativo a la liberación sistémica de metales en portadores de prótesis de cadera de recubrimiento M-M. Se ha demostrado que Cr^{6+} se libera durante la corrosión de implantes ortopédicos y está presente sistémicamente in vivo. Sin embargo, se ha observado⁹⁵ que la sangre total circulante tiene la capacidad de secuestrar y reducir 200 mg de Cr^{6+} /día, lo que es un exceso frente a la cantidad liberada con implantes MOMHR. Por tanto, las células óseas en el microambiente protésico pueden ser un objetivo de Cr^{6+} y a niveles clínicamente relevantes sería tóxico para osteoblastos y osteoclastos locales.

Un reciente estudio⁹⁶ de especiación de complejos de Cr (mediante espectroscopia de rayos x mediante sincrotrón con muestras de tejidos periprotésicos) mostraron que Cr está presente como fosfato de Cr^{3+} . Sin embargo, ya que Cr^{3+} presenta una baja permeabilidad celular, su presencia puede deberse a la entrada de Cr^{6+} reducido posteriormente a Cr^{3+} , dando lugar a un aumento del tejido necrótico.

En un estudio⁹⁷, en pacientes sometidos a cirugía de recambio por fracaso de prótesis de cadera ASR® se analizaron, con técnicas de especiación química, las partículas de desgaste. Los pacientes presentaban niveles elevados de Cr (136 ppb) y Co (328,5 ppb) en sangre y sintomatología clínica. Mediante técnicas de microscopía electrónica se detectaron 2 tipos de partículas de desgaste en tejido periprotésico. Una fase difusa, compuesta principalmente por Cr^{3+} con trazas de óxido de Co, y partículas densas

compuestas de Co, Cr y Mo rodeadas de Cr^{3+} . Los efectos observados en los macrófagos se correspondían con los del estrés oxidativo, como por ejemplo, toxicidad mitocondrial. Las partículas presentaban amplitud de tamaños desde nanómetros hasta micras, en su mayoría esféricas. La mayor parte de las partículas se encontraban internalizadas dentro de macrófagos casi desprovistas de Co, lo que sugiere que, se produce una liberación prolongada de Co^{2+} en el ambiente celular. Co^{2+} es extremadamente soluble y se transporta rápidamente en el torrente sanguíneo hasta ser excretado. En el interior de la aleación está protegido de la corrosión por el efecto de pasivado de Cr pero, a medida que se producen las partículas de desgaste, se pierde este efecto. Algunas partículas presentan Co, Mo y Cr en su estado original. La probabilidad de detectarlas es baja y depende del tiempo entre su generación y la cirugía de revisión así como de la preservación de los tejidos hasta su análisis. Mientras que se ha producido una gran concienciación acerca de la genotoxicidad de Cr^{6+} los datos sugieren que se produce una liberación importante de Co^{2+} local conocido por ser genotóxico. Esta liberación masiva de Co, no observada en la aleación original, es probablemente la responsable de la respuesta inflamatoria. Esto sugiere que la corrosión del material a granel no presenta el mismo comportamiento cuando se producen partículas y que, por tanto, no es adecuado para la fabricación de este tipo de dispositivos.

A.1.5.2. Implicaciones sobre la actividad de osteoblastos por metales Cromo y Cobalto

Las partículas de polietileno desencadenan una reacción granulomatosa frente a cuerpo extraño, inflamación y reacciones inmunes que desembocan en la producción de varios agentes con acción resortiva (citoquinas, prostaglandinas). Esto conlleva la pérdida ósea periprotésica y de la prótesis. Los factores que intervienen en la osteólisis son:

- ✓ Receptor activador del ligando del factor nuclear kappaB (RANKL). Estimula la diferenciación de osteoclastos y por tanto incrementa la resorción ósea.

- ✓ Osteoprotegerina (OPG). Disminuye el número de osteoclastos y aumenta el volumen óseo.

Las partículas de desgaste de polietileno potencian a RANKL. Para evitar esto se fue popularizando como antes referíamos, el uso de prótesis M-M, con menor desgaste volumétrico. Sin embargo, con este último tipo de dispositivos se produce un mayor nivel de iones en suero y líquido sinovial. Se ha demostrado⁹⁸ que el Co en concentraciones entre 0-10 ppm y Cr entre 0-150 ppm producen efectos tóxicos sobre osteoblastos MG63 en cuanto a actividad y número celular. Se demostró que el Cr resultaba más tóxico que el Co y que combinados producían el mayor descenso celular. No se observó que la toxicidad pudiera ser mayor a largo tiempo que a corto plazo. La actividad celular descendió al introducir Cr en el cultivo pero no se observó una dependencia temporal. Se observó un aumento en la actividad celular al añadir Co en las primeras 24 horas que luego desapareció. Parece ser un intento por parte de las células de compensar la reducción del número de estas (up regulation). En cuanto al estrés oxidativo, se observó una disminución importante de GSH (glutatión), con concentraciones de Co a cualquier concentración y con Cr³⁺ entre 10-100 µg/L. Cuando se combinan los dos metales esto no se observa hasta después de 24 horas ya que, según los datos, las células en un intento de protegerse a sí mismas incrementan los niveles de GSH. En contraste superóxido dismutasa y catalasa no dependen de la dosis. Se observó una disminución del ratio OPG/RANKL con pérdida ósea tras 96 horas y se correlacionó con la respuesta de estrés oxidativo tras 96 horas en todas las muestras. El estudio se realizó in vitro empleando concentraciones de iones observadas en la clínica. En una recopilación de datos de concentraciones de estos niveles en suero se obtuvieron rangos de Co entre 0,5 y 11 y Cr entre 0,5 y 9,5 µg/L. Estos iones reducen la proliferación de osteoblastos en relación dosis dependiente, disminuyen la actividad de la fosfatasa alcalina, inducen oxidación y nitración de proteínas y la desorganización de la expresión de enzimas antioxidantes, incrementan la producción de citoquinas proinflamatorias y TNFα e inhiben la liberación de osteocalcina y la síntesis de colágeno tipo 1. Se observó que el ratio de OPG/RANKL se incrementaba inicialmente y disminuía a las 72 horas. Esto se observó a dosis de Co de 10 µg/L y Cr 1µg/L y a dosis de 1µg/L con ambos iones. Por tanto, en la práctica clínica, en un caso ideal de buen

funcionamiento de la prótesis en el que la liberación de iones fuera de $1\mu\text{g/L}$, se podrían esperar ya reacciones osteolíticas. Además, se ha comprobado que concentraciones superiores de $100\mu\text{g/L}$ no eran más osteolíticas que concentraciones de $1\mu\text{g/L}$, basándose en el ratio OPG/RANKL.

Según otro estudio⁹⁹ hay una relación entre los niveles en suero y los del líquido sinovial siendo 37 veces (Co) y 47 veces (Cr) mayor en líquido sinovial.

A.1.5.3. Hipersensibilidad retardada tipo IV

Las partículas metálicas pueden actuar como alérgenos provocando una reacción inmune que puede tener distintos tipos de repercusión sobre los tejidos. Este tipo de reacción se produce en individuos predispuestos genéticamente que han estado en contacto con el metal a bajas dosis. Este proceso requiere una exposición previa que implica una serie de etapas. Se produce una sensibilización inicial en la que el antígeno activa a los linfocitos T vírgenes y se produce una expansión clonal de linfocitos T sensibilizados que reconocerán el antígeno cuando vuelvan a entrar en contacto con él. Es en la segunda etapa cuando se producen síntomas en el paciente debido a la liberación de citoquinas que atraen a macrófagos que, a su vez, liberan mediadores inflamatorios dando lugar a una sensibilidad tardía que puede manifestarse como dermatitis, urticaria, vasculitis y osteólisis aséptica. El primer caso descrito causado por un implante data de 1966. Desde entonces no se han descrito muchos casos. Tras la hipótesis inicial de la relación de hipersensibilidad a metales y desprendimiento aséptico en un estudio posterior se observó que en pacientes con prótesis de cadera y clínica característica de reacción de hipersensibilidad tipo IV se obtuvo en un 60% datos positivos para el test de hipersensibilidad a metales. Según datos epidemiológicos de los últimos 30 años se observa que la población portadora de implantes presenta 2 a 3 veces más sensibilización a metales e incluso hasta 6 veces más en los casos de implantes fallidos^{100,101}.

A.2. MUTAGENIA, TERATOGENIA Y CÁNCER

Se ha realizado investigaciones para analizar la interacción de las partículas metálicas desprendidas con el DNA celular tanto in vivo como in vitro.

En los ensayos in vitro se observaron aneuploidias (alteraciones del número de cromosomas) y translocaciones (intercambios de genes entre cromosomas) en fibroblastos expuestos a residuos metálicos. Los estudios in vivo han demostrado que los linfocitos de pacientes portadores presentan aberraciones cromosómicas y que en este grupo de pacientes la frecuencia de aneuploidias y translocaciones cromosómicas era tres veces mayor que la población control^{102,103}. Aún se desconoce los efectos a largo plazo de estas anomalías. No obstante, las aberraciones cromosómicas de linfocitos son consideradas como un biomarcador de predicción para problemas potenciales de salud como cáncer y abortos en poblaciones expuestas a sustancias mutagénicas, teratogénicas y/o cancerígenas.

A pesar de que los estudios en animales presentan a los implantes como potencialmente cancerígenos, en los estudios realizados hasta la fecha sobre la población humana no se ha visto aumentado el riesgo de padecer cáncer, por lo que se requiere realizar un seguimiento continuado de este grupo de población. Según la clasificación de la IARC ("The International Agency for Research into Cancer"), organización de la OMS, los implantes se encuentran en el grupo 3 (materiales no clasificables como carcinógenos para humanos). Mientras que Cr^{6+} se encuentra en el grupo 1 (carcinogénico) y Co y Ti en el grupo 2B (posibles carcinógenos).

La exposición al Co puede originar una gama de efectos adversos como alteración de la función tiroidea, cardiomiopatía, policitemia y neurotoxicidad. En exposiciones ocupacional via inhalatoria los trabajadores están en riesgo de desarrollar fibrosis pulmonar intersticial, alveolitis y asma¹⁰⁴. La exposición de ciertos compuestos de Co se ha asociado con un elevado riesgo de desarrollar cáncer de pulmón¹⁰⁵. El Ni y Co son carcinogénicos en animales. El Ni es carcinogénico en humanos. El Co y Ni pueden generar daño cromosómico, especies reactivas de oxígeno, puentes cruzados de DNA-

proteínas y mimetizar condiciones de hipoxia. Además, el Ni ha demostrado tener relación con cambios epigenéticos. En diversos experimentos se ha demostrado la acción sinérgica de Ni y Co. Por ejemplo en la formación de agregados celulares, desarrollo de una respuesta tóxica por células alveolares tipo II. Es especialmente reseñable la aparición de sarcomas en el lugar de inyección de Ni bajo la presencia de contaminantes tales como Co. La coexposición a Ni y Co conlleva a un descenso en la supervivencia celular y a un aumento de la escisión de la caspasa 3 y 7 y de la PARP (poli-ADP-ribosa polimerasa). Se encontró un aumento en la producción de ROS y rupturas de la doble hebra tras la exposición a Ni y Co. Las especies reactivas de oxígeno (ROS o “reactive oxygen species”) son moléculas reactivas capaces de causar diversos tipos de daño a macromoléculas celulares como proteínas, lípidos, RNA y DNA. Se considera que el daño oxidativo en el DNA genómico es importante en el proceso de carcinogénesis. Tras la exposición a Ni y Co, se producen ROS que llevan a la aparición de rupturas de la doble hebra, una lesión tóxica que puede inducir apoptosis. Se cree que además debe haber un segundo mecanismo de toxicidad que contribuiría al efecto sinérgico de la coexposición. Se ha propuesto la teoría de que el Co y el Ni pueden producir entrecruzamiento entre DNA-proteínas y modificaciones cromosómicas que son independientes de la formación de ROS. Los metales parecen haber demostrado interferir con los mecanismos de reparación de DNA. Cuando hay una exposición a un metal se producen menores efectos tóxicos que cuando hay una alta exposición a varios metales; entonces los sistemas de reparación se inhiben originando lesiones tóxicas persistentes¹⁰⁶.

Un gran número de datos epidemiológicos indican una relación entre exposición a metales pesados y desarrollo de melanoma cutáneo. La exposición ultravioleta supone un 40-50% del riesgo atribuible de sufrir melanoma cutáneo. Además hay factores ambientales y genéticos que juegan un papel menor de un 5%. En cuanto a los estudios realizados en pacientes con prótesis M-M presentan niveles aumentados de Cr y Co aumentados diez veces sobre el nivel normal y permanecen elevados durante al menos 10 años¹⁰⁷. En un estudio Nórdico extenso se ha demostrado un incremento sustancial en melanoma y cáncer de próstata¹⁰⁸. Existen datos experimentales que implican al Co en la patogénesis del melanoma y en trabajadores expuestos ocupacionalmente a

metales^{109,110}. En los últimos tiempos se ha acrecentado la preocupación en torno a la liberación de metales desde los dispositivos que conforman las prótesis y la concomitancia de sarcomas locales^{111,112}. No obstante, con los datos presentados en el informe emitido por la Health Quality Ontario¹¹³ y en la cohorte del Finnish Arthroplasty Register en el periodo 2000-2010¹¹⁴, no hay evidencia de riesgo de aumento en desarrollar cáncer en pacientes portadores de prótesis M-M. Sin embargo, no se puede afirmar que sean totalmente seguros en este aspecto hasta que no se tengan más datos de seguimiento. Varias publicaciones^{115,116, 117} han demostrado que el melanoma cutáneo se incrementa tras las artroplastias de cadera M-M, de forma paralela a los niveles aumentados de Cr en el torrente sanguíneo y en la orina. Puesto que el Cr⁶⁺ se elimina por riñón, hubo un incremento de cáncer renal, pero no hubo una relación dosis-efecto, consistente con muchos estudios de farmacocinética de Cr y daño urinario. Es interesante el hecho de la detección de aneuploidia¹¹⁸ (cambio universal cromosómico en melanoma cutáneo) en linfocitos de pacientes con prótesis M-M.

Se sabe desde hace tiempo que los metales se unen a la melanina¹¹⁹, el mayor producto de diferenciación de los melanocitos (Figura 18).



Figura 18: Clasificación de metales procarcinogénicos en melanomogénesis.

Cuando la melanina está parcialmente oxidada, los metales unidos a la melanina sirven como un generador de bajo potencial de superóxido con efectos secundarios en las rutas de señalización¹²⁰. Por otra parte, ya se ha mencionado la importancia del Cu^{2+} y Fe^{2+} libres, como contribuyentes al estrés oxidativo durante la disrupción melanosómica que acompaña el proceso de melanomagénesis y, durante la angiogénesis inducida tras quemado, y la liberación de HB-Fe libre¹²¹. Se sabe desde hace tiempo que determinados elementos empleados en técnicas de imagen Ga^{3+} (análogo de Fe^{3+}) se unen ávidamente a la melanina en pacientes con melanoma¹²². Esta observación además del interés creciente de los cambios redox en la melanina durante la melanomagénesis lleva a la cuestión aun no resuelta ¿Podrían los metales contribuir a la patogénesis del melanoma cutáneo?

A.3. METALES: QUÍMICA Y DAÑO GENÉTICO

En 2009 la Oficina de Evaluación de Riesgo medioambiental para la Salud de la Agencia de Protección Medioambiental de California anunció un nuevo informe en cuanto a los estándares de Cr^{6+} y un nuevo riesgo en función a la incidencia de cáncer sugiriendo que el Cr^{6+} no debe superar los $0,06\mu\text{g}/\text{L}$ o $0,06$ ppb. En el memorándum presentado en 2014 se estableció un nuevo nivel máximo de Cr hexavalente en $10\mu\text{g}/\text{L}$ ¹²³. El límite máximo establecido para Cromo total desde los años setenta en las aguas de bebida como contaminante no debe superar los $50\mu\text{g}/\text{L}$ o $0,05$ ppm.

La bioquímica y química del estrés oxidativo inducido por metales y carcinogénesis son extremadamente complejos^{124,125,126}. Afecta a las células sin conducir a la producción de lesiones de oxo-8-dG sino a una diversidad de otros efectos incluyendo la interrupción de la topoisomerasa que se una a DNA conllevando a una “infidelidad” en la replicación¹²⁷. Durante la reducción de Cr^{6+} a Cr^{3+} se forman complejos mutagénicos ternarios dentro de las células, y en el intento de reparar este daño se produce como resultado la aneuploidia. El aspecto remarcable de todo este proceso es que no ocurre daño tipo 8-oxo-dG, p53 no está inactivado, y los pares CG son la diana principal. La consecuencia total es la aneuploidia con un resultado posible de mutación fenotípica.

En el primer estudio¹²⁸ detallado acerca del espectro mutagénico del Cr^{6+} , sobre células humanas sobre el exón 3 del gen hipoxantina-guanina fosforribosil tranferasa, se encontraron 4 hotspots inducibles por Cr^{6+} dentro de la secuencia diana: C:G→A:T (4,5% de mutantes); A:T→T:A (2%); C:G→A:T (2,5%) y C:G→T:A (4%). Este proceso difiere notablemente del observado con H_2O_2 , oxígeno molecular o Fe^{2+} , de los que se piensa que son dependientes y proceden de la vía de los intermediarios de radicales libres de oxígeno.

Más recientemente¹²⁹, se demostró que los aductos de Cr^{3+} -DNA inducen mutaciones G→T principalmente, que se evidencia en un estudio¹³⁰ sobre la genómica del melanoma.

A.4. TOXICIDAD DE LOS METALES

A.4.1. Cromo

El Cr se encuentra de forma frecuente en sus estados de oxidación 3 y 6, siendo este último 100 veces más tóxico. El Cr^{6+} está categorizado como un potencial carcinogénico por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (grupo 1-IARC).

Recientemente se han publicado el hallazgo de polineuropatías causadas por la metalosis Cr-Co tras la implantación de una prótesis. Los pacientes portadores de implantes presentan niveles elevados de metales en sus fluidos biológicos por lo que hay un riesgo de toxicidad sistémica a largo plazo. Se considera que hay un desgaste significativo si los niveles en suero de pacientes portadores de Cr son ≥ 5 ppb¹³¹.

Se han descrito casos de ingestión industrial accidental en la que se desarrolló trombocitopenia, hemorragia, gastroenteritis, hepatitis tóxica, nefritis tubular. Según los casos descritos, la hemodiálisis es el tratamiento de rescate para tratar la insuficiencia renal aguda. No obstante, se han producido casos de fallecimiento por

ingesta de sulfato de Cr^{6+} en la que se observó coagulopatía, gastroenteritis erosiva, pancreatitis, edema pulmonar y fallo renal. Finalmente, la hemodiálisis no pudo evitar el fallecimiento del paciente.

El Cr hexavalente se absorbe rápidamente y eficientemente y debido a su potencial corrosivo produce la ulceración de piel y mucosas. Se asocia citotoxicidad celular con el daño mitocondrial y lisosomal debido a los radicales libres de oxígeno. Las causas de fallecimiento se deben habitualmente a hemorragia gastrointestinal, shock hipovolémico debido a la pérdida de fluidos y/o hemorragia. El daño y necrosis hepática también son otros factores de mortalidad¹³².

Debido a que el Cr^{6+} presenta afinidad por los glóbulos rojos, el hígado y el riñón, aunque se esté expuesto a cantidades pequeñas de dicromato potásico, puede originar un serio daño de estos órganos y hemólisis intravascular. Para monitorizar la intoxicación, es más recomendable analizar la cantidad de Cr en los glóbulos rojos, ya que es más exacto por los motivos anteriormente expuestos. En general, se puede alcanzar un pico en sangre tras 5 horas desde la exposición. La remoción de Cr inicial del torrente sanguíneo genera un gradiente con una redistribución subsiguiente. El Cr se distribuye ampliamente por el cuerpo alcanzándose concentraciones 10-100 veces mayores que en la sangre. Aunque la hemodiálisis es efectiva en casos de toxicidad aguda en toxicidad crónica se genera un gradiente volviendo a aumentar los niveles en sangre¹⁸⁶. EL Cr se excreta en orina principalmente, con una semivida inicial de 2-3 días, seguido de una semivida terminal de un mes. No obstante, los niveles pueden permanecer elevados durante 3 meses tras la exposición, indicando que los iones de Cr se reintroducen en la sangre lentamente tras ser distribuidos a espacios extravasculares.

Debido a este complejo proceso toxicocinético el estudio de un paciente expuesto a una fuente de Cromo debe realizarse rigurosamente teniendo en cuenta todas las variables anteriormente mencionadas.

A.4.2. Cobalto

La intoxicación por Co en pacientes portadores de prótesis articulares ha originado alteraciones en el sistema nervioso central (SNC) con desenlace de una afectación moderada sensorio-motora con ceguera total, sordera y postración por debilidad motora severa en extremidades. En estos casos se observaba una infiltración masiva de partículas metálicas en tejidos periprotésicos. La neurotoxicidad de Co es conocida en casos de exposición ocupacional o por sobredosis en tratamiento de anemia refractaria. En su tratamiento se ha empleado EDTA como antídoto para corregir la carga corporal de Co.

La distribución del Co corporal se ve influenciada por su unión a proteínas plasmáticas. La albúmina es un transportador fisiológico de los iones de Co. El Test de unión Co-albúmina (aprobado por la FDA) se utiliza para evaluar la isquemia miocárdica. La albúmina modificada por isquemia es una forma de albúmina sérica en la que los aminoácidos del N terminal se han alterado y no es posible su unión a metales de transición.

Los metales no unidos a proteínas pueden introducirse en las células a través de un transportador de metales, DMT1 (transportador divalente de metales 1, que es conocido por ser un transportador activo de Fe, Zn, Mn, Co, Cd, Cu y Pb mediante un mecanismo acoplado a protones. DMT1 presenta 12 segmentos transmembrana y se expresa en neuronas, permitiendo la incorporación de metales desde el medio extracelular y/o desde endosomas reciclados.

La acidosis, la reducción de la tensión de oxígeno, y la generación de radicales libres pueden alterar el lugar de unión de albumina. Estas circunstancias podrían deberse al Co y Cr liberados constantemente desde la prótesis. La medición de niveles de Co en matrices biológicas y su unión a proteínas puede ser útil para conocer los efectos y la variabilidad de la toxicidad del Co.

Por tanto, es interesante analizar el Co no sólo en suero sino en otras matrices biológicas ya que la liberación continua desde la prótesis favorece la alteración de la albúmina potenciando una redistribución sistémica del Co, por lo que los niveles de Co determinados en un momento puntual podrían no estar mostrando la carga sistémica de este elemento.

A.4.3. Molibdeno

Hoy en día los diseñadores de implantes recurren a él debido a su gran resistencia a elevadas temperaturas, compatibilidad química, propiedades tribológicas, o propiedades físicas como la conductividad térmica, eléctrica y la expansión térmica¹³³. El Mo es un elemento esencial, cofactor de diversas enzimas (xantina oxidasa, aldehído oxidasa, sulfito oxidasa). Es necesario para el metabolismo proteico, el metabolismo del azufre, la hidrólisis de los ésteres fosfato y el transporte y utilización del hierro.

No existe de forma natural en estado metálico puro, sino que se encuentra asociado a otros elementos. De los 5 estados de oxidación (2-6), el más frecuente es Mo^{4+} y Mo^{6+} . El Mo se encuentra habitualmente en disolución, en suelos y aguas en forma de anión molibdato MoO_4^{2-} . En soluciones con concentraciones elevadas de Mo se produce una polimerización rápida originando una amplia variedad de estructuras complejas denominadas polimolibdatos. Los compuestos solubles de Mo incluyen molibdato amónico, paramolibdato amónico, molibdato de calcio, Mo metálico y trióxido de Molibdeno. Los compuestos insolubles de Mo incluyen dióxido de Mo y disulfuro de Mo.

Generalmente, los compuestos solubles son más tóxicos que los insolubles. Se ha observado elevación de los niveles sanguíneos de ácido úrico y síntomas tipo gota en trabajadores expuestos a Mo y en poblaciones de áreas con elevados niveles de Mo en suelo y vegetales. Así mismo, se ha producido Molibdenosis en ganado que se alimentaba de forrajes con alto contenido en este elemento. Esto suponía el

subsecuente déficit de cobre necesario para la integridad funcional del sistema hematopoyético.

En estudios¹³⁴ sobre mamíferos se han observado los siguientes efectos tóxicos del Mo: inapetencia, pérdida de peso, diarrea, alopecia, anemia, lordosis. En el grupo en el que se administraban sales de cobre como antídoto junto con molibdato de amonio no se observaban estos síntomas y tampoco se reflejaban alteraciones de los parámetros analíticos sanguíneos. La explicación de estos hechos se debe a que la falta de cobre implica un defecto en la hematopoyesis y el metabolismo del hierro.

Hasta la fecha se conoce un caso de envenenamiento por Mo tras una ingesta de suplementos superior a la dosis indicada (13,5 mg durante 24 días) en la que se observó: psicosis, pérdida de libido y niveles bajos de testosterona¹³⁵. La toxicidad a nivel reproductivo se conoce desde mediados del siglo XX y son varios estudios los que demuestran afectación gonadal a nivel morfológico y funcional (disminución de la concentración del esperma, alteraciones morfológicas y de motilidad) así como embriotoxicidad de origen masculino^{136,137,138}.

A.4.3.1. Metabolismo del Molibdeno

En estudios en humanos se ha evidenciado que presenta una absorción de entre el 50-90% en su forma hexavalente¹³⁹. Una vez absorbido se distribuye rápidamente desde la sangre a la mayoría de los órganos. Las concentraciones más elevadas de Mo se encuentran en los riñones, hígado y en los huesos, tanto en animales de experimentación como en humanos. Cuando se retira la fuente de exposición, las concentraciones tisulares vuelven a niveles normales. En cuanto a su distribución, en sangre se une a α -2-macroglobulina en forma de molibdato y a la proteína de membrana de los glóbulos rojos, espectrina. La excreción a través de la orina es rápida. A través de la bilis se elimina una pequeña cantidad (<1%). Cuando hay elevadas cantidades de Mo en el organismo o bien especies hexavalentes se excreta a través de la bilis. La presencia de niveles elevados de Cu y sulfatos potencia la eliminación de Mo

mediante el bloqueo de proteínas transportadoras y la inhibición de la reabsorción tubular de Mo¹⁴⁰. Mo atraviesa la barrera placentaria¹⁴¹. El Mo es un cofactor esencial de 3 sistemas enzimáticos: aldehído oxidasa, xantina oxidasa/deshidrogenasa y sulfito oxidasa¹⁴². Todas estas enzimas catalizan reacciones de óxido-reducción.

A.4.3.2. Efectos tóxicos

El metabolismo de Mo está relacionado con el de cobre y azufre. Las sales de Mo pueden inhibir la absorción intestinal de hierro y cobre mediante mecanismos no del todo conocidos. Se cree que compiten por receptores del borde en cepillo intestinal y/o que los componentes tiomolibdato o cobre-molibdato se absorben pobremente y no devuelven el cobre existente para la incorporación en ceruloplasmina y otras proteínas que contienen cobre.

De forma indirecta, Mo disminuye la actividad de la enzima sulfito oxidasa incrementándose el acúmulo de sulfito de cobre y otros sulfitos. En el hígado más del 50% se encuentra en forma de cofactor¹⁴³. En estudios experimentales con Mo marcado inyectado se observan niveles elevados en hígado, riñones, glándulas endocrinas y cerebro¹⁴⁴. Existen variaciones substanciales en los niveles sanguíneos de Mo en la población ya que el análisis de Mo es dificultoso y susceptible de contaminación. La mayoría de la población presenta niveles de 5 ng/mL en sangre¹⁴⁵. En cabello se han determinado concentraciones en un rango de 0,025-0,100 µg/g¹⁴⁶.

En pacientes expuestos a vapores de Mo se observan síntomas de exposición crónica como anorexia, debilidad, fatiga, dolores de cabeza, artralgia, mialgia, tos y diarrea. Pueden desarrollar un patrón radiológico similar a la neumoconiosis. Se produce un aumento de la xantina oxidasa y es un cofactor de tranferasas portadoras de hierro. Por tanto, los pacientes con niveles elevados de Mo desarrollan ataques de gota y anemia hipocrómica microcítica. Así mismo, se ha determinado el aumento de la excreción urinaria de cobre junto con la elevación de ceruloplasmina en sujetos con una dieta rica en Mo¹⁴⁷. Por otra parte, se ha detectado esclerosis múltiple en

humanos expuestos a altas concentraciones de Mo en alimentos y en el aire¹⁴⁸. Además, el molibdenismo crónico causa atrofia testicular¹⁴⁹. En un estudio¹⁵⁰ estadounidense se ha probado la relación de la exposición a Mo e infertilidad en varones. Es un hecho constatado en animales a pesar de que en humanos se requieren más estudios para explicar los mecanismos toxicológicos.

Las partículas de desgaste de las prótesis se diseminan sistémicamente a nódulos linfáticos locales y distales, al hígado y al bazo. Como ya hemos descrito, los riesgos de reacciones inmunes incluyen: reacciones de hipersensibilidad, toxicidad, carcinogénesis y mutagénesis. Hay estudios que demuestran¹⁵¹ que las partículas de desgaste pueden dañar los cromosomas de forma dosis-dependiente. Los resultados obtenidos in vitro se correlacionan con los practicados in vivo.

Los resultados de la combinación de Co, Cr, Ni y Mo apoyan la necesidad de evaluar el efecto mutagénico, si lo hubiera, de Mo. Según los estudios¹⁵² y la tipología composicional de las partículas, en aquellos casos en los que predominaba Cr, Co y Mo no se producía una inducción específica de micronúcleo. A diferencia de lo anterior el Ni si presentaba un efecto inductor. Para medir la toxicidad aguda se realizó un test en el que se utilizaron soluciones con células osteogénicas sometidas a soluciones con iones individuales y mezclas que representaban la composición de la aleación (Co 66,5%-Cr 27,5%-Mo 6 %, ASTM F75). Las concentraciones que se empleaban cubrían el rango de los 50 ppb a los 50 ppm. El grado de toxicidad fue: Cr (VI) > Mo (VI) = Fe (III) > Co (II) > Ni (II). No se encontró toxicidad para Al (III), Mn (II), Ti (IV), V (V). En un estudio¹⁵³ en el que se evaluó la citotoxicidad de varios iones se determinó que; las soluciones con Ni²⁺ alteraban funciones metabólicas en el rango de 3-30 ppm y, Cr³⁺ y Mo⁶⁺ en el rango de 10 a 100 ppm, mientras que Cr⁶⁺ y Be²⁺ causaban alteraciones celulares en el rango de 0,04-12 ppm siendo las más tóxicas. Molibdato apareció como el menos citotóxico. Mediante análisis de microscopía electrónica de barrido se han estudiado cambios ultraestructurales de fibroblastos expuestos a soluciones de sales de molibdato tras cultivarlos 24 o 72 h. Se ha observado citotoxicidad celular como irregularidades en la forma del núcleo, menor número de mitocondrias y disminución de su tamaño¹⁵⁴.

Se evaluaron¹⁵⁵ los efectos de Mo y otros metales iónicos (Al (Aluminio), Cr, Co, Cu (Cobre), Fe (Hierro), Ni, Nb (Niobio), V (Vanadio) y Zr (Circonio)) sobre el daño en el DNA, la apoptosis, necrosis y la proliferación de linfocitos T-helper (Jurkat). En cuanto a Mo se observó lo siguiente:

- ✓ El Mo inducía el menor daño de DNA a la dosis más elevada (5 mM).
- ✓ El Mo era moderadamente apoptótico ya que inducía más del 50% de las células caspasa 9 positivas a niveles de 0,5 mM.
- ✓ El Mo, Al y Fe no inducían una reducción significativa de la viabilidad de las células Jurkat T a ninguna concentración evaluada.
- ✓ El Mo y Cr presentaban un relativo pequeño efecto sobre la viabilidad de las células Jurkat T (más del 80% eran viables a la dosis más elevada).
- ✓ El Mo, Be y Ni inhibían sólo moderadamente la proliferación celular de las células Jurkat T a concentraciones de 0,5 mM y no reducían su proliferación <1mM.

En cuanto a la toxicidad en términos de hiperreactividad del sistema inmune a productos de desgaste de aleaciones metálicas, en un estudio se ha demostrado que se producía una respuesta linfocítica proliferativa a metaloproteínas complejadas con productos de degradación de aleaciones Co-Cr-Mo¹⁵⁶.

Existen datos de intoxicación por Mo con la denominación *Lucor molybdeni* debido a la presentación de psicosis y convulsiones. Dicha intoxicación se produjo por consumo de un producto nutracéutico con tomas diarias de 300-800 mg Mo/día con una dosis acumulada de 13,5 mg. En adultos se ha establecido que la ingesta segura de Mo se encuentra entre 75-350 µg/día¹⁵⁷. Tras el episodio de psicosis aguda con alteraciones visuales y alucinaciones auditivas, se produjo una series de convulsiones tipo “petit mal” y posteriormente un ataque “grand mal” que comprometió la vida del paciente. Se analizó el nivel de Mo en sangre y se obtuvo 7,7 ng/mL (niveles normales 0,9-

1,8ng/mL¹⁵⁸). Los síntomas remitieron horas más tarde tras el inicio con la terapia de quelación con CaEDTA. Tras la realización de tests neuropsicológicos y pruebas de imagen se demostró daño cerebral a nivel frontal cortical. Un año tras la intoxicación el paciente fue diagnosticado de encefalopatía tóxica con alteraciones cognitivas, depresión mayor, y estrés postraumático.

Puede afirmarse que existen datos sólidos en cuanto a la toxicidad del Mo y sus efectos a nivel hematopoyético, del sistema nervioso central y sistema reproductivo. Además presenta actividad mutagénica y citotóxica. Se trata de un elemento no protocolizado en la monitorización de pacientes portadores de prótesis M-M según las indicaciones de las principales agencias sanitarias y, por lo expuesto anteriormente, creemos sería interesante protocolizar. Sobre todo en el caso de las prótesis de recubrimiento, indicadas en pacientes jóvenes y por tanto, con mayor tiempo de exposición a sus efectos.

A.5. METODOLOGÍAS ANALÍTICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS METALES PROCEDENTES DE IMPLANTES ORTOPÉDICOS EN FLUÍDOS BIOLÓGICOS

En las últimas dos décadas las prótesis M-M han emergido como una alternativa óptima frente a metal-polietileno debido a su menor desgaste volumétrico y consecuentemente menor osteólisis inducida. No obstante, según los últimos datos obtenidos de supervivencia de los registros nacionales, evidencian una tasa de fracaso hasta 3 veces superior frente a las prótesis totales con superficies de fricción no metálicas. Además, las reacciones periprotésicas han emergido como una importante razón de fracaso en estos pacientes⁵⁶.

Debido a lo anterior, diversas sociedades han puesto de manifiesto la importancia de establecer algoritmos para categorizar el riesgo de los pacientes portadores de este tipo de dispositivos³⁶. Una artroplastia de cadera que presente síntomas dolorosos puede deberse a numerosas causas extrínsecas o intrínsecas. Por tanto, además del examen clínico, serán necesarias pruebas radiográficas y tests de laboratorio para

perfiar la causa potencial del dolor. Como se ha explicado anteriormente, las prótesis metálicas en contacto con los fluidos corporales liberan partículas e iones que, a través del torrente circulatorio, alcanzan distintos órganos y tejidos donde se depositan y/o excretan (orina, cabello,...).

Para intentar conocer las implicaciones clínicas de estos productos de degradación, es interesante determinar, de forma exacta y precisa, los niveles de metales en pacientes portadores de implantes y en personas sin implantes. Se han determinado niveles basales en población sana de referencia en suero de 0,31-1,97 ppb para Cr y 0,3-1,02 ppb para Co, mientras que en orina los niveles de Cr se encuentran entre 0,04-4 ppb y 0,16-1,14 ppb para Co¹⁵⁹.

En la Tabla 3 se recogen algunas de los trabajos que muestran aplicaciones de la técnica ICP-MS a la determinación de los metales liberados por las prótesis articulares de cadera M-M. Los datos expuestos en esa tabla evidencian, en general, un aumento en la concentración de Co y Cr en los fluidos biológicos de los pacientes portadores de prótesis de cadera M-M con respecto a los grupos control (personas sin implantes). No obstante, los resultados obtenidos en los diversos estudios son muy variables; así los niveles de Co en sangre de los pacientes oscilan entre 0,2 ppb y 5,6 ppb; en suero van desde 0,2 a 10,5 ppb y se han publicado valores incluso de 4,2 ppb; y en orina se presentan en un rango de 1 ppb hasta 18 ppb. Esta situación es extrapolable a Cr y otros elementos por lo que es muy difícil establecer conclusiones determinantes y realizar comparaciones. Esta situación se debe a que en cada estudio se utilizan distintas metodologías analíticas, diferentes tipos de muestras, los pacientes son portadores de distintos tipos de prótesis (diferentes diseños, fabricantes, etc.), el grupo control no es el mismo e incluso no existe, etc. Además, debemos tener en cuenta las diferencias interindividuales, los factores ambientales, la influencia de la dieta, hábitos de vida, etc.

El cabello presenta un potencial destacable como biomarcador ya que refleja la exposición histórica a diversas sustancias, entre las que se encuentran los metales pesados¹⁶⁰. Su determinación evita medidas invasivas y molestias al paciente, es

independiente de situaciones ocasionales y muestra verdaderamente la situación de la intoxicación que pueden producir estos iones. Se conocen los niveles en la población normal que oscilan para Cr entre 0,11–0,52 ppm, Co 0,004–0,14 ppm y Mo 0,01–0,028 ppm¹⁶¹, por lo que su determinación podría ser un buen indicador de la intoxicación por metales en las artroplastias M-M con altos niveles de concordancia¹⁶². No se ha estudiado hasta ahora si la determinación de metales en el cabello puede ser útil en los pacientes portadores de prótesis M-M, bien para sospechar una intoxicación o para realizar su seguimiento.

Autor/Año/ Ref	Nº pacientes	Nº de controles	Fluido biológico	ICP-MS	Metal	Niveles/ (µg/L) (*)	
						Pacientes	Controles
I. Iavicoly <i>et al.</i> 2006 ¹⁶³	14	19	Suero	HR-ICP-MS	Co Cr	3,7-43,2 0,4-4,9	2,1-4,8 1,1-1,8
H. Dahlstrand <i>et al.</i> 2009 ¹⁶⁴	28	-	Suero	HR-ICP-MS	Co Cr	0,2-2,1 0,5-2,2	-
C. Anderson <i>et al.</i> 2009 ¹⁶⁵	91	-	Suero	HR-ICP-MS	Co Cr	0,3-1,0 0,6-1,4	-
P.A. Vendittoli <i>et al.</i> 2011 ¹⁶⁶	64	-	Sangre	HR-ICP-MS	Co Cr	0,2-2,0 0,4-5,1	-
P. Sauvé <i>et al.</i> 2007 ¹⁶⁷	28	-	Sangre	ICP_DRC-MS	Co Cr	1,0-3,4 1,8-4,4	-
E. Dunstan <i>et al.</i> 2005 ¹⁶⁸	3	4	Sangre	HR-ICP-MS	Co Cr	1,1-2,4 1,7-2,5	0,4-9,0 1,9-2,3
E. Dunstan <i>et al.</i> 2005 ¹⁶⁸	3	4	Orina	HR-ICP-MS	Co Cr	3,6-18,0 1,8-3,9	0,4-0,7 <1
I Iavicoly <i>et al.</i> 2006 ¹⁶³	14	19	Orina	HR-ICP-MS	Co Cr	1,5-9,4 0,5-3,5	0,1-0,4 0,4-2,0
C. Anderson <i>et al.</i> 2009 ¹⁶⁵	91	-	Orina	HR-ICP-MS	Co Cr	1,0-3,4 1,8-4,4	-
M. Leotsinidis 1990 ¹⁶⁹	75	-	Cabello	AAS	Cr	-	0,61
R. Shamberger 2003 ¹⁷⁰	50	-	Cabello		Cr	-	0,06±0,17
J.P. Goullé <i>et al.</i> 2005 ¹⁵⁹	45	-	Cabello	ICP-MS	Cr	-	0,20
F. Gil <i>et al.</i> 2011 ¹⁷¹	178	-	Cabello	ETAAS	Cr	0,99	-

(*) en cabello µg/mL

Tabla 3. Niveles de Co y Cr en muestras de suero, sangre y orina de personas sin implantes (controles) y portadoras de prótesis articulares de cadera M-M (pacientes) mediante ICP-MS así como de Molibdeno en cabello.

Aunque estos niveles se incrementan en portadores de prótesis metálicas, siguen estando en el orden de unidades como ppb. Por ello es importante el empleo de técnicas sensibles y selectivas como la espectrometría de absorción atómica (ETAAS) y la espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICPMS).

A.6. ESPECTROMETRÍA DE MASAS CON FUENTE DE PLASMA DE ACOPLAMIENTO INDUCTIVO (ICP-MS)

En 1980, la aparición de la espectrometría de masas con fuente de acoplamiento inductivo (ICP-MS), supuso un nuevo paso evolutivo en el análisis elemental inorgánico. La necesidad de aunar la capacidad multielemental y el amplio rango lineal de la espectrometría de emisión óptica con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES), con los límites de detección excepcionalmente bajos de la técnica ETAAS, determinó su desarrollo.

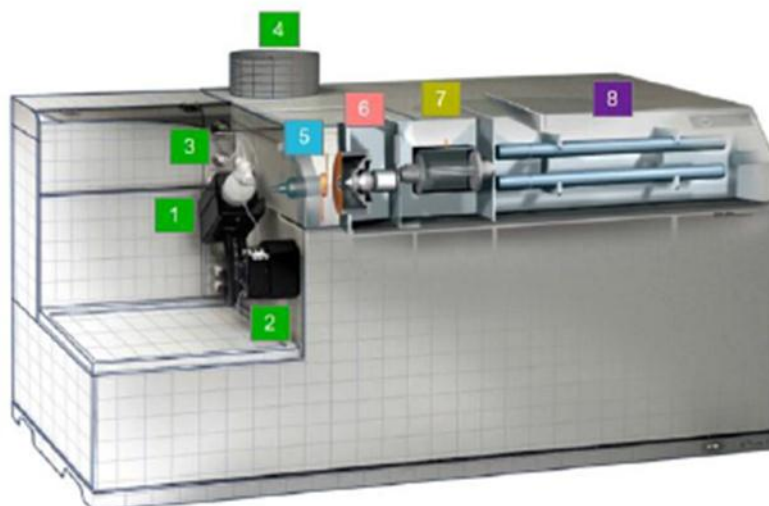
La técnica de ICP-MS se basa en introducir la muestra líquida, generalmente a través de nebulización neumática, para ser transformada en un aerosol en el sistema de nebulización. El aerosol es transportado por un flujo de gas (argón) al interior de un plasma de argón, generado en una antorcha de cuarzo mediante la aplicación de radiofrecuencias. El plasma alcanza temperaturas entre 8.000-10.000 K que desolvatan la muestra, la vaporizan, atomizan e ionizan, formando iones monoatómicos y monopositivos principalmente. Posteriormente, los iones formados pasan a través de una interfase de extracción, formada por dos conos metálicos (Pb o Ni), que se encuentra a vacío moderado (1-2 torr aprox.), hasta un sistema de lentes electrostáticas (zona de alto vacío), que enfoca el haz de iones hacia un analizador de masas, el cual separará los iones en función de su relación masa/carga (m/z), seguido de un sistema de detección (Figura 19).

El ICP-MS se caracteriza por ser una herramienta de gran potencia en el análisis elemental ya que presenta rapidez, especificidad elemental e isotópica, versatilidad (se pueden analizar el 90% de los elementos de la Tabla Periódica), buena sensibilidad, con

límites de detección en el rango de 0,001-10 µg/L (concretamente los límites de detección de Cr y Co son de 0,07-0,05 µg/L respectivamente con un ICP de alta resolución o doble enfoque¹⁷²), buena precisión (2-4%), amplios rangos de linealidad (6-8 órdenes de magnitud), capacidad multielemental y capacidad multiisotópica, lo cual permite la medida de relaciones isotópicas y , con ello, la aplicación de técnicas de dilución isotópica para el análisis. Es por ello que en los últimos años se ha extendido el uso del ICP-MS para la determinación de los metales traza liberados, principalmente, por las prótesis articulares en los fluidos biológicos^{166,173,164,167,165} .

Por ello, la técnica de ICP-MS de alta resolución (HR-ICP-MS) permite resolver interferencias espectrales, detección multielemental, a la vez que proporciona mejores límites de detección en comparación con los ICP-MS convencionales. Los efectos matriz resultan insignificantes y las condiciones estables del plasma permiten realizar correcciones matemáticas para realizar una determinación más exacta¹³¹ .

La aplicación de ICP-MS, entre otras técnicas fundamentadas en la espectrometría de masas, se han empleado en estudios para determinar niveles tóxicos de metales y niveles deficitarios en casos de niños con autismo; para el estudio de la relación de alteraciones en niveles de metales en cabello y aparición de infarto de miocardio; para evaluar la relación entre los niveles de metales y la edad, el IMC y estado nutricional; la exposición ambiental, etc.^{174,175,176,177,178} .

**SISTEMA DE INYECCIÓN**

1. Nebulizador enfriado por un sistema Peltier
2. Bomba peristáltica
3. Entrada de gas portador (Ar)
4. Extracción de gas

SISTEMA DE IONIZACIÓN

5. Antorcha de cuarzo y bobina de inducción

INTERFASE

6. Cono de extracción y skimmer

CELDA DE COLISIÓN

7. Octapolo (celda de colisión)

ANALIZADOR

8. Cuadrupolo

Figura 19: Esquema del equipo de ICP-MS Agilent 7500 ce¹⁷⁹. Imagen tomada del sitio: <http://www.chem.agilent.com/Library/brochures/5989-6410ES.pdf>.

No obstante, debe tenerse en cuenta las potenciales interferencias que pueden afectar a las medidas mediante ICP-MS. Estas interferencias pueden ser interferencias de matriz y/o espectrales que constituirían los principales inconvenientes de esta técnica. Las interferencias de matriz pueden reducirse, en muchos casos, mediante la dilución de la muestra y/o la adición de uno o varios patrones internos. Así, en el análisis de suero y orina las muestras se diluyen simplemente con agua de calidad Milli-Q. Pero, en el caso de muestras de sangre, ya que la matriz es más compleja, hay que llevar a cabo un ataque diluyéndola con 0,1% de Tritón X-100, o proceder a su digestión en horno microondas con ácido nítrico y H₂O₂. Además, en ICP-MS es frecuente el empleo de patrones internos con una masa y potencial de ionización similares al analito que ayuden a compensar los efectos de matriz. Se han utilizado Indio, Rodio, Galio e Ytrio, entre otros para la determinación de Cr, Co en suero, sangre y orina. Para el análisis de un elemento con varios isótopos, se podrá elegir como patrón interno de un isótopo de dicho elemento, con el fin de llevar a cabo su determinación mediante la técnica de

análisis de dilución isotópica (IDA). Sin embargo, esta técnica aún no ha sido aplicada para la determinación de los metales liberados de los implantes metálicos en fluidos biológicos.

Las interferencias espectrales se dividen en dos grandes grupos: interferencias isobáricas e interferencias poliatómicas. Las interferencias isobáricas se deben a los isótopos de otros elementos que presentan la misma m/z que nuestro analito, son predecibles y se pueden evitar de varias formas; bien seleccionando los isotopos libres de ellas, mediante ecuaciones matemáticas de corrección de interferencias o separaciones químicas del analito de la matriz.

