

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**Departamento de Cirugía**



**PROTEÍNAS DE CHOQUE TÉRMICO EN LAS ARTROPLASTIAS  
TOTALES DE RODILLA**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**PRESENTADA POR**

Francisco Chana Rodríguez

Bajo la dirección de los doctores

Javier Vaquero Martín  
María Concepción Guisasola Zulueta

**Madrid, 2005**

**ISBN: 84-669-2808-1**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA**



**PROTEÍNAS DE CHOQUE TÉRMICO EN LAS  
ARTROPLASTIAS TOTALES DE RODILLA**

**TESIS DOCTORAL**

**FRANCISCO CHANA RODRÍGUEZ**

**MADRID-2005**

# **PROTEÍNAS DE CHOQUE TÉRMICO EN LAS ARTROPLASTIAS TOTALES DE RODILLA**

## **TESIS DOCTORAL.**

**Presentada por:**

**Francisco Chana Rodríguez.**

**Madrid 2005**

**Directores:**

**Prof. Dr. D. Javier Vaquero Martín.