Las interferencias poliatómicas (mucho más frecuentes), son debidas a la presencia de iones poliatómicos con la misma m/z que el elemento a analizar, formados por la combinación de especies derivadas del gas del plasma, o de los gases atmosféricos (Ar_2 , N_2 , O_2 , etc.), de los reactivos empleados en el tratamiento de la muestras y/o de la matriz de la misma. Actualmente, estas interferencias poliatómicas se pueden eliminar o al menos minimizar gracias a la existencia de equipos de ICP-MS con analizadores de masas de alta resolución o doble enfoque (HR-ICP-MS) y los ICP-MS de tipo cuadrupolo equipados con una celda de reacción dinámica (ICP-DRC-MS).

Estos últimos equipos son más sencillos de utilizar y más baratos que los equipos de HR-ICP-MS; sin embargo, determinadas interferencias poliatómicas sólo pueden ser eliminadas con el empleo de un ICP-MS de alta resolución. Debe tenerse en cuenta que hay una serie de estudios bibliográficos, previos a la aparición de estas técnicas, para minimizar este tipo de interferencias por lo que los datos obtenidos deberían considerarse con cautela.

A.6.1. Espectrometría de masas elementales con fuentes de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS)

Los espectrómetros de masas elementales surgen del acoplamiento entre una fuente de ionización, el plasma de acoplamiento inductivo (ICP) y un espectrómetro de masas (MS). Se basa en la formación de un plasma de Ar mediante la aplicación de un campo electromagnético oscilante de radiofrecuencias. Este fenómeno tiene lugar en una antorcha de cuarzo, la cual está rodeada por una bobina de inducción, y a través de la cual fluye gas Ar. El plasma formado alcanza una temperatura entre 8.000 y 10.000 K¹⁸⁰, lo que permite que la muestra líquida, al llegar al plasma, sea desolvatada, vaporizada, atomizada e ionizada.

El ICP es, por tanto, una fuente de ionización a presión atmosférica que genera iones principalmente monoatómicos y monopositivos. Dado que los analizadores de masas funcionan a alto vacío, es necesario que los iones formados en el plasma (a presión atmosférica) lleguen al analizador de la forma más eficaz posible. Para ello, los iones formados pasan a través de una interfase de extracción, que comprende el espacio delimitado entre los dos conos de metal: un cono de muestreo (sampler), con un orificio aproximado de 1 mm de diámetro interno y un cono de extracción (skimmer), con un orificio de salida de 0,4 mm de diámetro interno (Figura 20). Esta interfase de extracción se encuentra a alto vacío de 1-2 torr aproximadamente.

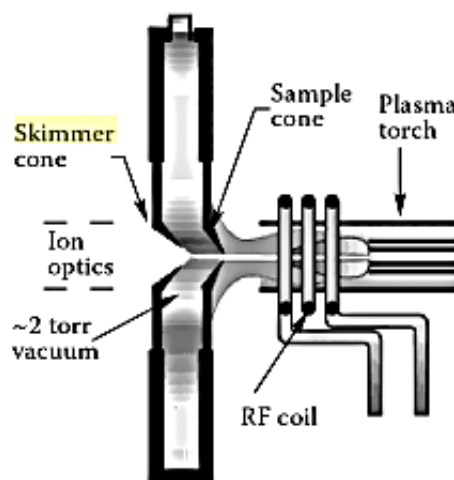


Figura 20: Detalle de la interfase de extracción¹⁸¹.
Imagen tomada del sitio: <https://books.google.es/books>

Apenas el 1% de los iones formados en el plasma pasan a través de esta interfase de extracción hasta el sistema de lentes electrostáticas, cilindros metálicos sometidos a voltajes variables, cuya función principal es acelerar los iones muestreados y enfocarlos independientemente de su masa hacia el analizador. El objetivo será obtener un haz colimado de iones hacia la entrada del analizador de masas, minimizando la entrada de otras especies (como átomos neutros o fotones) al mismo. Una vez en el analizador de masas, los iones se separaran en función de su relación m/z . Dependiendo del equipo de ICP-MS, el analizador de masas es diferente (como se comentará a continuación). Finalmente, sólo los iones seleccionados son detectados por un multiplicador de electrones secundarios (SEM) que funciona en modo digital o en modo analógico (dependiendo de la intensidad de los iones).

Con el fin de eliminar o al menos minimizar las posibles interferencias poliatómicas que afectan a algunos de los analitos objeto de estudio a lo largo de la presente Tesis Doctoral, se emplearon dos equipos ICP-MS, equipados con dos analizadores de masas diferente: un ICP-MS de doble enfoque y un ICP-MS de tipo cuadrúpolo con celda de colisión/reacción que más tarde se describirá en esta Tesis.

A.6.2. ICP-MS de alta resolución o doble enfoque (HR-ICP-MS)

El modelo empleado de ICP-MS de doble enfoque para nuestro estudio fue un ELEMENT 2 de Thermo Fisher Scientific (Bremen, Germany) (Figura 21). La principal diferencia respecto a otros ICP-MS, es el analizador de masas, formado por un sector magnético y un sector electrostático. En este caso concreto dispuestos conforme a una geometría Nier Johnson inversa (el enfoque magnético se realiza previamente al electrostático). Esta configuración permite minimizar los efectos de colisión que producirían unos niveles de ruido elevados y disminuirían la sensibilidad.

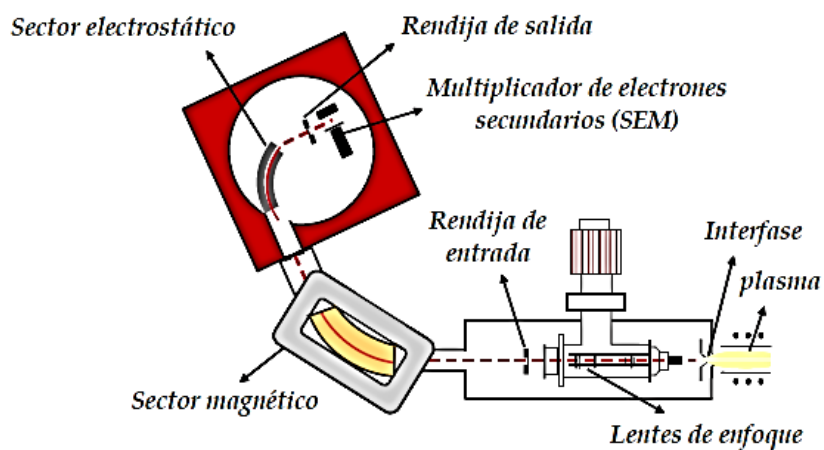


Figura 21: Esquema del ICP-MS de alta resolución con geometría de Nier-Johnson inversa. Imagen tomada del sitio: <https://es.scribd.com/.../ESQUEMA-DE-ICP-MS-DE-DOBLE-ENFOQUE>¹⁸².

En la Figura 22 se muestra la imagen exterior del equipo ELEMENT 2, en la Figura 23 se muestra el nebulizador y en la Figura 24 se puede observar el interior del equipo descrito anteriormente.



Figura 22: Imagen del ICP-MS de doble enfoque, ELEMENT 2, emplazado en los Servicios Científico Técnico de la Universidad de Oviedo.

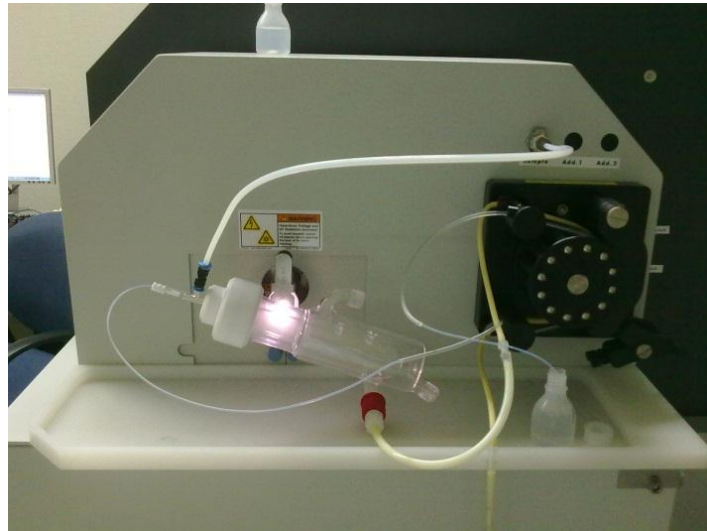


Figura 23: Imagen del nebulizador del ICP-MS de doble enfoque, ELEMENT 2.



Figura 24: Sistema interno del ICP-MS de doble enfoque, ELEMENT 2.

En el equipo existen dos rendijas; una de entrada y otra de salida. Variando su anchura se modifica el poder de resolución del equipo (R), de este modo, se podrán realizar medidas de baja resolución ($R \approx 300$), media ($R \approx 4000$) y alta resolución (≈ 7500). A mayor abertura de las rendijas menor resolución. El poder de resolución (R) expresa la capacidad de un espectrómetro de masas para distinguir entre masas próximas y se define como: $R = m / \Delta m$.

Siendo Δm la diferencia de masas entre dos picos adyacentes y m la masa media de los dos. Dos picos se consideran separados si la altura del valle entre los mismos no es superior a un cierto porcentaje (generalmente un 10%) de la altura de los mismos (considerando que ambos tienen altura similar). La principal ventaja de este sistema es su capacidad para la resolución de interferencias espectrales sobre los analitos de interés. En la Tabla 4 se muestran las interferencias más importantes que afectan a los elementos monitorizados en los estudios llevados a cabo durante la presente Tesis.

Dado que un aumento en la resolución supone una disminución en la sensibilidad, debe adoptarse una situación de compromiso. En la presente Tesis se trabajó a media resolución ($R \approx 4000$) puesto que como se observa en la Tabla 4 es suficiente para poder evitar las interferencias espectrales más comunes¹⁸³.

Este equipo está ubicado en una habitación con atmósfera limpia, cuya principal característica es la de proporcionar de forma continua un flujo de aire laminar, para evitar la presencia de polvo en la atmósfera del laboratorio que podría contaminar las muestras.

Elemento	Interferencia	Resolucion
²⁷ Al	¹² C ¹⁵ N ⁺ , ¹³ C ¹⁴ N ⁺ , ¹⁴ N ² spread, ¹ H ¹² C ¹⁴ N ⁺	Media
⁵² Cr	⁴⁰ Ar ¹² C ⁺ , ³⁶ Ar ¹⁶ O ⁺ , ³⁶ Ar ¹⁵ N ¹ H ⁺ , ³⁷ Cl ¹⁵ N ⁺ , ³⁴ S ¹⁸ O ⁺ , ³⁵ Cl ¹⁶ O ¹ H ⁺ , ³⁶ Ar ¹⁵ N ¹ H ⁺	Media
⁵³ Cr	³⁶ Ar ¹⁷ O ⁺ , ⁴⁰ Ar ¹³ C ⁺ , ³⁹ K ¹⁶ O ⁺	Media
⁵⁹ Co	³⁶ Ar ²³ Na ⁺ , ⁴⁰ Ar ¹⁸ O ¹ H ⁺ , ⁴³ Ca ¹⁶ O ⁺ , ⁴² Ca ¹⁶ O ¹ H ⁺ , ²⁴ Mg ³⁵ Cl ⁺	Media
⁹⁵ Mo	⁷⁹ Br ¹⁶ O ⁺	Media
⁹⁴ Mo	³⁹ K ² ¹⁶ O ⁺	Media
⁹⁵ Mo	⁴⁰ Ar ³⁹ K ¹⁶ O ⁺ , ⁷⁹ Br ¹⁶ O ⁺	Media
⁹⁶ Mo	³⁹ K ⁴¹ K ¹⁶ O ⁺ , ⁷⁹ Br ¹⁷ O ⁺	Media
⁹⁷ Mo	⁴⁰ Ar ¹⁶ O ¹ H ⁺ , ⁴⁰ Ca ² ¹⁶ O ¹ H ⁺ , ⁴⁰ Ar ⁴¹ K ¹⁶ O ⁺ , ⁸¹ Br ¹⁶ O ⁺	Media
⁹⁸ Mo	⁸¹ Br ¹⁷ O ⁺ , ⁴¹ K ² O ⁺	Media
⁶⁰ Ni	⁴⁴ Ca ¹⁶ O ⁺ , ²³ Na ³⁷ Cl ⁺ , ⁴³ Ca ¹⁶ O ¹ H ⁺	Media
⁶¹ Ni	⁴⁴ Ca ¹⁶ O ¹ H ⁺ , ⁴⁵ Sc ¹⁶ O ⁺	Media
⁶² Ni	⁴⁶ Ti ¹⁶ O ⁺ , ²³ Na ³⁹ K ⁺ , ⁴⁶ Ca ¹⁶ O ⁺	Media
⁶⁴ Ni	³² S ¹⁶ O ²⁺ , ³² S ²⁺	Media
⁴⁷ Ti	³² S ¹⁴ N ¹ H ⁺ , ³⁰ Si ¹⁶ O ¹ H ⁺ , ³² S ¹⁵ N ⁺ , ³³ N ¹⁴ N ⁺ , ³³ S ¹⁴ N ⁺ , ¹⁵ N ¹⁶ O ²⁺ , ¹⁴ N ¹⁶ O ²¹ H ⁺ , ¹² C ³⁵ Cl ⁺ , ³¹ P ¹⁶ O ⁺	Media
⁴⁸ Ti	³² S ¹⁶ O ⁺ , ³⁴ S ¹⁴ N ⁺ , ³³ S ¹⁵ N ⁺ , ¹⁴ N ¹⁶ O ¹⁸ O ⁺ , ¹⁴ N ¹⁷ N ²⁺ , ¹² C ⁴⁺ , ³⁶ Ar ¹² C ⁺	Media
⁴⁹ Ti	³² S ¹⁷ O ⁺ , ³² S ¹⁶ O ¹ H ⁺ , ³⁵ Cl ¹⁴ N ⁺ , ³⁴ S ¹⁵ N ⁺ , ³³ S ¹⁶ O ⁺ , ¹⁴ N ¹⁷ O ²¹ H ⁺ , ¹⁴ N ³⁵ Cl ⁺ , ³⁶ Ar ¹³ C ⁺ , ³⁶ Ar ¹² C ¹ H ⁺ , ¹² C ³⁷ Cl ⁺ , ³¹ P ¹⁸ O ⁺	Media
⁵⁰ V	³⁴ S ¹⁶ O ⁺ , ³⁶ Ar ¹⁴ N ⁺ , ³⁵ S ¹⁵ N ⁺ , ³⁶ Cl ¹⁴ N ⁺ , ³² S ¹⁸ O ⁺ , ³³ S ¹⁷ O ⁺	Media
⁵¹ V	³⁴ S ¹⁶ O ¹ H ⁺ , ³⁵ S ¹⁶ O ⁺ , ³⁸ Ar ¹³ C ⁺ , ³⁶ Ar ¹⁵ N ⁺ , ³⁶ Ar ¹⁴ N ¹ H ⁺ , ³⁷ Cl ¹⁴ N ⁺ , ³⁶ S ¹⁵ N ⁺ , ³³ S ¹⁸ O ⁺ , ³⁴ S ¹⁷ O ⁺	Media

Tabla 4. Principales interferencias espectrales que afectan a Co, Cr, Mo, Ni, Ti, Al, V así como la resolución necesaria para poder separarlas¹⁸⁴.

A.6.3. Evidencia experimental del análisis de trazas metálicas en cabello humano

El análisis del cabello se ha empleado desde 1929 para el estudio de los niveles sistémicos de elementos. A lo largo de las últimas cuatro décadas, el análisis de cabello se ha empleado extensamente para evaluar la exposición ambiental, ocupacional, el estado nutricional, el diagnóstico de enfermedades y en el ámbito de las ciencias forenses. Entre los factores por los que resulta interesante este tipo de muestra se

encuentra la posibilidad de monitorizar los elementos acumulados en un periodo de semanas e incluso meses, la facilidad de toma de muestra, su fácil transporte y manejo, y que generalmente, muestra concentraciones de elementos en niveles más elevados que otros medios biológicos (sangre, orina). Además, no sufre alteraciones desde el momento en que se toma la muestra hasta que se analiza, la toma de muestra no es invasiva y es aceptada por la población en mayor grado que las muestras de sangre, permitiendo varias determinaciones a lo largo del tiempo¹⁸⁵.

El cabello humano ha demostrado ser un vehículo de excreción de sustancias, incluyendo metales pesados, cuyas concentraciones aparecen 10 veces por encima de los niveles encontrados en sangre u orina. Debido a que los cationes se unen a la queratina presente en la matriz capilar, este tipo de tejido resulta idóneo para el análisis de salud en exposición ambiental y ocupacional. Las concentraciones en sangre y orina reflejan exposición recientes mientras que el cabello abarca un periodo de exposición anterior¹⁷¹.

Las principales limitaciones que presenta este tipo de tejido consisten en la diferenciación entre la deposición endógena y exógena, la inconsistencia de la relación entre el estatus nutricional o síntomas clínicos y concentraciones anómalas, y finalmente, la ausencia de rangos de concentración de referencia bien definidos. Además, otro factor limitante es la importancia del uso de técnicas analíticas validadas correctamente. Estas determinaciones analíticas necesitan unos cuidados especiales en la recogida y en el traslado de las muestras y no son realizadas de manera rutinaria en los laboratorios de los hospitales generales. Además pueden estar alteradas ocasionalmente por la ingesta de productos alimenticios, por el aporte de medicamentos o por situaciones ambientales^{186,105}.

Existen diversos estudios en población sana en los que los valores determinados para Co se sitúan en el rango 0,06-1,67, para Cr entre 0,46-1,16 y para Mo entre 0,12-0,55^{187,159,188}.

Se han llevado a cabo análisis en cabello de pacientes con discapacidad motora severa en los que, tras requerirse nutrición enteral, se observaron déficits de Cu, Se y Mo

mediante análisis por ICP-MS¹⁸⁹. Se ha relacionado el descenso de los niveles de Cr en cabello con la edad y la aparición de enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus tipo II¹⁹⁰. El estudio de metales en cabello abarca un amplio número de elementos y patologías en las que se ven implicados. El déficit de Zn y Mo podría estar relacionado con el desarrollo de cáncer esofágico según un estudio desarrollado en Sudáfrica e India¹⁹¹. En mujeres obesas en Polonia se observó que los niveles de Zn se encontraban disminuidos, mientras que Cr y Mg se encontraban elevados, en comparación con el grupo control. Esta situación se deriva del estado proinflamatorio originado por el exceso de masa grasa que induce la expresión de metalotioneínas y transportadores regulados por Zn a nivel hepático de forma que el Zn se acumula en hígado y adipocitos, lo que originaría una baja concentración en cabello¹⁹². En población diabética se han detectado niveles de Cr en correlación negativa con respecto a los datos de glucemia y triglicéridos¹⁹³. En lo referente a Li, se han realizado estudios en cabello en los que se ha concluido la posible relación entre el déficit de Li y el incremento de la tasa de suicidio entre las posibles etiologías causales¹⁹⁴. Para disminuir este riesgo se ha recomendado suplementar el agua de bebida con bajas cantidades de Li.^{195,196} Por otra parte, en un estudio realizado en población expuesta a metales tras la guerra de Croacia, se hallaron diferencias significativas entre población de áreas de zona de combate tras 20 años. Como consecuencia, en este estudio se demostró que el cabello es un buen indicador de exposición a largo plazo¹⁹⁷.

La Agencia Internacional de Protección Medioambiental y la Agencia Internacional de la Energía Atómica^{161,198} han recomendado el empleo del cabello para monitorizar los niveles de la mayoría de los elementos traza ya que se encuentran en mayores cantidades que en otro lugar del cuerpo¹⁹⁹.

B. OBJETIVOS

Según lo expuesto en la introducción de la presente Tesis Doctoral, el empleo de implantes ortoprotésicos ha sufrido un incremento exponencial asociado al envejecimiento poblacional. Dichos implantes contienen elementos metálicos como Cromo, Molibdeno, Cobalto, Aluminio, Níquel, etc. que pueden liberarse, circular y depositarse en el organismo pudiendo originar reacciones adversas o fracaso del implante. Por ello es importante desarrollar métodos de detección ágil y eficiente para detectar y prevenir la aparición de este tipo de complicaciones. Por tanto, el objetivo general de la presente Tesis Doctoral ha sido el hallazgo y la evaluación de la *Presencia de metales en matrices biológicas (orina, suero y cabello) de pacientes con artroplastia de superficie de cadera*. Con este fin se ha llevado a cabo la puesta a punto de uno de las herramientas más sofisticadas como el ICP-MS para abordar cada uno de los objetivos parciales:

1. Estudio de la presencia de iones metálicos (Cromo, Cobalto y Molibdeno) en cabello de pacientes con artroplastias de cadera con fricción M-M y su modificación con el paso del tiempo.
2. Validación de la técnica mediante un estudio comparativo con la medición de estos iones en suero y orina.
3. Determinación de los niveles de metales en suero y orina tras la cirugía de revisión e implante de un modelo artroplástico metal-polietileno.
4. Comprobación de la equivalencia de los niveles de esos metales en suero y orina tras la cirugía de revisión con los niveles encontrados en el cabello.
5. Análisis complementario del material protésico y tejidos extraídos en la cirugía de revisión y de los metales minoritarios de la aleación en suero, orina y cabello (Al, Mn, Mo, Ni, Ti).
6. El objetivo último ha sido conocer si la determinación de metales en cabello de pacientes portadores de artroplastias de superficie M-M puede sustituir a la determinación de esos mismos metales en suero y orina en el control evolutivo de esos modelos.

C. PACIENTES Y MÉTODOS

C.1. PROTOCOLO DE ACTUACIÓN. RECOGIDA DE DATOS

Se trata de un estudio prospectivo, unicéntrico cuyo objetivo consistió en determinar inicialmente los niveles de Cr y Co en suero y orina y los niveles de Cr, Co y Mo en cabello de 45 pacientes monitorizados que habían sido intervenidos para implantar una artroplastia de recubrimiento de cadera M-M empleando el sistema DePuy ASR® (DePuy Orthopaedics, Inc., Warsaw, IN, USA) durante el periodo 2005-2009 en el Hospital San Agustín (Avilés, Asturias). Todos los pacientes habían sido intervenidos en ese Centro por los mismos cirujanos, con el mismo protocolo pre y postoperatorio e implantado el mismo modelo de artroplastia de superficie.

Esta prótesis está fabricada en aleación de Cr-Co compuesta por los siguientes elementos: Cromo, Molibdeno, Níquel, Hierro, Carbono, Sílice, Manganeso, Cobalto y Nitrógeno. Se practicó cementación en la cúpula femoral (cemento óseo Palacos® con gentamicina, Heraeus, Alemania). Se emplearon diversos tamaños de cúpula acetabular y femoral y dos modelos de cúpula acetabular ASR®, ASR® estándar y ASR® 300, que fueron impactadas a presión.

Los pacientes seleccionados para el estudio se han obtenido a partir de un listado facilitado por el Servicio de Codificación del Hospital San Agustín de Avilés. Las historias se han seleccionado por los miembros del equipo de investigación. Este estudio fue aprobado por el Comité Regional de Ética (Referencia 037/2011) (Anexo 1) y los pacientes firmaron el consentimiento informado específico para este estudio donde se solicitaba autorización para la obtención de: suero, orina, cabello, datos clínicos y estudios radiológicos.

La serie inicial comprendía 49 artroplastias. Los criterios de inclusión consistían en que los pacientes debían haber sido implantados con el mismo modelo de prótesis, mientras que los criterios de exclusión consistían en presentar implantes bilaterales (1 caso, 2 artroplastias), y la pérdida en el seguimiento, lo que sucedió en 2 pacientes. Para la realización de este estudio se contó con la ayuda económica de una Ayuda a la Investigación de la Fundación SECOT (Sociedad Española de Cirugía Ortopédica y

Traumatología) obtenida en el Concurso de Ayudas a la Investigación del año 2011 (Anexo 2). Esta ayuda se obtuvo a través de una convocatoria abierta y competitiva. Los fondos económicos fueron gestionados por la OIB (Oficina de Investigación Biosanitaria) organismo que centraliza la investigación biomédica del Principado de Asturias.

Los pacientes fueron contactados telefónicamente, para acudir a una consulta externa del Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología, previa cita de día y hora. A través de un protocolo realizado al efecto se cumplimentaron datos epidemiológicos, se recogieron datos de la intervención quirúrgica, se completó el protocolo Oxford de cadera²⁰⁰ (Anexo 3), una escala analógica visual para el dolor y satisfacción y se practicó una exploración articular de la cadera intervenida. En la misma cita se realizó una radiografía de la cadera en proyecciones antero-posterior y axial y posteriormente previa nueva cita una resonancia magnética, con secuencia de reducción de artefactos, en caso de elevación de iones y/o alteración clínica en evolución. Todos los estudios de resonancia se realizaron con un equipo 1.5T (Achieva, PhilipsMedical Systems, Best, The Netherlands). El protocolo de estudio incluía T1-, T2- y secuencia STIR (“Short T Inversion Recovery”) con un grosor de 4mm en los cortes. Se empleó un software para reducir los artefactos metálicos.

Tras la aceptación del consentimiento, se realizó una determinación de niveles de metales en muestras biológicas (suero, orina y cabello) mediante ICP-MS de alta resolución. El equipo empleado fue un Espectro de Masas de doble enfoque con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS, modelo “Element” de Finningan MAT), localizado en el Edificio de Servicios Científico-Técnicos de Investigación de la Universidad de Oviedo y ya referido anteriormente. Las visitas de los pacientes se repitieron a los 6 meses y a los 12 meses. Se realizaron por tanto tres tandas de ensayos que supondrán un total de 756 muestras. La técnica y los requisitos para la recogida de las muestras de sangre, orina y cabello se describen posteriormente.

El protocolo que se cumplimentó en cada consulta constaba de los siguientes apartados (Tabla 5):

A) Intervención Quirúrgica: fecha de primera intervención, tipo de prótesis, tamaño de cúpula acetabular, tamaño de cúpula femoral, complicaciones en la cirugía. (Sólo cumplimentado en la primera consulta).

B) Sintomatología actual: Valoración funcional mediante Oxford Hip Score, movilidad de la cadera, presencia de dolor en ingle, otra sintomatología, empeoramiento en los últimos meses, y Escala analógica visual para dolor y satisfacción.

La Escala Analógica Visual (E.V.A.)^{201,202} fue diseñada por Scott-Huskinson en 1976. Se compone de un dibujo con una línea continua con los extremos marcados por 2 líneas verticales que indican la experiencia dolorosa. Esta escala se denomina analógica solamente cuando se emplean palabras en sus dos extremos, tales como “no dolor” y el “máximo dolor imaginable” o “no alivio” y “alivio completo”. Se denomina “gráfica” si se establecen niveles con las palabras de referencia. Al paciente no se le indica que describa su dolor con palabras específicas, sino que es libre de indicar, sobre una línea continua, la intensidad de su sensación dolorosa en relación con los extremos de ésta. Se han ido introduciendo modificaciones (Figura 25) con el fin de aumentar su sensibilidad, ya que alrededor de un 9% de los pacientes son incapaces de completarla.

Se conocen estas modificaciones:

✓ *Escala analógica graduada.* Aparece una serie de marcas o gradaciones, aisladas o acompañadas de números o términos descriptivos ordinales.

✓ *Escala analógica luminosa (Nayman).* Está constituida por un sistema de colores codificado –blanco, amarillo, naranja, rojo, violeta– que se disponen a lo largo de la línea. Cada uno de estos colores es representativo de un determinado nivel de dolor, que abarca desde la ausencia de dolor (color blanco) hasta un dolor insoportable (color violeta). El paciente debe marcar un determinado color que refleja la magnitud de su dolor.

✓ *Escala de la expresión facial (Faces Pain Scale [FPS]).* Fue desarrollada por Bieri en 1990 para su uso en niños. Está compuesta por rostros con diferentes expresiones que representan a una persona que está feliz porque no siente dolor o que está triste porque siente algo de dolor o mucho dolor. A cada rostro se le asigna una puntuación. Se pide al paciente que seleccione el rostro que describe mejor cómo se siente. Al no requerir lectura, escritura o capacidad expresiva, puede ser muy útil para valorar el dolor en pacientes con incapacidad para describirlo o para comprender las formas de valoración, como los niños menores de 3 años, las personas analfabetas, los pacientes con deterioro cognitivo y los más ancianos, con datos aceptables de fiabilidad y validez²⁰³.

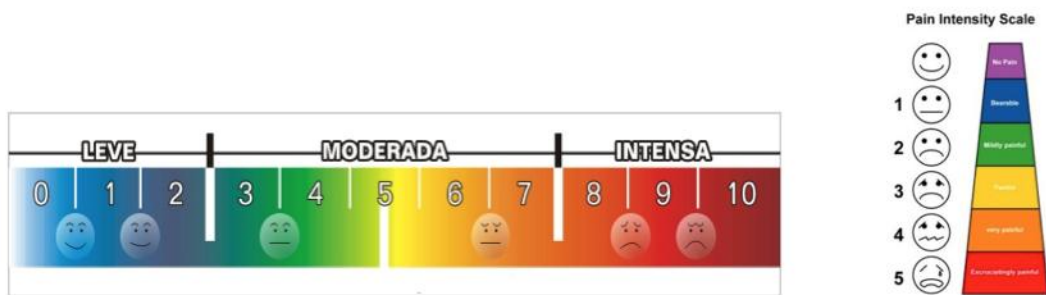


Figura 25: Escala analógica visual actualizada. Imagen tomada del sitio: <http://fisioterapiasinred.com/escalas-unidimensionales-de-dolor/>²⁰⁴.

C) Estudios analíticos: niveles en suero, orina y cabello de Cr, Co y en cabello de Mo con técnica de extracción especial para evitar contaminación exógena de las muestras, pruebas de función renal, hemograma completo con recuento, datos bioquímicos convencionales.

D) Estudio radiológico: radiografías simples en proyección antero-posterior y axial (Figura 26) donde se midió la angulación del componente acetabular, angulación del componente femoral, movilización-hundimiento, estrechamiento del cuello, osteólisis femoral según la graduación de Amstutz et al²⁰⁵, y osteólisis acetabular según la clasificación de De Lee y Charnley²⁰⁶.



Figura 26: Radiografía de cadera en paciente portador de ASR® de recubrimiento con las mediciones señaladas.

E) En función de los hallazgos clínicos, analíticos y radiológicos se realizaron estudios de RNM (Figura 27) con técnica especial de reducción de artefactos metálicos y búsqueda de presencia de pseudoquistes u osteólisis.

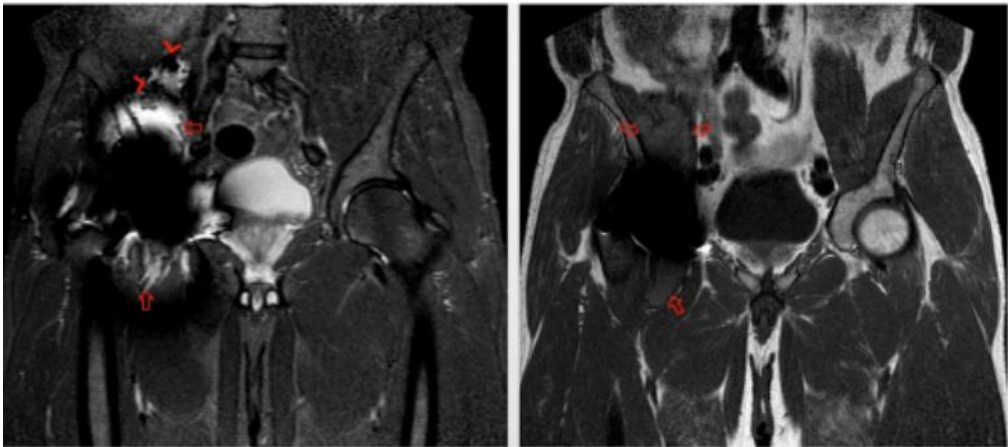


Figura 27: RNM en la que se puede apreciar un pseudotumor constatado posteriormente como ALVAL.

F) Fecha de cirugía de revisión, si se había producido: tipo de cirugía y hallazgos. Resultados anatomopatológicos y bacteriológicos.

G) Cuando fue preciso la cirugía de revisión, se realizaron análisis complementarios de las prótesis y tejidos extraídos.

H) Así mismo, se añadieron los datos de niveles de metales minoritarios de la aleación (Al, Mn, Mo, Ni y Ti) realizados al mismo tiempo que los metales protocolizados.

Los datos recogidos fueron almacenados en una Base de datos realizada al efecto.

ESTUDIO ASR® METAL-METAL				
A.	IDENTIFICACION	Nombre paciente (iniciales):	Numero Historia:	Numero de orden:
		Antecedentes personales:	Actividad laboral habitual:	Lado:
		Alergias.	Medicación habitual:	Peso:
				Talla:
				Nuevos procesos patológicos desde el implante:
B.	CIRUGÍA:	Fecha de 1ª intervención:	Tamaño de cúpula acetabular:	Tamaño de cúpula femoral:
		Tipo de ASR®:	Complicaciones en la cirugía:	
C.	SINTOMATOLOGÍA ACTUAL	Oxford Hip Score	Chasquidos:	Movilidad:
		Otra sintomatología	Empeoramiento en los últimos meses	Dolor en ingle:
D.	ESTUDIOS ANALITICOS, FECHA	Niveles en suero: Cr, Co	Niveles en orina: Cr, Co	Técnica de determinación
		Niveles en cabello: Cr, Co y Mo		
		Hemograma:	Pruebas de función renal:	
E.	DIAGNOSTICO RADIOLOGICO	Fecha Rx simples	Hallazgos: -Angulación cotilo -Angulación vástago -Estrechamiento cuello -Osteólisis femoral (Amstutz) Osteólisis acetabular (De Lee) Otros hallazgos	Fecha RMN: Hallazgos: Otras exploraciones:
F.	EVOLUCION PACIENTES	Satisfacción: 1.Esta satisfecho 2.Tiene dudas sobre resultado 3.No está satisfecho 4.Estuvo satisfecho, ahora no 5.No sabe/no responde	EVA	
G.	FECHA REVISION	CIRUGIA	Tipo de cirugía	Hallazgos

Tabla 5. Cuestionario cumplimentado en cada consulta.

C.2. INSTRUMENTACIÓN ANALÍTICA

Es este apartado se describirá la instrumentación de carácter general utilizada a lo largo de la presente Tesis Doctoral.

Los protocolos de trabajo se basaron en la evidencia experimental en el tratamiento de muestras biológicas en el análisis mediante ICP-MS y, en particular, en el análisis de muestras de cabello^{207,208}. Los parámetros experimentales se optimizaron diariamente mediante el análisis de una disolución de 10 µg/L de Li, Y y Tl de Merck (Darmstadt, Alemania) a baja, media y alta resolución. También se realizó diariamente el Mass Offset del equipo, mediante la medida de una disolución de 10 µg/L de Al, Cr, Co, Mo, Mn, Ni y Ti en HNO₃ al 1%, con el fin de asegurar que se estaba midiendo únicamente la señal correspondiente a estos analitos y no la señal correspondiente a posibles interferencias.

El equipo utilizado en la presente Tesis Doctoral fue el ICP-MS modelo 7500ce de Agilent Technologies (Tokio, Japón) junto con un ELEMENT 2 de Thermo Fisher Scientific (Bremen, Germany). Este equipo, como ya se ha descrito, consta de un nebulizador tipo Meinhard, una cámara de nebulización de doble paso tipo Scott refrigerada a 2°C. La celda de colisión/reacción es, en este caso, un octapolo y puede igualmente presurizarse con helio o hidrógeno. En la presente tesis, este equipo se utilizó para practicar un análisis inicial y detectar los iones mayoritarios y no mayoritarios de la aleación que pudieran estar presentes en las distintas matrices. La sensibilidad se optimizó previamente a su uso, mediante la medida de una solución de 10 µg/L de Li, Co, Y, Tl y Ce (que cubrían todo el rango de masas de los analitos objeto a estudio) en ácido nítrico (al 1% p/p). Dichas optimizaciones se llevaron a cabo tanto sin presurizar la celda con gas como presurizándola con gas (He).

Instrumentación empleada en el tratamiento de muestras biológicas:

Con el objetivo de obtener el total de trazas presentes en las muestras de suero, se llevó a cabo un ataque previo, mediante digestión ácida (HNO₃ + H₂O₂). Para llevar a cabo la mineralización se utilizó un horno microondas Milestone, modelo Ethos 2 de Milestone

(Socisole, Italia), equipado con un rotor para diez bombas de teflón de media presión y con un sensor de temperatura.

- ✓ La centrifugación de las muestras de suero se llevó a cabo a 4°C, utilizando una centrífuga Biofuge Stratos, modelo Heraeus (Hanau, Alemania).
- ✓ Para las pesadas se utilizó una balanza de 0,01 mg, modelo AE 163 de Mettler Cambridge, Productos Científicos (Cambridge, MA, EEUU) (Figura 28).



Figura 28: Balanza de alta precisión.

C.3. MATERIALES, REACTIVOS Y DISOLUCIONES

El material de laboratorio que se utilizó de forma general fue:

- A) Guantes de látex.
- B) Pipetas Pasteur de 1,5 y 3 mL de Brand (Alemania).
- C) Micropipetas Eppendorf de distinto volumen: 1-10 μ L, 10-100- μ L, 100-1000 μ L.
- D) Tips para micropipetas Eppendorf.
- E) Tubos de centrifuga de polietileno de Brand.

Todas las disoluciones acuosas se prepararon en Agua Milli-Q, obtenida mediante un sistema Milli-Q Advance A10 de Millipore (Figura 29). Todos los reactivos empleados fueron de grado analítico.



Figura 29: Sistema Milli-Q Advance.

El ácido nítrico empleado para la limpieza del material de plástico, para la estabilización de las disoluciones metálicas o para la realización de las digestiones ácidas en microondas, se purificó previamente mediante una destilación lenta sub-boiling a partir de ácido nítrico concentrado al 65% (p/v) de Merck. Así mismo, el peróxido de hidrógeno concentrado empleado en las digestiones de microondas también era de alta pureza (Suprapur[®], Merck).

Las disoluciones de calibración de los elementos analizados (Cr, Co, Mo, Mn, Ni, Al y Ti) y de los elementos utilizados como patrones internos (Ga e Y) fueron obtenidos de Merck. Las disoluciones fueron preparadas a partir de disoluciones de 1000 mg/mL de cada uno de los patrones individuales de calidad ICP con contenidos certificados de impurezas en medio ácido (en HNO₃, excepto Ti el cual estaba diluido en ácido fluorhídrico).

Para la optimización diaria de las condiciones de operación y parámetros de adquisición del ICP-MS se utilizó una disolución de 10 ng/g de Li, Co, Y y Tl en HNO₃ 1% (p/p), preparadas a partir de patrones comerciales de 1000 mg/L de Merck. Para la optimización del HR-ICP-MS se utilizó una disolución de 10 ng/g de Li, Y y Tl.

El gas Ar (99,999% de pureza) utilizado como gas plasmógeno y el gas He (99.999% de pureza) utilizado para presurizar la celda de colisión en el ICP-MS, fueron suministrados por la casa comercial Air Liquide de Madrid (Madrid, España).

C.4. MATERIALES DE REFERENCIA Y MUESTRAS

Para la validación de las metodologías analíticas empleadas para la medida de los contenidos totales de los elementos de interés (Cr, Co, Mo, Al, Mn y Ti) en suero, orina y cabello, se emplearon los siguientes materiales de referencia: Seronorm TM Trace Element Whole Blood (ref. 96067), Seronorm Tm Trace Element Urine (ref. 201205) y Seronorm Tm Trace Element Serum (ref. 201405), todos ellos del nivel 1 de concentración de SeronormTM /Nycomed As,Oslo,Noruega, Noruega). A este nivel de concentración los metales se encontraban en el mismo orden de concentración que en los datos bibliográficos para controles no expuestos. Las muestras de suero (incluidas las desprovistas de anticoagulante para separar el suero), orina y cabello de pacientes portadores de implantes fueron proporcionadas por el Hospital San Agustín de Avilés, tras la firma de un consentimiento informado y con la aprobación del estudio por el comité de ética Regional como ya se ha referido.

C.5. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

En este apartado se detallan los procedimientos experimentales más relevantes para la realización de los ensayos analíticos de la presente Tesis Doctoral.

C.5.1. Protocolos de limpieza

Para evitar posibles contaminaciones, los recipientes de plástico utilizados durante la presente tesis Doctoral fueron sometidos a una etapa de limpieza. Esta etapa consistió en llenar los recipientes con una disolución de HNO₃ de calidad sub-boiling al 10 %, al

menos durante 48h. A continuación, se lavaron varias veces con agua destilada de calidad Milli-Q y se secaron en la estufa previamente a su uso. Dicho protocolo también se llevó a cabo para la limpieza de los recipientes empleados en la recogida de las muestras de orina.

Obtención y tratamiento de las muestras biológicas (orina, suero y cabello):

Todas las muestras fueron recogidas, almacenadas y tratadas siguiendo un estricto protocolo con el fin de evitar la contaminación metálica.

✓ Muestras de orina: el protocolo seguido consistió en recoger muestras a primera hora de la mañana y también muestras de 24h, con el fin de que los analitos estuvieran lo más concentrados posibles. Las muestras fueron recogidas en botes de polietileno de baja densidad de 50 mL estériles. Teniendo en cuenta que la orina posee un alto contenido salino y de materia orgánica que puede producir interferencias importantes, como por ejemplo: espectrales, de matriz, obturaciones en el nebulizador, en el canal central de la antorcha o en los conos de la interfase, se evaluó el mejor tratamiento de las muestras con el objetivo de determinar la concentración total de los metales de interés (Cr, Co, Mo, Mn, Al y Ti) en dichas muestras de orina humana mediante ICP-MS. En el laboratorio, las muestras se filtraron (filtros de 0,2 μm), para eliminar la materia orgánica en suspensión. Seguidamente, se añadió HNO_3 concentrado de calidad sub-boiling, para obtener una concentración final del 1% (v/v) y así evitar el crecimiento bacteriano y las adsorciones de los metales sobre las paredes de los botes y por tanto, permitiendo mantener dichos metales en disolución de forma estable. Por último, las muestras acidificadas se agitaron vigorosamente y se guardaron en el congelador hasta su análisis. El día del análisis, se realizó una dilución 1:10 con agua de calidad Milli-Q con el fin de minimizar las interferencias de matriz y se les adicionaron los patrones internos (Ga e Y) en una concentración final de 1 ppb.

✓ Muestras de sangre: la recogida de las muestras de sangre se llevó a cabo en tubos especialmente preparados para el análisis de trazas y ultratrazas metálicas (Vacuette, Greiner Bio-one, Madrid, España) con heparina de litio como anticoagulante.

De forma previa a la extracción de las muestras se acondicionó la piel del paciente, limpiándola con etanol de alta pureza, dejándola secar al aire (sin emplear gasas ni algodón). Se emplearon agujas insertadas en cánulas de teflón para evitar contaminar las muestras. El procedimiento consistía en atravesar la vena del paciente con la aguja metálica, y al retirar la aguja, la sangre se extraía a través de la cánula de teflón. La sangre extraída de cada paciente (10 mL) se dividía en dos tubos Vacuette. El primer tubo se empleaba para optimizar el método y los 5 ml restantes para realizar los análisis finales. Debido a la complejidad de estas muestras, requieren ser atacadas previamente, mediante digestión ácida en horno microondas antes de introducirlas en el ICP-MS.

Para el ataque, se introdujo 1 mg de sangre en cada bomba de teflón, se añadieron 6 ml de HNO₃ sub-boiling (diluido 1:3 con agua Milli-Q) y 1 mL de peróxido de hidrógeno. Una vez adicionada la mezcla, las bombas (Figura 30) se cerraron e introdujeron en el horno microondas (Figura 31) sometiéndolas al programa de temperaturas optimizado que aparece detallado en la Tabla 6.

Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Potencia (W)
3	95	900
10	160	900
18	185	900

Tabla 6. Programa de microondas utilizado para la digestión de las muestras de sangre.

Tras este proceso, se realizó una dilución con el objetivo de disminuir las interferencias de matriz al máximo, sin una pérdida importante de sensibilidad. Resultó ser 1:20 con agua Milli-Q. Para corregir la deriva instrumental, se añadieron patrones internos (1 ppb de Ga e Y) diluidos en agua Milli-Q 1:20, y se reservaron en el congelador hasta la medida. Se analizaron 3 réplicas de cada muestra y se obtuvo un blanco en cada ataque de microondas.

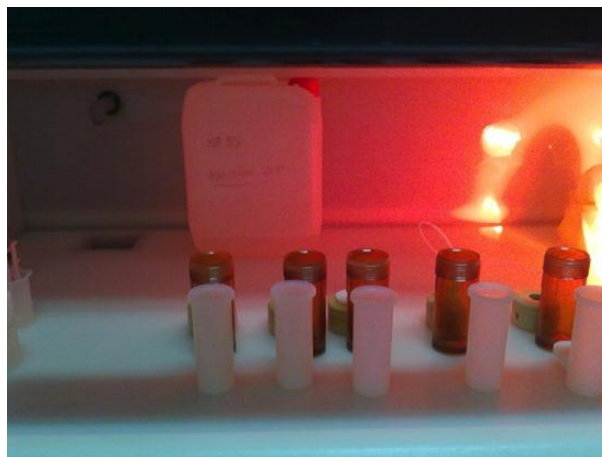


Figura 30: Campana de extracción con muestras preparadas para la digestión en microondas.



Figura 31: Muestras dispuestas en bombas para digestión en microondas.

✓ Muestras de suero: en este caso, la metodología de obtención de la muestra fue igual que con sangre total a excepción del material de acondicionamiento empleado. Se utilizaron tubos de polietileno de baja densidad (Vacuette) sin anticoagulante. Una vez que las muestras de sangre estaban en laboratorio (el mismo día de su recogida), se sometieron a una centrifugación de 3.000 g durante 20 min, lo que permitió separar el suero de los glóbulos rojos.

✓ Muestras de cabello: en primer lugar, se procedió a cortar el pelo en la misma zona del cuero cabelludo, en trozos de pequeño tamaño (<1mm) con unas tijeras y se introducen 0,5 g en una bolsa de polipropileno. Una vez que la muestra llegó al laboratorio, se sometió a un tratamiento previo, consistente en un proceso de lavado

constituido por varias etapas²⁰⁹. Esta etapa preliminar resulta muy importante, puesto que debemos eliminar las trazas del elemento que se encuentran asociadas a la superficie del pelo a través de la grasa, suciedad o sudor para asegurar que las posteriores medidas se corresponden únicamente con las trazas de metales endógenas y evitar que se produzcan alteraciones en los niveles detectados. A continuación, se adicionaron 50 mL de acetona (Figura 32), cubriendo toda la superficie del pelo, y se introdujeron en un baño de ultrasonidos (Figura 33) durante 8 minutos, seguido de 5 minutos de agitación magnética. Una vez finalizado el tiempo de agitación, se decantó la acetona y se repitió este mismo proceso de lavado con agua Milli-Q y una disolución de 0,5% de Tritón x-100. Una vez decantada esta última disolución se aclaró el pelo en repetidas ocasiones con agua Milli-Q y se introdujo 12 h en la estufa a 50°C (Figura 34). Las muestras secas se almacenaron a temperatura ambiente hasta el momento de su análisis. Para llevar a cabo el análisis total de metales en las muestras de pelo por ICP-MS, es necesario proceder a su puesta en disolución. Para este paso, se recurre a una digestión ácida en horno microondas. En un vaso de teflón se introdujeron 50 mg de cabello, 1,5 mL de HNO₃ sub-boiling (Figura 35) y 1 mL de H₂O₂. El programa de microondas se detalla en la Tabla 7.



Figura 32: Muestras de cabello preparadas para baño de ultrasonidos.



Figura 33: Baño de ultrasonidos.



Figura 34: Secado de muestras de cabello en horno.



Figura 35: Lámpara de infrarrojos para obtención de ácido nítrico sub-boiling.

Etapa	Tiempo/min	Potencia/W
1	5	250
2	10	0
3	8	450
4	10	0
5	10	650
6	10	750

Tabla 7. Programa de microondas utilizado para la digestión de las muestras de cabello.

Una vez finalizado el programa, se llevó a cabo una etapa de ventilación de 60 minutos de duración. A continuación, se trasvasó a un bote de polietileno de 20 mL la disolución resultante, se añadieron 10 ppb de patrón interno, que fue con el que se obtuvo un rendimiento del 92% y adicionamos agua Milli-Q hasta alcanzar un volumen final de 10 mL obteniendo un factor de dilución de aproximadamente 200. Las muestras se almacenaron en esos mismos botes a -20°C hasta el momento de su análisis por ICP-MS.

C.5.2. Optimización de los parámetros instrumentales

En primer lugar es necesario llevar a cabo una optimización de diferentes parámetros en el equipo ICP-MS, que van a ejercer influencia en la calidad de las medidas realizadas y, por consiguiente, en los posteriores resultados obtenidos. Para ello se utiliza una disolución denominada “disolución tuning” que presenta una concentración de 10 ppb de los siguientes elementos: Li, Co, Y, Tl y Ce. Los parámetros de medida vienen recogidos en la Tabla 8.

PROPIEDADES ICP	
Potencia (W)	0
Flujo de gas plasmógeno (Ar)	15L/min
Flujo de gas nebulizador (Ar)	1,10mL/min
Velocidad toma de muestra	0,5 mL/min
Lentes iónicas	Ajustadas para obtener máxima señal con la disolución de tuning
PROPIEDADES DE MEDIDA	
Tiempo de integración	0,3s
Replicas	3+

Tabla 8. Condiciones instrumentales de trabajo en ICP-MS óptimas.

Interferencias de matriz: selección del patrón interno

Debe considerarse que una matriz de ácido nítrico produce una supresión significativa de la señal debido a la alta concentración de elementos altamente ionizables y también por cambios en la eficiencia de nebulización o el depósito de sales en los conos de extracción. En este sentido, el uso de patrones internos es una forma efectiva de compensar estos efectos de matriz así como la deriva instrumental. El patrón interno deberá ser lo más parecido en potencial de ionización y en masa al analito. Estos patrones internos son añadidos tanto a muestras como a blancos y a estándares en la misma concentración. Así cada una de las señales del analito será relacionada con la señal del patrón interno de acuerdo con la siguiente expresión:

$$IA/IIS.CIS= a+b . CA$$

Donde **IA** es la señal del analito en cps (cuentas por segundo), **IIS** es la señal del patrón interno también en cps, **CIS** es la concentración del patrón interno y **CA** la concentración del analito.

Se realizó la comprobación de la posibilidad de analizar todos los elementos por calibración externa acuosa con corrección por patrones internos sin la existencia de interferencias de matriz. Para ello se sometió una muestra de pelo al proceso de digestión previamente seleccionado. A los líquidos resultantes del ataque se les adiciono 10 ppb de una mezcla multielemental de posibles patrones internos y se diluyeron a 10 mL. Como posibles patrones internos se ensayaron Ga, Y, Rh, In y Cs. Para comprobar que es posible el análisis sin interferencias matriz y, a la vez, seleccionar el patrón interno más adecuado para los analitos a determinar, se llevó a cabo la comparación de pendientes de adiciones estándar y de calibración acuosa (B_{ae}/b_{ca}), obtenidas ambas tras la corrección con los patrones internos. Se puede concluir que, en las condiciones experimentales no existen interferencias de matriz, por lo que se puede llevar a cabo las determinaciones en cabello con calibración acuosa.

Tras definir las condiciones de medida, se procedió a establecer las características analíticas más relevantes de método: límite de detección y la precisión del método expresado como desviación estándar relativa (RSD).

C.6. METODOLOGÍAS DE CÁLCULO

En este apartado se detallan las metodologías de cálculo llevadas a cabo en la presente Tesis doctoral.

C.6.1. Medida de las relaciones isotópicas: cálculo del factor de discriminación de masas y tiempo muerto del detector del ICP-MS

Las medidas de relaciones isotópicas están sujetas a una serie de errores sistemáticos que deben conocerse y tener en cuenta, como son las interferencias espectrales (comentadas anteriormente), el tiempo muerto del detector y la discriminación de masas.

C.6.1.1. Tiempo muerto del detector

Se podría definir como el tiempo que necesita el detector de ICP-MS para contabilizar la llegada de dos iones como dos eventos diferentes. Los equipos de ICP-MS convencionales poseen un sistema de detección que incluye una electrónica de conteo, por tanto las señales se registran como número de pulsos por unidad de tiempo. Cuando la velocidad de conteo es muy elevada (10^6 cuentas por segundo) es cuando el efecto del tiempo muerto del detector adquiere real importancia ya que se estarán registrando menos iones de los que están llegando al detector. Dado que la pérdida de cuentas depende del número de iones que llegan al detector por unidad de tiempo, cuando se mide una relación isotópica distinta a la unidad, la pérdida de cuentas para los dos isótopos será de distinta magnitud y, por ello, la relación isotópica medida será diferente a la real. Por tanto este parámetro debe ser evaluado para corregir las

relaciones isotópicas. Una vez conocido el tiempo muerto del detector (T) las intensidades se pueden corregir utilizando la ecuación siguiente:

$$T_{\text{corregida}} = I_{\text{medida}} / 1 - I_{\text{medida}} T$$

El método más frecuente para calcular el tiempo muerto del detector es la medida de las relaciones isotópicas de un elemento a diferentes concentraciones^{210,211}. Los valores de este parámetro obtenidos para los distintos ICP-MS empleados en la presente Tesis Doctoral se encontraron en el rango de 15 a 60 ns.

C.6.1.2. Discriminación de masas

Consiste en una transmisión preferencial de los iones más pesados frente los más ligeros, tanto a través de la interfase de extracción como de las lentes iónicas (efecto espacio-carga) del espectrómetro de masas. Por tanto, una relación isotópica medida experimentalmente R_m llevará asociado un error respecto a la relación isotópica real o teórica que será proporcional a la diferencia de masa entre los dos isótopos medidos.

En la medida de las relaciones isotópicas mediante ICP-MS, este efecto se puede corregir utilizando un estándar de composición conocida o certificada (material de referencia isotópico) y cuando no se dispone de un estándar isotópico del elemento a analizar, el cálculo se puede utilizar empleando otro elemento de m/z similar. En ambos casos la corrección supone el cálculo del factor de discriminación de masas (K) utilizando ecuaciones que pueden ser lineales, potenciales, o exponenciales:

$$R_{\text{corregida}} = R^{\text{medida}} / 1 + K \Delta M$$

$$R_{\text{corregida}} = R^{\text{medida}} / (1 + K)^{\Delta M}$$

$$R_{\text{corregida}} = R^{\text{medida}} / e^{(K \Delta M)}$$

R: relación isotópica; **K:** factor de discriminación de masas; **ΔM :** diferencia de masas entre los isótopos.

En la presente Tesis Doctoral se utilizó el modelo exponencial para la corrección del factor de discriminación de masas, evaluándolo a diario, al comienzo y al final de las medidas. El factor de discriminación en el HR-ICP-MS era tan pequeño que no alteraba en absoluto los resultados.

C.6.2. Calibración externa utilizando HR-ICP-MS para la determinación de la concentración total de metales

La cuantificación de los elementos seleccionados para el análisis se realizó mediante calibración externa. Para ello, se construyeron rectas de calibrado con patrones acuosos de los elementos correspondientes, a los cuales se les adicionaron los mismos patrones internos adicionados a las muestras (Ga e Y). Cada calibrado constó de 9 puntos de concentración variable en función de las muestras a analizar y de las concentraciones esperadas. Con el fin de asegurar la inexistencia de efectos de memoria, así como posibles derivas de señal se midió un blanco tras cada muestra medida (HNO_3 al 2 % más adición de los patrones internos). Los coeficientes de correlación (R^2) obtenidos para los elementos objeto de estudio, una vez corregida la señal con el patrón interno más adecuado en cada caso, oscilaron entre 0,9997 y 1.

C.6.3. Tratamiento de datos estadísticos

Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS para Windows versión 20. (SPSS Inc, Chicago, Illinois). Se estudiaron descriptivamente las concentraciones mediante media, desviación típica, mediana y valores mínimo y máximo e Intervalos de confianza del 95% para la media. Se calculó el coeficiente de variación de Pearson como cociente desviación típica entre media. Las comparaciones de metales según los años de seguimiento se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Para

medir la concordancia se utilizó la correlación intraclass mediante el Alfa de Cronbach. La significancia estadística se definió para una $p < 0,05$.

C.7. INSTRUMENTACIÓN EMPLEADA EN LOS ANÁLISIS COMPLEMENTARIOS

C.7.1. Análisis XPS (X-Ray photoelectrons spectroscopy)

La técnica XPS está adaptada al análisis de la superficie de muestras. Se utilizó en nuestro estudio para el análisis de las prótesis extraídas cuando se realizó cirugía de revisión. Un haz de fotones excita la superficie y se liberan electrones con una energía cinética característica que permite la identificación y la cuantificación de los elementos presentes en superficie. Se puede también determinar el estado de oxidación de estos elementos.

El equipo empleado para el análisis fue el Espectrómetro de fotoelectrones de rayos X (XPS) Specs (Figura 36), equipado con dos fuentes de rayos X (policromática con filamentos de magnesio y Aluminio y monocromática con filamentos de plata y Aluminio), sistema de decapado superficial (sputtering) basado en un cañón de iones argón, cañón de electrones para el análisis de muestras no conductoras, sistemas de tratamiento térmico de la muestra y sistemas de giro de la muestra en la cámara de análisis.

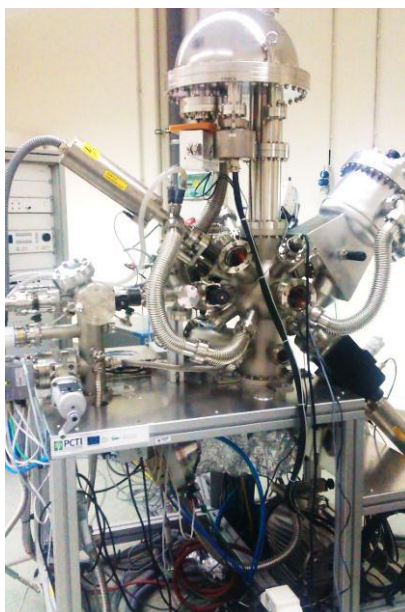


Figura 36: Espectrómetro de fotoelectrones de rayos X (XPS) Specs, emplazado en los Servicios Científico Técnico de la Universidad de Oviedo.

Un rayo X estimula los electrones en cualquier orbital y los electrones salen a una velocidad típica. Con este ensayo, se determina la energía de enlace E_b (energía que hay entre un electrón y el núcleo). La E_b es una energía específica de cada elemento químico y también de cada orbital de este elemento. Utilizando la igualdad siguiente se puede calcular esta energía:

$$E_b = h\nu - E_c - W$$

Donde:

- ✓ **E_b**: energía de enlace. Da informaciones sobre el electrón desplazado y así da una información química.
- ✓ **h**: esta energía es la que se aplica con el rayo X. Así conocemos su valor durante el ensayo.
- ✓ **E_c**: energía cinética del electrón que sale de su orbital. Se obtiene gracias a la velocidad del electrón que quita su orbital.
- ✓ **W**: Energía de trabajo que depende de la máquina. Es una constante.

Las muestras se analizaron empleando un cañón de rayos X con ánodo de magnesio ($K\alpha=1.253,6$ eV) y un cañón de electrones de baja energía para compensar el efecto de carga. Se empleó el modo "Large Area" de las lentes electromagnéticas en combinación con una rendija de 7x20 mm; se hizo un barrido general de baja resolución empleando un paso de energía de 1 eV y una energía de paso de 90 eV. Posteriormente se seleccionaron los elementos de mayor interés (Mo, Co, Ca, Fe, O y Cr) para los que se hizo un análisis de alta resolución con varios barridos empleando un paso de energía de 0,1 eV y una energía de paso de 30 eV. En todos los casos el tiempo de integración fue de 300 milisegundos.



Figura 37: Imagen ampliada de la muestra en el momento del análisis mediante XPS.

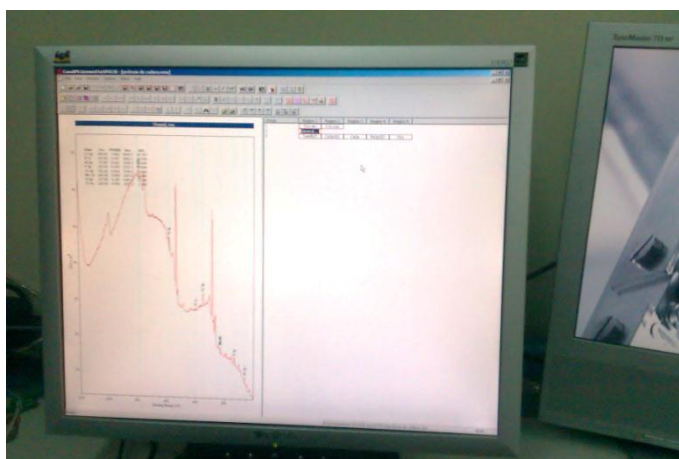


Figura 38: Imagen del programa informático empleado para la obtención de los espectros.

En la Figura 37 se puede observar la pieza sometida a análisis y en la Figura 38 la integración de los datos en el programa de tratamiento de datos “CasaXPS v. 2.3.15”.

C.7.2. Análisis mediante Microscopio electrónico de barrido

Para visualizar objetos inferiores a $1 \mu\text{m}$ es necesaria la utilización de un microscopio electrónico de barrido (Scanning Electron Microscope), que utiliza una longitud de onda de varios órdenes de magnitud inferior al microscopio óptico, permitiendo obtener una mayor resolución.



Figura 39: MEB JEOL-6610LV con microanálisis.

Es una técnica analítica de observación que permite obtener una imagen de alta calidad con unos aumentos de típicamente 20.000x. Se utiliza para el estudio de la topografía superficial de los materiales sólidos alcanzando una resolución de 0,2 nm. El SEM contiene un filamento que se calienta mediante el paso de una corriente y emite electrones por emisión termiónica. El haz de electrones procedentes de este filamento se acelera a un voltaje de 10-40kV y se hace pasar a través de una columna en ultra alto vacío, siendo focalizado por un conjunto de lentes electromagnéticas sobre la superficie de la muestra. A continuación el haz es barrido (siguiendo un patrón de líneas paralelas) sobre un área de la superficie de la muestra en sincronización con el haz de un tubo de rayos catódicos de una pantalla de visualización. Cuando los electrones inciden sobre la superficie de un material pueden producirse varios fenómenos (Figura 40):

- ✓ **Absorción de electrones y reemisión de rayos X:** los electrones son absorbidos por el material, que se excita y posteriormente libera energía en forma de rayos X. Dado que estos rayos X son característicos de cada material, se pueden emplear para evaluar las composiciones atómicas de los materiales objeto de estudio.

- ✓ **Electrones Auger:** los electrones interactúan con la muestra y provocan la emisión de electrones de capas internas.

✓ **Electrones secundarios:** los electrones del haz interactúan con la muestra provocando la emisión de electrones de capas externas. Estos electrones llevan información morfológica y permiten realizar e imágenes con gran profundidad de campo.

✓ **Electrones retrodispersados:** Al interactuar con la muestra, parte del haz de electrones resulta retrodispersado. Estos electrones llevan información de la morfología del material, y de la densidad electrónica de la región de la muestra con la que han interactuado; de modo que permiten visualizar las distintas fases presentes.

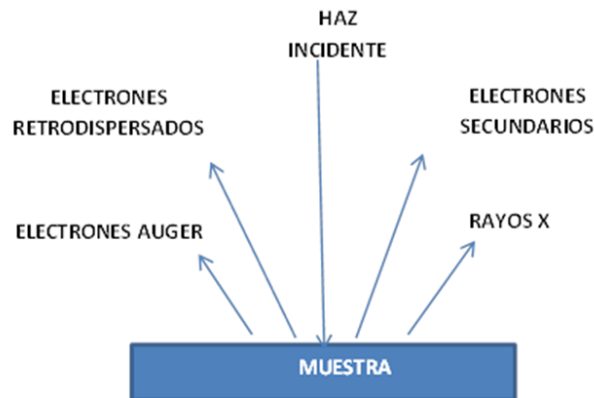


Figura 40: Señales generadas al interactuar un haz de electrones con un material.

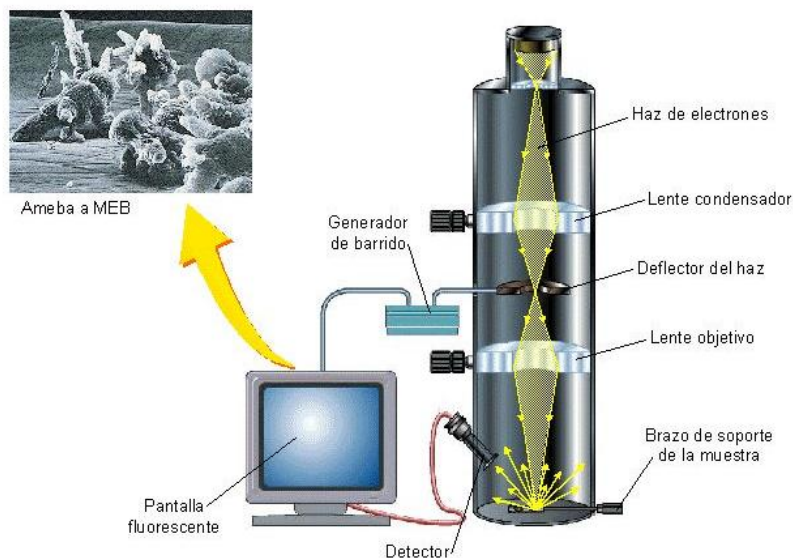


Figura 41: Esquema del funcionamiento de un microscopio electrónico de barrido. Imagen tomada del sitio: <http://www.ecured.cu/index.php/Archivo:Microscopio-barrido.jpg>²¹².



Figura 42: Pantalla en la que se visualiza el tejido analizado mediante microscopía electrónica de barrido.

La corriente de electrones emitidos es recogida por un detector, amplificada y, finalmente, tiene lugar la reconstrucción de la imagen del objeto (Figura 41 y42). Como se han comentado anteriormente, en función de la señal recibida se pueden obtener distintos tipos de información: deducción y cuantificación de los elementos químicos que componen el material, análisis morfológico, discriminación de fases y microanálisis. Para evitar que se cargue la superficie de la muestra durante la observación cuando se trabaja con materiales aislantes, es necesario metalizarlos. Generalmente se recubren las muestras con capas finas de Au (Oro).

C.7.3. Análisis mediante Microscopio óptico

A pesar de las ventajas potenciales de las prótesis de recubrimiento M-M, se conoce la posibilidad de la aparición de una respuesta de hipersensibilidad local a los componentes metálicos de la aleación (compuestos de CoCrMo, o Ni) que acaba originando un fracaso de la prótesis. Todavía no existe un consenso en cuanto a la terminología a emplear y en la literatura se puede encontrar “reacción de hipersensibilidad a metales”, “pseudotumor”, y “lesión aséptica dominada por linfocitos y asociada a vasculitis (ALVAL, “aseptic lymphocyte-dominated vasculitis-associated lesion”). Esta última es la más descriptiva y más ampliamente reconocida. El tejido ALVAL (Figura 43) extraído de los pacientes que sufrieron cirugía de revisión fue examinado mediante Microscopio

Electrónico de Barrido MEB JEOL-6610LV con microanálisis (Figura 39 y 42). Fue sometido a un proceso de acondicionamiento²¹³ con recubrimiento de oro y posteriormente se obtuvieron piezas de 1 cm de diámetro aprox.

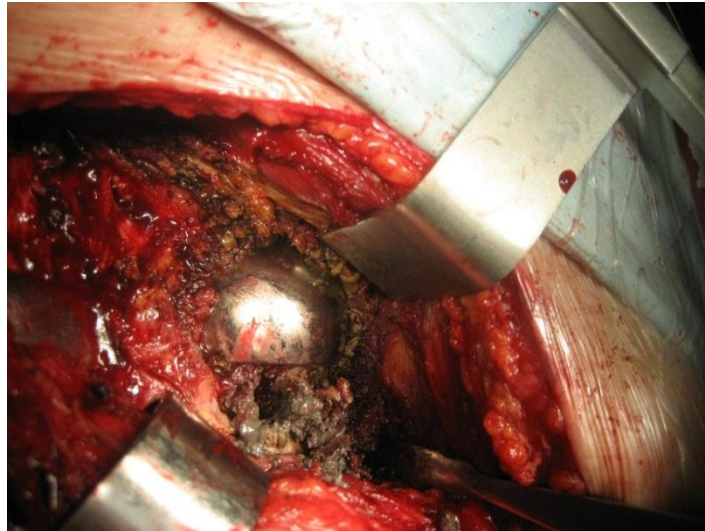


Figura 43: Fotografía intraoperatoria de un gran “pseudotumor” adyacente a la prótesis.

Se cree que este tejido es muestra de una reacción de hipersensibilidad tipo IV. Se trata de una respuesta mediada por células y que se caracteriza por la presencia de linfocitos, histiocitos y, en algunos casos, células gigantes multinucleadas. El reclutamiento de células inflamatorias en el tejido afecto conlleva la liberación de factores quimiotácticos y citotóxicos. El daño tisular puede ser extensivo como resultado de los efectos de células T y macrófagos. Metales como Cr y Co parecen ser altamente inmunogénicos. Las partículas de desgaste de los implantes de segunda generación presentan menor tamaño de partícula y mayor área superficial que facilita su difusión en los tejidos circundantes²¹⁴. Al igual que en otras descripciones de ALVAL se puede observar en las imágenes un exudado necrótico, inflamación sinovial e hiperplasia. Pero la presencia de infiltrado perivascular constituye el hecho diferencial para afirmar que se trata de tejido ALVAL.

Se obtuvieron muestras de tejido ALVAL de los pacientes sometidos a cirugía de recambio. Los tejidos fueron sometidos a los procesos estándar de acondicionamiento y de tinción con hematoxilina-eosina para su estudio histológico con microscopio óptico, utilizando formol como fijador y soluciones alcohólicas en concentraciones crecientes

para su deshidratación. Antes de su inclusión en parafina, las muestras fueron introducidas en un baño de xilol para su aclaramiento. Cuando los cortes se encontraban sobre los portas la parafina era eliminada y, posteriormente, para rehidratarlos, pasados por una serie de graduaciones decrecientes de alcohol etílico hasta llegar a una solución 100% de agua. Una vez rehidratadas, las muestras se teñían con Hematosilina-Eosina. Tras su tinción se deshidrataban de nuevo para asegurar su fijación permanente del cubreobjetos.

Para la inclusión en parafina se realizó de forma automática mediante un procesador modelo Jung T.P. (Leica Microsistemas, S.A.), para la tinción de los cortes un autoprocesador modelo Jung Autostainer XL (Leica Microsistemas S.A.) y para el montaje de las laminillas un montador automático modelo CV 5000 (Leica Microsistemas S. A.). El microscopio utilizado fue el Olympus CAST2.

C.7.4. Análisis microestructural de la superficie de la prótesis de cadera de recubrimiento M-M ASR[®] mediante Estereomicroscopio

El estereomicroscopio es un microscopio óptico con dos objetivos y dos oculares que poseen un doble prisma, el cual permite enderezar las imágenes y conservar el relieve. La iluminación del objeto por estos microscopios se hace por transparencia o por Incidencia. El estereomicroscopio tiene la habilidad de percibir la profundidad mediante la transmisión de una imagen doble que produce el efecto estereoscópico. En observaciones tridimensionales donde la profundidad y el contraste son críticos para la interpretación de la estructura del espécimen, el estereomicroscopio es muy eficiente. Los estereomicroscopios de mayor calidad están equipados de un lente de zoom o un tambor rotatorio que permite disminuir o aumentar la magnificación. El sistema está diseñado para que se puedan hacer cambios rápidos y continuos en la magnificación mientras se mantiene el microscopio en foco. Permite magnificaciones entre los 5x y 378x²¹⁵.

El equipo empleado para el análisis fue el Estereomicroscopio de fluorescencia Leica M205FA (Figura 44 y 45) para estudios de transmisión (contraste y relieve), reflexión y fluorescencia. Óptica: 1x (distancia de trabajo 61,5mm), 2x (distancia de trabajo 20 mm) y

5x (distancia de trabajo 19 mm). Zoom de 0,7 a 20,5x. Luz de reflexión por anillo de LED con iluminación 1/4, 1/2 o anillo completo. Bloque de filtros para fluorescencia para objetivos 1x y 2x: UV, GFP y DsRed. Bloque de filtros para fluorescencia para objetivo de 5x: GFP y DsRed. Cámara digital de color, Leica DFC310FX, resolución máxima 1392x1040 pixels (1,4 Mpixels CCD). Para ello se realizó un análisis de la rugosidad superficial de la cabeza de la prótesis retirada en 11 pacientes.



Figura 44: Estereomicroscopio Leica M205FA.

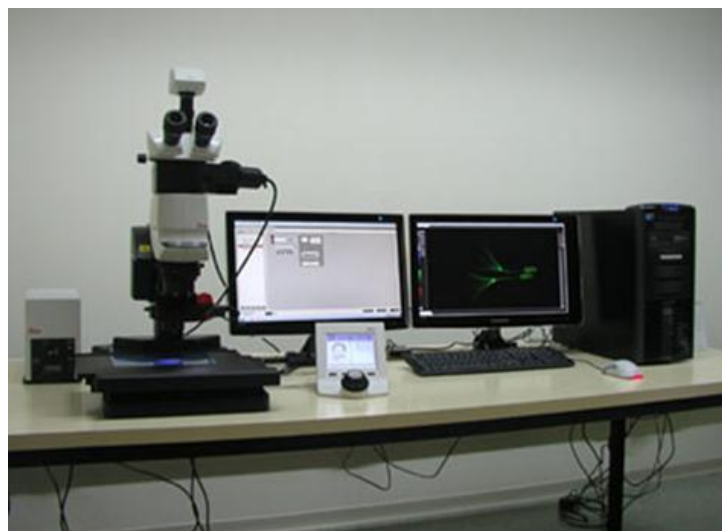


Figura 45: Estereomicroscopio Leica M205FA y software empleado para la construcción de imágenes.

C.7.5. Análisis de metales no protocolizados en suero, orina y cabello (Al, Mn, Mo, Ni, Ti)

Se aplicó la metodología descrita en los apartados C.2 a C.6. en una segunda fase.

D. RESULTADOS



D.1. RESULTADOS DE LOS PARÁMETROS CLÍNICOS Y RADIOGRÁFICOS EVALUADOS EN CONSULTA

Los datos obtenidos según el cuestionario realizado en el ámbito de la consulta externa fueron los siguientes:

La edad media del grupo fue de 57 ± 9 (35-76) años y el índice de masa corporal medio de $29,4 \pm 5,37$ (19,58-43,38). De los 45 pacientes, 2 eran mujeres. Veinte pacientes eran pensionistas. El número medio de comorbilidades por paciente fue de 3,72 (rango 1-7). El número medio de fármacos consumidos por paciente fue de 1,58 (rango 0-9). En cuanto a las alergias, se observaron 8 casos en total: penicilina (n=2), heno (n=1), tetraciclinas y gramíneas (n=1), polvo y humedad (n=1), esparadrapo (n=2) y diclofenaco (n=1).

El modelo de ASR[®] que se implantó fue ASR[®] 300 en 10 pacientes y ASR[®] estándar en 35 pacientes. El número de pacientes implantados por año fue: 3 en 2005, 11 en 2006, 12 en 2007, 9 en 2008, 10 en 2009. Se emplearon diversos tamaños de cúpula acetabular y femoral con valores medios de 56,43mm (50-64) y 49,48 mm (28-58) respectivamente. El tiempo medio transcurrido desde la implantación de la artroplastia era de 52 (28-85) meses. Durante el seguimiento, se practicó cirugía de revisión en 11 pacientes debido a fractura de cuello femoral (2 casos), luxación recidivante (1 caso), elevación de los niveles de iones y presencia de quistes periarticulares en RNM (5 casos), y dolor de origen incierto (3 casos). Estos pacientes se reintervinieron implantando un modelo artroplástico con fricción convencional M-P.

El Oxford Hip Score medio fue de 51,24 (rango 17-60). En cuanto a la satisfacción de los pacientes, ocho de ellos no estaban satisfechos. Se obtuvieron valores medios en la escala EVA de evaluación del dolor de 1,72 puntos (rango 0-7). En once casos se presentaba dolor en ingles. En diez pacientes había presencia de chasquidos, la movilidad estaba limitada en 12 casos y en dos casos la flexión máxima era de 90°. Seis pacientes presentaron un empeoramiento sintomático en los últimos meses del estudio.

En los estudios analíticos todos los pacientes presentaron una función renal óptima con una tasa de filtración glomerular superior a 60 mL/min. No se detectaron alteraciones en la serie blanca. No se produjeron alteraciones en la serie roja o blanca de los hemogramas practicados excepto en tres casos secundarios a etilismo crónico (n=2) y tratamiento inmunomodulador con adalimumab por Crohn (n=1).

En cuanto al estudio radiográfico simple observamos que los valores medios del ángulo del vástago y el ángulo del cotilo fueron de 51,25º (rango 37-75) y de 142,49º (rango 124-160), respectivamente. Se detectaron osteólisis cervical en 4 casos, osteólisis femoral en el área I de De Lee²⁰⁶ en un caso, en las áreas II y III en 3 casos, quistes en 7, osteopenia acetabular en 7, estrechamiento de cuello en 3, calcificaciones periacetabulares en 5 y medialización de la prótesis en 2.

D.2. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS DE IONES METÁLICOS

D.2.1. Estudio de la presencia de iones metálicos (Cromo, Cobalto y Molibdeno) en cabello de pacientes con artroplastias de cadera con fricción M-M y su modificación con el paso del tiempo

Se observó un incremento en los niveles medios de metales en suero, orina y cabello. Los niveles de Cr y Co en suero y orina resultaron ser más elevados que los considerados normales. En cabello, Cr, Co y Mo presentaron niveles muy elevados (Tabla 9).

	Media (95% CI)			Mediana	DE	Coeficiente variación	Min.	Max.
	Media	Límite inferior	Límite superior					
Cr suero*	8,29	2,69	13,89	2,25	17,97	2,17	0,50	101,00
Co suero*	8,38	1,54	15,23	0,70	21,97	2,62	0,50	111,00
Cr orina*	16,20	6,06	26,35	4,75	32,55	2,01	1,00	163,70
Co orina*	75,40	15,93	134,87	4,70	190,86	2,53	1,30	810,20
Cr cabello**	163,27	64,46	262,08	70,90	300,62	1,84	10,20	1616,30
Co cabello**	61,98	17,85	106,11	8,20	126,48	2,04	0,30	618,80
Mo cabello**	31,36	18,36	44,37	20,70	37,86	1,21	0,10	222,10

*ppb (µg/L), **ppm (µg/g)

Tabla 9. Concentración de Cr, Co y Mo en cabello y de Cr y Co en suero y orina.

La evaluación de Co presentó una gran disparidad en suero mientras que en cabello el coeficiente de variación fue más bajo para los tres metales examinados.

No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de metales en función del tiempo de seguimiento (Kruskal-Wallis test); sin embargo, como se muestra en la Figura 46, los niveles de Cr en suero, orina y cabello disminuyen ligeramente en los cinco primeros años y vuelven a incrementarse al sexto año. Los niveles de Co en orina muestran una reducción remarcable al quinto año y un incremento drástico en el sexto año. En cabello (Figura 47), tanto Cr como Co aumentan a los cuatro años, disminuyen a los 5 años, y vuelven a aumentar a los 6 años. Por otra parte, Mo incrementa progresivamente después del cuarto año.

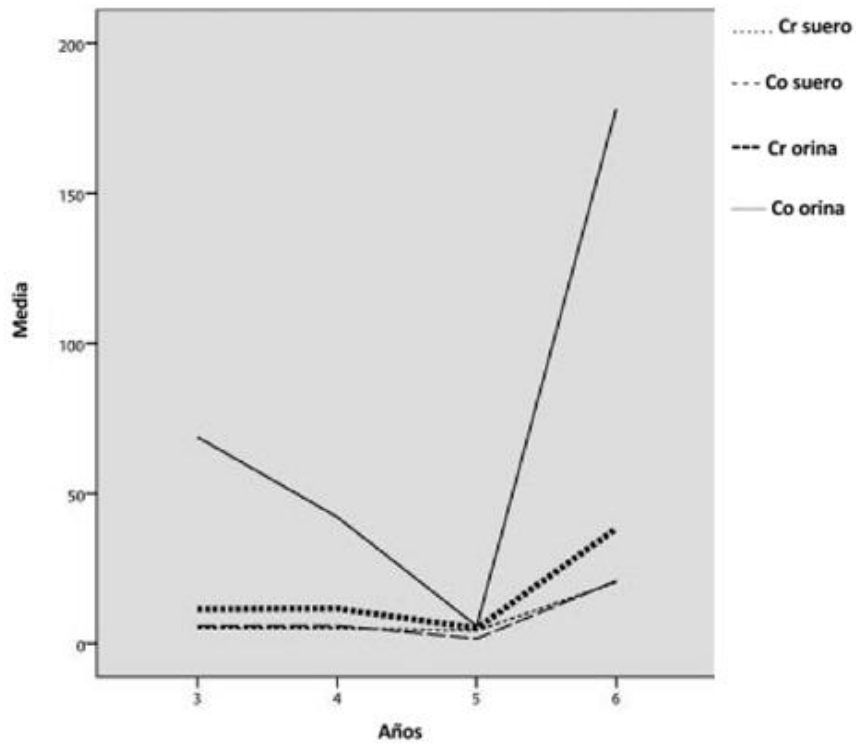


Figura 46: Niveles de metales en suero y orina durante el periodo de seguimiento 3-6 años.

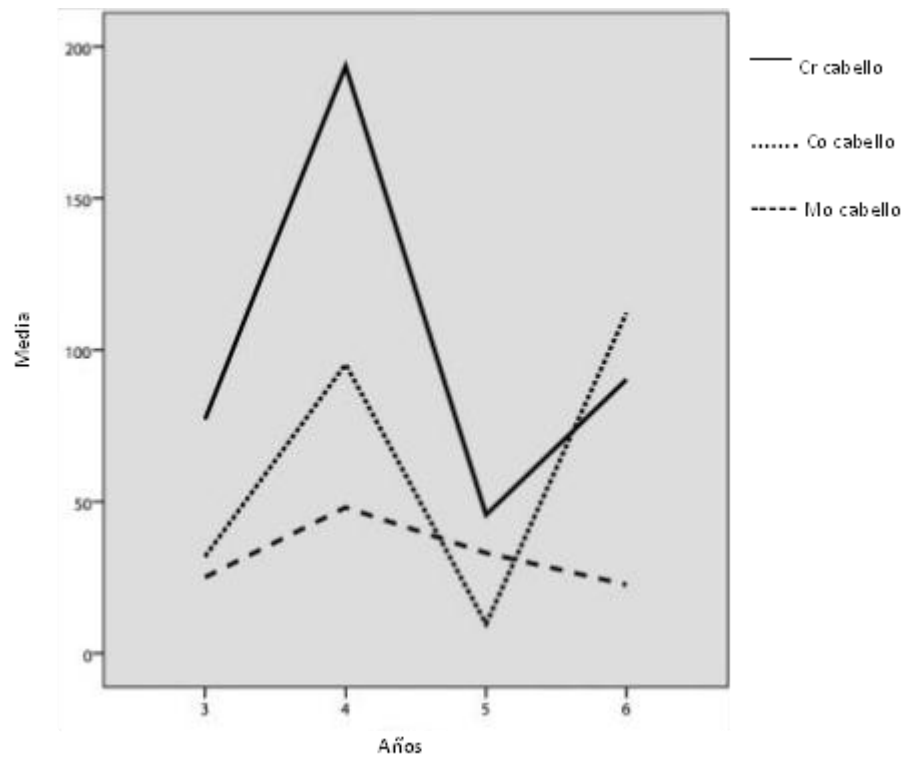


Figura 47: Niveles de metales en cabello durante el periodo de seguimiento 3-6 años.

D.2.2. Validación de la técnica mediante un estudio comparativo con la medición de estos iones en suero y orina

Se observa una elevada concordancia (correlación intraclass alfa de Cronbach) entre orina-Cromo y suero-Cromo, y entre Cobalto-orina y Cobalto-cabello; se observó una concordancia moderada entre Cobalto-orina y Cobalto-suero, y entre Cobalto-cabello y Cobalto-suero. Finalmente, no se encontraron concordancias entre Cromo-suero y Cromo-cabello, ni entre orina-Cromo y Cromo-cabello (Tabla 10).

	Cr orina	Co orina	Cr Cabello	Co Cabello
Cr suero	0,833		0,013	
Co suero		0,356		0,437
Cr orina			0,012	
Co orina				0,734

Tabla 10. Concordancia entre los análisis en cabello, suero y orina.

D.2.3. Determinación de los niveles de metales en suero y orina tras la cirugía de revisión e implante de un modelo artroplástico metal-polietileno

Con el fin de averiguar si los niveles de metales en cabello se modificaban al retirar la prótesis, se analizó específicamente el subgrupo de 11 pacientes sometidos a cirugía de revisión, comparando los niveles antes y después de este último procedimiento (Tabla 11).

Determinación	Antes Cirugía Revisión			Después Cirugía Revisión			p- valor***	
	Media	DS	Rango	Media	DS	Rango		
Cr	Suero*	23,08	34,86	0,6-101,00	12,57	14,04	1,90-41,40	0,866
	Orina*	42,83	57,54	3,90-163,70	13,03	13,27	0,6-30,5	0,018
	Cabello**	185,32	226,56	18,70-683,70	102,56	132,11	13,00-396,00	0,028
Co	Suero*	25,81	40,55	0,50-110,00	13,11	29,27	0,50-79,40	0,753
	Orina*	205,62	310,65	1,40-810,20	44,31	94,9	0,60-259,00	0,063
	Cabello**	147,4	233,26	3,70-618,80	47,11	74,2	0,30-205,80	0,249
Mo	Cabello**	39,31	25,18	13,90-74,50	18,45	10,85	5,80-35,80	0,043

*ppb (µg/L), **ppm (µg/g), *** test Wilcoxon

Tabla 11. Resultados tras la remoción del implante M-M (n=11).

Encontramos diferencias significativas en los niveles de Cr y Mo en cabello, y una tendencia hacia la significación en el caso de los niveles de Co.

D.2.4. Comprobación de la superposición y equivalencia en el descenso de iones respecto al encontrado en cabello tras la cirugía de revisión

Para conocer si los niveles de estos iones en cabello se modificaban al retirar el implante estudiamos específicamente el grupo de 11 pacientes que habían sido reintervenidos, comparando las cifras de metales antes y después de la cirugía de revisión (Tabla 12). Tras la intervención se observa una disminución en los niveles de Cr, Co y Mo.

	Antes de cirugía de revisión			Después de cirugía de revisión			<i>p</i> *
	Media	DE	Rango	Media	DE	Rango	
Cr cabello	185,32	226,56	18,70-683,70	102,56	132,11	13,00-396,00	0,028
Co cabello	147,4	233,26	3,70-618,80	47,11	74,2	0,30-205,80	0,249
Mo cabello	39,31	25,18	13,90-74,50	18,45	10,85	5,80-35,80	0,043

*test Wilcoxon

Tabla 12. Resultados comparativos tras la extracción del implante (en ppm).

Al estudiar los niveles de metales en 5 pacientes que requirieron cirugía de revisión debido a metalosis, se observó una amplia diferencia en los valores detectados antes y después de la cirugía en suero, orina y cabello (Figura 48).

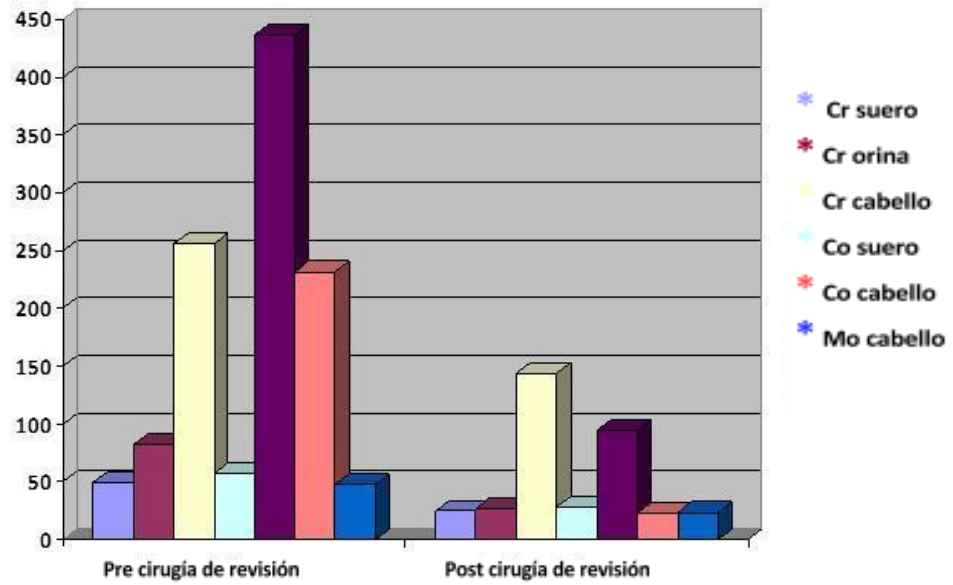


Figura 48: Niveles de metales antes y después de la cirugía de revisión debida a metalosis (*ppb (µg/L) y ** ppm (µg/g)).

En el caso de cabello, los ratios de descenso fueron: 43,8% en los niveles de Cr, 51,1% en los niveles de Mo, y 90,3% en los niveles de Co (Figura 49).

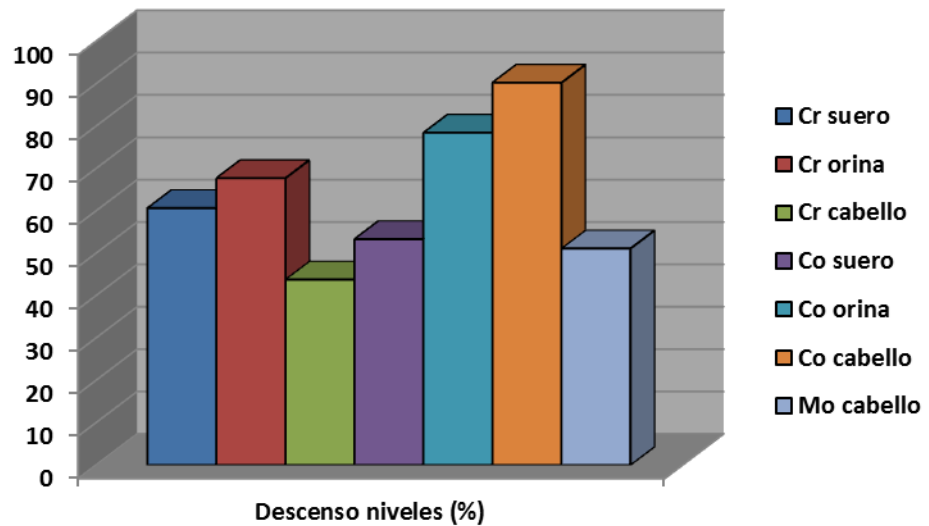


Figura 49: Descenso de niveles de metales en los casos de metalosis.

D.3. ANÁLISIS COMPLEMENTARIO DEL MATERIAL PROTÉSICO Y TEJIDOS EXTRAÍDOS, Y DE LOS METALES MINORITARIOS DE LA ALEACIÓN EN SUERO, ORINA Y CABELLO (AL, MN, MO, NI, Ti).

D.3.1. Análisis complementario del material protésico y tejidos extraídos

D.3.1.1. Resultados del análisis XPS(X-Ray photoelectrons spectroscopy), Espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X

El espectro obtenido se corresponde al doblete Ca2p; el pico Ca2p3/2 se encuentra centrado en 346,9 eV. (Figura 50).

Calcio

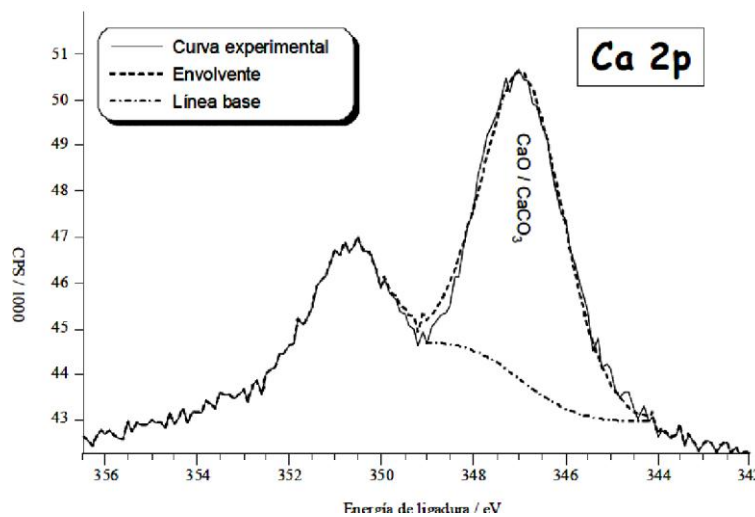


Figura 50: Espectro de XPS para calcio con las posibles asignaciones.

Cobalto

El Cobalto se estudió a partir de la banda Co2p3/2. Se obtuvieron tres curvas con las siguientes energías de ligadura: 781,8 eV (~40% del Co total), 780,3 eV (~47% del Co total) y 778.9 eV (~14% del Co total). (Figura 51).

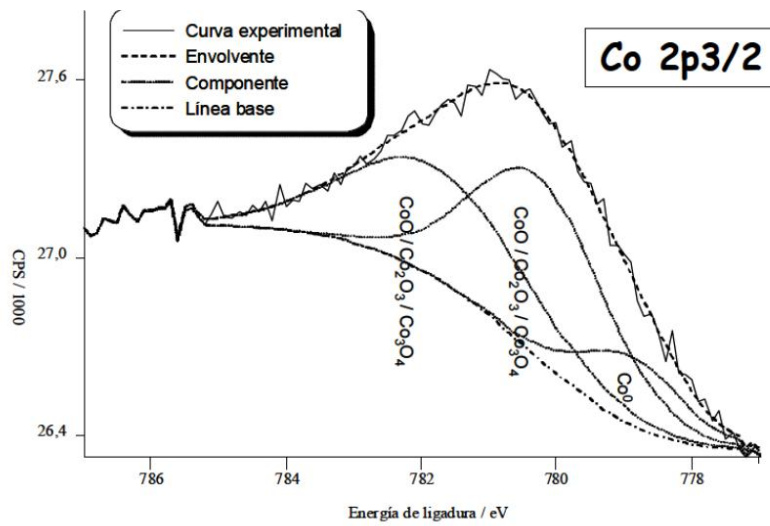


Figura 51: Espectro XPS para Cobalto con las posibles asignaciones.

Cromo

Para el espectro del Cr se obtuvieron 4 curvas con las siguientes energías de ligadura: 574,1, 576,0, 577,0 y 578,2 (Figura 52).

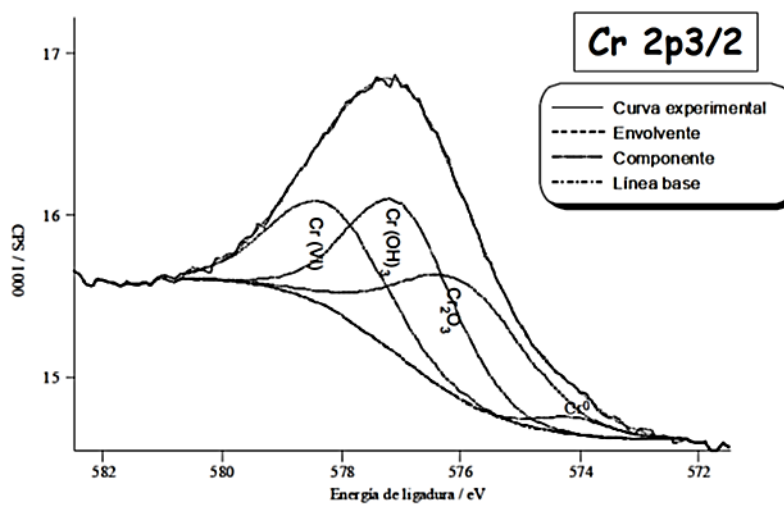


Figura 52: Espectros de XPS para el Cromo con las posibles asignaciones.

Molibdeno

Para el espectro del Molibdeno se obtuvieron las siguientes energías de ligadura: 228,1 eV y 230,0 eV (Figura 53).

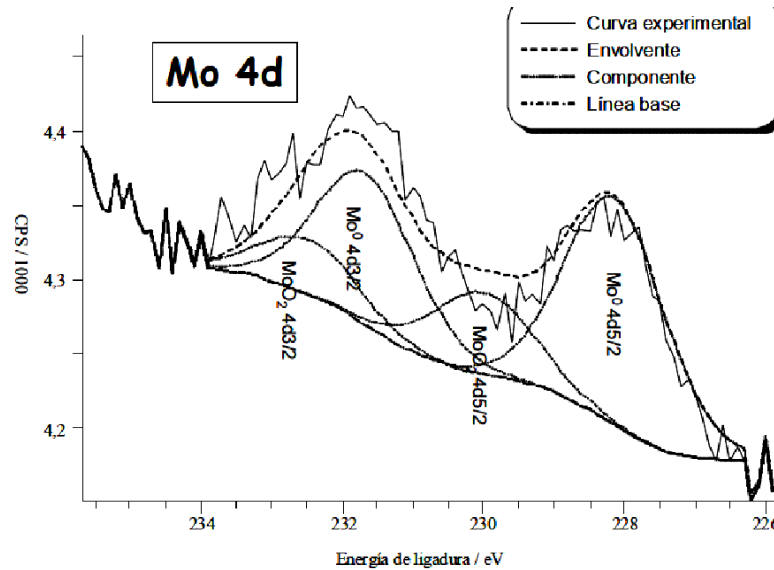


Figura 53: Espectros de XPS para Molibdeno con las posibles asignaciones.

D.3.1.2. Resultados del análisis de tejido ALVAL mediante microscopio electrónico de barrido.

Los análisis mediante microscopía electrónica de barrido han permitido la detección de las partículas de desgaste en tejido ALVAL, obtenido en la cirugía de revisión, de los pacientes que requirieron recambio. En la Figura 54 se observa tejido ALVAL mediante microscopio electrónico de barrido y en la Figura 55 podemos ver un aumento en el que se observa la presencia de linfocitos.

Según los datos obtenidos observamos macropartículas que se corresponden con los elementos mayoritarios de la aleación Cr, Co y Mo (Figura 56 a 59, Tabla 13 y 14).

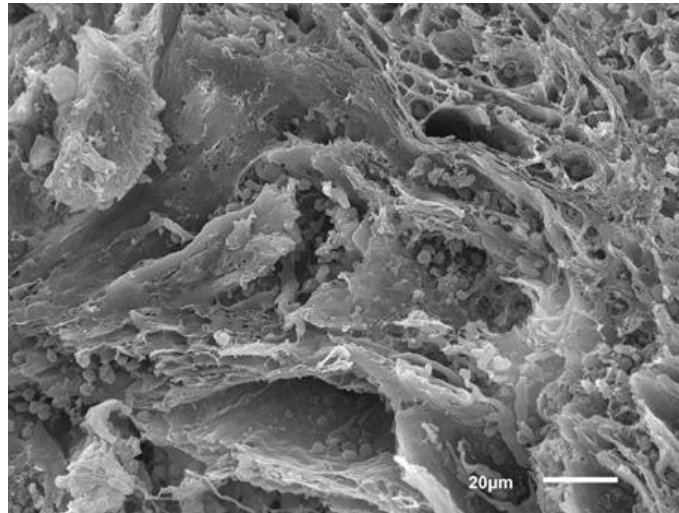


Figura 54: Imagen de tejido ALVAL obtenida a través de microscopio electrónico de barrido.

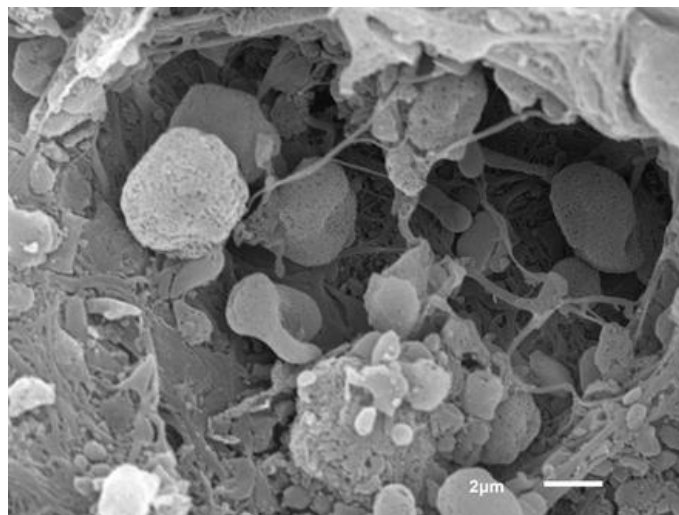


Figura 55: Imagen de tejido ALVAL con presencia de linfocitos.

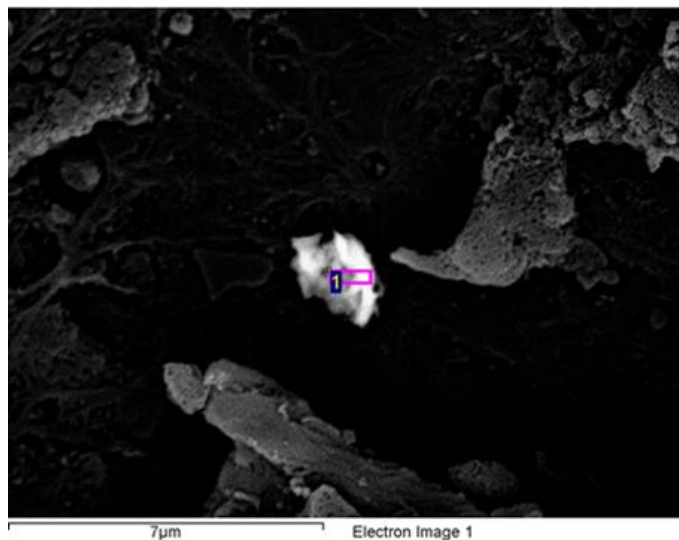


Figura 56: Imagen de una macropartícula metálica de desgaste de prótesis de cadera ASR®.

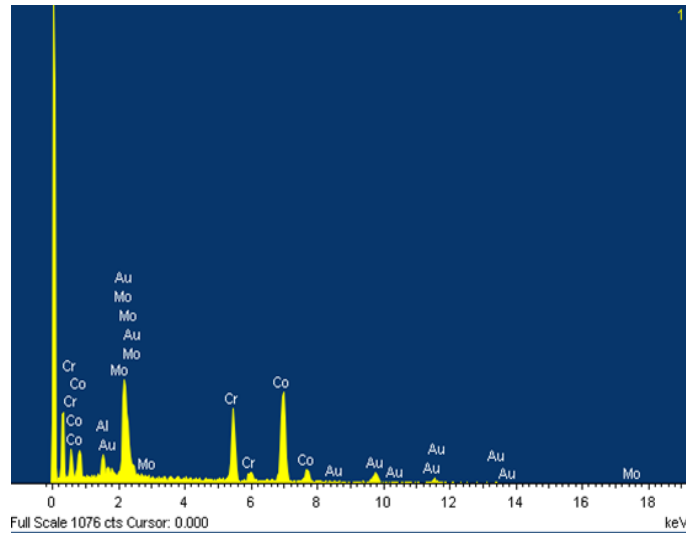


Figura 57: Espectro mediante microscopio electrónico de barrido.

Composición porcentual %						
Spectrum	In stats.	Al	Cr	Co	Mo	Total
1	Yes	9,82	24,99	57,69	7,50	100,00
Mean		9,82	24,99	57,69	7,50	100,00
Std. deviation		0,00	0,00	0,00	0,00	
Max.		9,82	24,99	57,69	7,50	
Min.		9,82	24,99	57,69	7,50	

Tabla 13. Composición cuantitativa de los elementos de una macropartícula metálica de desgaste de prótesis de cadera ASR® encontrada en tejido ALVAL.

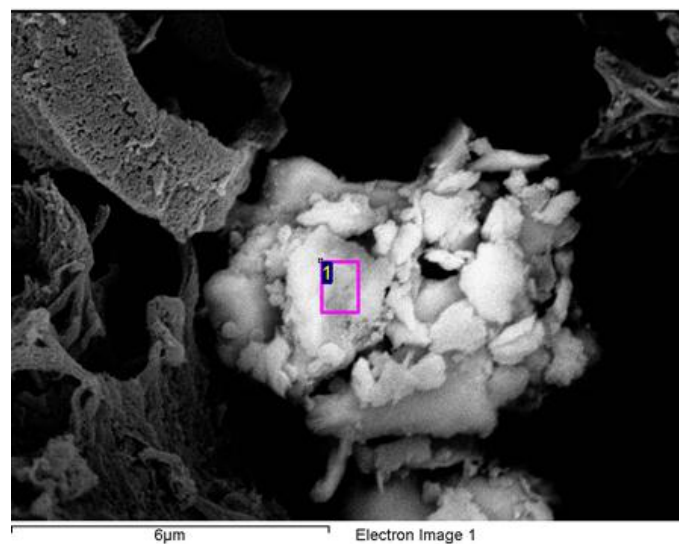


Figura 58: Imagen de una macropartícula metálica de desgaste de prótesis de cadera ASR®.

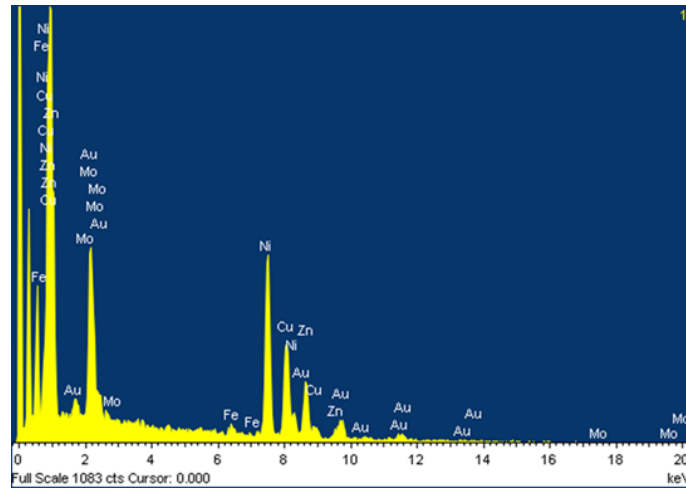


Figura 59: Espectro mediante microscopio electrónico de barrido.

Composición porcentual %							
Spectrum	In stats.	Fe	Ni	Cu	Zn	Mo	Total
Spectrum 1	Yes	1,00	42,57	31,18	22,33	2,92	100,00
Mean		1,00	42,57	31,18	22,33	2,92	100,00
Std. deviation		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
Max.		1,00	42,57	31,18	22,33	2,92	
Min.		1,00	42,57	31,18	22,33	2,92	

Tabla 14. Composición cuantitativa de los elementos de una macropartícula metálica de desgaste de prótesis de cadera ASR® encontrada en tejido ALVAL.

Cabe destacar la presencia de partículas en las que se detecta Mo mientras que Cr y Co están ausentes (Figura 60 y 61, Tabla 15). Todo esto concuerda con los datos presentados en el apartado A.1.5.1 de la Introducción de la presente Tesis Doctoral en la que se destaca la solubilidad de los iones Co^{2+} y Cr^{6+} . Esto justifica las elevadas concentraciones en las matrices biológicas analizadas para Cr y Co.

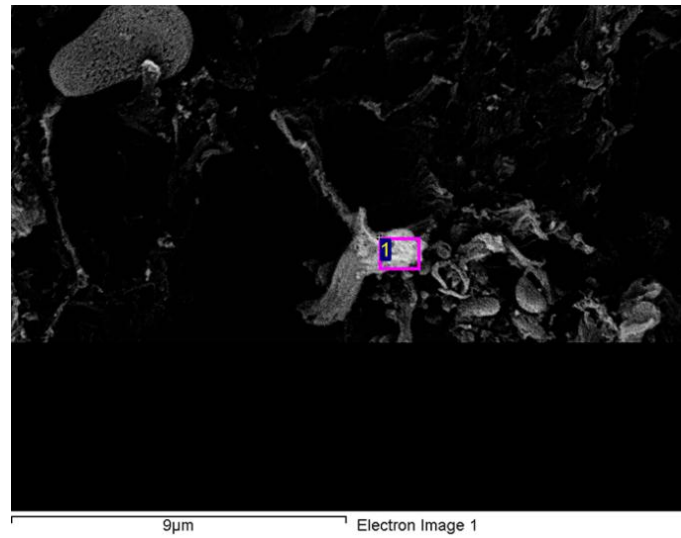


Figura 60: Imagen de una macropartícula metálica de desgaste de prótesis de cadera ASR®.

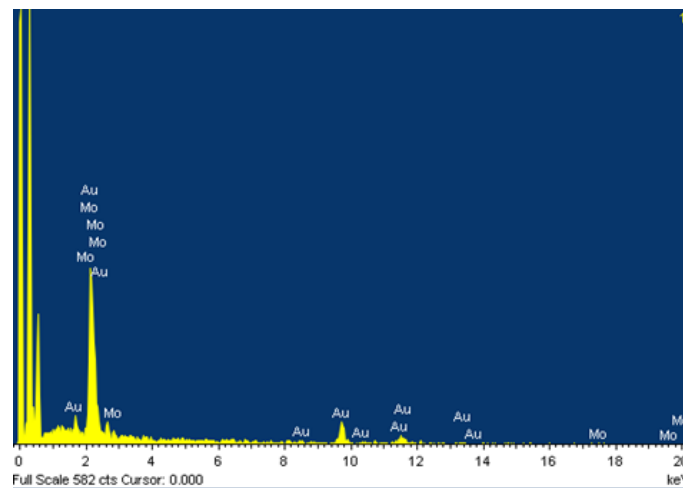


Figura 61: Espectro mediante microscopio electrónico de barrido.

Composición porcentual %			
Spectrum	In stats.	Mo	Total
1	Yes	100,00	100,00
Mean		100,00	100,00
Std. deviation		0,00	
Max.		100,00	
Min.		100,00	

Tabla 15. Composición cuantitativa de los elementos de una macropartícula metálica de desgaste de prótesis de cadera ASR® encontrada en tejido ALVAL.

D.3.1.3.Resultados del análisis del microscopio óptico

En las Figuras 62 a 65 se observan distintos cortes de tejido ALVAL mediante microscopía óptica.

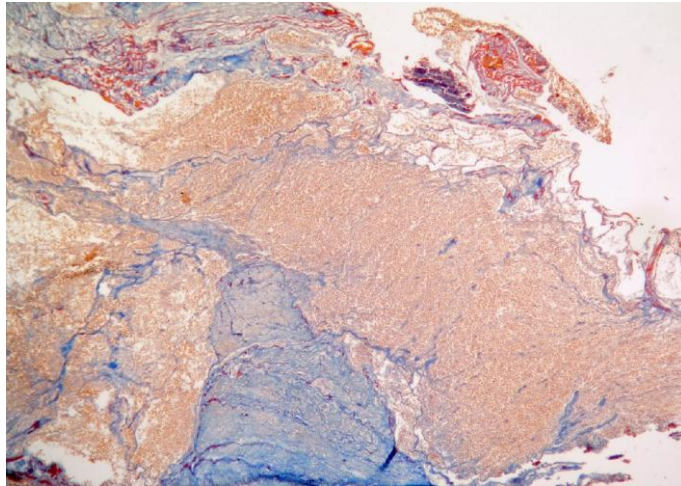


Figura 62: Imagen de tejido ALVAL a través de microscopio óptico x4.

En la Figura 63 se observa vascularización y en la Figura 64 se aprecia más claramente la formación de tejido inflamatorio. Se puede observar el engrosamiento de los vasos, exudación de fibrina, tejido fibroconectivo con necrosis e infiltrado linfocítico difuso.

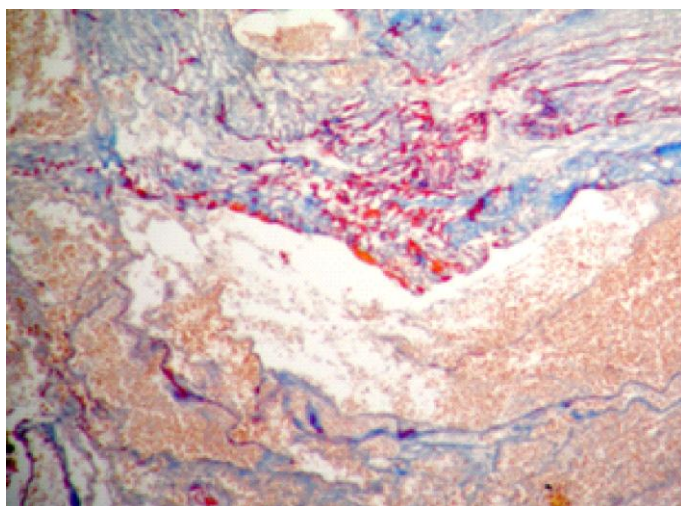


Figura 63: Imagen de tejido ALVAL obtenida a través de microscopio óptico x40.

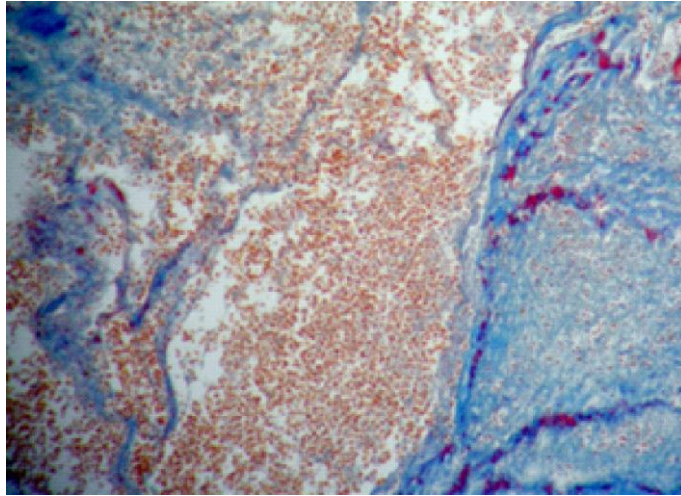


Figura 64: Sección de tejido perivascular teñido con hematoxilina-eosina, con presencia de tejido fibroconectivo con necrosis y áreas con vasos sanguíneos, x200.

En la Figura 65 se observa una estructura abigarrada, porque las células que lo originan son pluripotenciales (pueden dar osteoblastos, osteoclastos,...), hay formación de cartílago, pero sobre todo de hueso.

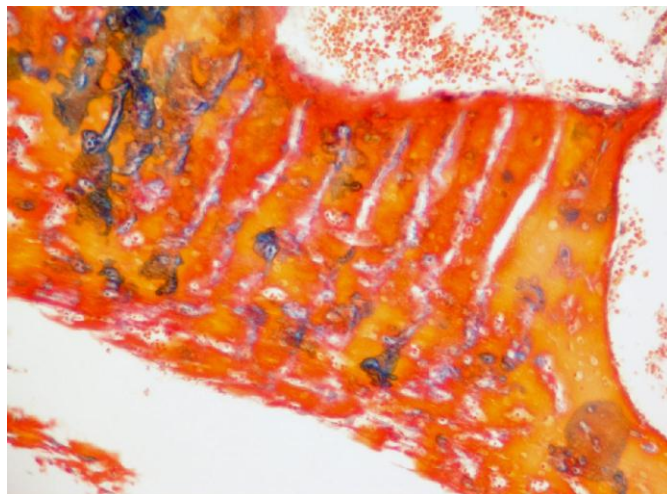


Figura 65: Tejido osteogénico y presencia de linfocitos, x400.

D.3.1.4. Resultados del análisis microestructural de la superficie de la prótesis de cadera de recubrimiento M-M ASR[®] mediante Estereomicroscopio

En los resultados se muestra una mayor rugosidad ($S_a=3,554$) en el borde de fricción que en el centro ($S_a=1,698$), ($t=-2,821$, $p<0,05$). Se puede apreciar como en las Figura 67 y 69 se han producido surcos más profundos que en el caso de las Figura 66 y 68 con la subsiguiente pérdida de material.

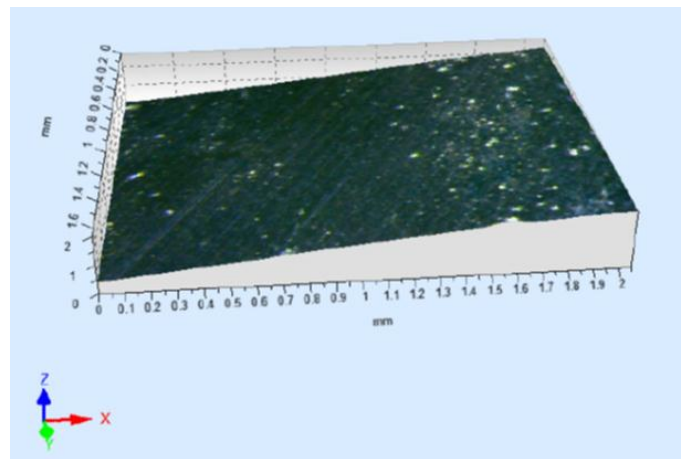


Figura 66: Imagen de la superficie de la prótesis (centro) obtenida a través de Estereomicroscopio.

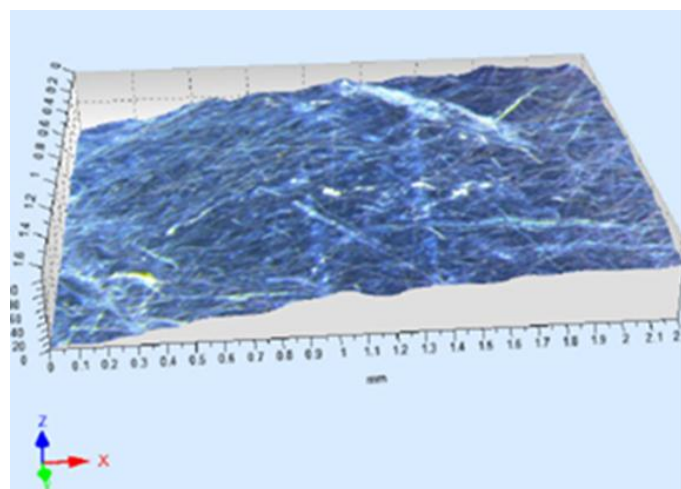


Figura 67: Imagen de la superficie de la prótesis (borde) obtenida a través de Estereomicroscopio.

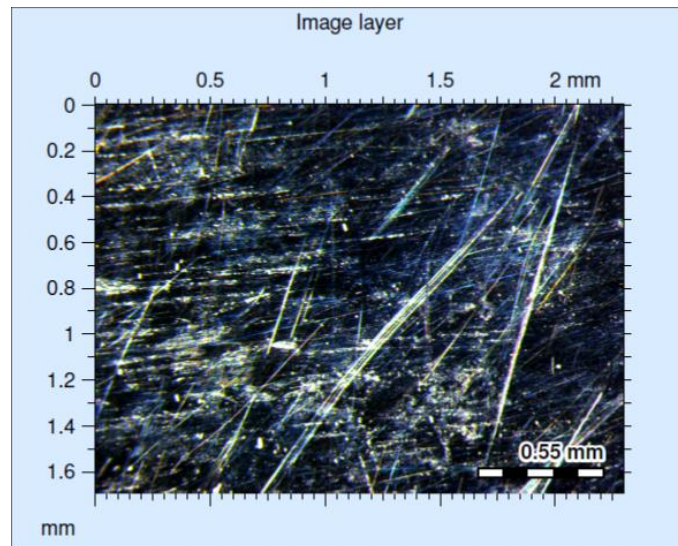


Figura 68: Imagen obtenida a través de Estereomicroscopio en la que se pueden observar surcos y líneas de fricción.

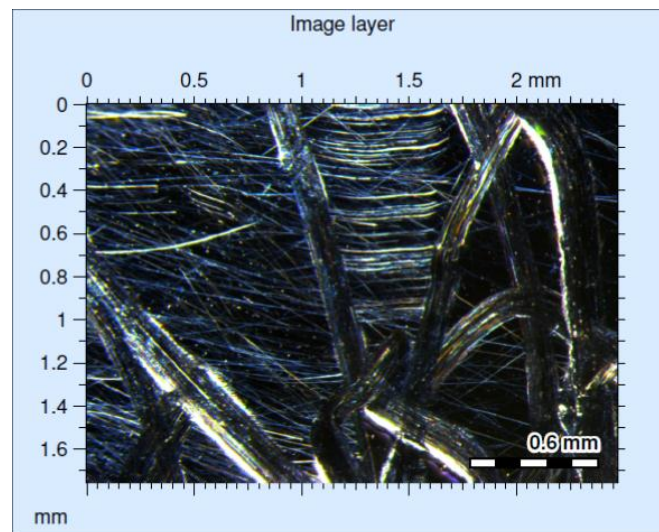


Figura 69: Imagen obtenida a través de Estereomicroscopio en la que se pueden observar surcos y líneas de fricción.

D.3.2. Análisis complementario de los metales minoritarios de la aleación en suero, orina y cabello (Al, Mn, Mo, Ni, Ti)

En las Tablas 16 a 18 se recogen los niveles de metales no protocolizados analizados en suero, orina y cabello expresados como valores medios \pm desviación estándar, mediana y rango. Así mismo, se analizaron los resultados de los niveles de iones en el grupo de pacientes sometidos a cirugía de recambio en cabello para demostrar que el descenso de iones también se refleja en cabello. Tras la realización del test Wilcoxon teniendo

como valores de referencia los hallados en la bibliografía^{159,216} se consideraron como significativos aquellos valores con $p < 0,05$. Los niveles de metales en cabello se estratificaron en subgrupos de pacientes recambiados y no recambiados en el análisis de cabello. Por otra parte, se analizaron el número de pacientes que superaban el límite máximo en población normal.

En orina se detectaron diferencias significativas en todos los casos. En orden descendente el elemento que presenta niveles medios más elevados es Molibdeno (38,33 ppb) seguido de Manganeso (5,63 ppb), Aluminio (4,89 ppb), Níquel (1,75 ppb) y Titanio (0,275 ppb).

Orina	estudio (n=45)				control (n=100)		P valor Wilcoxon	
	g/mL = mg/L ppb	media	mediana	rango	DS	mediana		rango
Al		4,89	4,15	0,40-14	3,50	1,9	0,16-11,2	<0,001
Ti		0,275	0,23	0,10-1,51	0,24		<10	<0,001
Mn		5,63	0,17	0,01-287,15	34,91	0,31	0,11-1,3	0,037
Ni		1,75	0,73	0,01-35,01	4,25	1,8	0,59-4,06	<0,001
Mo		38,33	28,28	0,05-273,19	44,14	20	7-50	<0,001

Tabla 16. Niveles de Aluminio, Titanio, Manganeso, Níquel y Molibdeno en orina de pacientes con prótesis M-M.

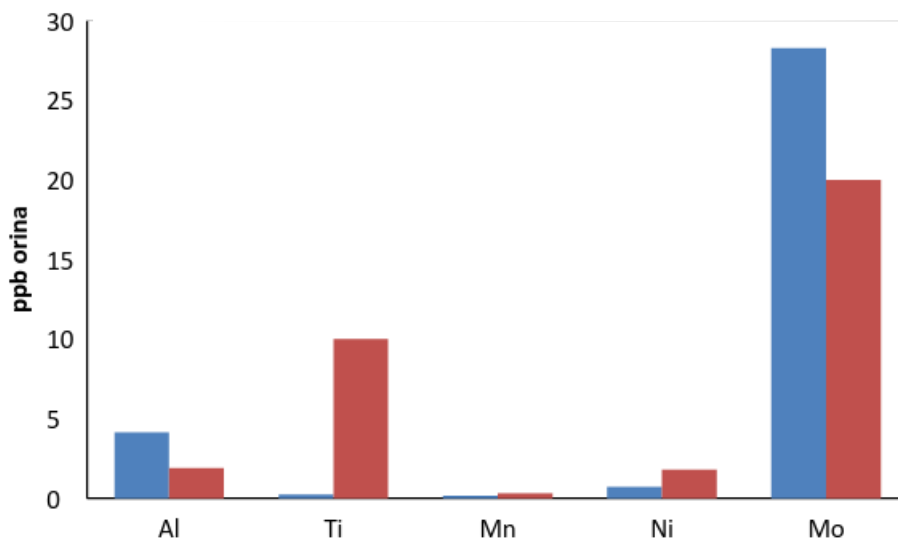


Figura 70: Comparación entre medianas en orina de población de estudio y control respectivamente.

Podemos observar como el elemento mayoritario es Al (10 ppb) seguido de Mo (1,67 ppb) en términos cuantitativos. Ti (1,17 ppb) se encuentra en una posición intermedia y, finalmente, Mn (0,57 ppb) y Ni (0,356 ppb) se encuentran en último lugar. Ti no mostró diferencias significativas respecto a la población de referencia.

Suero (ng/mL= mg/L)ppb	estudio (n=45)			DS	control (n=100)		P valor Wilcoxon
	media	mediana	rango		Mediana/ media*	rango	
Al	10,33	6,38	0,1-40,59	9,17	3,1	1,2-17,3	<0,001
Ti	1,17	0,53	0,09-6,44	1,44	1	1,0-3,0	0,107
Mn	0,57	0,551	0,03-5,64	0,58	1,12	0,63-2,26	<0,001
Ni	0,356	0,178	0,02-2,28	0,44	2,2	0,04-5,31	<0,001
Mo	1,67	1,37	0,22-16,82	2,5	0,44 ^{*217}		0,015**

** Prueba T student.

Tabla 17. Niveles de Aluminio, Titanio, Manganeso, Níquel y Molibdeno en suero de pacientes con prótesis M-M.

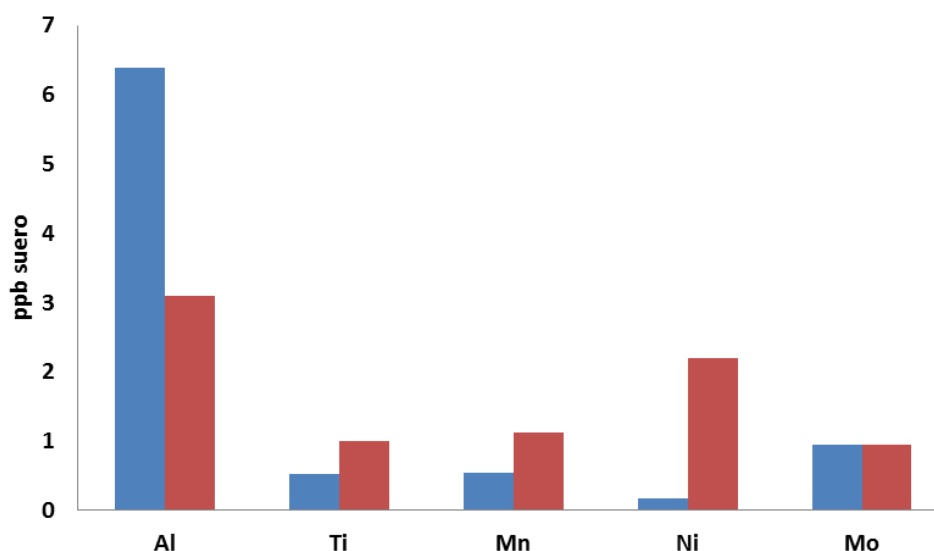


Figura 71: Comparación entre medianas en suero de población de estudio y control respectivamente.

En cabello los niveles medios de metales que se encontraban elevados de forma significativa respecto a los datos hallados en población de referencia fueron Aluminio con 20,93 ppm (recambiados) y 130,10 ppm (no recambiados), Molibdeno 18,45 ppm (recambiados) y 42,87 ppm (no recambiados) y Manganeso 0,275 ppm (recambiados) y 0,278 ppm (no recambiados). No se encontraron diferencias significativas en los niveles detectados de Níquel y Titanio excepto en el grupo de pacientes que

sobrepasaban el límite máximo respecto a la población de referencia: Titanio 125,01 ppm y Níquel 1,976 ppm.

Metales analizados	Población estudio (µg/g)				Población referencia µg/g			
	media	mediana	rango	DS	rango	mediana	p	
Aluminio	Recambiados	20,937	7,48	0,182-97,6332	32,79	0,26-5,30	1,63	<0,001*
	No Recambiados	130,104	7,07	0,5-327,410	626,94			<0,001*
	Superior a límite máx. (n=20) 44%	246,551	19,854	9,48-3018,505	845,2			<0,001*
Titanio	Recambiados	0,215	0,114	0,021-0,507	0,186	<1,0		nds
	No Recambiados	14,5	0,206	0,019-298,01	57,46			nds
	Superior a límite máx. (n=4) 8,88%	125,012	99,854	2,242-298,099	137,95			0,009
Manganeso	Recambiados	0,275	0,205	0,072-0,75	0,236	0,016-0,57	0,067	0,009
	No Recambiados	0,278	0,164	0,022-1,648	0,364			0,011
	Superior a límite máx. (n=7) 15,55%	0,918	0,749	0,577-1,65	0,38			<0,05**
Níquel	Recambiados	0,226	0,137	0,027-0,61	0,241	0,08-0,90	0,23	nds
	No Recambiados	0,406	0,169	0,016-5,273	0,908			nds
	Superior a límite máx. (n=5) 11,11%	1,976	1,147	0,9755,273	1,848			<0,05

Valores en cabello (µg/g)

Tabla 18. Niveles de Aluminio, Titanio, Manganeso y Níquel en cabello de pacientes portadores de prótesis de cadera tipo ASR® DePuy y sometidos a cirugía de recambio. Los niveles en el grupo de pacientes no recambiados eran: Aluminio 130,10 ppm, Molibdeno 42,87 ppm, Manganeso 0,278 ppm.

En las Figuras 72 a 75 se representan los niveles de metales (Al, Mn, Mo, Ni y Ti) en función de los años que el paciente ha mantenido contacto con la prótesis. Con el transcurso de los años se observan ciclos de liberación de los iones más pronunciados. Como podemos observar en los datos obtenidos representados en las gráficas

referidas se producen fluctuaciones en los niveles determinados en las distintas matrices.

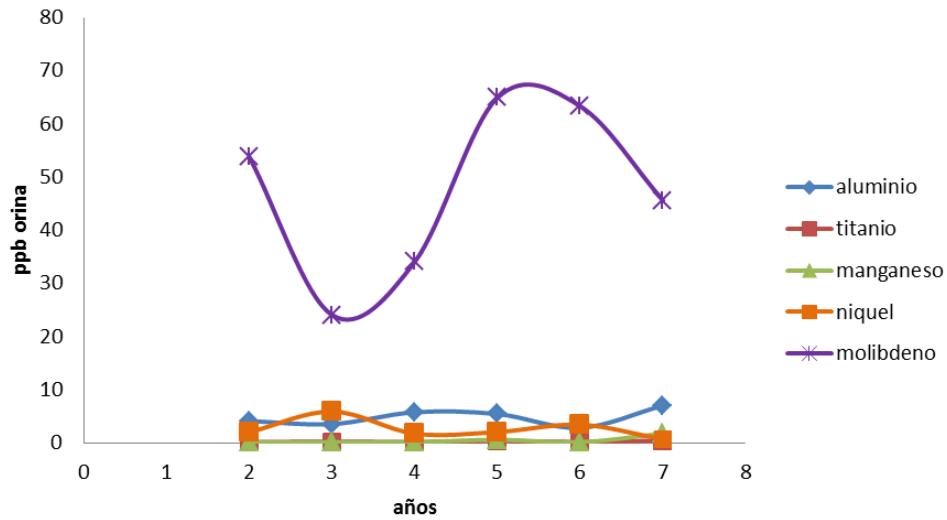


Figura 72: Niveles de metales (Al, Ti, Mn, Ni, Mo) determinados en orina de grupos de pacientes estratificados en función de los años que han sido portadores de la prótesis M-M.

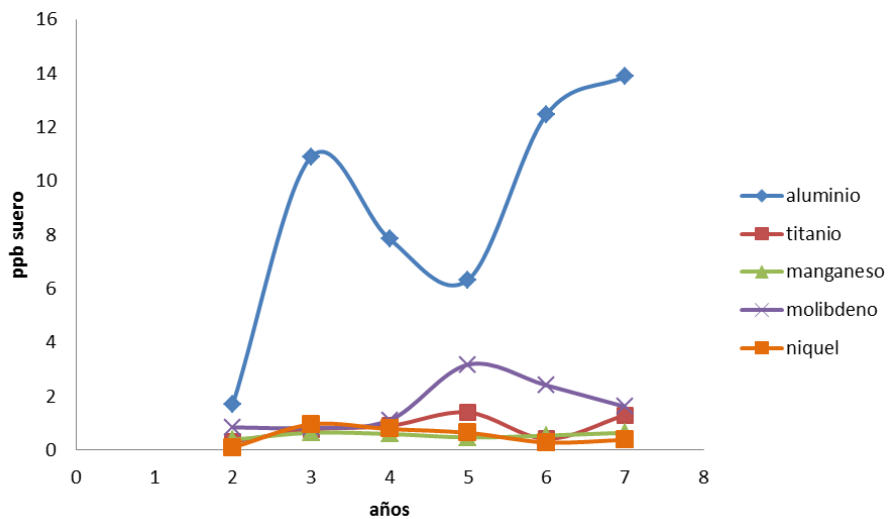


Figura 73: Niveles de metales (Al, Ti, Mn, Ni y Mo) determinados en suero de grupos de pacientes estratificados en función de los años que han sido portadores de la prótesis M-M.

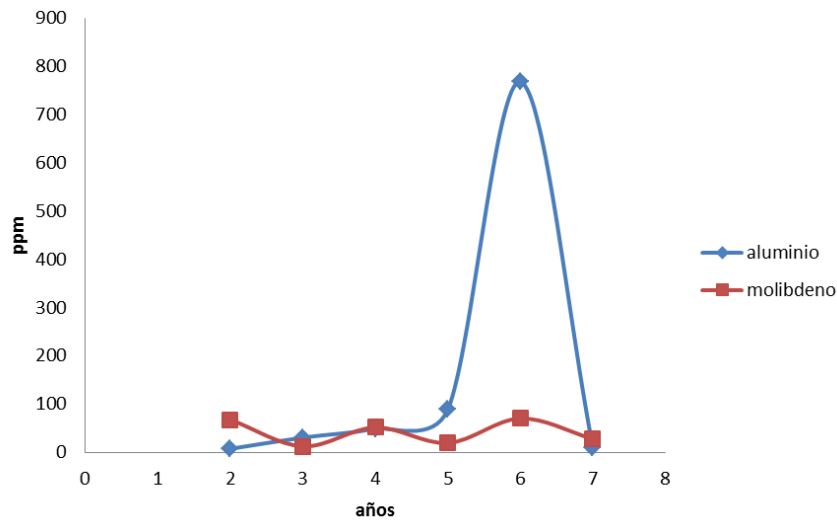


Figura 74: Niveles de metales (Al y Mo) determinados en cabello de grupos de pacientes estratificados en función de los años que han sido portadores de la prótesis M-M.

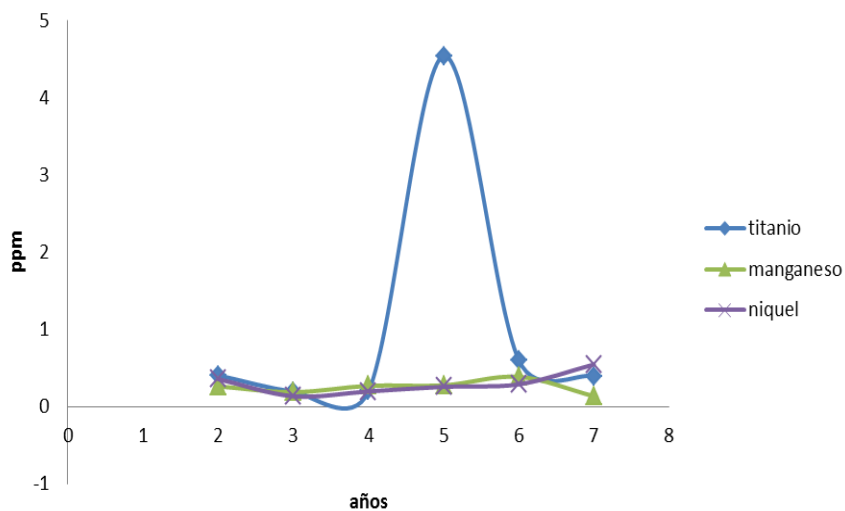


Figura 75: Niveles de metales (Ti, Mn y Ni) determinados en cabello de grupos de pacientes estratificados en función de los años que han sido portadores de la prótesis M-M.

En la Figura 76 se representan los niveles medios de metales no protocolizados en pacientes recambiados y no recambiados. Se puede observar la disminución de los iones en el grupo en el que se ha practicado el recambio respecto al grupo que mantiene la prótesis. Este hecho permite demostrar la importancia del tipo de aleación y manufactura de los dispositivos en cuanto al desgaste metálico. Los niveles de

Aluminio descienden 6,5 sobre el valor del grupo de pacientes no recambiados, mientras que en el caso de Manganeso, apenas hay variaciones. Se produce un descenso de 3,2 veces sobre los niveles de Molibdeno en pacientes no recambiados. El nivel de Titanio es 67 veces inferior en el grupo recambiado y el de Níquel 1,8 veces inferior.

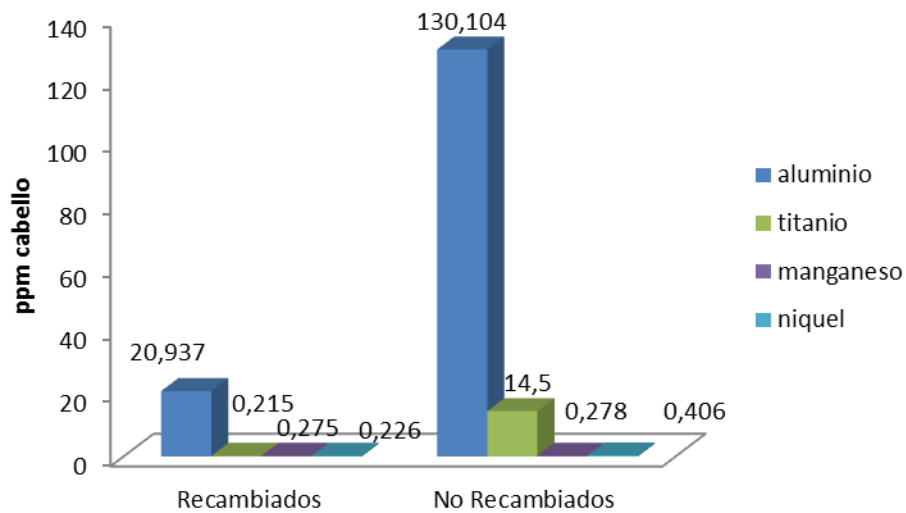


Figura 76: Niveles de metales (Al, Ti, Mn, Ni) determinados en cabello de grupos de pacientes estratificados en grupo recambiado y no recambiado.

E. DISCUSIÓN

Con el fin de simplificar el análisis y discusión de los resultados de la presente Tesis Doctoral, se ha estructurado de la siguiente manera:

1. En primer término, de forma general, se analizan los resultados obtenidos en la evaluación clínica de los pacientes en el ámbito de consultas.
2. A continuación, se focaliza el análisis en los resultados obtenidos en cabello de los niveles determinados de Cr, Co y Mo y se comparan con los datos obtenidos en población sana no expuesta en diversos estudios publicados con anterioridad.
3. Posteriormente se discute la evaluación de los resultados de la determinación de metales en suero, orina y cabello y su evolución con el tiempo.
4. Más adelante se analiza la correlación de los resultados entre las distintas matrices analizadas.
5. En el siguiente apartado se analiza el posible descenso en los niveles de metales tras realizar cirugía de revisión e implantar un modelo artroplástico metal-polietileno y se discuten los resultados en cuanto a la posible superposición y equivalencia en el descenso de iones respecto al encontrado en cabello.
6. Para completar el estudio se discuten los resultados de los análisis complementarios de tejidos y material protésico extraído en pacientes sometidos a cirugía de recambio mediante diversas técnicas de Espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS), microscopía electrónica de barrido y microscopía óptica.
7. Así mismo, para completar el estudio, se discutirán los resultados obtenidos de metales no protocolizados (Al, Mn, Mo, Ni y Ti) en diversas matrices (suero, orina y cabello) y su relación con el descenso de los mismos tras la realización de cirugía de recambio.

8. En el penúltimo apartado, con los datos recopilados a lo largo del estudio, se discuten las posibles ventajas e inconvenientes de utilizar la determinación de metales en cabello en comparación con suero y/u orina en pacientes portadores de prótesis de cadera M-M.
9. Finalmente, se mencionarán las limitaciones metodológicas del estudio realizado.

E.1. RESULTADOS DE LOS HALLAZGOS CLÍNICOS Y RADIOGRÁFICOS.

Aunque no era un objetivo la evaluación clínica y radiográfica de los pacientes portadores de una artroplastia M-M en la cadera, nos ha parecido conveniente exponer los resultados obtenidos en el estudio clínico y radiográfico.

La edad media del grupo de estudio se situaba en el sector de población inferior a 60 años. El 95,55 % de los pacientes eran varones por lo que, dado que las mujeres presentan más complicaciones según lo expuesto en la introducción, nuestro grupo de estudio en este sentido presentaba menos riesgo. Los pacientes objeto de estudio presentaban un índice de Quetelet de $29,4 \pm 5,37$, por tanto, en un grado de preobesidad.

Aproximadamente la mitad eran pensionistas por lo que, en principio, no se esperó que realizaran una actividad física importante que implicase un mayor desgaste. Aunque algún paciente refería antecedentes alérgicos, en ningún caso se trataba de alergia a metales, lo que ya hubiera descartado este implante en el estudio preoperatorio. Los pacientes sometidos a cirugía de recambio alcanzaron un 24% por lo que su frecuencia coincide con los datos del Australian Arthroplasty Registry⁵¹. El Oxford Hip Score medio hallado fue de 51,24 (rango 17-60).

Según los datos bibliográficos²¹⁸ la inclinación acetabular óptima en la radiografía simple se encuentra entre 40-45° y la anteversión entre 20-25°. En nuestro estudio los valores medios fueron superiores al valor recomendado: 51,25° (rango 37-75). En nuestra serie también hemos encontrado otros signos radiográficos descritos en este tipo de artroplastias como el adelgazamiento del cuello femoral que no han sido analizados en profundidad al no ser un objetivo de nuestro estudio.

En cuanto a la función renal, todos los pacientes presentaban una tasa de filtración glomerular mayor a 60 mL/min, por tanto, no tenían un factor de riesgo asociado ni contraindicación en este sentido para una correcta eliminación de los iones.

E.2. RESULTADOS DE LOS NIVELES DE IONES OBTENIDOS EN ESTE ESTUDIO Y EVALUACIÓN DEL RIESGO RESPECTO A LA BIBLIOGRAFÍA ESTUDIADA EN PACIENTES EXPUESTOS A METALES

Los seres humanos están expuestos a metales como Cr y Co a través de agentes externos (dieta, contaminación medioambiental, y exposición ocupacional en la industria metalúrgica) o agentes internos, como es el caso de las personas portadoras de dispositivos quirúrgicos manufacturados con estos elementos. Las particularidades de la exposición a agentes internos no es conocida con la misma profundidad que a agentes externos, por lo que debe tenerse en cuenta ya que las barreras de absorción (piel o membranas mucosas) no están presentes.

La liberación de metales iónicos desde las prótesis de cadera M-M, especialmente en los modelo de recubrimiento, es uno de los más estudiados y mejor comprendidos, especialmente desde que se detectaron las reacciones locales tisulares²¹⁹. Estudiar las consecuencias de esta liberación de iones llega a ser más relevante cuando se tiene en consideración que las prótesis metálicas M-M se emplearon en un tercio de todas las intervenciones quirúrgicas de cadera en Estados Unidos en 2009, y en este país hay más de 500.000 personas con estas prótesis, la mayoría de las cuales se implantaron entre 2003 y 2010²²⁰. Desde 1996, más de un millón de dispositivos de fricción M-M se han implantado en todo el mundo.

Aunque no se han demostrado la implicación de los agentes internos en efectos carcinogénicos y teratogénicas, en casos de intoxicación mediante agentes externos se ha demostrado sus efectos a nivel reproductivo, en la función renal y cardiaca. En los pacientes con artroplastias M-M, se han descrito alteraciones a nivel de la medula ósea, el bazo, y el hígado, aunque los efectos carcinogénicos de los iones metálicos liberados desde las prótesis M-M e incrementados a elevados niveles no deberían eludirse. No obstante cuando se comparan con otro tipo de implantes, no hay evidencias de que los dispositivos M-M estén asociados a un mayor riesgo de diagnóstico de cáncer en los 7 años posteriores a la cirugía²²¹.

En relación a estos efectos, debido a la posibilidad de complicaciones a medio-largo plazo, se ha recomendado un seguimiento periódico de todos los pacientes con prótesis M-M, especialmente con prótesis de recubrimiento^{222,223}. El modelo de artroplastia de recubrimiento ASR® ha mostrado un alto ratio de fracaso a medio plazo^{224,225}. Esto condujo a agencias internacionales²²⁶ y al propio fabricante a la retirada del producto de la práctica clínica en 2010. Se ha recomendado que los pacientes con este implante sean monitorizados mediante evaluaciones clínicas, analíticas, y radiográficas, así como también mediante otros test diagnósticos tales como resonancia magnética y tomografía axial computerizada^{227,228,229}.

En función de la evaluación clínica, la presencia de pseudoquistes, y el incremento de los niveles de metales en suero y orina²³⁰, se recomienda seguir un procedimiento de reemplazamiento quirúrgico de la artroplastia incluyendo la extracción del implante, la resección del pseudoquiste, y la implantación de una artroplastia con fricción convencional.

Aunque no existe consenso en la literatura, se acepta que en pacientes con estos implantes, los niveles de Cr y Co no deben exceder de 7 y 5 ppb, respectivamente^{14,231}. Si los niveles de Co son superiores a 20 ppb, debe realizarse una cirugía de recambio debido al riesgo de intoxicación sistémica. En nuestra serie, los niveles de Cr y Co en suero y orina fueron superiores a los de la población general, y el rango de variación fue bastante sorprendente.

Media	<i>Goullé et al</i> ¹⁵⁹ .	<i>Nowak</i> ¹⁷⁵ .	<i>Davies et al</i> ¹⁹⁰ .	<i>Batzevich</i> ²³² .	<i>Elenge et al</i> ²³³ .	<i>Mickeley et al</i> ²³⁴ .	<i>Ray et al</i> ¹⁹¹ .	Estudio actual
Co	0,42			0,06	1,67			61,97
Cr		0,46	0,59	0,62	1,16			163,27
Mo					0,12	0,43	0,55	31,36

Tabla 19. Concentraciones de metales en cabello (ppm)

Los niveles detectados en cabello resultaron significativamente más elevados respecto a diversos estudios de metales en cabello de pacientes sanos no portadores de implantes metálicos publicados anteriormente y que podemos observar en la Tabla 19. Es preocupante que los niveles se mantengan tan elevados incluso tras 6 años después de la implantación. El principal objetivo de nuestro estudio consistió en determinar si la presencia de metales iónicos en cabello de pacientes con prótesis de cadera M-M era más elevada que en la población general, y si se producían cambios tiempo-dependientes en los niveles de metales en orina y suero de forma concordante con los valores hallados en cabello. Además, no sólo realizamos la determinación de los metales que exigían los protocolos sino también otros que formaban parte de la aleación como Mo. Los animales expuestos continuamente a este metal han mostrado infiltración grasa de hígado y riñones, así como alteraciones en los niveles de vitaminas del grupo B²³⁵.

Hay varias técnicas disponibles para el análisis de metales traza en cabello. En nuestro estudio empleamos ICP-MS, por ser una técnica con un bajo límite de detección, y alta resolución cualitativa y cuantitativa^{236,185}. Por otra parte, ha sido ampliamente validada y es más coste-efectiva que otras técnicas más recientes como la tecnología de radiación por sincrotrón. Varios estudios han probado que los niveles de concentración de metales en cabello se acumulan entre un 10-50% más¹⁷⁶. El estudio de estas concentraciones permite no solo analizar la liberación de iones, que fluctúa con el tiempo, sino también la exposición histórica del paciente. El cabello es un tejido de crecimiento lento, y por ello no sufre fluctuaciones rápidas en los niveles de metales, pero para llevar a cabo una evaluación del estado de salud es más útil conocer la carga tisular que la cantidad que está siendo transportada en un momento puntual. Las cantidades normales de metales en cabello de población general no expuesta son conocidas (con un pequeño grado de variabilidad debida al empleo de diferentes equipos de medida). Los niveles de Cr en cabello se encuentran en el rango de 0,46²³⁷ a 1,16¹⁹⁰; Los niveles de Co, entre 0,06²³² a 1,67²³⁴; y Mo, entre 0,12²³⁴ a 0,55¹⁹¹. Como se indica en la Tabla 19, los valores fueron mucho más elevados en nuestra serie, y esto solo puede ser consecuencia de la contaminación interna que este modelo de prótesis están causando.

Tras estudiar la concordancia entre suero, orina, y los valores en cabello, encontramos una elevada concordancia entre Cromo-orina y Cromo-suero, y Cobalto orina y Cobalto-cabello. Encontramos un nivel de concordancia moderado entre Cobalto-orina y Cobalto-suero, y Cobalto-cabello y Cobalto-suero. Ya que no existen estudios similares en la literatura, no hemos podido comparar nuestros hallazgos ni las diferencias encontradas entre los resultados.

En estudios realizados con la artroplastia de recubrimiento de cadera ASR®, la frecuencia de fracaso ha sido del 5,6% a 4 años²³⁸ y 10%²³⁹ o 12% a 5 años⁵⁴. En nuestra serie, estos porcentajes eran mayores. Once pacientes requirieron cirugía de revisión, y en cinco de ellos la causa fue el alto nivel de metales en orina y suero con presencia de quistes periarticulares en la cadera implantada. Otro objetivo del estudio fue conocer si los metales en suero, orina y cabello decrecían cuando la artroplastia M-M se retiraba. Observamos que las concentraciones de iones metálicos en suero y orina decrecían una vez que se retiraba la prótesis. Esta disminución concuerda con la observada en los niveles de metales en cabello en los casos de cirugía de revisión debida a metalosis: los niveles de Cr se redujeron en más de un 40%, los niveles de Mo en torno a un 50 % y Co hasta un 90% (Figura 49). Estos datos confirman uno de nuestros objetivos, que consistía en relacionar las variaciones de metales en suero y orina con las encontradas en cabello tras la retirada de la artroplastia M-M. Sin embargo, observamos que aunque estos valores experimentaban un dramático decremento tras la cirugía de revisión, no alcanzaban niveles normales tras un año desde esta segunda intervención. Esto puede deberse al efecto de los depósitos de metal, que presumiblemente descienden con el tiempo, o al hecho de que los nuevos implantes de metal-polietileno también incrementan los niveles de metales circulantes.

Existen estudios que demuestran que tras una fase rápida de desgaste, se produce un aumento en la liberación de iones, seguido de un periodo de equilibrio entre procesos de acúmulo-excreción y, finalmente, vuelve a producirse una saturación de los procesos de eliminación de iones para volver a observarse a los 4 años un nuevo

pico²⁴⁰. En nuestro estudio, demostramos que con el tiempo aparecen fluctuaciones, una vez más, en torno al sexto año para Molibdeno y séptimo año para Aluminio. Los principales factores que influyen en este comportamiento son los ciclos de desgaste y la toxicocinética de los metales que componen la aleación. Si el comportamiento in vivo siguiera el modelo de los resultados en los simuladores de laboratorio tras la fase inicial de desgaste, se esperaría una reducción dramática en la producción de partículas de desgaste. No obstante, este efecto no se observa en las prótesis objeto de estudio por lo que subyace el temor de que todas las prótesis M-M conduzcan al acúmulo de metales en el organismo, con el progresivo incremento de metales en las matrices biológicas analizadas. El Molibdeno es retenido por la microglobulina y se acumula en hígado y riñón asociado a macromoléculas, parcialmente como molibdoenzimas, y formando parte de la molibdopterina. Esto último, junto con el hecho de que Mo se elimina como molibdato a través del riñón en su mayor parte, implicaría que los resultados obtenidos en plasma son inferiores con respecto a orina. El Molibdeno en plasma presenta un efecto denominado “hide & seek” (mostración vs ocultamiento), situación en la que el Molibdeno desaparece rápidamente del plasma y se acumula en el tejido graso del cerebro y otros tejidos. Por tanto, las concentraciones en plasma de Mo no serían un buen indicador de intoxicación por Molibdeno, incluso ni siquiera tras la exposición a altas dosis de metal¹³⁵.

E.3. ANÁLISIS COMPLEMENTARIOS

A continuación, discutiremos los resultados encontrados tras realizar análisis de muestras de tejidos, fluidos y material protésico, con el fin de obtener más datos que permitan establecer la relación entre los efectos producidos por la prótesis y su composición.

E.3.1. Hallazgos del análisis XPS(X-Ray photoelectrons spectroscopy), Espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X

En cuanto a los datos obtenidos en análisis complementarios por XPS en referencia a Ca, en la Figura 50 se puede ver el espectro correspondiente al doblete Ca2p; el pico Ca2p_{3/2} se encuentra centrado en 346,9 eV, lo que no parece corresponderse con hidroxiapatita descrito a 347,8 eV²⁴¹. Esta energía de ligadura, se asemeja más a compuestos de tipo óxidos de calcio (346,8 eV)²⁴² o carbonato de calcio (347,0 eV)²⁴³. El Cobalto se estudia a partir de la banda Co2p_{3/2}, esperando encontrarlo distribuido parcialmente como Cobalto metal y distintos óxidos de Cobalto de acuerdo con el trabajo de Milošev *et al*²⁴⁴.

Como puede apreciarse en la Figura 51, se pueden ajustar tres curvas centradas en 781,8 eV (~40% del Co total), 780,3 eV (~47% del Co total) y 778,9 eV (~14% del Co total). Las energías de ligadura de las dos primeras corresponden casi con seguridad a óxidos de Cobalto, o incluso óxidos mixtos de Cobalto y hierro²⁴⁵, aunque es muy difícil precisar a cuáles dado que se pueden encontrar referencias para cualquier óxido a esas posiciones²⁴⁶ (La tercera banda, centrada a 778,9 eV está cerca de las posiciones asignables al Cobalto metálico, que según la base de datos: NIST(<http://srdata.nist.gov/xps/Default.aspx> (june 2014)) se encuentra entre 777,8 eV y 778,50 eV. También figuran en dicha base de datos aleaciones de Cobalto con otros metales que aparecen a 778,9 eV, lo que podría ser indicativo en el caso de nuestra muestra.

El pico del Cromo se analiza teniendo en consideración el trabajo de Milošev *et al*²⁴⁴. Se utilizan, por tanto, cuatro curvas para el ajuste correspondiendo respectivamente a Cromo 0, óxidos de Cromo (III), hidróxidos de Cromo (III) y Cromo (VI). Como puede verse en la Figura 52, el 70% del Cromo se encuentra en estado de oxidación (III) bien como óxido o como hidróxido de Cromo. Únicamente un 3% está como Cromo metálico, siendo asignable el 27% restante a Cr (VI), especie de alta toxicidad. En la Tabla 20 pueden verse las energías de ligadura y las anchuras de los picos localizados en comparación con la bibliografía²⁴⁴.

	Análisis de la prótesis		Trabajo de Milosev et al ²⁴⁴	
	E _{ligadura} / eV	Fwhm/eV	E _{ligadura} /eV	Fwhm7/V
Cr metal	574,1	1,4	574,2	1,9
Cr ₂ O ₃	576	2,6	576,3	2,6
Cr(OH) ₃	577	2,1	577,5	3
Cr(VI)	578,2	2,2	578,7	3,2

Fwhm : full width at half-maximum.

Tabla 20. Comparativa de las posiciones y anchuras de picos para las distintas especies de Cromo según nuestro análisis y el trabajo de Milosev et al²⁴⁴.

Encontramos, que el Molibdeno Mo3d5/2 aparece a 228,3 eV (fwhm 1,8 eV) muy similar al Molibdeno metálico descrito²⁴⁴ a 228,5 eV. Al forzar las posiciones de los picos en el algoritmo de ajuste obteniendo dos picos Mo4d5/2 centrados en 228,1 eV y 230,0 eV que podrían asignarse respectivamente a Mo metal y MoO₂ según la descripción²⁴⁴ en la Tabla 19 (Figura 53). No hemos encontrado análisis semejantes al nuestro en la literatura sobre estos modelos de prótesis por lo que no podemos discutir nuestros resultados.

E.3.2. Hallazgos en los estudios de microscopía electrónica de barrido y microscopía óptica

El mecanismo que se cree implicado en la reacción del tejido analizado es una hipersensibilidad tipo IV. Se trata de una respuesta mediada por células y que se caracteriza por la presencia de linfocitos, histiocitos y, en algunos casos, células gigantes multinucleadas. El reclutamiento de células inflamatorias en el tejido afecto conlleva la liberación de factores quimiotácticos y citotóxicos. El daño tisular puede ser extensivo como resultado de los efectos de células T y macrófagos. Metales como Cr y Co parecen ser altamente inmunogénicos. Las partículas de desgaste de los implantes de segunda generación presentan menor tamaño de partícula y mayor área superficial que facilita su difusión en los tejidos circundantes²¹⁴. Al igual que en otras descripciones de ALVAL, se puede observar en las imágenes exudado necrótico, inflamación sinovial e hiperplasia. Pero la presencia de infiltrado perivascular constituye el hecho diferencial para afirmar que se trata de tejido ALVAL. El fluido

intraoperatorio es típicamente gris amarronado. En el tejido ALVAL observado mediante microscopía electrónica de barrido (Figuras 54 y 55) se pueden observar linfocitos.

En las Figuras 62-65 se muestran distintos cortes de tejido ALVAL obtenidos mediante microscopía óptica. En la Figura 63 se observa vascularización y en la Figura 64 se aprecia más claramente la formación de tejido inflamatorio. En la Figura 65 se observa una estructura abigarrada, porque las células que lo originan son pluripotenciales (pueden dar osteoblastos, osteoclastos,...), hay formación de cartílago, pero sobre todo de hueso. Todos estos hallazgos concuerdan con la bibliografía revisada^{247,248}.

Según los datos obtenidos observamos micropartículas que se corresponden con los elementos mayoritarios de la aleación Cr, Co y Mo (Figura 56 a 59, Tabla 13 y 14). Cabe destacar la presencia de partículas en las que se detecta Mo mientras que Cr y Co están ausentes (Figura 60 y 61, Tabla 15). Todo esto concuerda con los datos presentados en el apartado A.1.5.1 de la Introducción de la presente Tesis en la que se destaca la solubilidad de los iones Co^{2+} y Cr^{6+} . Esto justifica las elevadas concentraciones en las matrices biológicas analizadas para Cr y Co.

Por tanto, con los análisis realizados se demuestra que la presencia de partículas metálicas está íntimamente relacionada con el desarrollo de la reacción tipo ALVAL.

E.3.3. Hallazgos en los estudios mediante Estereomicroscopio

La elevada frecuencia de cirugía de revisión debido al fallo de las prótesis M-M respecto a las de metal-polietileno ha sido comprobado: 13% vs 3%. Contemplamos evaluar la implicación del tipo de aleación y el método de fabricación de la prótesis ASR® en los resultados clínicos obtenidos. Las partículas micrométricas de desgaste detectadas en el tejido circundante al implante se corresponden en su composición con la aleación de la prótesis. Se constató este efecto y la diferencia entre las distintas áreas de la prótesis en cuanto a la fricción. Se pueden observar surcos de fricción más profundos en la zona de contacto entre las superficies metálicas (Figuras 67 y 69)

respecto al centro (Figuras 66 y 68) en donde no se produce un contacto tan pronunciado. La prótesis ASR^{®249} está constituida por una cabeza de metal fundido mientras que la copa está constituida por una aleación metálica sometida a presurización isostática a altas temperaturas y a recocido. Esto junto con el alto contenido en carbono (>0,15%) puede estar relacionado con la baja resistencia al desgaste y las elevadas tasas de revisión. Este hallazgo no puede ser considerado como definitivo debido a que solo estudiamos algunos casos de cúpulas procedentes de la cirugía de revisión, que tampoco este era un objetivo de esta Tesis.

Mediante el análisis de superficie se demostró la fricción de los componentes y se detectaron surcos con el consiguiente desprendimiento de partículas. En los resultados obtenidos en el análisis de tejido ALVAL (obtenido en la cirugía de recambio) mediante SEM, como ya se ha referido, se demostró la presencia de dichas partículas metálicas.

E.3.4. Hallazgos en los análisis de metales no protocolizados

Molibdeno se encuentra elevado de forma significativa en las tres matrices analizadas en los pacientes portadores de la prótesis. Es un elemento traza esencial que se adquiere a través de la dieta y actúa como cofactor formando parte de enzimas implicadas en el metabolismo del nitrógeno (aldehído deshidrogenasa, xantina oxidasa, NADH deshidrogenasa). La toxicidad debida a Molibdeno es rara y normalmente se debe a exposición profesional a pesar de que también se han observado casos debido a una ingesta mayor a 400 µg/día. Los niveles normales en población de referencia se encuentran en 0,44 ppb en suero¹⁷. En pacientes portadores de prótesis metálicas los niveles superiores a 10 ppb alertarían sobre un desgaste incrementado de la prótesis²⁵⁰. Ha de tenerse en cuenta que los niveles séricos de Molibdeno se ven incrementados en casos de inflamación hepática debida a procesos de infección viral, alcoholismo, etc. El interés de monitorizar Molibdeno reside en su perfil tóxico en cuanto a la fertilidad masculina²⁵¹. Debido a que este tipo de prótesis, por su diseño, está indicada especialmente en pacientes jóvenes resultaría interesante profundizar en los efectos de Molibdeno a nivel reproductivo ya que en

recientes estudios se ha evidenciado su implicación en problemas de toxicidad reproductiva en varones^{150,251}.

Se encontraron niveles elevados de Aluminio en cabello tanto en el grupo de pacientes sometidos a cirugía de revisión como en el grupo en el que se conservó la prótesis. Para el resto de metales no hay diferencias significativas excepto en los grupos de pacientes que superan el límite máximo en cada caso en los análisis de cabello. En el 44% de los pacientes se observa que los niveles de Aluminio se encuentran elevados de forma significativa con una media de 246,55 µg/g.

Actualmente vivimos en lo que los investigadores pertenecientes al campo de la Química denominan “Era del Aluminio” ya que, además de tratarse del tercer elemento más abundante en la corteza terrestre, es uno de los más empleados por su fortaleza, durabilidad, ligereza y resistencia a la corrosión. Se emplea en la industria siderúrgica para la elaboración de latas, componentes eléctricos, aviones, coches...etc. Además en términos de biodisponibilidad se utiliza en forma de complejos moleculares como floculante en agua de bebida, como aditivo en comidas preparadas, en cosméticos y productos farmacéuticos (antiperspirantes, antiácidos, adyuvantes en vacunas)²⁵². Existen determinados grupos particularmente vulnerables a su exposición dado que no presentan una función renal adecuada (principal vía de excreción) como son los niños menores de un año, ancianos y personas con insuficiencia renal. El Aluminio fue testado por primera vez en 1926 como potenciador de la respuesta inmunológica debido al aumento de la titulación de anticuerpos²⁵³. Consideramos que la presencia de Aluminio en fluidos de pacientes con artroplastias M-M debería reevaluarse debido en primer lugar a su toxicidad intrínseca y, en segundo término, debido al tipo de respuesta inmunológica que produce (respuesta inmune alérgica o autoinmune anormal) que podría jugar cierto papel en la enfermedad de Guillain-Barre, la esclerosis múltiple y el Síndrome de la Guerra del Golfo. En diversos estudios se han encontrado datos que relacionan la exposición a Aluminio a través de vacunas o exposición ambiental y el desarrollo de ELA (Esclerosis lateral amiotrófica) asociada al complejo Parkinsonismo-Demencia y al Síndrome de la Guerra del Golfo. La ELA se caracteriza por un proceso degenerativo de las neuronas motoras. La contribución

genética para el desarrollo de la enfermedad supone un 10%. En ensayos practicados en animales, se ha demostrado la toxicidad del hidróxido de Aluminio empleado como coadyuvante en vacunas. Debe tenerse en cuenta que las nanopartículas de Aluminio son transportadas por los macrófagos al sistema nervioso central. En pacientes en hemodiálisis se observó una relación entre el desarrollo de Encefalopatía asociada a diálisis y el elevado contenido en Aluminio de los fluidos empleados en ella. Se demostró que en estos pacientes había niveles elevados de Aluminio y de beta amiloide. Finalmente tras la retirada de Aluminio de las soluciones utilizadas en las soluciones de diálisis se desvaneció la clínica de dicho síndrome.

La FDA subraya la categorización especial de las vacunas ya que se administran a individuos sanos y emplaza por ello a su desarrollo bajo las máximas garantías de seguridad. Como consecuencia, establece un límite máximo de 850 µg/dosis²⁵⁴ a pesar de que no se han practicado tests sobre la seguridad y efectos tóxicos del Aluminio en vacunas.

Se ha demostrado que, los países con los mayores niveles de Aluminio en las vacunas, presentan mayores ratios de autismo. Debe tenerse en cuenta que en los primeros meses de vida es cuando se produce el desarrollo neuronal y también cuando se administran dichas vacunas. En cuanto a la vía de administración y a la aparición de efectos secundarios, se demuestra en una revisión que, la administración parenteral muestra efectos más rápidos que la oral y, que en el caso de vacunas en adultos, puede implicar deterioro cognitivo²⁵⁵. Por lo tanto, en el caso de pacientes con prótesis en las que el Aluminio forme parte de la aleación debería llevarse a cabo un control de la exposición por sus potenciales efectos. Por ello, sería interesante añadir la determinación de Aluminio a los controles de Cromo y Cobalto que las principales agencias sanitarias y las sociedades científicas han establecido.

En condiciones normales el Aluminio adquirido a través de la dieta (5-10 mg) es eliminado completamente por vía renal. En pacientes en los que la función renal está comprometida existe un riesgo potencial de toxicidad por acumulo de Aluminio. El Aluminio, al acumularse en la sangre, se une a proteínas como la albúmina y se

distribuye principalmente al tejido cerebral y óseo. La deposición a nivel óseo altera el intercambio normal de calcio. Se produce hiperparatiroidismo secundario a consecuencia de la ineficacia del control fisiológico de los niveles de calcio mediante la PTH²⁵⁶. Por tanto, el calcio no es devuelto a la circulación sanguínea mediante el proceso normal de resorción. Se considera que con un recambio óseo bajo y niveles de Aluminio superiores a 60 ppb (ng/mL) existe intoxicación por Aluminio²⁵⁷. El análisis de Aluminio, está indicado por tanto en pacientes en diálisis y en aquellos que sean portadores de prótesis cuyas aleaciones presenten Aluminio. Debe remarcarse la importancia de analizar no solamente los elementos que conforman en mayor proporción la aleación de la prótesis sino también aquellos que, como en este caso, son interesantes por su potencial toxicidad. Sería necesario comprobar previamente la ficha técnica de los dispositivos protésicos y revisar la composición exacta de la aleación. En pacientes portadores de prótesis metálicas un aumento modesto (6-10 ng/mL) en la concentración de Aluminio sérico se considera normal. Pero si los niveles son superiores a 10 ng/mL se considera que el desgaste está siendo importante²⁵⁸.

Hemos observado diferencias significativas entre ambos grupos (Figura 72) en los niveles de metales detectados en orina excepto para Manganeso. Los niveles de Aluminio son significativamente más altos en el grupo de pacientes portadores de prótesis M-M (mediana 4,15, rango 0,4-14) en comparación al grupo control (mediana 1,9, rango 0,16-11,2). Los niveles de Molibdeno se encuentran elevados de forma significativa respecto al grupo control. Finalmente, observamos que los niveles de Titanio y Níquel son inferiores de forma significativa a los niveles detectados en la población de referencia.

En cuanto a las determinaciones realizadas en suero los niveles de Aluminio se mantienen elevados respecto a la población de referencia de forma significativa. Los niveles de Titanio y Molibdeno no muestran diferencias significativas. En cuanto a Manganeso y Níquel, se observa que los niveles determinados son inferiores significativamente respecto a la población de referencia. Se considera que sus niveles son tóxicos si son iguales o superiores a 10 ng/mL (niveles de referencia <2ng/mL)²⁵⁹. En población expuesta a Níquel vía inhalatoria se ha demostrado su implicación en

neoplasias y enfermedades del tracto respiratorio. Por otra parte, se han observado reacciones alérgicas a nivel dermatológico debido al contacto con aleaciones compuestas con Níquel²⁶⁰.

La toxicidad del Manganeso se ha estudiado principalmente en población expuesta en procesos industriales vía inhalatoria. Los signos de toxicidad aparecen rápidamente y los síntomas neurológicos son raramente reversibles. La toxicidad de Manganeso se reconoce por tres estadios. En el primero se produce un pródromo de somnolencia, apatía labilidad emocional, disfunción sexual, debilidad, letargia anorexia y dolor de cabeza. Si la exposición continua, se progresa a un segundo estadio con alteraciones psicológicas, déficit de memoria, ansiedad y manifestaciones psicóticas tales como alucinaciones. Finalmente en el tercer estadio se progresa hacia una bradiquinesia, paresia, temblor de intención, disartria axial y distonía extrema y cara tipo máscara²⁶¹. Los niveles en suero considerados de referencia en población sana son de 0,6-2,3 ng/mL²⁶². En orina el rango de referencia se sitúa entre 0,1-0,9 µg/L²⁶³. Al igual que Molibdeno, su exceso ha sido relacionado con efectos sobre la reproducción²⁶⁴. Se ha demostrado un aumento en el contenido de metalotioneinas y los niveles de Manganeso en células neoplásicas²⁶⁵. En nuestro estudio se observan niveles significativamente elevados en cabello mientras que en suero y orina no demuestran ser superiores respecto a la población de referencia. A pesar de que las recomendaciones se centran en establecer límites máximos de concentraciones de iones existen estudios que demuestran que concentraciones superiores de 100 µg/L no son más osteolíticas que concentraciones de 1 µg/L basándose en el ratio OPG/RANKL por lo que sería interesante ahondar en los estudios realizados con muestras de pacientes más allá de las recomendaciones básicas exigidas por las agencias²⁶⁶.

Tras la cirugía de recambio en los pacientes que fueron intervenidos observamos que los niveles de Aluminio descendieron 6,5 veces sobre el valor del grupo de pacientes no recambiados mientras que en el caso de Manganeso apenas hay variaciones. Se produce un descenso de 3,2 veces sobre los niveles de Molibdeno en pacientes no recambiados. El nivel de Titanio es 67 veces inferior en el grupo recambiado y el de Níquel 1,8 veces inferior. De forma paralela al análisis de Cr y Co, se observa un

descenso tras el recambio del implante en cabello. Esto demuestra que las variaciones en cuanto a la liberación de iones se reflejan en cabello. Los niveles de Aluminio descendieron un 84,62%, Titanio 98,52%, Manganeso 1,08% y Níquel un 44,35%.

En cuanto al Aluminio, existe un debate acerca de si los niveles en sangre son válidos para determinar la exposición a Aluminio. Sin embargo, está claro que las determinaciones de Aluminio en sangre no reflejan con exactitud la carga corporal total de este. Esto se debe a que el cerebro, pulmones y huesos revelan cantidades mucho más elevadas por su afinidad a estos tejidos. Los niveles de Aluminio en cabello se correlacionan bien con los niveles óseos. En contraposición no se correlacionan con los niveles determinados en suero²⁶⁷.

Por todo lo anteriormente expuesto, sería conveniente tener en cuenta la presencia de estos metales y profundizar en su estudio, teniendo en cuenta la gran cantidad de implantes M-M que se mantienen en el mundo y que presumiblemente serán mantenidos durante muchos años en los pacientes.

E.4. POSIBILIDAD DE SUSTITUCIÓN DE LA DETERMINACIÓN DE METALES EN CABELLO DE PACIENTES PORTADORES DE ARTROPLASTIAS DE SUPERFICIE M-M POR LA DETERMINACIÓN DE ESOS MISMOS METALES EN SUERO Y ORINA EN EL CONTROL EVOLUTIVO DE ESOS MODELOS

Dado que las cantidades detectadas se hallan en el orden de los ppm en lugar de los ppb la detección de metales es más sensible en el cabello. Puesto que se trata de un tejido de acúmulo, y no de un fluido de transporte o eliminación demuestra, se trata de un biomarcador de la carga sistémica de metales. En este caso, las fluctuaciones que pueden acontecer en suero o en orina por procesos de redistribución, no afectarían al cabello. Con lo expuesto anteriormente, se podría evaluar la utilización de esta técnica como un marcador de screening para, posteriormente, realizar análisis complementarios. De forma inversa, se podría realizar el análisis en cabello tras realizar los análisis de suero en suero y orina en caso de que se quisiera complementar los datos de toxicocinética de los iones en transporte, eliminación y acumulo. Sería

conveniente tener en cuenta esta matriz ya que, como explicaremos más adelante, existen fenómenos llamados “hide & sheek” (ocultamiento vs mostración) en el caso de algunos iones como el Mo en sangre.

E.5. VENTAJAS E INCONVENIENTES DEL ANÁLISIS DEL CABELLO

El cabello humano puede emplearse como biomarcador para evaluar la exposición a metales y metaloides en humanos^{268,162} y se considera una buena matriz para realizar una estimación previa a un estudio más extensivo y costoso que supondría el muestreo de sangre y orina²⁶⁹.

El análisis de cabello no requiere personal técnico especializado para la recogida de muestras, que pueden ser aportadas por los propios pacientes, evitando así los costes de personal médico especializado y materiales. No es necesario mantener la cadena de frío para el cabello y puede ser almacenado a temperatura ambiente durante un largo periodo de tiempo manteniendo intacta su composición. El estudio de metales en cabello es una técnica de bajo coste que además ahorra costes indirectos, ya que el paciente no tiene que visitar el centro de salud durante horas de trabajo, requisito indispensable para la extracción de suero y orina en la obtención de muestras. Adicionalmente, el personal sanitario no se vería expuesto a fluidos biológicos que pudieran actuar como vectores de infección. Así mismo, una incorrecta recogida o transporte de las muestras de sangre y orina podrían alterar los resultados. Los análisis de orina son engorrosos para el paciente, ya que se requiere la orina de 24h lo que implica una serie de inconvenientes que añaden incertidumbre en la correcta obtención de la muestra, ya que no hay personal técnico presente. Tanto la obtención de sangre como de orina requieren material especial para el transporte y conservación de las muestras, así como el mantenimiento de la cadena de frío durante todo el proceso. Adicionalmente, la muestra de cabello es más difícil de adulterar que las muestras de orina.

Los resultados de nuestro estudio muestran que el cabello es un buen marcador biológico para la monitorización y el estudio del comportamiento toxicocinético de los metales liberados desde prótesis de cadera metal-metal, y que puede tener aplicaciones inmediatas en la práctica clínica para un seguimiento a medio o largo plazo. El cabello permite la detección de altos niveles de metales sin requerir la obtención de sangre y muestra concentraciones mayores.

Se trata de una técnica de análisis sencilla que puede resultar útil para el screening de intoxicación por metales liberados de prótesis de cadera en grandes poblaciones, que podrían posteriormente monitorizarse a través de análisis de suero y orina. Nuestros hallazgos, tanto en los elevados niveles de metales detectados en cabello de pacientes con artroplastias M-M así como la correlación entre los niveles en suero y cabello deberían confirmarse en estudios futuros a largo-plazo con series de pacientes de mayor tamaño.

Los principales inconvenientes residen en que no existe un protocolo de acondicionamiento preanálisis único en el lavado de las muestras de cabello que junto a las variaciones interlaboratorio e intralaboratorio “per se” podrían contribuir a la incertidumbre de los resultados.

E.6. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Las limitaciones del estudio incluyen la ausencia de un grupo control. Hemos aceptado los valores de niveles de metales en cabello en población general descritos en la literatura, y hemos encontrado una gran diferencia entre los niveles publicados y los obtenidos en nuestro estudio. Ignoramos si en otros modelos de artroplastia con diferentes tipos de fricción, tales como metal-polietileno, los niveles de metales se incrementan. En cualquier caso, la ausencia de tal información no invalida nuestros resultados. Nuestra serie comprende pocos pacientes, y el tiempo de seguimiento es limitado. Debido a la alta variabilidad de los niveles de metales encontrados en nuestro

estudio, ignoramos si con un tamaño muestral mayor los resultados resultarían diferentes.

Debido al escaso número de pacientes que se sometieron a cirugía de recambio por metalosis, el descenso en los niveles de metales en cabello no arrojó resultados significativos; sin embargo, la extraordinariamente amplia diferencia entre las medidas realizadas antes y después del recambio confirman que los niveles de metales en cabello cambian cuando se implanta una prótesis M-M y luego se extrae.

Como limitación final, debemos afirmar que no hemos establecido relaciones entre los niveles de metales en cabello con alteraciones locales o generales a medio y largo plazo; esto solo puede conseguirse con un mayor periodo de tiempo de seguimiento.

F. CONCLUSIONES

Las conclusiones derivadas de la presente Tesis Doctoral pueden resumirse en los siguientes puntos:

Objetivo 1:

- La optimización de las metodologías analíticas para la determinación de elementos traza (Cr, Co, Mo) en muestras biológicas, mediante el empleo de ICP-MS de alta resolución, ha permitido establecer diferencias significativas ente los niveles de concentración encontrados para algunos elementos en pacientes portadores de artroplastia de cadera M-M respecto a los datos obtenidos en población general según la literatura.
- Se aprecian fluctuaciones en los subgrupos de pacientes en función del tiempo de implantación en las distintas matrices analizadas.

Objetivo 2:

- Tras estudiar la concordancia entre suero, orina, y los valores en cabello, encontramos una elevada concordancia entre Cromo-orina y Cromo-suero, y Cobalto orina y Cobalto-cabello. Encontramos un nivel de concordancia moderado entre Cobalto-orina y Cobalto-suero, y Cobalto-cabello y Cobalto-suero.

Objetivo 3:

- Observamos que las concentraciones de iones metálicos en suero y orina decrecían una vez que se retiraba la prótesis.

Objetivo 4:

- La disminución en suero y orina concuerda con la observada en los niveles de metales en cabello en los casos de cirugía de revisión debida a metalosis.

Objetivo 5:

- Los análisis del material protésico y tejidos extraídos durante la cirugía demuestran la implicación de las partículas de desgaste en este tipo de reacciones. Además, se produce una coincidencia en la composición de la prótesis y las partículas de desgaste analizadas en tejido ALVAL y los niveles de iones metálicos en cabello detectándose Al, Mn, Mo, Ni y Ti.

Objetivo 6:

- Por último, podemos concluir que con los datos aportados, el análisis de cabello presenta una serie de ventajas en el estudio de la intoxicación metálica en las artroplastias de cadera metal-metal y que, en determinados casos, se podría valorar su sustitución por los análisis recomendados en suero y orina.

G. ANEXOS

G.1. ANEXO 1: RESOLUCIÓN COMITÉ DE ETICA REGIONAL



SERVICIO DE SALUD
DEL PRINCIPADO DE ASTURIAS

HOSPITAL UNIVERSITARIO CENTRAL DE ASTURIAS IV

Comité Ético de Investigación Clínica
Regional del Principado de Asturias
C/ Celestino Villamil s/n
33006.-Oviedo
Tfno: 985.10.79.27/985.10.80.28
Fax: 985.10.87.11
e-mail: ceicr_asturias@hca.es

Área Sanitaria

Oviedo, 10 de Junio de 2011

El Comité Ético de Investigación Clínica Regional del Principado de Asturias ha evaluado el Estudio nº 37/ 2011, titulado: "PRESENCIA DE IONES METÁLICOS EN CABELLO DE PACIENTES CON ARTROPLASTIAS DE CADERA METAL-METAL. VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA Y ESTUDIO COMPARATIVO CON LA MEDICIÓN EN SANGRE Y ORINA". Investigador Principal: Dr. Daniel Hernández Vaquero, Profesor Titular de Cirugía Ortopédica y Traumatología de la Facultad de Medicina de Oviedo. Investigador Colaborador: Dr. Javier Cervero Suárez del S. de Cirugía Ortopédica y Traumatología del Hospital San Agustín de Avilés (Asturias). Investigadora Colaboradora: María Rodríguez de la Flor García, Licenciada en Farmacia, Farmacéutica Residente (2º año) del S. de Farmacia Hospitalaria del Hospital San Agustín de Avilés (Asturias).

El Comité ha tomado el acuerdo de considerar que el citado estudio reúne las condiciones éticas necesarias para poder realizarse y, en consecuencia, emite su autorización.

Le recuerdo que deberá guardar la máxima confidencialidad de los datos utilizados en este estudio.

Le saluda atentamente.

Fdo: Eduardo Arnáez Moral
Secretario del Comité Ético de Investigación
Clínica Regional del Principado de Asturias



G.2. ANEXO 2: RESOLUCIÓN DE PREMIOS A PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN, FUNDACIÓN SECOT 2011

RESOLUCIÓN PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN FUNDACIÓN SECOT 2011

Dotado con 12.000€

Título: "Estudios sobre la mineralización y las células troncales en las fracturas de cadera. Estudio de dos cohortes prospectivas".

Autor Principal: Enrique Guerado Parra, Hospital Universitario Costa del Sol (Málaga)
Cols.: Antonio Campos Muñoz, Universidad de Granada (Granada); Miguel Alaminos Mingorance, Universidad de Granada (Granada); Encarnación Cruz Ocaña, Hospital Universitario Costa del Sol (Málaga); Juan Ramón Cano Porras, Hospital Universitario Costa del Sol (Málaga); Aurelio Andrés Díaz Martín, Hospital Universitario Costa del Sol (Málaga); Ana María Cerván de la Haba, Hospital Universitario Costa del Sol (Málaga); Laura Ramos González, Hospital Universitario Costa del Sol (Málaga).

Título: "Técnica de microindentación ósea aplicada al recambio protésico de rodilla. relación entre la densidad mineral ósea, la resistencia mecánica tibial y la aparición de dolor en punta de vástago".

Autor Principal: Xavier Pelfort López, Parc de Salut Mar (Barcelona).
Cols.: Roberto Carlos Güerri Fernández, Parc de Salut Mar (Barcelona), Lluís Puig Verdier, Parc de Salut Mar (Barcelona); Pedro Hinarejos Gómez, Parc de Salut Mar (Barcelona); Raúl Torres Claramunt, Parc de Salut Mar (Barcelona); Joan Leal Blanquet, Parc de Salut Mar (Barcelona).

Título: "Presencia de iones metálicos en cabello de pacientes con artroplastias de cadera metal-metal. Validación de la técnica y estudio comparativo con la medición en sangre y orina".

Autor Principal: Daniel Hernández Vaquero, Hospital San Agustín (Asturias).
Cols.: Javier Cervero Suarez, Hospital San Agustín (Asturias); María Rodríguez de la Flor García, Hospital San Agustín (Asturias).



RESOLUCIÓN CONVOCATORIAS
FUNDACIÓN SECOT 2011

G.3. ANEXO 3: SISTEMA DE EVALUACIÓN DE CADERA DE OXFORD

Oxford Hip Score

Nombre del clínico (or ref) Nombre del paciente (or ref)

Por favor conteste las siguientes 12 preguntas.

Durante las últimas 4 semanas...

1. ¿Cómo describiría el dolor que normalmente ha tenido en su cadera? Ninguno Muy leve Leve Moderado Fuerte**7. ¿Durante las últimas 4 semanas, ha sido capaz de subir un tramo de escalera?** Sí, fácilmente Con poca dificultad Con alguna dificultad Con muchas dificultades No, ha sido imposible,**2. ¿Durante las últimas 4 semanas, ha tenido algún problema para lavarse y secarse por sí mismo (todo el cuerpo) a causa de su cadera?** Ningún problema Muy pocos problemas Algunos problemas Muchos problemas Ha sido imposible hacerlo**8. Durante las últimas 4 semanas, ¿cuánto dolor ha sentido al levantarse de la silla después de una comida (sentado a la mesa) a causa de su cadera?** Ningún dolor Dolor leve Dolor moderado Mucho dolor Insoportable**3. ¿Durante las últimas 4 semanas, ha tenido algún problema para entrar o salir de un coche o para usar el transporte público a causa de su cadera? (según el medio de transporte que suele usar)** Ningún problema Muy pocos problemas Algunos problemas Muchas dificultades Ha sido imposible hacerlo**9. ¿Durante las últimas 4 semanas, ha cojeado al caminar a causa de su cadera?** Rara vez/nunca Algunas veces o sólo al principio A menudo, no sólo al principio La mayoría de las veces Todo el tiempo

<p>4. ¿Durante las últimas 4 semanas, ha sido capaz de ponerse los zapatos, los calcetines o las medias?</p> <p><input type="radio"/> Sí, fácilmente</p> <p><input type="radio"/> Con poca dificultad</p> <p><input type="radio"/> Con alguna dificultad</p> <p><input type="radio"/> Con muchas dificultades</p> <p><input type="radio"/> No, ha sido imposible</p>	<p>10. ¿Durante las últimas 4 semanas, ha tenido algún dolor repentino fuerte- agudo, punzante o espasmódico- a causa de la cadera afectada?</p> <p><input type="radio"/> Ningún día</p> <p><input type="radio"/> Sólo 1 ó 2 días</p> <p><input type="radio"/> Algunos días</p> <p><input type="radio"/> La mayoría de los días</p> <p><input type="radio"/> Todos los días</p>
<p>5. ¿Durante las últimas 4 semanas, ha podido realizar las compras domésticas por sí mismo?</p> <p><input type="radio"/> Sí, fácilmente</p> <p><input type="radio"/> Con poca dificultad</p> <p><input type="radio"/> Con alguna dificultad</p> <p><input type="radio"/> Con muchas dificultades</p> <p><input type="radio"/> No, ha sido imposible</p>	<p>11. Durante las últimas 4 semanas, el dolor en la cadera ¿en qué medida ha interferido con su trabajo habitual? (incluyendo las tareas domésticas)</p> <p><input type="radio"/> Nunca</p> <p><input type="radio"/> Un poco</p> <p><input type="radio"/> Moderadamente</p> <p><input type="radio"/> Bastante</p> <p><input type="radio"/> Totalmente</p>
<p>6. Durante las últimas 4 semanas, ¿durante cuánto tiempo ha sido capaz de caminar antes de que le empezara a doler fuertemente la cadera?</p> <p><input type="radio"/> Sin dolor/no más de 30 minutos</p> <p><input type="radio"/> de 16 a 30 minutos</p> <p><input type="radio"/> de 5 a 15 minutos</p> <p><input type="radio"/> Sólo por la casa</p> <p><input type="radio"/> Nada</p>	<p>12. ¿Durante las últimas 4 semanas, ha tenido problemas para dormir por la noche a causa del dolor en su cadera ?</p> <p><input type="radio"/> Ninguna noche</p> <p><input type="radio"/> Sólo 1 ó 2 noches</p> <p><input type="radio"/> Algunas noches</p> <p><input type="radio"/> La mayoría de las noches</p> <p><input type="radio"/> Todas las noches</p>

Puntuación Oxford Hip Score

0-19	Puede indicar artritis severa de cadera. Es altamente probable la necesidad de alguna intervención quirúrgica.
20-29	Artritis de cadera severa a moderada. Requiere consultar a su médico de familia para realizar un chequeo y evaluación por rayos X. Se consideraría una consulta con un cirujano ortopédico.
30-39	Puede indicar dolor de cadera suave a moderado. Considerar una revisión con el médico de familia y la realización de una placa de rayos X. Podría beneficiarse de un tratamiento no quirúrgico tal como, ejercicio, pérdida de peso, y /o medicación antiinflamatoria.
40-48	Puede indicar una función correcta de la articulación. No implica un tratamiento formal.

H. PUBLICACIONES Y COMUNICACIONES DERIVADAS DE ESTE ESTUDIO

H.1. PUBLICACIONES Y COMUNICACIONES A CONGRESOS DERIVADAS DE ESTA TESIS

H.1.1. Artículos científicos:

- ✓ Rodríguez de la Flor M, Hernández-Vaquero D, Fernández-Carreira JM. Metal presence in hair after metal-on-metal resurfacing arthroplasty. *J Orthop Res.* 2013; 31(12):2025-31.
- ✓ Hernández-Vaquero D, Rodríguez de la Flor M, Fernández Carreira JM, Sariego Muñiz C. Detection of metal ions in hair after metal-metal hip arthroplasty. *Rev Esp Cir Ortop Traumatol.* 2014; 58:267-73.
- ✓ Hernández-Vaquero D, Delgado-Sevillano R, Rodríguez de la Flor García M. Groin pain after metal-on-metal hip resurfacing prosthesis. *SAGE Open Medical Case Reports.* January-December 2014 2: 2050313X14545278.

H.1.2. Comunicaciones SEIQ (Sociedad Española de Investigaciones Quirúrgicas) 2013:

- ✓ *Relationship between the levels of metals in blood and urine with the findings in hair samples of patients who have undergone hip resurfacing Arthroplasty.* Hernández Vaquero D., Rodríguez de la Flor García M, Sariego Muñiz C.
- ✓ *Microstructural analysis of metal-on-metal hip resurfacing Arthroplasty.* Hernández Vaquero D, Rodríguez de la Flor García M, Á Martínez Nistal A.

H.1.3. Comunicaciones SECOT (Sociedad Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología) 2013 (Resolución de premios a Proyectos de Investigación 2011):

- ✓ *Presencia de iones metálicos en cabello de pacientes con artroplastias de cadera metal-metal. Validación de la técnica y estudio comparativo con la medición en sangre y orina.* Autor principal: Hernández Vaquero D, Hospital San Agustín

(Asturias). Cols.: Cervero Suárez J, Hospital San Agustín (Asturias); Rodríguez de la Flor García M, Hospital San Agustín (Asturias).

H.1.4. Comunicación INVESCOT (Asociación Española de Investigación en Cirugía Ortopédica y Traumatología) 2014:

- ✓ *Utilidad del análisis del cabello en la intoxicación por metales en las artroplastias de cadera metal-metal.* Hernández Vaquero D, Rodríguez De La Flor García M, López García JM, Fernández Carreira J M, Hospital San Agustín, Avilés

H.1.5. Posters EFORT (European Federation of National Associations of Orthopaedics and Traumatology) 2014:

- ✓ *Molybdenum Monitoring In Patients With Metal on Metal Hip Prosthesis.* Hernández Vaquero D, Rodríguez De La Flor García M, López García JM, Fernández Carreira J M.
- ✓ *Relationship Between Angle Of Acetabular Anteversion, Metallic Ion Elevation In Several Biological Matrices And Subsequent Metal-on-Metal Hip Prosthesis Failure.* Hernández Vaquero D, Rodríguez De La Flor García M, Sariego Muñoz C, Fernández Carreira JM.

H.1.6. Posters Congreso EAHP (European Association of Hospital Pharmacists) 2014:

- ✓ *Monitoring of adverse reactions to dePuy ASR® devices in patients with metal-on-metal hip arthroplasty* Rodríguez de La Flor García M, Ramos Aparicio R, Puente Martínez CP , Hernández Vaquero D; Hospital San Agustín, Pharmacy/ Orthopaedic Surgery, Aviles, Spain; 10.1136/ejhpharm-2013-000436.492
- ✓ *Metal hair analysis, a cost-effective monitoring technique to asses high ion level exposure in patients with metal on metal prosthesis.* Rodríguez de La Flor García M, Ramos Aparicio R, Puente Martínez CP., Hernández Vaquero D; Hospital San Agustín, Pharmacy/ Orthopaedic Surgery, Avilés, Spain 10.1136/ejhpharm-2013-000436.493.

H.1.7. Posters Congreso EFORT (European Federation of National Associations of Orthopaedics and Traumatology) 2015:

- ✓ *Decrease In The Non Protocol Analysis Of Metals After Revision Surgery In Metal On Metal Hip Replacement.* Hernández Vaquero D, Rodríguez De La Flor García M., Fernández Carreira J. M., Puente Martínez, C. P., Pérez Coto I.

- ✓ *Metal Levels In Serum And Urine In Metal On Metal Resurfacing Hip Arthroplasty. Monitoring of 4 To 7 Years.* Hernández-Vaquero D, Rodríguez De La Flor M, Fernández Carreira JM, Puente Martínez C P, Iglesias Fernández S, Cuervo Olay MC.

- ✓ *Non-Protocol Analysis Of Metals In Biological Samples Of Patients With Metal On Metal Hip Replacement.* Hernández Vaquero D, Rodríguez De La Flor García M, Fernández Carreira JM, Puente Martínez CP, Fernández Lombardía J.

Metal Presence in Hair after Metal-on-Metal Resurfacing Arthroplasty

María Rodríguez de la Flor,¹ Daniel Hernández-Vaquero,² José Manuel Fernández-Carreira³

¹Department of Pharmacy, Hospital San Agustín, Heros s/n, 33400 Avilés, Spain, ²Department of Orthopedic Surgery, School of Medicine, Julian Clavería s/n, 33006 Oviedo, Spain, ³Research Unit, Hospital San Agustín, Heros s/n, 33400 Avilés, Spain

Received 12 March 2013; accepted 26 June 2013

Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI 10.1002/jor.22450

ABSTRACT: The elevation of metal levels in serum and urine during post-operative follow-up is a frequent find following the implantation of certain models of metal-on-metal hip prostheses. Among 45 patients with the same resurfacing prostheses, chromium (Cr) and cobalt (Co) levels in serum and urine were determined at 3, 4, 5, and 6 years after surgery. In the same period, levels of Cr, Co and molybdenum (Mo) in scalp hair were also measured. Mean Cr and Co levels in serum were 8.29 $\mu\text{g/L}$ (SD 17.97) and 8.38 $\mu\text{g/L}$ (SD 21.97), respectively, whereas in urine levels were 16.20 $\mu\text{g/L}$ (SD 32.55) and 75.40 $\mu\text{g/L}$ (SD 190.86), respectively. In hair, mean Cr level were 163.27 $\mu\text{g/g}$ (SD 300.62), mean Co level 61.98 $\mu\text{g/g}$ (SD 126.48), and Mo 31.36 $\mu\text{g/g}$ (SD 37.86). A high concordance was observed between chromium-urine and chromium-serum and between cobalt-urine and cobalt-hair. A moderate concordance was present between cobalt-urine and cobalt-serum, and between cobalt-hair and cobalt-serum. Eleven patients required revision surgery, five of them due to metallosis and periarticular cyst. At 1 year after reintervention, analytics were performed again and the following decrease rates were found: 42.8% in Cr levels, 51.1% in Mo levels, and 90.3% in Co levels. © 2013 Orthopaedic Research Society. Published by Wiley Periodicals, Inc. *J Orthop Res*

Keywords: hip; resurfacing arthroplasty; metal levels; metallosis; hair

The biggest long-term complication of hip arthroplasties is component wear, followed by the manifestation of acetabular and femoral osteolysis and the eventual failure due to component loosening. The search for solutions to this issue, more worrisome in young patients, has led to the introduction of new ceramic materials and metal alloys. Recently, it has been found that some metal-on-metal (m-o-m) friction arthroplasties may produce a variety of clinical alterations derived from the presence of metal ions, especially chromium and cobalt, in blood and urine.¹ Although no fetal nor carcinogenic complications have been described,² increased levels of these metals may lead to renal and hepatic alterations, as well as local lesions known as ALVALs (aseptic lymphocyte-dominant vasculitis-associated lesions).^{3–5} On the other hand, increased levels of molybdenum may exert negative effects on fertility. This becomes particularly important when we take into account that the population group most likely to carry this type of hip prosthesis comprises young patients, and therefore, reproductive implications must be considered.⁶

Different follow-up protocols have been published which include guidelines about the normal values of ions in blood and urine, maximum tolerable levels,⁷ and the convenience of monitoring.^{8,9} These analytical assessments require special care when taking and moving samples, and they are not routinely performed in the laboratories of general hospitals. Furthermore, such samples may become altered sometimes due to the ingestion of food products, the effects of drugs, or environmental factors.^{10,11}

Hair features a remarkable potential as biomarker, since it reflects the historical exposition to a variety of substances, heavy metals included.¹² The Environmental Protection Agency and the International Atomic Energy Agency^{13,14} have recommended the use of scalp hair in order to monitor the levels of most trace elements, since they are found in hair in greater amounts than anywhere else in the body.¹⁵ This assessment method avoids invasive measures and patient discomfort; it is not dependent on occasional situations and yields the true extent of the potential intoxication these ions may produce. The values of the normal population are known, and they range between 0.11–0.52 ppm or $\mu\text{g/g}$ for chromium (Cr), 0.004–0.14 ppm for cobalt (Co), and 0.01–0.028 ppm for molybdenum (Mo).⁶ Determining these levels could be a good marker of metal intoxication in metal-on-metal arthroplasties. So far, there are no studies about whether the detection of metals in hair could be useful for patients with metal-on-metal prostheses, either to find hints of potential intoxication or to follow up an intoxication already in progress nor about concordance among serum, urine, and blood levels.

The aims of our study were to establish whether the hair of patients with metal-on-metal prostheses shows an unusually high concentration of metal ions (Cr, Co, and Mo); to determine whether such values change depending on the time since implantation; to find out whether the variations of metal presence in serum and urine are consistent with those in hair with the passing of time, and to ascertain whether the values of metal levels in hair decrease when removing the metal-on-metal arthroplasty via revision surgery.

PATIENTS AND METHODS

This is a comparative study of diagnostic and concordance tests. Cr and Co levels in serum and urine, and Cr, Co, and Mo levels in hair were monitored in 45 patients who had metal-on-metal hip resurfacing arthroplasties using the

Grant sponsor: Research Grant from the Spanish Society of Orthopedic Surgery and Traumatology (SECOT).
Correspondence to: Daniel Hernández-Vaquero (T: +34-985-123-044; F: +34-985-123-044; E-mail: dhernandezv@meditex.es)

© 2013 Orthopaedic Research Society. Published by Wiley Periodicals, Inc.

DePuy ASR system (DePuy Orthopaedics, Inc., Warsaw, IN) implanted in 2005–2009 in a hospital setting. This study was approved by the Regional Ethics Committee (reference 037/2011) and patients signed the approved consent forms for the use of their blood, urine, scalp hair, and clinical data. The initial series comprised 49 arthroplasties. The key inclusion criterion was patients having received the same prosthesis model, whereas exclusion criteria included bilateral implants in one patient (because we suspected its measurements could introduce confounding bias); and two patients that were lost to follow-up.

Apart from the aforementioned analytical measurements, and according to a previously set protocol, surgery data (date and component size) were collected together with the symptoms at the moment of consultation (Oxford Hip Score, WOMAC questionnaire, and analog visual scale), a simple two-view (antero-posterior and axial) radiographic examination and a pelvic metal artifact reduction sequence magnetic resonance (MRI) whenever ion levels were increased and/or a clinical alteration during evolution was present. All the studies were performed with a 1.5 T equipment (Achieva, Philips Medical Systems, Best, The Netherlands) using a 4-channel on-body antenna. The study protocol included T1-, T2-, and STIR-weighted coronal and transverse images, with a 4-mm slice thickness. A metallic artifact reduction software was used.

The mean age for the group was 57 ± 9 (35–76) years, and the average body mass index was 29.42 ± 5.37 (19.58–43.38). Of the 45 patients, 2 were women and 43 men. When the study was performed, an average period of 52 (29–85) months after arthroplasty implantation had passed. During the follow-up period, revision surgery was performed to remove the ASR in 11 cases: two due to femoral neck fracture, one due to a relapsing luxation, five due to elevated metal levels and presence of periarticular cyst found by MRI, and three due to pain of uncertain nature. These patients were reimplanted with a conventional metal-on-polyethylene friction model, and subsequently excluded from the study. An assessment of metal ion levels in serum, urine, and hair was performed 12 months after this second intervention.

In order to collect the blood samples, special tubes were employed. The extraction was performed in a white room. The puncture site was cleaned with ethanol and the sample was collected in tubes with no anti-coagulant. Serum was obtained by centrifugation and then transferred to polyethylene tubes. In the case of urine, special sterilized bottles were provided to the patients along with precise written and oral instructions, with a special emphasis on the precautions required to avoid sample contamination. Samples were transported in refrigerated chambers and preserved in refrigerators at 4°C until analysis.

Hair collection was performed at <4 cm from the skin at the right side of the patient's head, obtaining at least 0.5 g of sample following the recommendations set forth in several validated studies.¹⁶ The samples were then sent to the laboratory in polyethylene bags identified with a random number scheme. A total of 756 assessments of blood, urine, and hair samples were performed for this study.

Hair Sample Preparation and Quantification

During the pretreatment stage, the hair samples were reconditioned with an ultrasonic bath to remove any traces adhered to their surface which may alter the results. Then, samples were put in a heater for 12 h at 50°C. Dried samples

were stored at room temperature until analysis. In order to perform the full analysis of chromium, cobalt, and molybdenum levels in the hair samples, they were diluted; afterwards, an acid digestion in a microwave oven was carried out. Samples were then stored at –20°C until analysis. This analysis was performed with an inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) technique.

Metal quantification was performed with a high-resolution and double-focus Element mass spectrometer (Thermo Fisher, Inc., Waltham, MA) equipped with a Meinhard-type concentric nebulizer, a Scott, double-step, non-refrigerated nebulization chamber, and a Fassel-type torch with a 1-mm inner diameter injector tube. The two interface cones (the sampler and the skimmer) were made of nickel. At the time of executing the analysis, the ICP-MS features three different resolution presets to choose from. The equipment was located in the Scientific and Technical Services premises at our University. They are designed to support researchers, research teams, and groups of the institution, as well as other public and private companies.

Statistical Analysis

Concentrations were descriptively analyzed by studying means, typical deviation, medians, minimum and maximum values, and 95% confidence intervals. The Pearson's coefficient of variation was calculated as the quotient typical deviation/mean. Comparisons between metals according to years of follow-up were analyzed with Kruskal–Wallis non-parametric test. Variations of metal concentrations in blood, urine, and hair between the pre-operative and post-operative periods were studied by pair-wise ranking using Wilcoxon's non-parametric test. To measure concordance, Cronbach's alpha was employed to find the intraclass correlation. Statistical significance was defined as $p < 0.05$. The SPSS for Windows v20 statistical package (SPSS Inc., Chicago, IL) was used to perform the statistical analyses.

RESULTS

We have observed an increase of mean levels of metals in serum, urine, and hair. Both Cr and Co levels in serum and urine were much higher than those considered normal. In hair, Cr, Co, and Mo also presented very high percentage levels (Table 1). Cobalt assessments in serum presented great disparity, whereas in hair the coefficient of variation was lower for the three metals examined.

No significant differences were found in metal concentrations according to follow-up time (Kruskal–Wallis test); however, as show in Figure 1, Cr levels in blood, Cr levels in urine, and Co levels in blood decrease slightly at 5 years only to increase again at 6 years. Co levels in urine show a more remarkable reduction in year 5 and drastically increases in the 6th year. In hair (Fig. 2), both Cr and Co increase at 4 years, decrease at 5, and increase again at 6. On the other hand, Mo decreases progressively after the 4th year.

A high concordance was observed (Cronbach's alpha intraclass correlation) between chromium-urine and chromium-serum, and between cobalt-urine and cobalt-hair; a moderate concordance was present between cobalt-urine and cobalt-serum, and between

Table 1. Series Results

	Mean	Mean (95% CI)		Median	SD	Coefficient of Variation	Min.	Max.
		Lower Limit	Upper Limit					
Cr serum*	8.29	2.69	13.89	2.25	17.97	2.17	0.50	101.00
Co serum*	8.38	1.54	15.23	0.70	21.97	2.62	0.50	111.00
Cr urine*	16.20	6.06	26.35	4.75	32.55	2.01	1.00	163.70
Co urine*	75.40	15.93	134.87	4.70	190.86	2.53	1.30	810.20
Cr hair**	163.27	64.46	262.08	70.90	300.62	1.84	10.20	1616.30
Co hair**	61.98	17.85	106.11	8.20	126.48	2.04	0.30	618.80
Mo hair**	31.36	18.36	44.37	20.70	37.86	1.21	0.10	222.10

*ppb ($\mu\text{g/L}$).**ppm ($\mu\text{g/g}$).

cobalt-hair and cobalt-serum. Finally, no concordances were found either between chromium-serum and chromium-hair, or between chromium-urine and chromium-hair (Table 2).

In order to find out whether metal levels in hair changed when the implant was removed we specifically focused on studying the group of 11 patients who had been through revision surgery, comparing the metal levels before and after the procedure (Table 3). We found out significant differences in chromium and molybdenum levels in hair, and a trend towards signification in the case of cobalt levels. Studying the five patients who required revision surgery due to metallosis, a wide difference was discovered between measurements before and after surgery in serum, urine, and hair (Fig. 3). In the case of hair, the decrease rates were as follows: 43.8% in Cr levels, 51.1% in Mo levels, and 90.3% in Co levels (Fig. 4).

DISCUSSION

Human beings are exposed to metals such as chromium and cobalt because of external influences (e.g., diet, environmental pollution, and occupational exposure in the steel industry) or internal sources, as is the case of people carrying surgical devices made with those materials. The peculiarities of exposure to these surgical devices are less well-known than exposure to external sources, and there are differences to be taken into account, since absorption barriers such as the skin or mucous membranes are not involved.

The release of metal ions from metal-on-metal hip prostheses, especially in resurfacing models, is one of the more studied and better understood cases, even more so since local tissular reactions were detected.¹⁷ Studying the consequences of this ion release becomes more relevant when taking into account that metal-on-metal prostheses were used in one-third of all hip

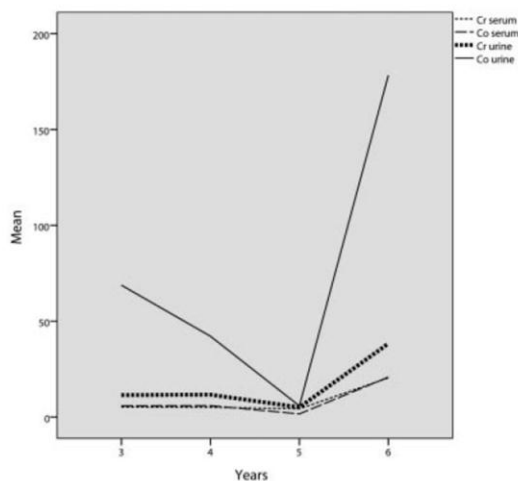
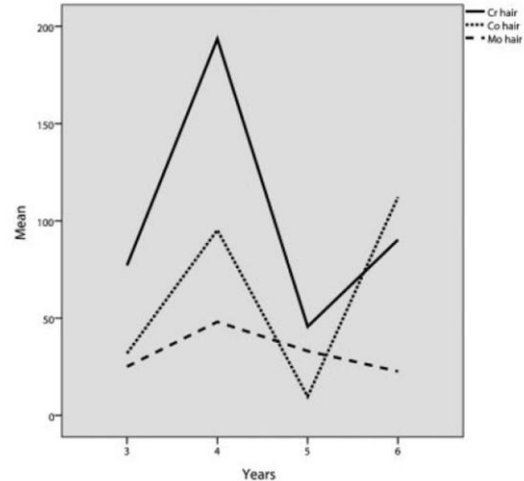
**Figure 1.** Metal levels in serum and urine during the 3–6 years follow-up period.**Figure 2.** Metal levels in hair during the 3–6 years follow-up period.

Table 2. Concordances Among Blood, Urine, and Hair Assessments

	Cr Urine	Co Urine	Cr Hair	Co Hair
Cr serum	0.833		0.013	
Co serum		0.356		0.437
Cr urine			0.012	
Co urine				0.734

surgery interventions performed in the United States in 2009, and that in this country there are >500,000 people with such prostheses, most of which were implanted between 2003 and 2010.⁹ Since 1996, more than a million of metal-on-metal bearings have been implanted worldwide.

Although no teratogenic or carcinogenic effects have been proven to be related to internal sources, in the case of intoxication from external sources different effects on reproduction and kidney and heart functions are well-known. In patients with metal-on-metal arthroplasties, alterations in the bone marrow, spleen, and liver have been described, although the carcinogenic effect of increased ion levels released from metal-on-metal prostheses should not be eluded. Nevertheless, when compared to other types of implants, there are no evidences that metal-on-metal surfaces are associated with a higher risk of cancer diagnosis during the first 7 years after surgery.¹⁸

Because of these effects, most notably due to the possibility of unknown complications appearing in the mid- and long-term, a periodic follow-up has been recommended for all patients bearing a metal-on-metal arthroplasty,^{19,20} especially resurfacing models. The ASR resurfacing arthroplasty model has shown a high failure rate in the mid-term^{21,22}; this led both international agencies²³ and the manufacturer itself to instruct the withdrawal of said product from clinical practice in 2010. It is recommended that patients with this implant are routinely monitored by clinical, analytical, and radiographic assessments, as well as other diagnostic tests such as MRI and CT.²⁴⁻²⁶

Depending on clinical evolution, the presence of pseudo-cysts, and the increase of metal levels in blood and urine,²⁷ replacement surgery of the arthroplasty including implant removal, pseudo-cyst resection, and the implantation of a conventional arthroplasty is the recommended procedure to follow.

Although no consensus is found in the literature, it is accepted that in the case of patients with these implants, Cr and Co serum levels should not exceed 7 and 5 ppb, respectively.^{7,26,27} If cobalt levels are higher than 20 ppb, immediate surgery due to risk of systemic intoxication should be considered. In our series, Cr and Co levels in serum and urine were higher than in the general population, and the range of variability was rather surprising.

Although differences in serum and urine levels were found throughout the length of the study, they were not significant, possibly due to the small sample size. It is alarming that levels remain so high even at 6 years after implantation. The main aim of our study was to determine whether the presence of metal ions in the hair of patients with metal-on-metal hip prostheses was higher than in the general population, and if time-dependent changes of metal levels in urine and serum agreed with the values found in hair. After an exhaustive literature search, we only found a single published paper relating metal presence in hair with this type of joint implants.²⁸ In that study, concordance with serum and urine results was not assessed, nor were measurements before and after revision surgery compared. Furthermore, we intended to detect not just the ions of the metals of which the arthroplasty alloys are composed, but also those of other metals which might be present, such as molybdenum. Animals continuously exposed to this metal exhibited fat degeneration in the liver and kidneys, as well as alterations of group B vitamin levels.²⁹

There are several techniques available for the analysis of trace metals in hair.^{30,31} We used ICP-MS9 in our study, because it is a cutting edge, qualitative and quantitative high-resolution technique. Besides, it has been widely validated and it is more cost-effective than the more recent synchrotron radiation

Table 3. Results After Implant Removal (*n* = 11)

Assessment	Before Revision Surgery			After Revision Surgery			<i>p</i> -Value***	
	Mean	SD	Range	Mean	SD	Range		
Cr	Serum*	23.08	34.86	0.6–101.00	12.57	14.04	1.90–41.40	0.866
	Urine*	42.83	57.54	3.90–163.70	13.03	13.27	0.6–30.5	0.018
	Hair**	185.32	226.56	18.70–683.70	102.56	132.11	13.00–396.00	0.028
Co	Serum*	25.81	40.55	0.50–110.00	13.11	29.27	0.50–79.40	0.753
	Urine*	205.62	310.65	1.40–810.20	44.31	94.90	0.60–259.00	0.063
	Hair**	147.40	233.26	3.70–618.80	47.11	74.20	0.30–205.80	0.249
Mo	Hair**	39.31	25.18	13.90–74.50	18.45	10.85	5.80–35.80	0.043

*ppb (µg/L).

**ppm (µg/g).

***Wilcoxon's test.

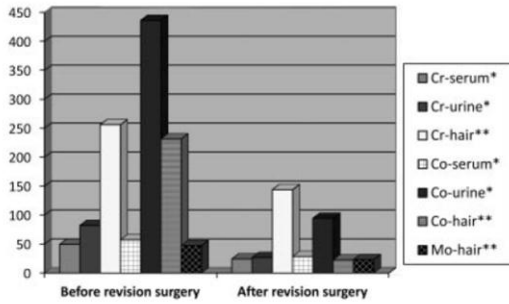


Figure 3. Metal levels before and after revision surgery due to metallosis. *ppb (µg/L) and **ppm (µg/g).

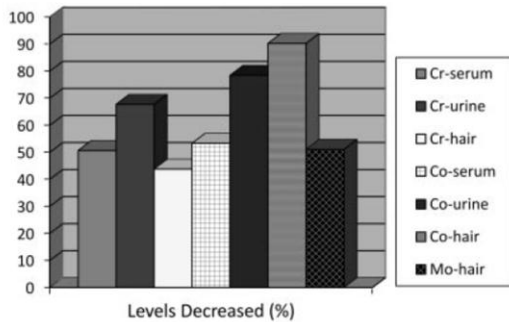


Figure 4. Metal levels decrease in metallosis cases.

technology. Several studies³² have proven that metal level concentrations above 10–50% accumulate in hair. Assessing these concentrations allows analyzing not only ion release, which fluctuates with time, but also the exposure history of the patient. Hair is a slow growing tissue, and thus it will not show rapid fluctuations of metal levels, but in order to assess the health status it is more useful to know the tissular metal charge than the amount being transported at a given time. Normal metal amounts in the hair of non-exposed populations are known (with a small degree of variability due to the use of different measurement equipment).^{33–35} Cr levels in hair range between 0.46³⁶ and 1.16³⁷; Co levels, between 0.06³⁸ and 1.67³⁹; and Mo, between 0.12⁴⁰ and 0.55.⁴¹ As shown in Table 4, values were much higher in our series, and

this can only be a consequence of the internal contamination these prosthetic models are causing.

After studying the concordance between serum, urine, and hair values, we found a high level of concordance between chromium-urine and chromium-blood, and cobalt-urine and cobalt-blood. A moderate level of concordance was present between cobalt-urine and cobalt-blood, and cobalt-hair and cobalt-blood. Since there are no similar studies in the literature, we have not been able to compare these results nor properly reason the differences among the measurements.

In studies performed on the ASR hip resurfacing model, failure rate is 5.6%²¹ at 4 years and 10%⁴² or 12%⁵ at 5 years. In our series, these percentages were higher. Eleven patients required revision surgery, and in 5 of them the cause was a high level of metals in urine and blood with presence of periarticular cysts in the treated hip. The last aim of our study was to ascertain whether metal levels in serum, urine, and hair decreased when the metal-on-metal arthroplasty was removed. We observed that the amount of ions in serum and urine decreased once the prosthesis was removed. These decreases agree with those observed in metal in hair in cases of revision surgery due to metallosis: Cr levels showed a reduction of >40%; Mo levels, of 50%; and Co, of 90%. These data confirm one of our aims, which was to relate the variations of metal values in serum and urine with those found in hair after the removal of an m-o-m arthroplasty. However, we observed that although these values experience a dramatic decrease after revision surgery, they do not settle within normal levels at 1 year after this second intervention. This might be due to the effect of metal deposits, which will presumably decrease with time, or to the fact that the new metal-on-polyethylene implants also increase circulating metal levels.

Hair analysis does not require specialized technical staff in order to collect the samples, which may be provided by the patients themselves, thus avoiding the cost of specialized medical staff and materials. It is not necessary to maintain the cold-chain for hair, and it can be stored at room temperature for a long time while keeping its composition intact. Assessment of the metal levels in hair is a low-cost technique which in addition saves indirect costs, since the patient would not have to visit the health center during working hours, an unavoidable requisite for blood extraction and urine sample collection. Furthermore,

Table 4. Amounts of Metal in Hair (ppm)

	Goullé et al. ³⁴	Nowak ³⁶	Davies et al. ³⁷	Batzevich ³⁸	Elenge et al. ³⁹	Miekeley et al. ⁴⁰	Ray et al. ⁴¹	Present Study
Co-mean	0.42			0.06	1.67			61.97
Cr-mean		0.46	0.59	0.62	1.16			163.27
Mo-mean					0.12	0.43	0.55	31.36

healthcare staff avoids being exposed to biological fluids which may act as infection carriers. In addition, a faulty collection or transportation of blood samples may alter the results. Urine analyses are cumbersome for the patient, since the urine from 24 h is needed; that implies a series of inconveniences which add uncertainty as to the proper collection of the sample, since no technical staff is present. Both blood and urine collection require specialized material for transportation and conservation of the samples, as well as maintaining the cold-chain at all times.

The limitations of our study include the absence of a control group. We have accepted the values of metal levels in hair in the general population described in the literature, and we have demonstrated the great difference between the published values and those obtained in our study. We ignore whether in other models of arthroplasty with different types of friction, such as metal-on-polyethylene, metal levels in hair are also increased; in any case, the absence of such information does not invalidate our results. Our series comprised too few patients, and the follow-up time was limited. Due to the high variability of metal levels found in our study, we ignore whether a larger sample size would have yielded different results. Because of the scarce number of patients who underwent revision surgery for metallosis, the decrease of metal levels in hair did not yield statistically significant differences; however, the extraordinarily wide differences between measurements before and after implant removal confirms metal levels in hair do change when an m-o-m arthroplasty is implanted and later on extracted. As a final limitation, we must state we have not related metal levels in hair with general or local alterations in the mid- and long-term; this can only be achieved with time.

The results of our study show that hair is a good biologic marker for the monitoring and study of the toxicokinetic behavior of metals released from metal-on-metal hip prostheses, and as such it may have immediate clinical applications for mid- and long-term clinical follow-up. Hair allows for the detection of high levels of metal elements using a bloodless sample collection procedure and yields higher concentrations. This simple assessment may be useful for the screening of intoxication by metals from hip prostheses in large populations, which then could be monitored through serum and urine assessments. Our findings regarding both the high metal levels in the hair of patients with arthroplasties as well as the correlation between metal levels in blood and in hair should be confirmed with future longer-term studies featuring larger series.

REFERENCES

1. Van der Weegen W, Hoekstra HJ, Sijbesma T, et al. 2011. Survival of metal-on-metal hip resurfacing arthroplasty. A systematic review of the literature. *J Bone Joint Surg Br* 93-B:298–306.
2. Ziaee J, Daniel AK, Datta S, et al. 2007. Transplacental transfer of cobalt and chromium in patients with metal-on-metal hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br* 89-B:301–305.
3. Willert HG, Buchhorn GH, Fayyazi A, et al. 2005. Metal-on-metal bearings and hypersensitivity in patients with artificial hip joints. A clinical and histomorphological study. *J Bone Joint Surg Am* 87-A:28–36.
4. Kwon Y-M, Ostlere SJ, McLardy-Smith P, et al. 2011. “Asymptomatic” pseudotumors after metal-on-metal hip resurfacing arthroplasty: prevalence and metal ion study. *J Arthroplasty* 26:511–518.
5. Hug KT, Watters TS, Vail ThP, et al. 2013. The Withdrawn ASR THA and Hip Resurfacing Systems. How Have Our Patients Fared Over 1 to 6 Years? *Clin Orthop Relat Res* 471:430–438.
6. Meeker JD, Rossano MG, Protas B, et al. 2010. Environmental exposure to metals and male reproductive hormones: circulating testosterone is inversely associated with blood molybdenum. *Fertil Steril* 93:130–140.
7. Smolders JM, Bisseling P, Hol A, et al. 2011. Metal ion interpretation in resurfacing versus conventional hip arthroplasty and in whole blood versus serum. How should we interpret metal ion data. *Hip Int* 21:587–595.
8. Hartmann A, Lütznér J, Kirschner S, et al. 2012. Do survival rate and serum ion concentrations 10 years after metal-on-metal hip resurfacing provide evidence for continued use? *Clin Orthop Relat Res* 470:3118–3126.
9. Rising JP, Reynolds IS, Sedrakyan A. 2012. Delays and difficulties in assessing metal-on-metal hip implants. *N Engl J Med* 367:e1.
10. Cerulli J, Grabe DW, Gauthier I, et al. 1998. Chromium picolinate toxicity. *Ann Pharmacother* 32:428–431.
11. Simonsen LO, Harbak H, Benekou P. 2012. Cobalt metabolism and toxicology. A brief update. *Sci Total Environ* 432:210–215.
12. Bencko V. 1995. Use of human hair as a biomarker in the assessment of exposure to pollutants in occupational and environmental settings. *Toxicology* 10:129–139.
13. Jenkins DW. 1979. Toxic trace metals in mammalian hair and nails. U.S. Environmental Protection Agency, Las Vegas, Nevada 89114, EPA/600/4-79/049 (NTIS PB80103997).
14. Chat A, Sajjad M, DeSilva KN, et al. 1985. Health-related monitoring of trace element pollutants using nuclear techniques. IAEA/TECDOC-330, International Atomic Energy Agency, Vienna 33–49.
15. Chlopicka J, Zachwieja Z, Zagrodski P. 1998. Lead and cadmium in the hair and blood of children from a highly industrial area in Poland. *Biol Trace Elem Res* 62:229–234.
16. Bass DA, Hickock D, Quig D, et al. 2001. Trace element analysis in hair: factors determining accuracy, precision, and reliability. *Altern Med Rev* 6:472–481.
17. Keegan GM, Learmonth ID, Case CP. 2008. A systematic comparison of the actual, potential, and theoretical health effects of cobalt and chromium exposures from industry and surgical implants. *Crit Rev Toxicol* 38:645–674.
18. Smith AJ, Dieppe P, Porter M, et al. 2012. Risk of cancer in first seven years after metal-on-metal hip replacement compared with other bearings and general population: linkage study between the National Joint Registry of England and Wales and hospital episode statistics. *BMJ* 344:e2383.
19. British Orthopaedic Association. 2011. http://www.britishhipociety.com/pdfs/BHS_MOM_THR.pdf
20. U.S., Food and Drug Administration. Postmarket surveillance study letter template <http://www.hiprecallinfo.com/wp-content/uploads/2011/05/Template-of-Letter-from-FDA-re-order-for-postmarket-studies-to-MoM-manufacturers-00162262.pdf>

21. Jameson SS, Langton DL, Nargo AVF. 2010. Articular surface replacement of the hip: a prospective single-surgeon series. *J Bone Joint Surg Br* 92:28–37.
22. Haddad FS, Konan S. 2012. Current controversies in hip surgery. *J Bone Joint Surg Br* 94:297–301.
23. Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA) UK. Medical Device Alert DePuy ASR hip replacement implants. Ref: MDA/2010/069. 07 September 2010. <http://www.mhra.gov.uk/NewsCentre/Pressreleases/CON143784>
24. Bolland BJ, Culliford DJ, Langton DJ, et al. 2011. High failure rates with a large-diameter hybrid metal-on-metal total hip replacement: clinical, radiological and retrieval analysis. *J Bone Joint Surg Br* 93:608–615.
25. Lombardi AV, Barrack RL, Berend KR, et al. 2012. The Hip Society. Algorithmic approach to diagnosis and management of metal-on-metal arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br* 94 (Suppl. A)14–18.
26. Van Der Straeten C, Grammatopoulos G, Gill HS, et al. 2013. The interpretation of metal ion levels in unilateral and bilateral hip resurfacing. *Clin Orthop Relat Res* 471:377–385.
27. Hart AJ, Sabah SA, Bandi AS, et al. 2011. Sensitivity and specificity of blood cobalt and chromium metal ions for predicting failure of metal-on-metal hip replacement. *J Bone Joint Surg Br* 93:1308–1313.
28. Liu FC, Qin J, Wu H-S, et al. 2011. Co and Cr accumulation in hair after metal-on-metal hip resurfacing. *ANZ J Surg* 81:436–439.
29. Chan S, Gerson B, Subramaniam S. 1998. The role of copper, molybdenum, selenium, and zinc in nutrition and health. *Clin Lab Med* 18:673–685.
30. Dombovari J, Papp L. 1998. Comparison of sample preparation methods for elemental analysis of human hair. *Microchem J* 59:187–193.
31. Rodushkin I, Axelsson A. 2000. Application of double focusing sector field ICP-MS for multielemental characterization of human hair and nails. Part II. A study of the inhabitants of northern Sweden. *Sci Total Environ* 262:21–36.
32. Hong SR, Lee SM, Lim NR, et al. 2009. Association between hair mineral and age, BMI and nutrient intakes among Korean female adults. *Nutr Res Pract* 3:212–219.
33. Iyengar V, Woittiez J. 1988. Trace elements in human clinical specimens: evaluation of literature data to identify reference values. *Clin Chem* 34:474–481.
34. Goullé J-P, Mahieu L, Castermant J, et al. 2005. Metal and metalloid multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair. Reference values. *Forensic Sci Int* 153:39–44.
35. Coleman RF, Herrington J, Scales JT. 1973. Concentration of wear products in hair, blood, and urine after total hip replacement. *Brit Med J* 1:527–529.
36. Nowak B. 1998. Contents and relationship of elements in human hair for a non-industrialised population in Poland. *Sci Total Environ* 209:59–68.
37. Davies S, McLaren Howard J, Hunnisett A, et al. 1997. Age-related decreases in chromium levels in 51,665 hair, sweat, and serum samples from 40,872 patients. Implications for the prevention of cardiovascular disease and type II diabetes mellitus. *Metabolism* 46:469–473.
38. Batzevich VA. 1995. Hair trace element analysis in human ecology studies. *Sci Total Environ* 164:89–98.
39. Elenge MM, Aubry JC, Jacob L, et al. 2011. Heavy metal in hair samples of 109 non-industrial (miners) population in Katanga. *Sante* 21:41–46.
40. Miekeley N, Dias Carneiro MT, da Silveira CL. 1998. How reliable are human hair reference intervals for trace elements? *Sci Total Environ* 218:9–17.
41. Ray SS, Das D, Ghosh T, et al. 2012. The levels of zinc and molybdenum in hair and food grain in areas of high and low incidence of esophageal cancer: a comparative study. *Glob J Health Sci* 4:168–175.
42. Pailhé R, Sharma A, Reina N, et al. 2012. Hip resurfacing: a systematic review of literature. *Int Orthop (SICOT)* 36: 2399–2410.



Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología

www.elsevier.es/rot



ORIGINAL

Detección de iones metálicos en cabello tras artroplastia de cadera metal-metal

D. Hernandez-Vaquero^{a,*}, M. Rodríguez de la Flor^b, J.M. Fernandez-Carreira^c
y C. Sario-Muñiz^d

^a Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología, Hospital San Agustín, Avilés, Departamento de Cirugía, Facultad de Medicina, Universidad de Oviedo, España

^b Servicio de Farmacia Hospitalaria, Hospital San Agustín, Avilés, España

^c Unidad de Investigación, Hospital San Agustín, Avilés, España

^d Unidad de Espectrometría de Masas, Servicios Científico-Técnicos de Investigación, Universidad de Oviedo, Oviedo, España

Recibido el 13 de enero de 2014; aceptado el 19 de enero de 2014

PALABRAS CLAVE

Artroplastias de superficie de cadera;
Prótesis metal-metal;
Metales en cabello

Resumen

Objetivo: Tras el implante de algunos modelos de prótesis de cadera metal-metal se produce una elevación de los niveles de metales en suero y orina. Recientemente se ha demostrado que hay concordancia entre estas cifras y los niveles encontrados en el cabello. Nuestro objetivo ha sido estudiar la presencia de metales en cabello y conocer si ello se modifica con el paso del tiempo o con la extracción del implante.

Material y método: En 45 pacientes con una artroplastia de superficie se ha realizado una determinación de los niveles de cromo, cobalto y molibdeno en cabello a los 3, 4, 5 y 6 años desde el implante. La edad media fue de 57,5 años, 2 eran mujeres. En 11 pacientes, en 5 de ellos por metalosis y quiste periarticular, fue necesaria una reintervención para extracción de la artroplastia e implante de un nuevo modelo con fricción metal-polietileno.

Resultados: Las cifras medias de metales en cabello fueron cromo 163,27 ppm, cobalto 61,98 ppm y molibdeno 31,36 ppm, muy por encima de los niveles referidos en la población general. En los pacientes reintervenidos para extracción de la artroplastia se observó al año de la intervención una disminución del 43,8% en los niveles de cromo, del 51,1% en molibdeno y del 90,3% en cobalto.

Conclusiones: En las artroplastias de cadera con fricción metal-metal se aprecia una alta concentración de metales en el cabello, que disminuye cuando dicho implante es extraído. La determinación de iones en cabello puede ser un buen marcador de la intoxicación por metales que sucede en estos modelos artroplásticos.

© 2014 SECOT. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: danielhvaquero@gmail.com (D. Hernandez-Vaquero).

KEYWORDS

Hip surface replacement;
Metal-metal prosthesis;
Metals in hair

Detection of metal ions in hair after metal-metal hip arthroplasty

Abstract

Objective: There is an increase in the levels of metals in the serum and urine after the implantation of some models of metal-metal hip prosthesis. It has recently been demonstrated that there is an association between these levels and the levels found in hair. The aim of this study is to determine the presence of metals in hair, and to find out whether these change over time or with the removal of the implant.

Material and method: The levels of chromium, cobalt and molybdenum were determined in the hair of 45 patients at 3, 4, 5, and 6 years after a hip surface replacement. The mean age was 57.5 years, and two were female. Further surgery was required to remove the replacement and implant a new model with metal-polyethylene friction in 11 patients, 5 of them due to metallosis and a periarticular cyst.

Results: The mean levels of metals in hair were chromium 163.27 ppm, cobalt 61.98 ppm, and molybdenum 31.36 ppm, much higher than the levels found in the general population. A decrease in the levels of chromium (43.8%), molybdenum (51.1%), and cobalt (91.1%) was observed at one year in the patients who had further surgery to remove the prosthesis.

Conclusions: High concentrations of metals in the hair are observed in hip replacements with metal-metal friction, which decrease when that implant is removed. The determination of metal ions in hair could be a good marker of the metal poisoning that occurs in these arthroplasty models.

© 2014 SECOT. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La mayor complicación a largo plazo de las artroplastias de cadera es el desgaste de los componentes y la secundaria aparición de osteólisis, y el definitivo fracaso por movilización de los componentes. En la búsqueda de soluciones a este problema, más preocupante en pacientes jóvenes, se han introducido en los últimos años nuevos polietilenos, se han incorporado nuevos diseños y ha resurgido el par de fricción metal-metal (M-M). Se sabe que algunos modelos de artroplastias M-M pueden producir diferentes alteraciones clínicas derivadas de la presencia de iones metálicos en sangre y orina, sobre todo cromo (Cr) y cobalto (Co). Aunque no se conocen hasta la fecha complicaciones cancerígenas ni fetales, los elevados niveles de estos metales pueden producir alteraciones renales y hepáticas así como lesiones locales en forma de quistes o seudotumores denominadas ALVAL (del inglés, aseptic lymphocyte-dominant vasculitis-associated lesion)^{1,2}. Además del Cr y el Co, hay otros metales como el molibdeno (Mo) involucrados en la manufactura de estos modelos. Sin embargo, llama la atención el escaso interés que la elevación de este metal ha supuesto en la copiosa literatura sobre estos modelos. Los niveles elevados de Mo pueden originar efectos negativos sobre la fertilidad; ello es importante si tenemos en cuenta que el grupo de población susceptible de portar una prótesis de cadera de este tipo engloba a pacientes jóvenes, y por tanto, con implicaciones a nivel reproductivo³.

Se han publicado diferentes protocolos de seguimiento con orientaciones sobre las cifras normales de iones en sangre y orina, sobre los niveles máximos admisibles⁴ y sobre la conveniencia de una necesaria monitorización. Estas determinaciones analíticas necesitan unos cuidados especiales en la recogida y en el traslado de las muestras, y no son realizadas de manera rutinaria en los laboratorios de los

hospitales generales. Además pueden estar alteradas ocasionalmente por la ingesta de productos alimenticios, por el aporte de medicamentos o por situaciones ambientales.

El cabello presenta un potencial destacable como biomarcador ya que refleja la exposición histórica a diversas sustancias, entre las que se encuentran los metales pesados⁵. Su determinación evita medidas invasivas y molestias al paciente, es independiente de situaciones ocasionales y muestra verdaderamente la situación de la intoxicación que pueden producir estos iones. Se conocen los niveles en la población normal que oscilan para Cr entre 0,11-0,52 ppm; Co 0,004-0,14 ppm; y Mo 0,01-0,028 ppm⁶, por lo que su determinación puede ser un buen indicador de la intoxicación por metales en las artroplastias metal-metal con altos niveles de concordancia⁷. Los objetivos de nuestro estudio han sido:

1. Conocer si en el cabello de pacientes con prótesis de cadera M-M existe una presencia exagerada de metales.
2. Conocer si estas cifras se modifican dependiendo del periodo de tiempo transcurrido desde el implante.
3. Conocer si las cifras de metales en cabello disminuyen al retirar la artroplastia M-M, mediante una cirugía de revisión.

Material y método

Este trabajo forma parte de un estudio comparativo de pruebas diagnósticas y de concordancia en el que se realizó la monitorización de niveles de Cr y Co en suero y orina y de Cr, Co y Mo en cabello de 45 pacientes portadores de prótesis metal-metal De Puy ASRTM hip resurfacing (De Puy Orthopaedics Inc, Warsaw, IN, EE. UU.). Las artroplastias fueron implantadas durante los años 2006 a 2009. El estudio fue aprobado por el Comité Regional de Ética (referencia numero 037/2011) y los pacientes firmaron un

Cómo citar este artículo: Hernandez-Vaquero D, et al. Detección de iones metálicos en cabello tras artroplastia de cadera metal-metal. Rev Esp Cir Ortop Traumatol. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.recot.2014.01.008>

consentimiento informado para el uso de su sangre, orina y cabello, y de los datos clínicos y de imagen. La serie inicial constaba de 49 artroplastias, pero en un caso se trataba de un implante bilateral por lo que se eliminó al sospechar que las determinaciones podían introducir un sesgo de confusión; otras 2 artroplastias se perdieron en el seguimiento.

La edad media del grupo fue $57,5 \pm 9,05$ (35-76) años y el índice medio de masa corporal de $29,42 \pm 5,37$ (19,48-43,58). Dos eran mujeres y 43 hombres. Cuando se realizó el estudio había transcurrido un tiempo medio de 51,8 meses desde el implante de la artroplastia (rango 29-85 meses). Durante el periodo de seguimiento se realizó cirugía de revisión para extraer la artroplastia de superficie en 11 casos, en 2 debido a fracturas del cuello del fémur, uno por luxación recidivante, 5 por niveles metálicos elevados y presencia de quiste periarticular confirmada mediante resonancia magnética, y 3 por dolor local de causa inexplicable. En estos pacientes se implantó un modelo convencional con fricción metal-polietileno y salieron del estudio. No obstante, a los 12 meses de esta segunda intervención se llevó a cabo una determinación de iones en cabello.

La toma de cabello se realizó a menos de 4 cm de distancia de la piel en la zona lateral derecha de la cabeza del paciente, consiguiendo como mínimo 0,5 g de muestra, siguiendo las recomendaciones establecidas en diversos estudios validados. Las muestras se enviaron al laboratorio en bolsas de polietileno identificadas mediante una numeración aleatoria.

Se siguieron varias fases para el análisis del cabello. En la etapa de pretratamiento se acondicionó la muestra mediante un proceso de lavado en baño de ultrasonidos para eliminar las trazas adheridas a la superficie que pudieran alterar los resultados. Tras este proceso se introdujo durante 12 h en estufa a 50 °C. Las muestras secas se almacenaron a temperatura ambiente hasta el momento de su análisis. Las muestras se almacenaron a -20 °C hasta el momento de su análisis, que se realizó con una técnica por plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS).

La cuantificación de los metales se llevó a cabo mediante un espectrómetro de masas. Se utilizó el modelo Element (Thermo Fisher, Inc, Waltham, MA, EE. UU.) de alta resolución. Está equipado con un nebulizador concéntrico tipo Meinhard, una cámara de nebulización de doble paso tipo Scott no refrigerada, una antorcha tipo Fassel con un tubo inyector de 1 mm de diámetro interno y en el que los 2 conos de la interfase, el de extracción («sampler») y el de muestreo («skimmer») son de níquel. Presenta 3 niveles de resolución diferentes, predefinidos y seleccionables en el momento de ejecutar el estudio.

Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS para Windows versión 20 (SPSS Inc, Chicago, Illinois, EE. UU.). Las comparaciones de metales según los años de seguimiento se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. La significación para diferencias estadísticas fue definida como $p < 0,05$.

Resultados

Las determinaciones de Cr, Co y Mo en cabello alcanzaron en nuestra serie niveles muy elevados (tabla 1). No se detectaron diferencias significativas en las concentraciones de

metales según el tiempo de seguimiento en años (prueba de Kruskal-Wallis). El Cr y el Co aumentaron a los 4 años, disminuyeron a los 5 y se elevaron de nuevo a los 6; sin embargo, el Mo a partir de los 4 años descendió progresivamente (fig. 1).

Para conocer si los niveles de estos iones en cabello se modificaban al retirar el implante estudiamos específicamente el grupo de 11 pacientes que habían sido reintervenidos, comparando las cifras de metales antes y después de la cirugía de revisión (tabla 2). Apreciamos diferencias significativas en la disminución de los niveles de Cr y Mo y tendencia a la significación en Co. Al estudiar exclusivamente a los 5 pacientes que fueron reintervenidos por metalosis se apreció una amplia diferencia entre las determinaciones antes y después de la cirugía de revisión, que supuso una disminución del 43,8% en los niveles de Cr; del 51,1% en Mo; y del 90,3% en Co (fig. 2).

Discusión

La liberación de iones metálicos desde las prótesis de cadera M-M, especialmente en los modelos de superficie, es una de las exposiciones a metales más y mejor estudiadas sobre todo desde que se detectaron reacciones tisulares locales². La importancia del estudio acerca de las consecuencias de esta liberación se refuerza cuando se sabe que en un tercio de las operaciones quirúrgicas de cadera realizadas en EE. UU. durante 2009 se emplearon prótesis M-M y que en ese país existen más de 500.000 pacientes portadores de estos tipos de prótesis, la mayoría implantadas entre 2003 y 2010. Desde 1996 se han implantado más de un millón de articulaciones de cadera M-M en el mundo.

Aunque en contaminaciones metálicas de procedencia interna no se han demostrado hasta ahora efectos teratógenos o cancerígenos, en intoxicaciones desde fuentes externas se conocen diferentes efectos sobre la reproducción, función renal o cardíaca. En pacientes portadores de artroplastias con fricción M-M se han descrito alteraciones en médula ósea, bazo e hígado. Los sistemas y órganos que más frecuentemente pueden verse afectados a medio plazo (10-20 años) son el sistema hematopoyético, el urogenital y la piel; a largo plazo (20-40 años) los órganos sólidos pueden verse afectados⁸ pero, en comparación con otro tipo de implantes, no hay evidencia de que las superficies M-M se encuentren asociadas con un riesgo incrementado en el diagnóstico de cáncer en los 7 años posteriores a la cirugía⁹.

Debido a estos efectos, y sobre todo a la posibilidad de aparición de complicaciones desconocidas a medio y largo plazo, se ha recomendado un seguimiento periódico en los pacientes que llevan implantada una artroplastia M-M¹⁰⁻¹² y especialmente de los modelos de cadera de superficie. El modelo ASR ha mostrado un elevado índice de fracasos a medio plazo¹³ y ha hecho que agencias internacionales¹⁴ y las recomendaciones de la propia compañía ordenen su retirada de la práctica clínica desde el año 2010.

El principal objetivo de nuestro estudio consistió en saber si en estos modelos de prótesis de cadera M-M la detección de metales en cabello ofrecía niveles más elevados que en la población normal y si al retirar el implante esta cifra disminuía.

Tabla 1 Niveles de metales en cabello (en ppm)

	Media	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mediana	DE	Coef. variación	Mínimo	Máximo
		Límite inferior	Límite superior					
Cr	163,27	64,46	262,08	70,90	300,62	1,84	10,20	1.616,30
Co	61,98	17,85	106,11	8,20	126,48	2,04	0,30	618,80
Mo	31,36	18,36	44,37	20,70	37,86	1,21	0,10	222,10

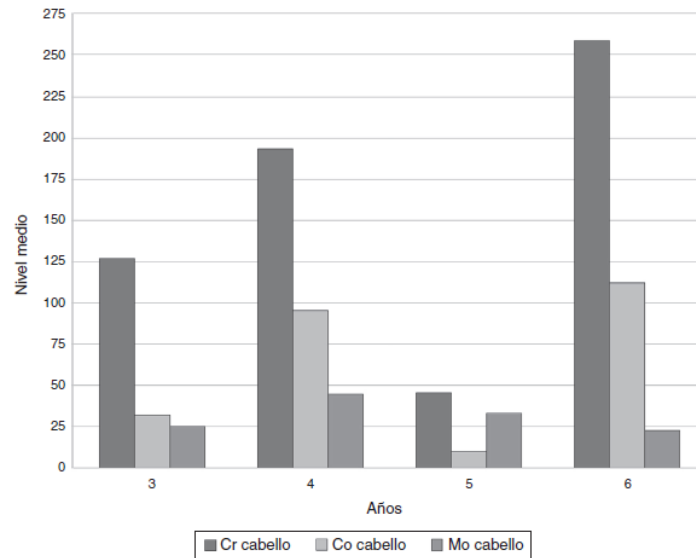


Figura 1 Niveles de metales en cabello (en ppm) en el seguimiento de 3 a 6 años.

Tabla 2 Resultados comparativos tras la extracción del implante (en ppm)

	Antes de la cirugía de revisión			Después de la cirugía de revisión			p*
	Media	DE	Rango	Media	DE	Rango	
Cr en cabello	185,32	226,56	18,70-683,70	102,56	132,11	13,00-396,00	0,028
Co en cabello	147,40	233,26	3,70-618,80	47,11	74,20	0,30-205,80	0,249
Mo en cabello	39,31	25,18	13,90-74,50	18,45	10,85	5,80-35,80	0,043

* Wilcoxon test.

El estudio de metales en cabello se ha realizado para conocer su relación con el desarrollo de algunas enfermedades como el párkinson, fibromialgia, autismo, esquizofrenia, esclerosis múltiple, etc.¹⁵⁻²⁰.

Existen diversas técnicas para el análisis de metales traza en cabello^{21,22} entre las que se encuentran la voltamperometría de disolución anódica, fluorescencia de rayos X, análisis elemental de espectroscopia por dispersión de energía a través de un detector de electrones acoplado a un microscopio de barrido electrónico, análisis por activación neutrónica, reflectancia total atenuada infrarroja transformada de Fourier, radiación de sincrotrón e ICP-MS. En nuestro estudio se empleó ICP-MS por tratarse de una técnica cuali-cuantitativa

de última generación que permite una alta resolución, está ampliamente validada y resulta costo-efectiva frente a la novedosa radiación de sincrotrón.

Diversos estudios²³⁻²⁵ han demostrado que los niveles de metales se acumulan a concentraciones superiores a un 10-50% en el cabello y su determinación permite analizar la exposición histórica del paciente y no solo la liberación de iones que es fluctuante a lo largo del tiempo. El pelo es un tejido de crecimiento lento por lo que no reflejará fluctuaciones rápidas de los niveles de metales, pero para evaluar el estado de salud es más conveniente conocer la carga tisular de metales que la cantidad que está siendo transportada en un momento determinado. Se conocen las cantidades

Cómo citar este artículo: Hernandez-Vaquero D, et al. Detección de iones metálicos en cabello tras artroplastia de cadera metal-metal. Rev Esp Cir Ortop Traumatol. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.recot.2014.01.008>

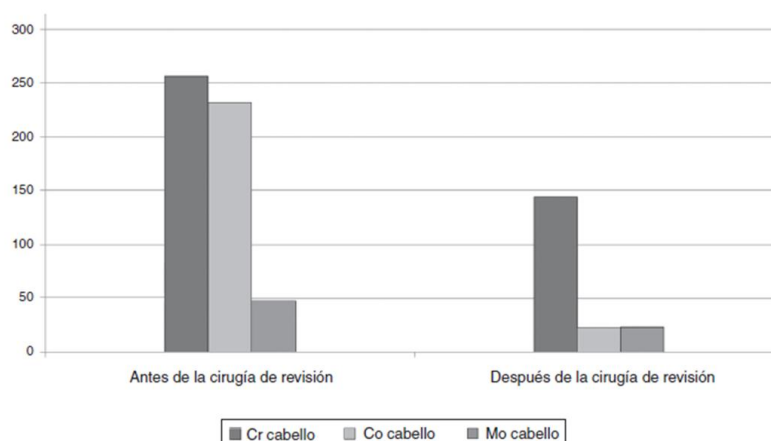


Figura 2 Niveles de metales (en ppm) antes y después de la cirugía de revisión en los casos de metalosis.

	Goullé et al. ²⁶	Nowak ²⁸	Davies et al. ²⁹	Batzevich ³⁰	Elenge et al. ³¹	Miekeley et al. ³²	Ray et al. ³³	Serie actual
Co-media	0,42			0,06	1,67			61,97
Cr-media		0,46	0,59	0,62	1,16			163,27
Mo-media					0,12	0,43	0,55	31,36

normales de metales en el cabello de poblaciones no expuestas con alguna pequeña variabilidad debida al empleo de distintos equipos para su determinación²⁶⁻³³. Las cifras de Cr en cabello oscilan entre 0,46 y 1,16 ppm; las de Co desde 0,06 hasta 1,67; y las de Mo, desde 0,12 hasta 0,55 ppm. Como puede observarse (tabla 3), en nuestra serie las cifras fueron mucho más elevadas y ello solo puede derivarse de la contaminación interna que estos modelos protésicos están produciendo.

La exposición continuada al Mo ha originado en animales degeneración grasa en hígado y riñón y alteración de los niveles de vitaminas del grupo B³⁴. El Mo es un cofactor de diversas enzimas (xantina oxidasa, aldehído oxidasa, sulfito oxidasa) y su presencia es necesaria para el metabolismo proteico, el metabolismo del azufre, la hidrólisis de los esterios fosfato, y el transporte y utilización del hierro. En estudios con mamíferos se han observado diferentes efectos tóxicos derivados de una elevada presencia de este metal, sobre todo pérdida de peso, diarrea, alopecia y anemia. Su toxicidad a nivel reproductivo se conoce desde mediados del siglo xx y en varios estudios se demuestra una afectación gonadal a nivel morfológico y funcional (disminución de la concentración del esperma, alteraciones morfológicas y de motilidad) así como embriotoxicidad de origen masculino.

El último objetivo de nuestro estudio fue conocer si las cifras de metales en cabello disminuían al retirar la artroplastia M-M. Hemos observado que estos niveles disminuían al extraer la prótesis en los casos de metalosis, disminución que llegó a más del 40% en los niveles de Cr, del 50% en Mo y del 90% en Co.

No obstante, hemos observado que las cifras disminuyen vertiginosamente tras la cirugía de revisión pero no se sitúan en niveles normales al año de esta segunda intervención. Ello puede deberse al efecto de depósito de los metales y que presumiblemente irá disminuyendo con el paso del tiempo, o a que el nuevo implante colocado, de fricción metal-polietileno, también eleva los niveles metálicos circulares.

La determinación de metales en cabello tiene ventajas. Su análisis no requiere personal técnico específico para la toma de la muestra, que puede facilitar el propio paciente, evitando los costes de personal sanitario especializado y de material específico para su recogida. No necesita el mantenimiento de la cadena de frío y permite ser almacenado a temperatura ambiente durante largo tiempo sin que cambie su composición. La determinación de metales en cabello es una técnica de bajo coste a la que se suma el ahorro en costes indirectos puesto que el paciente no tendría que desplazarse al centro en horario laboral lo que es ineludible para realizar la extracción de sangre y la entrega de orina. Asimismo, se evita la exposición del personal sanitario a fluidos biológicos que pudieran representar un medio de transmisión de infecciones. Por otra parte, una incorrecta extracción y transporte de la muestra sanguínea puede alterar los resultados. Los análisis de orina son tediosos para el paciente, ya que es necesaria la orina de 24h, lo que implica una serie de incomodidades aportando incertidumbre sobre la corrección en la recogida de la muestra al no estar presente personal técnico. Tanto para una como para otra se requiere material específico para el transporte

Cómo citar este artículo: Hernandez-Vaquero D, et al. Detección de iones metálicos en cabello tras artroplastia de cadera metal-metal. Rev Esp Cir Ortop Traumatol. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.recot.2014.01.008>

y conservación de las muestras y el mantenimiento de la cadena de frío en todo momento.

Las limitaciones de nuestro estudio son, en primer lugar, la ausencia de grupo control; hemos aceptado las cifras de metales en cabello de la población normal que se describen en la bibliografía y hemos comprobado la gran diferencia entre las cifras publicadas y las que hemos recogido en nuestro trabajo. No conocemos si en otros modelos de artroplastias con otro tipo de fricción como metal-polietileno los niveles de metales en cabello también se elevan, pero esta ausencia no invalida los resultados que hemos obtenido. Nuestra serie consta de pocos pacientes y con un limitado tiempo de seguimiento. Debido al escaso número de pacientes a los que se realizó cirugía de revisión, la disminución de los niveles de metales en cabello no pudo ofrecer diferencias estadísticas; no obstante, la diferencia tan extraordinariamente amplia entre las determinaciones antes y después de la extracción del implante confirman que los niveles de estos metales en el cabello se modifican con la colocación y posterior extracción de una artroplastia M-M. Una última limitación de nuestro estudio es que falta relacionar los niveles metálicos en el pelo con alteraciones generales o locales a medio y largo plazo, lo que solo podrá establecerse con el paso del tiempo.

Los resultados de nuestro estudio muestran que las cifras de Cr, Co y Mo en cabello de pacientes con este tipo de artroplastia son superiores a la población normal y que disminuyen al retirar el implante. Ello indica que esta determinación es un buen indicador biológico para la monitorización y estudio del comportamiento toxicocinético de los metales liberados en las prótesis de cadera M-M. Esta sencilla determinación puede ser útil para el despistaje de intoxicación por metales procedentes de prótesis articulares en grandes poblaciones a las que posteriormente se puede monitorizar mediante las determinaciones estandarizadas en suero y orina.

Nivel de evidencia

Nivel de evidencia III.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes y que todos los pacientes incluidos en el estudio han recibido información suficiente y han dado su consentimiento informado por escrito para participar en dicho estudio.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado mediante una ayuda a la investigación de la Sociedad Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología (SECOT) concedida en la convocatoria del año 2011.

Bibliografía

1. Willert HG, Buchhorn GH, Fayyazi A, Flury R, Windler M, Köster G, et al. Metal-on-metal bearings and hypersensitivity in patients with artificial hip joints. A clinical and histomorphological study. *J Bone Joint Surg Am.* 2005;87-A:28-36.
2. Kwon Y-M, Ostlere SJ, McLardy-Smith P, Athanasou N, Gill HS, Murray DW. Asymptomatic pseudotumors after metal-on-metal hip resurfacing arthroplasty: Prevalence and metal ion study. *J Arthroplasty.* 2011;26:511-8.
3. Meeker JD, Rossano MG, Protas B, Padmanabhan V, Diamond MP, Puscheck E, et al. Environmental exposure to metals and male reproductive hormones: Circulating testosterone is inversely associated with blood molybdenum. *Fertil Steril.* 2010;93:130-40.
4. Kwon Y-M, Lombardi AV, Jacobs JJ, Fehring TK, Lewis CG, Cabanela ME. Risk stratification algorithm for management of patients with metal-on-metal hip arthroplasty. Consensus statement of the American Association of Hip and Knee Surgeons, the American Academy of Orthopaedic Surgeons, and The Hip Society. *J Bone Joint Surg Am.* 2014;96:e4 (1-6).
5. Bencko V. Use of human hair as a biomarker in the assessment of exposure to pollutants in occupational and environmental settings. *Toxicology.* 1995;10:129-39.
6. Jenkins, D W. Toxic trace metals in mammalian hair and nails. U.S. Environmental Protection Agency, Las Vegas, Nevada 89114, EPA/600/4-79/049 (NTIS PB80103997), 1979.
7. Rodríguez de la Flor M, Hernandez-Vaquero D, Fernandez-Carriera JM. Metal presence in hair after metal-on-metal resurfacing arthroplasty. *J Orthop Res.* 2013;31:2025-31.
8. Wagner P, Olsson H, Ranstam J, Robertsson O, Hao Zheng M, Lidgren L. Metal-on-metal joint bearings and hematopoietic malignancy. A review. *Acta Orthopaedica.* 2012;83:553-8.
9. Smith AJ, Dieppe P, Porter M, Blom AW. Risk of cancer in first seven years after metal-on-metal hip replacement compared with other bearings and general population: Linkage study between the National Joint Registry of England and Wales and hospital episode statistics. *BMJ.* 2012;344:e2383.
10. British Orthopaedic Association 2011 [consultado 1 Feb 2013]. Disponible en: http://www.britishhipociety.com/pdfs/BHS_MOM_THR.pdf.
11. U.S. Food and Drug Administration Postmarket surveillance study letter template [consultado 21 Dic 2012]. Disponible en: <http://www.hiprecallinfo.com/wp-content/uploads/2011/05/Template-of-Letter-from-FDA-re.-order-for-postmarket-studies-to-MoM-manufacturers-00162262.pdf>
12. Jameson SS, Langton DL, Nargo AVF. Articular surface replacement of the hip: A prospective single-surgeon series. *J Bone Joint Surg Br.* 2010;92-B:28-37.
13. Haddad FS, Konan S. Current controversies in hip surgery. *J Bone Joint Surg Br.* 2012;94:297-301.
14. Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA) UK. Medical Device Alert DePuy ASR™ hip replacement implants. Ref: MDA/2010/069. 07 September 2010 [consultado

Cómo citar este artículo: Hernandez-Vaquero D, et al. Detección de iones metálicos en cabello tras artroplastia de cadera metal-metal. *Rev Esp Cir Ortop Traumatol.* 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.recot.2014.01.008>

- 21 Oct 2013]. Disponible en: <http://www.mhra.gov.uk/NewsCentre/Pressreleases/CON143784>
15. Blaurock-Busch E, Amin OR, Rabah T. Heavy metals and trace elements in hair and urine of a sample of Arab children with autistic spectrum disorder. *Maedica (Buchar)*. 2011;6:247-57.
 16. Rahman A, Azad MA, Hossain I, Qusar MM, Bari W, Begum F, et al. Zinc, manganese, calcium, copper, and cadmium level in scalp hair samples of schizophrenic patients. *Biol Trace Elem Res*. 2009;127:102-8.
 17. Cihan YB, Sözen S, Öztürk Yıldırım S. Trace elements and heavy metals in hair of stage III breast cancer patients. *Biol Trace Elem Res*. 2011;144:360-79.
 18. Komatsu F, Kagawa Y, Kawabata T, Kaneko Y, Chimedregzen U, Purvee B, et al. A high accumulation of hair minerals in Mongolian people: 2nd report; influence of manganese, iron, lead, cadmium and aluminum to oxidative stress, parkinsonism and arthritis. *Curr Aging Sci*. 2011;4:42-56.
 19. Komatsu F, Kagawa Y, Kawabata T, Kaneko Y, Kudoh H, Purvee B, et al. Influence of essential trace minerals and micronutrient insufficiencies on harmful metal overload in a Mongolian patient with multiple sclerosis. *Curr Aging Sci*. 2012;5:112-25.
 20. Kim YS, Kim KM, Lee DJ, Kim BT, Park SB, Cho DY, et al. Women with fibromyalgia have lower levels of calcium, magnesium, iron and manganese in hair mineral analysis. *J Korean Med Sci*. 2011;26:1253-7.
 21. Chan S, Gerson B, Subramaniam S. The role of copper, molybdenum, selenium, and zinc in nutrition and health. *Clin Lab Med*. 1998;18:673-85.
 22. Dombóvári J, Papp L. Comparison of sample preparation methods for elemental analysis of human hair. *Microchem J*. 1998;59:187-93.
 23. Rodushkin I, Axelsson MD Application of double focusing sector field ICP-MS for multielemental characterization of human hair and nails. Part II. A study of the inhabitants of northern Sweden. *Sci Total Environ*. 2000;262:21-36.
 24. Hong SR, Lee SM, Lim NR, Chung HW, Ahn HS. Association between hair mineral and age, BMI and nutrient intakes among Korean female adults. *Nutr Res Pract*. 2009;3:212-9.
 25. Iyengar V, Woittiez J. Trace elements in human clinical specimens: Evaluation of literature data to identify reference values. *Clin Chem*. 1988;34:474-81.
 26. Goullé J-P, Mahieu L, Castermant J, Neveu N, Bonneau L, Lainé G, et al. Metal and metalloid multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair. Reference values. *Forensic Sci Int*. 2005;153:39-44.
 27. Coleman RF, Herrington J, Scales JT. Concentration of wear products in hair, blood, and urine after total hip replacement. *Brit Medical J*. 1973;1:527-9.
 28. Nowak B. Contents and relationship of elements in human hair for a non-industrialised population in Poland. *Sci Total Environ*. 1998;209:59-68.
 29. Davies S, McLaren Howard J, Hunnisett A, Howard M. Age-related decreases in chromium levels in 51,665 hair, sweat, and serum samples from 40,872 patients. Implications for the prevention of cardiovascular disease and type II diabetes mellitus. *Metabolism*. 1997;46:469-73.
 30. Batzevich VA. Hair trace element analysis in human ecology studies. *Sci Total Environ*. 1995;164:89-98.
 31. Elenge MM, Aubry JC, Jacob L, de Brouwer C. Heavy metal in hair samples of 109 non-industrial (miners) population in Katanga. *Sante*. 2011;21:41-6.
 32. Miekeley N, Dias Carneiro MT, da Silveira CL. How reliable are human hair reference intervals for trace elements? *Sci Total Environ*. 1998;218:9-17.
 33. Ray SS, Das D, Ghosh T, Ghosh AK. The levels of zinc and molybdenum in hair and food grain in areas of high and low incidence of esophageal cancer: A comparative study. *Glob J Health Sci*. 2012;4:168-75.
 34. Vyskocil A, Viau CJ. Assessment of molybdenum toxicity in humans. *Appl Toxicol*. 1999;19:185-92.

Cómo citar este artículo: Hernandez-Vaquero D, et al. Detección de iones metálicos en cabello tras artroplastia de cadera metal-metal. *Rev Esp Cir Ortop Traumatol*. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.recot.2014.01.008>

Groin pain after metal-on-metal hip resurfacing prosthesis

Daniel Hernández-Vaquero¹, Ramon Delgado-Sevillano² and Maria Rodriguez de la Flor-García²

SAGE Open Medical Case Reports
2: 2050313X14545278
© The Author(s) 2014
Reprints and permissions:
sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav
DOI: 10.1177/2050313X14545278
sco.sagepub.com



Abstract

Total hip replacement continues to be a widely successful operation, but persistent groin pain following a metal-on-metal hip resurfacing remains a problem for some patients. The concern regarding the safety and efficacy of metal-on-metal total hip replacements has been rising. We present the case of a 47-year-old man with groin pain after metal-on-metal hip resurfacing. We observed high metal ion levels detected in blood analytical studies and a pseudotumor in magnetic resonance imaging. Our patient was treated with a revision surgery. The progressive elevation of blood and urine metal levels in the presence of periarticular cysts and/or groin pain is a complication of metal-on-metal hip arthroplasty and needs revision surgery.

Keywords

Hip, arthroplasty, metal–metal, pseudotumor, metallosis

Date received: 26 March 2014; accepted: 4 July 2014

Introduction

Hip resurfacing with metal–metal friction seemed an attractive option in the young patient group due to its bone-conserving nature, with possible simple revision and the large head contributing to greater stability. It was also conceptually sound as it dealt with arthritis as a disease of the joint and not of the whole head and neck. We present a case report of pseudotumor associated with metal-on-metal (M-M) hip resurfacing.

Case report

A 47-year-old man with ankylosing spondylitis underwent surgery 7 years ago to implant an M-M hip resurfacing ASR™ (DePuy, Warsaw, IN, USA) in the right hip. The patient attended the clinic complaining of progressive pain in the right groin exacerbated by stair climbing, getting into or out of bed and rising from seated position, but does not affect his ability to walk. A plain radiograph showed the arthroplasty in good position with no signs of failure (Figure 1). High levels of metal ions appeared in blood analytical studies (56.7 ppb chromium, 63.2 ppb cobalt) and urine (163.7 ppb chromium, 628.6 ppb cobalt). A magnetic resonance imaging (MRI) study was performed (Figure 2). The patient was revised to remove the arthroplasty and reimplant a conventional metal-on-polyethylene model. In this revision surgery, we found a

pseudotumor and profuse metallosis area with inflammatory reaction and partial destruction of the femoral neck (Figure 3). After 3 months, analytical studies showed 22.9 ppb of chromium and 2.9 ppb of cobalt in blood and 33 ppb of chromium and 8.9 ppb cobalt in urine. The patient is asymptomatic after 2 years of revision surgery.

Discussion

With the introduction of resurfacing arthroplasty and the increasing use of various M-M articulations, groin pain has once more been reported as a complication.¹ M-M articulation in total hip replacement (THR) has a higher prevalence of groin pain. This is well known to orthopedic surgeons. The aim of this case study is to report this event to other physicians: rheumatologists, general practitioners or internal medicine.

Bartelt et al.² reported groin pain in 7% of metal-on-polyethylene or ceramic-on-ceramic THRs, 15% of M-M and 18% of M-M resurfacings. The articular surface replacement

¹Department of Surgery, School of Medicine, University of Oviedo, Oviedo, Spain

²Hospital St Agustín, Avilés, Spain

Corresponding author:

Daniel Hernández-Vaquero, Calle Luis Treillard, 23, escl, 10º Izda, 33405 Salinas, Oviedo, Asturias, Spain.
Email: danielhvaquero@gmail.com



Creative Commons CC-BY-NC: This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 3.0 License (<http://www.creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits non-commercial use, reproduction and distribution of the work without further permission provided the original work is attributed as specified on the SAGE and Open Access page (<http://www.uk.sagepub.com/aboutus/openaccess.htm>).

Downloaded from sco.sagepub.com by guest on December 10, 2014



Figure 1. X-ray: the implant position is correct with no signs of failure.

(ASR) prosthesis has recently been recalled for unacceptably high revision rates. Langton et al.³ reported that in a series of 660 M-M hip resurfacings, 3.4% of ASR components required revision. Metal hypersensitivity, synovitis due to elevated metal ion levels or adverse local tissue reactions (formerly aseptic lymphocytic vasculitis-associated lesions (ALVAL)) should be considered in persistent groin pain and no evidence of infection, loosening, fracture or iliopsoas tendonitis. Many articles have been published recently⁴ on the subject of pseudotumors surrounding M-M hip resurfacing and replacement prostheses. These pseudotumors are sterile, inflammatory lesions within the periprosthetic tissues and have been variously termed masses, cysts, bursae, collections or ALVAL. The prevalence of pseudotumors in patients with a well-functioning M-M hip prosthesis is not well known. A periprosthetic cystic pseudotumor was diagnosed commonly in 60% of patients with the use of metal artifact reduction sequence MRI. The prevalence of pseudotumors was similar in patients with a well-functioning hip prosthesis, patients with a painful hip, patients with a well-positioned acetabular component, both men and women and symptomatic and asymptomatic hips.

Although MRI is useful for surgical planning, the presence of a cystic pseudotumor may not necessarily indicate the need for revision arthroplasty. Previous studies⁵ suggest that there are two kinds of lesions: fluid collections and soft-tissue masses; these lesions may be asymptomatic and are associated with reactions to metal wear particles on histology. Therefore, according to the current evidence base, a

lesion on MRI is not synonymous with the need for intervention.

The US Food and Drug Administration (FDA)⁶ recommends orthopedic surgeons to consider performing special imaging tests, joint aspiration and blood tests, including ion levels on symptomatic patients with an M-M THR. Blood tests include an erythrocyte sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein (CRP), which can be elevated with either infection or adverse local tissue reaction. When the blood or serum ion levels are <2 ppb, there is a low risk of this complication. When the levels are >7 ppb, the risk is increased. For other authors,⁷ preoperative testing of serum ion levels was not helpful in identifying patients with or without soft-tissue damage related to a failed M-M THR. Both Co and Cr levels had poor sensitivity and specificity for tissue damage found at revision. Furthermore, some authors⁸ found that the arbitrary cutoff value of 7 ppb was not a predictor of tissue damage. Any patient with even minimal symptoms in the presence of M-M total hip arthroplasty should be counseled with regard to management of symptoms.

Conclusion

We presented a patient with groin pain in an M-M hip prosthesis with normal X-ray and without other symptoms. Neither the symptoms nor the presence of cysts in MRI and high levels of Cr and Co in blood have enough predictive value taken one by one. Only the confirmation of a progressive elevation of metal levels in the presence of periprosthetic cysts and/or groin pain would force a revision surgery.

Consent

We have obtained the consent for publication from the patient and the ethics board (Research Committee, Hospital St Agustin, Spain).

Declaration of conflicting interests

The authors of this article have nothing to disclose.

Funding

This work was partially supported by a research grant from the Spanish Society of Orthopaedic Surgery and Traumatology (SECOT).

References

1. Henderson RA and Lachiewicz PF. Groin pain after replacement of the hip. Aetiology, evaluation and treatment. *J Bone Joint Surg Br* 2012; 94: 145–151.
2. Bartelt RB, Yuan BJ, Trousdale RT, et al. The prevalence of groin pain after metal-on-metal total hip arthroplasty and total hip resurfacing. *Clin Orthop Relat Res* 2010; 468: 2346–2356.
3. Langton DJ, Jameson SS and Joyce TJ. Early failure of metal-on-metal bearings in hip resurfacing and large-diameter total hip replacement: a consequence of excess wear. *J Bone Joint Surg Br* 2010; 92: 38–46.

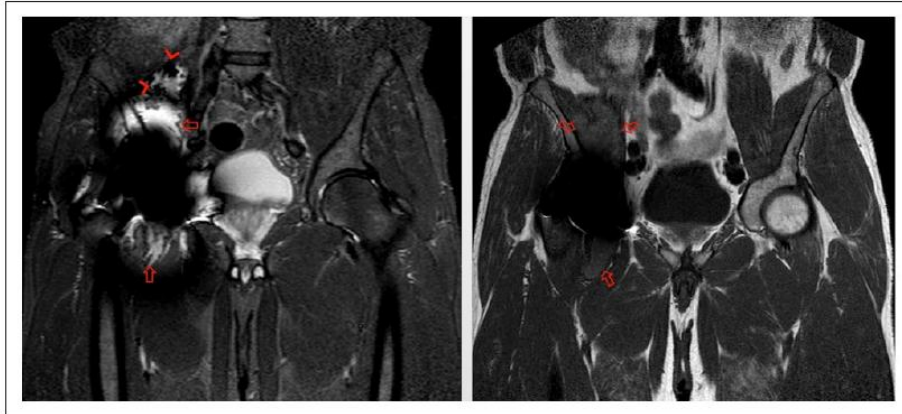


Figure 2. MRI: STIR-weighted and T1 images showed a bulky periprosthetic fluid collection above and below acetabular (arrows) component, with areas of low signal within it (arrowheads) due to metal debris. MRI: magnetic resonance imaging; STIR: short time inversion-recovery.

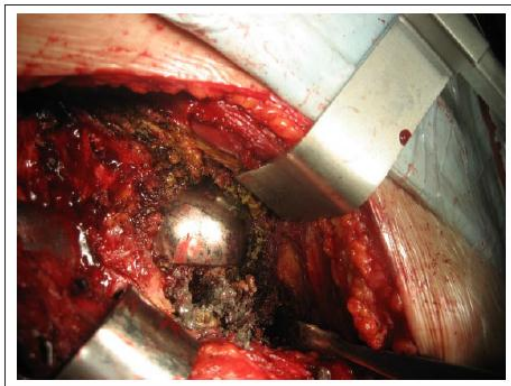


Figure 3. Metallosis tissue and metal debris in revision surgery. Osteolysis in femoral neck.

4. Hart AJ, Satchithananda K, Liddle AD, et al. Pseudotumors in association with well-functioning metal-on-metal hip prostheses: a case-control study using three-dimensional computed tomography and magnetic resonance imaging. *J Bone Joint Surg Am* 2012; 94: 317–325.
5. Sabah SA, Mitchell AWM, Henckel J, et al. Magnetic resonance imaging findings in painful metal-on-metal hips. A prospective study. *J Arthroplasty* 2011; 26: 71–76.
6. US Food and Drug Administration. <http://www.fda.gov/MedicalDevices/Safety/AlertsandNotices/ucm335775.htm> (accessed 29 July 2014).
7. Smolders JM, Bisseling P, Hol A, et al. Metal ion interpretation in resurfacing versus conventional hip arthroplasty and in whole blood versus serum. How should we interpret metal ion data? *Hip Int* 2011; 21: 587–595.
8. Hart AJ, Sabah SA, Bandi AS, et al. Sensitivity and specificity of blood cobalt and chromium metal ions for predicting failure of metal-on-metal hip replacement. *J Bone Joint Surg Br* 2011; 93: 1308–1313.

and SPARC (48.6 ± 41.5 mg) There are not statically significant differences in number, size, macro or microscopic liver metastases respectively.

Conclusions: Gemcitabine continues to show greater influence as therapy when evaluating tumor weight after treatment compared to vehicle control groups and SPARC. In this xenograft model, treatment with SPARC does not seem to have a greater response than gemcitabine treated group.

ISCHEMIC ETIOPATHOGENY OF POST-DBE PANCREATITIS ON A PORCINE ANIMAL MODEL

E. Morcillo, F. Soria, O. López-Albors, E. Pérez Cuadrado, F. Carballo, F.M. Sánchez-Margallo, R. Latorre

Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, Spain

Introduction: The most serious complication of double-balloon enteroscopy (DBE) is pancreatitis, whose etiology has not yet been elucidated.

Objectives: The assessment of the relationship between the performance of a double-balloon enteroscopy (DBE) and the pancreatic perfusion modify as an etiology of post-DBE pancreatitis.

Methods: 20 healthy female pigs were randomly distributed into two homogeneous groups. Group I: Animals were underwent DBE for 90 minutes. Serum amylase, lipase and C-reactive protein were determined before DBE (T0), during DBE at 30 minutes (T1) and at 60 minutes (T3), at the end of DBE (T4) and 7 days of the procedure. One week after the intervention, the pancreas was removed for histological analysis and vascular endothelial growth factor (VEGF) assessment. Group II: Animals were subjected to DBE for 90 minutes and the degree of perfusion of the pancreatic left lobe was studied with two reactants: pimonidazole (Hypoxiprobe), which was administered systemically before the procedure, and Hoscht, a nuclear marker, which was injected at the moment of maximum depth insertion of enteroscope, via ultra-selective catheterization of the pancreatic branch of the splenic artery.

Results: No clinical signs of pancreatitis nor pancreatic enzymes alterations were detected. However, a higher decrease in pancreatic perfusion was observed by Hoscht assessment. Immunohistochemical analysis showed positive reaction to pimonidazol (hypoxia) and to VEGF (induced angiogenesis); likewise disseminated focuses of ischemic necrosis were found in 47% of animals.

Conclusions: In this porcine model DBE hinders the vascular perfusion of the pancreas, which despite being asymptomatic, causes ischemia and necrosis foci in the organ. These results could be related to the pathogenesis of episodes of post-DBE pancreatitis in humans.

RELATIONSHIP BETWEEN THE LEVELS OF METALS IN BLOOD AND URINE WITH THE FINDINGS IN HAIR SAMPLES OF PATIENTS WHO HAVE UNDERGONE HIP RESURFACING ARTHROPLASTY

D. Hernández Vaquero¹, M. Rodríguez-de-la-Flor García², C. Sariego Muñiz³

¹Hospital San Agustín, Orthopaedic Surgery, Avilés-Spain, ²Hospital San Agustín, Pharmacy, Avilés-Spain, ³Scientific-Technical Services, Mass Spectrometry (University of Oviedo), Spain

Introduction: The elevated level of metals can provoke alterations in specific organs with unknown consequences. Hair metals monitoring could be a good indicator of this type of toxicity.

Objectives: To find out the relationship between the level of ion metals in serum, urine and hair in patients who have undergone metal-on-metal hip resurfacing arthroplasty.

Method: After several years of hip replacement surgery, the levels of metals in 45 patients in serum (Cr, Co), urine (Cr, Co) and hair (Cr, Co, Mo) were determined by ICP-MS.

Results: The mean levels in serum were 8.25 (Cr) and 8.38 (Co) µg/L, in urine 16.20(Cr) and 75.40(Co) µg/L and in hair 163.27(Cr) µg/g, 61.98 (Co) µg/g and 31.36 (Mo) µg/g. Revision surgery was needed on 11 patients. After one year, levels decreased 43.8% in chrome, 51.1% in molybdenum and 90.3% in cobalt.

Conclusions: There is a good correlation between the findings of metals in serum, urine and hair.

MICRO STRUCTURAL ANALYSIS OF METAL-ON-METAL HIP RESURFACING ARTHROPLASTY

D. Hernández Vaquero¹, M. Rodríguez-de-la-Flor García², Á. Martínez Nistal³

¹Hospital San Agustín, Orthopaedic Surgery, Avilés-Spain, ²Hospital San Agustín, Pharmacy, Avilés-Spain, ³Scientific-Technical Services, Photonics and Image Processing (University of Oviedo), Spain

Introduction: Higher rate of follow up surgery due to failure in metal on metal devices have been reported when compared with metal-on-polyethylene arthroplasties (13% vs 3%).

Objectives: To know the implication of the type of alloy and the manufacturing method of the ASR™ model in clinical results.

Methods: The roughness (sa) analysis of the metallic cap retrieved in 11 patients. Additional analysis of the surrounding tissues under a scanning electron microscope.

Results: The end of the head prosthesis shows major roughness (Sa = 3.554) than the centre (Sa = 1.698), ($t = -2.821$, $p < 0.05$). Micrometric particles of wear whose composition correspond to the alloy of the prosthesis were detected near the implant.

Conclusions: ASR prostheses have an alloy of melted metal while the acetabular rim is treated with hot isostatic compression. All this and a high carbon content (>0.15%) may explain the low resistance to wear and higher revision rate.

ANALYSIS OF METALLIC TRACES FROM BIODEGRADATION OF AZ31 MAGNESIUM ALLOY IN RAT ORGANS

O. G. Bodelón¹, C. Iglesias², I. Díaz², R. M. Lozano³, B. T. Pérez-Maceda³, C. Clemente⁴, M. A. Alobera¹, M. C. García-Alonso¹, J. C. Rubio², M. L. Escudero¹

¹Centro Nacional de Investigaciones Metalúrgicas, CENIM-CSIC, Madrid, Spain, ²Hospital Universitario La Paz, Madrid, Spain, ³Centro de Investigaciones Biológicas, CIB-CSIC, Madrid, Spain, ⁴Facultad de Medicina, Universidad de Alcalá de Henares, Madrid, Spain

Introduction: Magnesium alloys like AZ31 present better mechanical properties and corrosion resistance than pure Mg for application as temporary implants in osteoarticular replacements. However, their biodegradation process involves the release of metallic traces (Zn, Al and Mn), in addition to Mg.

Methods: Cylindrical pins of AZ31 alloy 20 mm in length and 1 mm in diameter, with a weight of 28 mg (composition: 3.37 wt.% Al, 0.78 wt.% Zn, 0.22 wt.% Mn (bal. Mg)). The pins were inserted as endomedullary implants in Wistar rats to synthesise a previously induced diaphyseal femur fracture. Following euthanasia, the brain, liver, spleen, kidneys and lungs were removed, freeze-dried, and analysed by ICP-MS.

Results: The results show an increase in metallic traces in all the analysed organs of the animals with implants, compared to the controls, but which was only significant in the case of Al. The traces of Mg, Mn and Zn found were within the considered non-toxic limits, according to Yuen's criteria, in all the analysed organs. Only 1.39% of Al from the implant was recovered in the organs. In the brain a level of 3.11 ppm was reached (dry weight), which may be considered within the range of normal values.

Conclusions: Biodegradation of the AZ31 implant leads to accumulation of Mg, Mn, Al and Zn traces in the organs of the implanted rats. Only Al accumulates in a statistically significant way in the spleen. In none of the studied organs do the accumulated traces present dangerous or toxic levels.

Financed by CICYT projects MAT 2008-06719-C03-01-02-03 and MAT 2011-29152-C02-01-02.

CLINICAL-RADIOLOGICAL AND HISTOLOGICAL CORRELATION OF AZ31 ALLOY USED AS A PROSTHETIC IMPLANT

C. Iglesias¹, O. G. Bodelón², I. Díaz², R. M. Lozano³, B. T. Pérez-Maceda³, C. Clemente⁴, M. A. Alobera², M. C. García-Alonso², J. C. Rubio¹, M. L. Escudero²

¹Hospital Universitario La Paz, Madrid, Spain, ²Centro Nacional de Investigaciones Metalúrgicas, CENIM-CSIC, Madrid, Spain, ³Centro de Investigaciones Biológicas, CIB-CSIC, Madrid, Spain, ⁴Facultad de Medicina, Universidad de Alcalá de Henares, Madrid, Spain

I. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ Finch J. The art of medicine The ancient origins of prosthetic medicine. *The Lancet* [Internet]. Elsevier Ltd; 2011;377 (9765) : 548 - 549. Disponible en: [http://www.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS0140-6736\(11\)60190-6.pdf](http://www.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS0140-6736(11)60190-6.pdf).
- ² Arcos D, Izquierdo-Barba I, Vallet-Regí M. Promising trends of bioceramics in the biomaterials field. *J Mater Sci Mater Med*. 2009;20:447-455.
- ³ Puértolas JA. Biomateriales para el hombre biónico del futuro. Ibercaja Zentrum.2008. [internet].Disponible en:<http://www.unizar.es/icma/divulgacion/pdf/iberZentrum/biomaterialesHombreBionico.pdf>.
- ⁴ Ribas M. Pathologies: The importance of detection. Osteoarthritis of the hip in young adults. Disponible en: http://www.micadera.es/en/unidad_cadera/patologias/artrosis_cadera.
- ⁵ Carmona L, Gabriel R, Ballina FJ, Laffon A. Grupo de Estudio EPISER. Proyecto EPISER 2.000: Prevalencia de enfermedades reumáticas en la población española. Metodología, resultados del reclutamiento y características de la población. *Rev Esp Reumatol*. 2001;28:18-25.
- ⁶ Sargeant A, Goswami T. Hip implants PaperVI Ion concentrations. *Materials & Design*. 2007;28:155-171.
- ⁷ Wolner C, Naue GE, Trummer J, Putz V, Tschegg S. Possible reasons for the unexpected bad biocompatibility of metal-on-metal hip implants. *Mater. Sci. Eng*. 2006;26:34-40.
- ⁸ Fernandez Lopez JC, Laffon A, Blanco FJ, Carmona L; EPISER Study Group. Prevalence, risk factors, and impact of knee pain suggesting osteoarthritis in Spain. *Clin Exp Rheumatol*. 2008;26:24-32.
- ⁹ Clínica Universidad de Navarra [internet] .Material audiovisual, infográficos, prótesis de cadera. [actualizado en 2012; citado el 21 Ene 2014].Disponible en: <http://www.cun.es/material-audiovisual/infografia/protesis-cadera>.
- ¹⁰ Shands AR. Historical milestones in the development of modern surgery of the hip joint. En:Tronzo R.G., eds. *Surgery of the hip joint*. Lea &Febiger. Philadelphia, 1973.
- ¹¹ Murphy JB. Arthroplasty. *Ann Surg*.1913;57:593-647.
- ¹² Loewe O. ÜberHautimplatationanStelle der freienFaszien-plastik. *München. MedWschr*, 1913;60:1320.
- ¹³ Santanapipatkul P, Udomkiat P. Smith-Petersen Mould Arthroplasty : a 48-year Follow-up. *Sriraj Med J*. 2012;64:127-128.
- ¹⁴ Aufranc OE. Constructive hip surgery with Vitallium mold. A report on 1000 cases of arthroplasty of the hip over a 15-year period. *J Bone Joint Surg*. 1957;39-A:237-248.
- ¹⁵ Judet R, Judet J. Technique and results with the acrylic femoral head prosthesis. *J Bone Joint Surg*. 1952;34-B:173.
- ¹⁶ The John Charnley Research Institute.Early Years.[internet]; 2009 [citado 21 Ene 2014]. Disponible en: http://www.charnleyresearch.co.uk/early_years.html.

- ¹⁷ Thompson FR. Vitalium intramedullary hip prosthesis; preliminary report. *New York J. Med.* 1952;52:3011-3020.
- ¹⁸ Moore AT. Metal hip joint: new self-locking Vitalium prosthesis. *Southern Med. J.* 1952;45:1015-1019.
- ¹⁹ Museum of Healthcare at Atkison. Online Exhibits. Joint Replacements.Challenges to creating Replacements that work.[internet]2015 [citado 21 Ene 2014]. Disponible en: <http://www.museumofhealthcare.ca/explore/exhibits/joints/hip-replacement.html>.
- ²⁰ Amstutz HC, Grigoris P. Metal on metal bearings in hip arthroplasty. *ClinOrthop.* 1996;329:13-34.
- ²¹ BoneSmart. Knee Replacement & Hip Replacement Patient Advocacy & Online Community [internet].2015. Disponible en: <http://bonesmart.org/forum/threads/hello-nearly-4-weeks-post-lthr.5840/page-2>.
- ²² Salvi AE, Grappiol G. Letters to the editor.The Sivash Constrained Acetabular Cup. *ORTHOPEDICS.* 2009;1; 32 [internet]. Disponible en: Healio Orthopaedics.
- ²³ Ring PA. Complete replacement arthroplasty of the hip by the Ring Prosthesis. *J Bone Joint Surg.* 1968;50-B:720-731.
- ²⁴ Charnley J. The long-term result of low-friction arthroplasty of the hip as a primary intervention. *J Bone Joint Surg.* 1972;54-B:61.
- ²⁵ Charnley J. The reaction of bone to self-curing acrylic cement: a long-term histological study in man. *J Bone Joint Surg.* 1970;52-B:340.
- ²⁶ Charnley J. Total hip replacement by low-friction arthroplasty. *ClinOrthop.* 1970;72:7.
- ²⁷ Charnley J. The bonding of prosthesis to bone by cement. *J Bone Joint Surg.* 1964;46-B:518.
- ²⁸ Charnley J. Arthroplasty of the hip: a new operation. *Lancet.* 1961;1:1129.
- ²⁹ Charnley J, Cupic Z. The nine and ten year results of the low-friction arthroplasty of the hip. *Clin Orthop Relat Res.* 1973;95:9-25.
- ³⁰ The John Charnley Research Institute. Early Years.[internet]; 2009. Disponible en: http://charnleyresearch.co.uk/low_friction.html.
- ³¹ Wroblewski BM, Lynch M, Atkinson JR, Dowson D, Isaac GH. External wear of the polyethylene socket in cemented total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br.* 1987;69:61-63.
- ³² Wroblewski BM. Charnley low friction arthroplasty. Review of the past, present status, and prospect for the future. *Clin Orthop.* 1986;210:37-42.
- ³³ Wroblewski BM. 15-21 year results of the Charnley low friction arthroplasty. *Clin Orthop.* 1986;211:30-35.

- ³⁴ Kolb A, Gröbl A, Schneckener CD, Chiari C, Kaider A, Lass R, *et al.* Cementless total hip arthroplasty with the rectangular titanium Zweymüller stem: a concise follow-up, at a minimum of twenty years, of previous reports. *J Bone Joint Surg Am.* 2012;94:1681-1684.
- ³⁵ FDA. Concerns about metal-on-metal hip implants systems.2011.
- ³⁶ Cohen D. *Out of joint: The story of the ASR.*BMJ [internet]2011; 342:d2905;p.1. Disponible en: *British Medical journal.*
- ³⁷ Smith SL, Dowson D, Goldsmith AA. The effect of femoral head diameter upon lubrication and wear of metal-on-metal total hip replacements. *Proc Inst Mech Eng.* 2001;215:161-170.
- ³⁸ Smith SL, Dowson D, Goldsmith AA. The effect of diametral clearances, motion and loading cycles upon lubrication of metal-on-metal hip replacements. *Proc Inst Mech Eng.* 2001;215:1-5.
- ³⁹ Cohen D, Billingsley M. Europeans are left to their own devices. *BMJ* 2011;342:d2748.
- ⁴⁰ Haute Autorite de Sante. Commission d'évaluation des produits et prestations, 24 Jun 2008.
- ⁴¹ Kamali A, Hussain A, Li C, Pamu J, Daniel J, Ziaee H, *et al.* Tribiological performance of various CoCr microstructures in metal-on-metal bearings: the development of a more physiological protocol in vitro. *J Bone Joint Surg Br.* 2010;92:717-725.
- ⁴² Learmonth I. The operation of the century: total hip replacement. *Lancet.* 2007;370:1508-1519.
- ⁴³ PricewaterhouseCoopers. Medical technology innovation scorecard. 2011.
- ⁴⁴ Australian Orthopaedic Association. National Joint Replacement Registry, annual report 2010. AOA, 2010.
- ⁴⁵ Dowson D, Hardaker C, Flett M, Isacc GH. Hip joint simulator study of the performance of metal-on-metal joints. Part I: the role of materials. *J Arthroplasty.* 2004;19(suppl 3).
- ⁴⁶ Dowson D, Hardaker C, Flett M, Isacc GH. Hip joint simulator study of the performance of metal-on-metal joints. Part II:Design. *J Arthroplasty.* 2004;19(suppl 3).
- ⁴⁷ Langton DJ, Jameson SS, Joyce TJ, Webb J, Nargol AV.The effect of component size and orientation on the concentration of metal ions after resurfacing arthroplasty of the hip. *J Bone Joint Surg Br.* 2008;90:1143-1151.
- ⁴⁸ MHRA. Minutes of the Committee on the Safety of Devices Meeting, 23 March 2006.
- ⁴⁹ Grammatopolous G, Pandit H, Kwon YM, Gundle R, McLardy-Smith P, Beard DJ, *et al.* Hip resurfacings revised for inflammatory pseudotumour have a poor outcome. *J Bone Joint Surg Br.* 2009;91:1019-1024.
- ⁵⁰ Lavigne M, Belzile EL, Roy A, Morin F, Amzica T, Vendittoli PA. Comparison of whole-blood metal ion levels in four types of metal-on-metal large diameter femoral head total hip arthroplasty: the potential influence of the adapter sleeve. *J Bone Joint Surg Am.* 2011;93:128-136.

- ⁵¹ Australian Orthopaedic Association National Joint Replacement Registry Hip and Knee. (2014). Arthroplasty Annual Report 2014. [https://aoanjrr.dmac.adelaide.edu.au/documents/10180/172286/Annual Report 2014](https://aoanjrr.dmac.adelaide.edu.au/documents/10180/172286/Annual%20Report%202014).
- ⁵² Willert HG, Buchhorn GH, Fayyazi A, Flury R, Windler M, Köster G *et al.* Metal-on-metal bearings and hypersensitivity in patients with artificial hip joints. A clinical and histomorphological study. *J Bone Joint Surg Am.* 2005;87-A:28-36.
- ⁵³ Kwon YM, Ostlere SJ, McLardy-Smith P, Athanasou N, Gill HS, Murray DW. "Asymptomatic" pseudotumors after metal-on-metal hip resurfacing arthroplasty: prevalence and metal ion study. *J Arthroplasty.* 2011;26:511-518.
- ⁵⁴ Hug KT, Watters TS, Vail TP, Bolognesi MP. The Withdrawn ASR THA and Hip Resurfacing Systems. How Have Our Patients Fared Over 1 to 6 Years? . *Clin Orthop Relat Res.* 2013;471:430-438.
- ⁵⁵ Wiley KF, Ding K, Stoner JA, Teague DC, Yousuf KM. Incidence of pseudotumor and acute lymphocytic vasculitis associated lesion (ALVAL) reactions in metal-on-metal hip articulations: a meta-analysis. *J Arthroplasty.* 2013;28:1238-1245.
- ⁵⁶ SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks), the safety of Metal-on-Metal joint replacements with a particular focus on hip implants, 25 September 2014.
- ⁵⁷ Kwon YM, Lombardi AV, Jacobs JJ, Fehring TK, Lewis CG, Cabanela ME. Risk stratification algorithm for management of patients with metal-on-metal hip arthroplasty. Consensus statement of the American Association of Hip and Knee Surgeons, the American Academy of Orthopaedic Surgeons, and The Hip Society. *J Bone Joint Surg Am.* 2014;96:(1-6).
- ⁵⁸ Williams DF. Definitions in biomaterials, progress in biomedical engineering. Ed. Elsevier, Amsterdam, 1987;4:291-363.
- ⁵⁹ Charnley J. Biocompatibility of orthopaedic implants. *J. Bone Surg.* 1960;42:28-30.
- ⁶⁰ Nicholson, John W and Royal Society of Chemistry (Great Britain) The chemistry of medical and dental materials. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 2002.
- ⁶¹ Scales JT. Arthroplasty of hip using the foreign materials: a history. *Inst Mech. Eng.* 1967;63:63-84.
- ⁶² McKee GK. Developments in total hip joint replacements, Symposium on lubrication and wear in living and artificial human joints. *Inst. Mech. Eng.* 1967;181:85-89.
- ⁶³ Romanini E, Lupporelli S. Metal-on-metal total hip replacement. What does the literature say?. *J Arthroplasty.* 2005;20:821-822.
- ⁶⁴ Rieker C, Kottig P. In vivo tribological performance of 231 metal-on-metal hip articulations. *Hip Int.* 2002;12:73-76.
- ⁶⁵ Doorn P, Campbell PA, Amstutz HC. Metal versus polyethylene wear particles in total hip replacements. *Clin Orthop.* 1996;329:206-216.

- ⁶⁶ Dorr LD, Wan Z, Longjohn DB, Dubois B, Murken R. Total hip arthroplasty with use of the Metasul metal-on-metal articulation. Four to seven-year results. *J Bone Joint Surg Am.* 2000; 82:789-798.
- ⁶⁷ Buford A, Goswami T. Review of wear mechanisms in hip implants. *Mater Design.* 2004;25:385-393.
- ⁶⁸ MacDonald SJ, McCalden RW, Chess DG, Bourne RB, Rorabeck CH, Cleland D *et al.* Metal-on-metal versus polyethylene in hip arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res.* 2003;406:282-296.
- ⁶⁹ Hallab NJ. A review of the biologic effects of spine implant debris: Fact from fiction. *SAS Journal.* 2009;3:143-160.
- ⁷⁰ Catelas I, Wimmer MA. New insights into wear and biological effects of metal-on-metal bearings. *J Bone Joint Surg Am.* 2011; 93:76-83.
- ⁷¹ Yan Y, Neville A, Dowson D. Tribo-Corrosion properties of cobalt-based medical implant alloys in simulated biological environments. *Wear.* 2007;263:1105-1111.
- ⁷² Hanawa T. Metal ion release from metal implants. *Mat. Sci. Eng.* 2004;24:745-752.
- ⁷³ Jacobs JJ, Patterson LM, Skipor AK, Hall DJ, Urban RM, Black J. *et al.* Postmortem retrieval of total joint replacement components. *J Biomed Mater Res.* 1999;48:385-391.
- ⁷⁴ Buford A, Goswami T. Review of wear mechanisms in hip implants. *Mater Design.* 2004;25:385-393.
- ⁷⁵ Milošev I, Strehblow HH. The composition of the surface passive film formed on CoCrMo alloy in simulated physiological solution. *Electrochimica Acta.* 2003;48:2767-2774.
- ⁷⁶ Kelly EJ. Electrochemical Behavior of Titanium. *Mod Aspect Electrochem.* 1982;14:319-424.
- ⁷⁷ Virtanen S, Milosev I, Gomez-Barrena E, Trebse R, Salo J, Konttinen YT. Special modes of corrosion under physiological and simulated physiological conditions. *Acta Biomater.* 2008;4:468-476.
- ⁷⁸ Cohen J. Current concepts review. Corrosion of metal orthopaedic implants. *J Bone Joint Surg Am.* 1998;80:1554.
- ⁷⁹ Jacobs JJ, Skipor AK, Patterson LM, Hallab NJ, Paprosky WG, Black J *et al.* Metal release in patients who have had a primary total hip arthroplasty. A prospective, controlled, longitudinal study. *J Bone Joint Surg Am.* 1998;80:1447-1458.
- ⁸⁰ Brown C, Fisher J, Ingham E. Biological effects of clinically relevant wear particles from metal-on-metal hip prostheses. *Proc Inst Mech Eng H.* 2006;220:355-369.
- ⁸¹ Cobb AG, Schmalzreid TP. The clinical significance of metal ion release from cobalt-chromium metal-on-metal hip joint arthroplasty. *Proc Inst Mech Eng H.* 2006;220:385-398.
- ⁸² Doorn PF, Campbell PA, Worrall J, Benya PD, McKellop HA, Amstutz HC. Metal wear particle characterization from metal on metal total hip replacements: transmission electron microscopy study of periprosthetic tissues and isolated particles. *J Biomed Mater Res.* 1998;42:103-111.

- ⁸³ Shahgaldi BF, Heatley FW, Dewar A, Corrin B. In vivo corrosion of cobalt-chromium and titanium wear particles. *J Bone Joint Surg Br.* 1995;77:962-966.
- ⁸⁴ Milošev I. Effect of complexing agents on the electrochemical behaviour of orthopaedic stainless steel in physiological solution. *J App Electrochem.* 2002;32:311-320
- ⁸⁵ Khan MA, Williams RL, Williams DF. The corrosion behaviour of Ti-6Al-4V, Ti-6Al-7Nb and Ti-13Nb-13Zr in protein solutions. *Biomaterials.* 1999;20:631-637.
- ⁸⁶ Merritt K, Brown SA. Effect of proteins and pH on fretting corrosion and metal ion release. *J Biomed Mater Res.* 1988;22:111-120.
- ⁸⁷ Chassot E, Irigaray JL, Terver S, Vanneville G. Contamination by metallic elements released from joint prostheses. *Med Eng Phys.* 2004;26:193-199.
- ⁸⁸ Neumann DR, Thaler C, Hitzl W, Huber M, Hofstädter T, Dorn U. Long-term results of a contemporary metal-on-metal total hip arthroplasty: a 10-year follow-up study. *J Arthroplasty.* 2010;25:700-708.
- ⁸⁹ Brown C, Lacharme-Lora L, Mukonoweshuro B, Sood A, Newson RB, Fisher J, *et al.* Biomaterials Consequences of exposure to peri-articular injections of micro- and nano-particulate cobalt chromium alloy. *Biomaterials.* 2013;34:8564-8580.
- ⁹⁰ Long WT, Dastane M, Harris MJ, Wan Z, Dorr LD. Failure of the Durom Metasul® Acetabular Component. *Clin Orthop Relat Res.* 2010;468:400-405.
- ⁹¹ Andrews RE, Shah KM, Wilkinson JM, Gartland A. Effects of cobalt and chromium ions at clinically equivalent concentrations after metal-on-metal hip replacement on human osteoblasts and osteoclasts: implications for skeletal health. *Bone.* 2011;49:717-723.
- ⁹² Jost-Albrecht K, Hofstetter W. Gene expression by human monocytes from peripheral blood in response to exposure to metals. *J Biomed Mater Res B.* 2006;76:449-455.
- ⁹³ Yuan Y, Beitner-Johnson D, Millhorn DE. Hypoxia-inducible factor 2alpha binds to cobalt in vitro. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;288:849-854.
- ⁹⁴ Caltana L, Merelli A, Lazarowski A, Brusco A. Neuronal and glial alterations due to focal cortical hypoxia induced by direct cobalt chloride (CoCl₂) brain injection. *Neurotox Res.* 2009;15:348-358.
- ⁹⁵ De Flora S, Camoirano A, Bagnasco M, Bennicelli C, Corbett GE, Kerger BD. Estimates of the chromium(VI) reducing capacity in human body compartments as mechanism for attenuating its potential toxicity and carcinogenicity. *Carcinogenesis.* 1997;18:531-537.
- ⁹⁶ Hart AJ, Quinn PD, Sampson B, Sandison A, Atkinson KD, Skinner JA *et al.* The chemical form of metallic debris in tissues surrounding metal-on-metal hips with unexplained failure. *Acta Biomater.* 2010;6:4439-4446.
- ⁹⁷ Goode AE, Perkins JM, Sandison A, Karunakaran C, Cheng H, Wall D, *et al.* Chemical speciation of nanoparticles surrounding metal-on-metal hips. *Chem Commun (Camb).* 2012;48:8335-8337.

- ⁹⁸ Zijlstra WP, Bulstra SK, van Raay JJ, van Leeuwen BM, Kuijjer R. Cobalt and chromium ions reduce human osteoblast-like cell activity in vitro, reduce the OPG to RANKL ratio, and induce oxidative stress. *J Orthop Res.* 2012;30:740-747.
- ⁹⁹ De Smet K, De Haan R, Calistri A, Campbell PA, Ebramzadeh E, Pattyn C, *et al.* Metal ion measurement as a diagnostic tool to identify problems with metal-on-metal hip resurfacing. *J Bone Joint Surg.* 2008;90:202-208.
- ¹⁰⁰ Thomas P, Stauner K, Schraml A, Mahler V, Banke IJ, Gollwitzer H *et al.* Characteristics of 200 patients with suspected implant allergy compared to 100 symptom-free arthroplasty patients. *Orthopade.* 2013;42:607-613.
- ¹⁰¹ Hallab N. Metal sensitivity in patients with orthopedic implants. *J Clin Rheumatol.* 2001;7:215-218.
- ¹⁰² Ladon D, Doherty A, Newson R, Turner J, Bhamra M, Case CP. Changes in metal levels and chromosome aberrations in the peripheral blood of patients after metal-on-metal hip arthroplasty. *J Arthroplasty.* 2004;19:78-83.
- ¹⁰³ Dunstan E, Ladon D, Whittingham-Jones P, Carrington R, Briggs TW. Chromosomal aberrations in the peripheral blood of patients with metal-on-metal hip bearings. *J Bone Joint Surg Am.* 2008;90:517-522.
- ¹⁰⁴ Bucher JR, Elwell MR, Thompson MB, Chou BJ, Renne R, Ragan HA. Inhalation toxicity studies of cobalt sulfate in F344/N rats and B6C3F1 mice. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1990;15:357-372.
- ¹⁰⁵ Simonsen LO, Harbak H, Bennekou P. Cobalt metabolism and toxicology—A brief update. *Sci. Total Environ.* 2012;432:210-215.
- ¹⁰⁶ Patel E, Lynch C. Co-exposure to nickel and cobalt chloride enhances cytotoxicity and oxidative stress in human lung epithelial cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012;258:367-375.
- ¹⁰⁷ Silva M, Heisel C, Schmalzried TP. Metal-on-metal total hip replacement. *Clin Orthop Relat Res.* 2005;430:53-61.
- ¹⁰⁸ Visuri TI, Pukkala P, Paavolainen P. Cancer incidence and causes of death among total replacement patients: a review based on Nordic cohorts with a special emphasis on metal-on-metal bearings. *Proc Inst Mech Eng [H].* 2006;220:399-407.
- ¹⁰⁹ Meyskens FL Jr., Farmer P, Anton-Culver H. Etiologic pathogenesis of melanoma: a unifying hypothesis for the missing attributable risk. *Clin Cancer Res.* 2004;10:2581-2583.
- ¹¹⁰ Meyskens FL Jr. Pathogenesis and chemoprevention of human cutaneous melanoma: redox gone wrong. Pam Am Society for Pigment Cell Research, on line commentary Sept 2006.
- ¹¹¹ Learmonth ID, Case CP. Metallic debris from orthopaedic implants. *Lancet.* 2007;369:542-544.
- ¹¹² Keegan GM. Orthopaedic metals and their potential toxicity in the arthroplasty patient: A review of current knowledge and future strategies. *J Bone Joint Surg Br.* 2007;89:567-573.

- ¹¹³ Sehatzadeh S, Kaulback K, Levin L. Metal-on-metal hip resurfacing arthroplasty: an analysis of safety and revision rates. *Ont Health Technol Assess Ser.* 2012;12:1-63.
- ¹¹⁴ Mäkelä KT, Visuri T, Pulkkinen P, Eskelinen A, Remes V, Virolainen P *et al.* Cancer incidence and cause-specific mortality in patients with metal-on-metal hip replacements in Finland. *Acta Orthop.* 2014;85:32-38.
- ¹¹⁵ Nyrén O, McLaughlin JK. Cancer risk after hip replacement with metal implants: a population-based cohort study in Sweden. *J Natl Cancer Inst.* 1995;87:28-33.
- ¹¹⁶ Visuri T, Pulkkinen P. Cancer risk is not increased after conventional hip arthroplasty. *Acta Orthop.* 2010;81:77-81.
- ¹¹⁷ Onega T. Cancer after total joint arthroplasty: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006;15:1532-1537.
- ¹¹⁸ Doherty AT, Howell RT, Ellis LA, Bisbinas I, Learmonth ID, Newson R *et al.* Increased chromosome translocations and aneuploidy in peripheral blood lymphocytes of patients having revision arthroplasty of the hip. *J Bone Joint Surg Br.* 2001;83:1075-1081.
- ¹¹⁹ Hong L, Simon JD. Current understanding of the binding sites, capacity, affinity, and biological significance of metals in melanin. *J Phys Chem B.* 2007;111:7938-7947.
- ¹²⁰ Meyskens FL Jr. Haematological profile of subacute oral toxicity of molybdenum and ameliorative efficacy of copper salt in goats. Redox regulation in human melanocytes and melanoma. *Pigment Cell Research.* 2001;14:148-154.
- ¹²¹ Meyskens FL Jr, Berwick M. UV or not UV: metals are the answer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17:268-270.
- ¹²² Hofmann B, Fischer CO. Gadolinium neutron capture therapy (GdNCT) of melanoma cells and solid tumors with the magnetic resonance imaging contrast agent Gadobutrol. *Invest Radiol.* 1999;34:126-133.
- ¹²³ California environmental agency. State water resources control board. Chromium-6 Drinking Water MCL (Actualizada 10/29/14; acceso 5/2/14). Disponible en:http://www.waterboards.ca.gov/drinking_water/certlic/drinkingwater/Chromium6.shtml.
- ¹²⁴ Leonard SS, Harris GK. Metal-induced oxidative stress and signal transduction. *Free Radic Biol Med.* 2004;37:1921-42.
- ¹²⁵ O'Brien TJ, Ceryak S. Complexities of chromium carcinogenesis: role of cellular response, repair and recovery mechanisms. *Mutat Res.* 2003; 533:3-36.
- ¹²⁶ Beyersmann D, Hartwig A. Carcinogenic metal compounds: recent insight into molecular and cellular mechanisms. *Arch Toxicol.* 2008;82:493-512.
- ¹²⁷ Snow ET. A possible role for chromium (III) in genotoxicity. *Environ Health Perspect.* 1991;92:75-81.
- ¹²⁸ Wise SS, Holmes AL, Wise JP Sr. Hexavalent chromium-induced DNA damage and repair mechanisms. *Rev Environ Health.* 2008;23:39-57.

- ¹²⁹ Arakawa H, Wu F. Sequence specificity of Cr (III)-DNA adduct formation in the p53 gene: NGG sequences are preferential adduct-forming sites. *Carcinogenesis*. 2006;27:639-45.
- ¹³⁰ Pleasance ED, Cheetham K, Stephens PJ *et al*. A comprehensive catalogue of somatic mutations from a human cancer genome. *Nature*.2010;463:191-197.
- ¹³¹ Documento de información y asesoramiento: Actuación ante pacientes portadores de prótesis total de cadera con par de fricción metal metal. Disponible en: <http://www.secca.es/p/rotesisMoMclinguide2012.pdf>.
- ¹³² Goullé JP, Sausseureau E. Accidental potassium dichromate poisoning. Toxicokinetics of chromium by ICP-MS-CRC in biological fluids and in hair. *Forensic Sci Int*. 2012;21:8-12.
- ¹³³ Brewer GJ, Johnson V, Dick RD, Kluin KJ, Fink JK, Brunberg JA. Treatment of Wilson disease with ammonium tetrathiomolybdate. II. Initial therapy in 33 neurologically affected patients and follow-up with zinc therapy. *Arch Neurol*. 1996;53:1017-1025.
- ¹³⁴ Kusum, Raina R. Haematological profile of subacute oral toxicity of molybdenum and ameliorative efficacy of copper salt in goats. *Toxicol Int*. 2010;17:82-85.
- ¹³⁵ Momcilović B. A case report of acute human molybdenum toxicity from a dietary molybdenum supplement--a new member of the "Lucor metallicum" family. *Arh Hig Rada Toksikol*. 1999;5:289-297.
- ¹³⁶ Thomas JW, Moss S. The Effect of Orally Administered Molybdenum on Growth, Spermatogenesis and Testes Histology of Young Dairy Bulls. *Journal of Dairy Science*. 1951;34:929-934.
- ¹³⁷ Jeter MA, Davis GK. The effect of dietary molybdenum upon growth, hemoglobin, reproduction and lactation of rats. *J Nutr*. 1954;54:215-220.
- ¹³⁸ Vyskocil A, Viau C. J. Assessment of molybdenum toxicity in humans. *Appl Toxicol*. 1999;19:185-192.
- ¹³⁹ Turnland JR, Keyes WR, Peiffer GL. Molybdenum absorption, excretion, and retention studied with stable isotopes in young men at five intakes of dietary molybdenum. *Am J Clin Nutr*. 1995;62:790-796.
- ¹⁴⁰ Huisingh J, Matrone G. Copper-molybdenum interactions with the sulfate-reducing system in rumen microorganisms. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1972;139:518-521.
- ¹⁴¹ Bouglé D, Voirin J, Bureau F, Duhamel JF, Muller G, Drosdowsky M. Molybdenum normal plasma values at delivery in mothers and newborns. *Acta Paediatr Scand*. 1989;78:319-320.
- ¹⁴² Kisker C, Schindelin H, Rees DC. Molybdenum-cofactor- containing enzymes: structure and mechanism. *Annu Rev Biochem*. 1997;66:233-267.
- ¹⁴³ Johnson JL, Jones HP, Rajagoplan KV. In vitro reconstitution of demolybdo-sulfate oxidase by a molybdenum cofactor from rat liver and other sources. *J Biol Chem*. 1977;252:4994-5003.

- ¹⁴⁴ Haywood S, Dincer Z, Holding J, Parry NM. Metal (molybdenum, copper) accumulation and retention in brain, pituitary and other organs of ammonium tetrathiomolybdate-treated sheep. *Br J Nutr.* 1998;79:329-331.
- ¹⁴⁵ Baert N, Cornelis R, Hoste J. Molybdenum in human blood. *Clinica Chimica Acta.* 1976;68:355-356.
- ¹⁴⁶ Pfeiffer C. Newer Information on Essential Trace Elements, presentation at Health by Choice conference, Atlanta, Recorded by Insta Tape, Inc., P.O. Box 1729, Monrovia, CA 91016-5749, 1984.
- ¹⁴⁷ Deosthale YG, Gopalan C. The effect of molybdenum levels in sorghum (*Sorghum vulgare Pers.*) on uric acid and copper excretion in man. *Br. J. Nutr.* 1974;31:351-355.
- ¹⁴⁸ Walravens PA, Moure-Eraso R, Solomons CC, Chappell WR, Bently G. Biochemical abnormalities in workers exposed to lybdenum dust. *Arch Environ Health.* 1979;34:302-307.
- ¹⁴⁹ Lesser SH, Weiss SJ. Art hazards. New York, NY: Saunders Co. 1995;451-458.
- ¹⁵⁰ Meeker JD, Rossano MG, Protas B, Diamond MP, Puscheck E, Daly D, et al. Cadmium, Lead, and Other Metals in Relation to Semen Quality: Human Evidence for Molybdenum as a Male Reproductive Toxicant. *Environ Health Perspect.* 2008;116:1473-1479.
- ¹⁵¹ Daley B, Doherty AT, Fairman B, Case CP. Wear debris from hip or knee replacements causes chromosomal damage in human cells in tissue culture. *J Bone Joint Surg Br.* 2004;86:598-606.
- ¹⁵² Puleo DA, Huh WW. Acute toxicity of metal ions in cultures of osteogenic cells derived from bone marrow stromal cells. *J Appl Biomater.* 1995;6:109-116.
- ¹⁵³ Messer RL, Lucas LC. Evaluations of metabolic activities as biocompatibility tools: a study of individual ions effects on fibroblasts. *Dental Materials.* 1999;15:1-6.
- ¹⁵⁴ Messer RL, Bishop S, Lucas LC. Effects of metallic ion toxicity on human gingival fibroblasts morphology. *Biomaterials.* 1999;20:1647-165.
- ¹⁵⁵ Caicedo M, Jacobs JJ, Reddy A, Hallab NJ. Analysis of metal ion-induced DNA damage, apoptosis, and necrosis in human (Jurkat) T-cells demonstrates Ni²⁺, and V³⁺ are more toxic than other metals: Al³⁺, Be²⁺, Co²⁺, Cr³⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, Mo⁵⁺, Nb⁵⁺, Zr²⁺. *J Biomed Mater Res A.* 2008;86:905-913.
- ¹⁵⁶ Hallab NJ, Mikecz K, Vermes C, Skipor A, Jacobs JJ. Orthopaedic implant related metal toxicity in terms of human lymphocyte reactivity to metal-protein complexes produced from cobalt-base and titanium-base implant alloy degradation. *Mol Cell Biochem.* 2001; 22:127-136.
- ¹⁵⁷ Beers MH, Berkow R, eds. The Merck Manual of Diagnosis and Therapy. 17th edition. Whitehouse Station, NJ: Merck Research Laboratories, 1999:55.
- ¹⁵⁸ Cantone MC, De Bartolo D, Giussani A, Ottolenghi A, Pirola L, Hansen C, et al. A methodology for biokinetic studies using stable isotopes: results of reported molybdenum investigations on a healthy volunteer. *Appl Radiat Isot.* 1997;48:333-338.

- ¹⁵⁹ Goullé JP, Mahieu L, Castermant J, Neveu N, Bonneau L, Lainé G *et al.* Metal and metalloids multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair. Reference values. *Forensic Sci Int.* 2005;153:39-44.
- ¹⁶⁰ Bencko V. Use of human hair as a biomarker in the assessment of exposure to pollutants in occupational and environmental settings. *Toxicology.*1995;10:129-139.
- ¹⁶¹ Jenkins DW. Toxic trace metals in mammalian hair and nails. U.S. Environmental Protection Agency, Las Vegas, Nevada89114, EPA/600/4-79/049 (NTIS PB80103997), 1979.7
- ¹⁶² Rodríguez de la Flor M, Hernández Vaquero D, Fernández Carriera JM. Metal presence in hair after metal-on-metal resurfacing arthroplasty. *J Orthop Res.* 2013;31:2025-2031.
- ¹⁶³ Iavicoli I, Falcone G, Alessandrelli M, Cresti R, De Santis V, Salvatori S, *et al.* The release of metals from metal-on-metal surface arthroplasty of the hip. *J Trace Elem Med Biol.* 2006;20:25-31.
- ¹⁶⁴ Dahlstrand H, Stark A, Anissian L, Hailer NP. Elevated serum concentrations of cobalt, chromium, nickel, and manganese after metal-on-metal alloarthroplasty of the hip: a prospective randomized study. *J Arthroplasty.*2009;24:837-845.
- ¹⁶⁵ Engh CA, MacDonald SJ, Sritulanondha S, Korczak A, Naudie D, Engh C. Metal Ion Levels After Metal-on-Metal Total Hip Arthroplasty: A Randomized Trial. *Clin Orthop Relat Res.* 2009;467:101-111.
- ¹⁶⁶ Vendittoli PA, Amzica T, Roy AG, Lusignan D, Girard J, Lavigne M. Metal Ion release with large-diameter metal-on-metal hip arthroplasty. *J Arthroplasty.* 2011;26:282-288.
- ¹⁶⁷ Sauvé P, Mountney J, Khan T, De Beer J, Higgins B, Grover M. Metal ion levels after metal-on-metal Ring total hip replacement: a 30-year follow-up study. *J Bone Joint Surg Br.* 2007;89:586-590.
- ¹⁶⁸ Dunstan E, Sanghrajka AP, Tilley S, Unwin P, Blunn G, Cannon SR *et al.* Metal ion levels after metal-on-metal proximal femoral replacements: a 30-year follow-up. *J Bone Joint Surg Br.* 2005;87:628-631.
- ¹⁶⁹ Leotsinidis M, Kondakis X. Trace metals in scalp hair of Greek agricultural workers. *Sci Total Environ.* 1990;95:149-156.
- ¹⁷⁰ Shamberger RJ. Validity of hair mineral testing. *Biol Trace Elem Res.* 2002;87:1-28.
- ¹⁷¹ Gil F, Hernández AF, Márquez C, Femia P, Olmedo P, López-Guarnido O, *et al.* Biomonitorization of cadmium, chromium, manganese, nickel and lead in whole blood, urine, axillary hair and saliva in an occupationally exposed population. *Sci Total Environ.* 2011;409:1172-1180.
- ¹⁷² Sarmiento-González A, Marchante-Gayón JM, Tejerina-Lobo JM, Paz-Jiménez J, Sanz-Medel A. ICP-MS multielemental determination of metals potentially released from dental implants and articular prostheses in human biological fluids. *Anal.Bioanal.Chem.* 2005;382:1001-1009.

- ¹⁷³ Ziaee H, Daniel J, Datta AK, Blunt S, McMinn DJ. Transplacental transfer of cobalt and chromium in patients with metal-on-metal hip arthroplasty: a controlled study. *J. Bone Joint Surg Br.* 2007 89:301-305.
- ¹⁷⁴ Adams JB, Holloway CE, George F, Quig D. Analyses of toxic metals and essential minerals in the hair of Arizona children with autism and associated conditions, and their mothers. *Biol Trace Elem Res.* 2006;110:193-209.
- ¹⁷⁵ Afridi HI, Kazi TG, Kazi GH, Jamali MK, Shar GQ. Essential trace and toxic element distribution in the scalp hair of Pakistani myocardial infarction patients and controls. *Biol Trace Elem Res.* 2006;113:19-34.
- ¹⁷⁶ Hong SR, Lee SM, Lim NR, Chung HW, Ahn HS. Association between hair mineral and age, BMI and nutrient intakes among Korean female adults. *Nutr Res Pract.* 2009;3:212-219.
- ¹⁷⁷ Mohammed NK. Elemental Contents in Hair of Children from Two Regions in Dar Es Salaam. *Int J Anal Chem.* 2012;2012:495043.
- ¹⁷⁸ Nowak B, Kozłowski H. Heavy metals in human hair and teeth: the correlation with metal concentration in the environment. *Biol Trace Elem Res.* 1998;62:213-228.
- ¹⁷⁹ Esquema del equipo de ICP MS Agilent 7500. Disponible en: <http://www.chem.agilent.com/Library/brochures/5989-6410ES.pdf>.
- ¹⁸⁰ Montaser A, McLean JA, Liu H *et al.* Inductively coupled plasma mass spectrometry. Akbar Montaser (Editor), Willey-VCH. 1 (1998) 1-31.
- ¹⁸¹ Thomas R. Practical Guide to ICP-MS: A Tutorial for Beginners, Third Edition. 2013;p.32. Disponible en: Googlebooks.
- ¹⁸² Esquema del ICP-MS de alta resolución con geometría de Nier-Johnson inversa. Disponible en: <https://es.scribd.com/.../ESQUEMA-DE-ICP-MS-DE-DOBLE-ENFOQUE>.
- ¹⁸³ Thomas W. May and Ray H. Wiedmeyer. A Table of Polyatomic Interferences in ICP-MS. *At. Spectrosc.* 1998;19:150-155.
- ¹⁸⁴ May TW, Wiedmeyer RH. A table of polyatomic interferences in ICP-MS. *Atomic Spectroscopy.* 1998;19:150-154.
- ¹⁸⁵ Rodushkin I, Axelsson MD. Application of double focusing sector field ICP-MS for multielemental characterization of human hair and nails. Part II. A study of the inhabitants of northern Sweden. *Sci Total Environ.* 2000;262:21-36.
- ¹⁸⁶ Cerulli J, Grabe DW, Gauthier I, Malone M, McGoldrick MD. Chromium picolinate toxicity. *Ann Pharmacother.* 1998;32:428-431.
- ¹⁸⁷ Iyengar V, Woittiez J. Trace elements in human clinical specimens: evaluation of literature data to identify reference values. *Clin Chem.* 1988;34:474-481.
- ¹⁸⁸ Coleman RF, Herrington J, Scales JT. Concentration of wear products in hair, blood, and urine after total hip replacement. *Brit Med J.* 1973;1:527-529.

- ¹⁸⁹ Munakata M, Onuma A, Kobayashi Y, Haginoya K, Yokoyama H, Fujiwara I *et al.* A preliminary analysis of trace elements in the scalp hair of patients with severe motor disabilities receiving enteral nutrition. *Brain Dev.* 2006;28:521-525.
- ¹⁹⁰ Davies S, McLaren Howard J, Hunnisett A, Howard M. Age-related decreases in chromium levels in 51,665 hair, sweat, and serum samples from 40,872 patients-implications for the prevention of cardiovascular disease and type II diabetes mellitus. *Metabolism.* 1997;46:469-473.
- ¹⁹¹ Ray SS, Das D, Ghosh T, Ghosh AK. The levels of zinc and molybdenum in hair and food grain in areas of high and low incidence of esophageal cancer: a comparative study. *Glob J Health Sci.* 2012;4:168-175.
- ¹⁹² Wiechuła D, Loska K, Ungier D, Fischer A. Chromium, zinc and magnesium concentrations in the pubic hair of obese and overweight women. *Biol Trace Elem Res.* 2012;148:18-24.
- ¹⁹³ Chung JH, Yum KS. Correlation of hair mineral concentrations with insulin resistance in Korean males. *Biol Trace Elem Res.* 2012;150:26-30.
- ¹⁹⁴ Schöpfer J, Schrauzer GN. Lithium and other elements in scalp hair of residents of Tokyo Prefecture as investigational predictors of suicide risk. *Biol Trace Elem Res.* 2011;144:418-425.
- ¹⁹⁵ Puchyr RF, Bass DA, Gajewski R, Calvin M, Marquardt W, Urek K *et al.* Preparation of hair for measurement of elements by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). *Biol Trace Elem Res.* 1998;62:167-182.
- ¹⁹⁶ Schrauzer GN, Shrestha KP. Lithium in drinking water and the incidences of crimes, suicides, and arrests related to drug addictions. *Biol Trace Elem Res.* 1990;25:105-113.
- ¹⁹⁷ Jergovic M, Miskulin M, Puntaric D, Gmajnic R, Milas J, Sipos L. Sectional Biomonitoring of Metals in Adult Populations in Post war Eastern Croatia: Differences Between Areas of Moderate and Heavy Combat. *Croat Med J.* 2010;51:451-460.
- ¹⁹⁸ Chat A, Sajjad M, DeSilva KN, Secord CA. Health-related monitoring of trace element pollutants using nuclear techniques. IAEATECDOC-330, International Atomic Energy Agency, Vienna. 1985;33-49.
- ¹⁹⁹ Chlopicka J, Zachwieja Z, Zagrodski P. Lead and cadmium in the hair and blood of children from a highly industrial area in Poland. *Biol Trace Elem Res.* 1998;62:229-234.
- ²⁰⁰ Dawson J, Fitzpatrick R, Carr A, Murray D. Questionnaire on the perceptions of patients about total hip replacement. *J Bone Joint Surg Br.* 1996;78:185-190.
- ²⁰¹ Downie WW, Leatham PA, Rhind VM, Wright V, Branco JA, Anderson JA. Studies with pain rating scales. *Ann Rheum Dis.* 1979;37:378-381.
- ²⁰² Price DD, McGrath PA, Rafii A, Buckingham B. The validation of visual analogue scales as ratio scale measures in chronic and experimental pain. *Pain.* 1983;17:45-56.
- ²⁰³ Taylor LJ, Herr KA. Assessment. Evaluation of the Faces Pain Scale with minority older adults. *J Gerontol Nurs.* 2002;28:15-23.

- ²⁰⁴ Escala analógica visual actualizada. Disponible en: <http://fisioterapiasinred.com/escalas-unidimensionales-de-dolor/>.
- ²⁰⁵ Gruen Mc, Neice NC, Amstutz NC. Modes of failure of cemented stem type femoral complements, a radiological analysis of loosening. *Alin Orth.* 1979;141:17.
- ²⁰⁶ DeLee JG, Charnley J. Radiological demarcation of cemented sockets in total hip replacement. *Clin Orthop.* 1976;121:20-32.
- ²⁰⁷ Goullé JP, Sausseureau E, Mahieu L, Bouige D, Guerbet M, Lacroix C. A new medical concept: the metallic profile. *Rev Med Interne.* 2010;31:128-134
- ²⁰⁸ Cai Y. Determination of select trace elements in hair of college students in Jinzhou, China. *Biol Trace Elem Res.* 2011;144:469-474.
- ²⁰⁹ Rodushkin I, Axelsson MD. Application of double focusing sector field ICP-MS for multielemental characterization of human hair and nails. Part I. Analytical methodology. *Sci Total Environ.* 2000;250:83-100.
- ²¹⁰ Vanhaecke F, Wannemacker G, Moens L, Dams R, Latkoczy C, Prohaska T *et al.* Dependence on detector dead time on analyte mass number in inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* 1998;13:567-571.
- ²¹¹ Gellein K, Lierhagen S, Brevik PS, Teigen M, Kaur P, Singh T, *et al.* Trace element profiles in single strands of human hair determined by HR-ICP-MS. *Biol Trace Elem Res.* 2008;123:250-260.
- ²¹² Esquema del funcionamiento de un microscopio de barrido electrónico. Disponible en: <http://www.ecured.cu/index.php/Archivo:Microscopio-barrido.jpg>.
- ²¹³ Kashi AM, Tahemanesh KS, Chaichian, Joghataei MT, Moradi F SM. *et al.* How to Prepare Biological Samples and Live Tissues for Scanning Electron Microscopy (SEM). *Galen Med J.* 2014;3:63-80.
- ²¹⁴ Watters TS, Cardona DM, Menon KS, Vinson EN, Bolognesi MP, Dodd LG. Aseptic lymphocyte-dominated vasculitis-associated lesion: a clinicopathologic review of an underrecognized cause of prosthetic failure. *Am J Clin Pathol.* 2010;134:886-893.
- ²¹⁵ Nothnagle PE, Chambers W, Davidson MW. Introduction to Stereomicroscopy.2012. Disponible en: <http://www.microscopyu.com/articles/stereomicroscopy/stereointro.html>.
- ²¹⁶ Heitland P, Köster HD. Biomonitoring of 30 trace elements in urine of children and adults by ICP-MS. *Clin Chim Acta.* 2006;365:310-318.
- ²¹⁷ Forrer R, Gautschi K, Lutz H. Simultaneous measurement of the trace elements Al, As, B, Be, Cd, Co, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, Rb, Se, Sr, and Zn in human serum and their reference ranges by ICP-MS. *Biological Trace Element Research.* 2001;80:77-93.
- ²¹⁸ Murray DW, Grammatopoulos G, Gundle R, Gibbons CL, Whitwell D, Taylor A *et al.* Hip resurfacing and pseudotumour. *Hip Int.* 2011;21:279-283.

- ²¹⁹ Keegan GM, Learmonth ID, Case CP. A systematic comparison of the actual, potential, and theoretical health effects of cobalt and chromium exposures from industry and surgical implants. *Crit Rev Toxicol*. 2008;38:645-674.
- ²²⁰ Rising JP, Reynolds IS, Sedrakyan A. Delays and difficulties in assessing metal-on-metal hip implants. *N Engl J Med*. 2012;367:e1.
- ²²¹ Smith AJ, Dieppe P, Porter M, Blom AW. Risk of cancer in first seven years after metal-on-metal hip replacement compared with other bearings and general population: linkage study between the National Joint Registry of England and Wales and hospital episode statistics. *BMJ*. 2012;344:e2383.
- ²²² British Orthopaedic Association 2011. http://www.britishhipsociety.com/pdfs/BHS_MOM_THR.pdf.
- ²²³ U.S., Food and Drug Administration. Postmarket surveillance study letter template <http://www.hiprecallinfo.com/wp-content/uploads/2011/05/Template-of-Letter-from-FDA-re.-order-for-postmarket-studies-to-MoM-manufacturers-00162262.pdf>.
- ²²⁴ Jameson SS, Langton DL, Nargo AVF. Articular surface replacement of the hip: a prospective single-surgeon series. *J Bone Joint Surg Br*. 2010;92:28-37.
- ²²⁵ Haddad FS, Konan S. Current controversies in hip surgery. *J Bone Joint Surg Br*. 2012;94:297-301.
- ²²⁶ Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA) UK. Medical Device Alert DePuy ASR hip replacement implants. Ref: MDA/2010/069. 07 September 2010. <http://www.mhra.gov.uk/NewsCentre/Pressreleases/CON143784>.
- ²²⁷ Bolland BJ, Culliford DJ, Langton DJ, Millington JP, Arden NK, Latham JM. High failure rates with a large-diameter hybrid metal-on-metal total hip replacement: clinical, radiological and retrieval analysis. *J Bone Joint Surg Br*. 2011;93:608-615.
- ²²⁸ Lombardi AV Jr, Barrack RL, Berend KR, Cuckler JM, Jacobs JJ, Mont MA *et al*. The Hip Society. Algorithmic approach to diagnosis and management of metal-on-metal arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br*. 2012;94-A:14-18.
- ²²⁹ Van Der Straeten C, Grammatopoulos G, Gill HS, Calistri A, Campbell P, De Smet KA. The interpretation of metal ion levels in unilateral and bilateral hip resurfacing. *Clin Orthop Relat Res*. 2013;471:377-385.
- ²³⁰ Hart AJ, Sabah SA, Bandi AS, Maggiore P, Tarassoli P, Sampson B *et al*. Sensitivity and specificity of blood cobalt and chromium metal ions for predicting failure of metal-on-metal hip replacement. *J Bone Joint Surg Br* 2011;93:1308-1313.
- ²³¹ Smolders JM, Bisseling P, Hol A, Van Der Straeten C, Schreurs BW, van Susante JL. Metal ion interpretation in resurfacing versus conventional hip Arthroplasty and in whole blood versus serum. How should we interpret metal ion data. *Hip Int*. 2011;21:587-595.
- ²³² Batzevich VA. Hair trace element analysis in human ecology studies. *Sci Total Environ*. 1995;164:89-98.

- ²³³ Elenge MM, Aubry JC, Jacob L, de Brouwer C. Heavy metal in hair samples of 109 non-industrial (miners) population in Katanga. *Sante*. 2011;21:41-46.
- ²³⁴ Miekeley N, Dias Carneiro MT, da Silveira CL. How reliable are human hair reference intervals for trace elements? *Sci Total Environ*. 1998;218:9-17.
- ²³⁵ Chan S, Gerson B, Subramaniam S. The role of copper, molybdenum, selenium, and zinc in nutrition and health. *Clin Lab Med*. 1998;18:673-685.
- ²³⁶ Dombovari J, Papp L. Comparison of sample preparation methods for elemental analysis of human hair. *Microchem J*. 1998;59:187-193.
- ²³⁷ Nowak B. Contents and relationship of elements in human hair for a non-industrialised population in Poland. *Sci Total Environ*. 1998;209:59-68.
- ²³⁸ Jameson SS, Langton DL, Nargo AVF. Articular surface replacement of the hip: a prospective single-surgeon series. *J Bone Joint Surg Br*. 2010;92:28-37.
- ²³⁹ Pailhé R, Sharma A, Reina N, Cavaignac E, Chiron P, Laffosse JM. Hip resurfacing: a systematic review of literature. *Int Orthop (SICOT)*. 2012;36:2399-2410.
- ²⁴⁰ Daniel J, Ziaee H, Pradhan C, Pynsent PB, McMinn DJ. Blood and urine metal ion levels in young and active patients after Birmingham hip resurfacing arthroplasty: four-year results of a prospective longitudinal study. *J Bone Joint Surg Br*. 2009;91:169-173.
- ²⁴¹ Landis WJ, Martin JR. X-ray photoelectron spectroscopy applied to gold-decorated mineral standards of biological interest. *J Vac Sci Technol*. 1984;A2:1108-1111.
- ²⁴² Demri B, Muster D. XPS study of some calcium compounds. *J Mater Process Technol*. 1995;55:311-314.
- ²⁴³ Wagner CD, Riggs WM, Davis LE, Moulder JF. Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy. Muilenberg Perkin-Elmer Corp, editor. Physical Electronics Division, Eden Prairie, Minnesota, USA, 1979.
- ²⁴⁴ Milosev I, Remskar M. In vivo production of nanosized metal wear debris formed by tribochemical reaction as confirmed by high-resolution TEM and XPS analyses. *J Biomed Mater Res A*. 2009;91:1100-1110.
- ²⁴⁵ McIntyre NS, Cook MG. X-ray photoelectron studies on some oxides and hydroxides of cobalt, nickel, and copper. *Analytical Chemistry*. 1975;47:2208-2213.
- ²⁴⁶ <http://srdata.nist.gov/xps/Default.aspx> (june 2014).
- ²⁴⁷ Phillips EA, Klein GR, Cates HE, Kurtz SM, Steinbeck M. Histological characterization of periprosthetic tissue responses for metal-on-metal hip replacement. *J Long Term Eff Med Implants*. 2014;24:13-23.
- ²⁴⁸ Martínez-Álvarez S, Epeldegui-Torre T, Manso-Díaz G, Rodríguez-Bertos A, Forriol F. Experimental induction of Perthes disease in lambs. *Rev Esp Cir Ortop Traumatol*. 2014;58:68-77.
- ²⁴⁹ Heisel C, Kleinhans JA, Menge M, Kretzer JP. Ten different hip resurfacing systems: biomechanical analysis of design and material properties. *Int Orthop*. 2009;33:939-943.

- ²⁵⁰ Witzleb WC, Ziegler J, Krummenauer F, Neumeister V, Guenther KP. Exposure to chromium, cobalt and molybdenum from metal-on-metal total hip replacement and hip resurfacing arthroplasty. *Acta Orthop*. 2006;77:697-705.
- ²⁵¹ Wirth JJ, Mijal RS. Adverse effects of low level heavy metal exposure on male reproductive function. *Syst Biol Reprod Med*. 2010;56:147-167.
- ²⁵² Exley C. Aluminium and Medicine. In; Molecular and Supramolecular Bioinorganic Chemistry: Applications in Medical Sciences. (Ed. ALR Merce, J Felcman, MAL Recio), Nova Science Publishers Inc. New York.2009, p 45-68.
- ²⁵³ Glenney AT, Pope CG, Waddington H, Wallace U. XXIII—the antigenic value of toxoid precipitated by potassium alum. *J Pathol Bacteriol*. 1926;29:38-39.
- ²⁵⁴ Baylor NW, Egan W, Richman P. Aluminum salts in vaccines- US perspective. *Vaccine*. 2002;20:S18–23.
- ²⁵⁵ Shaw CA, Tomljenovic L. Aluminum in the central nervous system (CNS): toxicity in humans and animals, vaccine adjuvants, and autoimmunity. *Immunol Res*. 2013;56:304-316.
- ²⁵⁶ McCarthy JT, Milliner DS, Kurtz SB, Johnson WJ, Moyer TP. Interpretation of serum aluminum values in dialysis patients. *Am J Clin Pathol*. 1986;86:629-636.
- ²⁵⁷ Hernandez JD, Wesseling K, Salusky IB. Role of parathyroid hormone and therapy with active vitamin D sterols in renal osteodystrophy. *Sem Dialysis*. 2005;18:290-295.
- ²⁵⁸ Liu TK, Liu SH, Chang CH, Yang RS. Concentration of metal elements in the blood and urine in the patients with cementless total knee arthroplasty. *J Exp Med*. 1998;185:253-262.
- ²⁵⁹ Nixon DE, Moyer TP, Squillace DP, McCarthy JT. Determination of serum nickel by graphite furnace atomic absorption spectrometry with Zeeman-effect background correction: values in a normal population and a population undergoing dialysis. *Analyst*. 1989;114:1671-1674.
- ²⁶⁰ Novelli EL, Rodrigues NL, Ribas BO. Superoxide radical and toxicity of environmental nickel exposure. *Hum Exp Toxicol*. 1995;14:248-251.
- ²⁶¹ Levy BS, Nassetta WJ: Neurologic effects of Manganese in humans: A review. *Int J Occup Environ Health*. 2003;9:153-163.
- ²⁶² Chiswell B, Johnson D. Manganese. In Handbook on Metals in Clinical and Analytical Chemistry. Edited by HG Sigel, H Sigel. Marcel Dekker, Inc, New York, 1994, pp 479-494.
- ²⁶³ Paschal DC, Ting BG, Morrow JC, Pirkle JL, Jackson RJ, Sampson EJ, *et al*. Trace metals in urine of United States residents: Reference range concentrations. *Environmental Research*. 1998;7:53-59.
- ²⁶⁴ Williams M, Todd GD, Roney N, Crawford J, Coles C, McClure PR, *et al*. Toxicological Profile for Manganese. Atlanta (GA): Agency for Toxic Substances and Disease Registry (US); 2012 Sep.
- ²⁶⁵ Floriańczyk B, Grzybowska L, Marzec Z. Metallothionein and manganese concentrations in breast cancer and mastopathic tissues. *J. Pre-Clin and Clin I Res*. 2011;5:63-65.
- ²⁶⁶ <http://www.fda.gov/MedicalDevices/ProductsandMedicalProcedures/ImplantsandProsthetics/MetalonMetalHipImplants/ucm241604.htm>

²⁶⁷ Hewitt CD, Day JP. Aluminium and copper concentrations in hair and serum are unrelated in renal patients. *Acta Pharmacol Toxicol Copenh.* 1986;59:442-445.

²⁶⁸ Bartell SM, Griffith WC, Faustman EM. Temporal error in biomarker-based mean exposure estimates for individuals. *J Expo Anal Environ Epidemiol.* 2004;14:173-179.

²⁶⁹ Varrica D, Tamburo E, Dongarrà G, Sposito F. Trace elements in scalp hair of children chronically exposed to volcanic activity (Mt. Etna, Italy). *Sci Total Environ.* 2014;470-471:117-126.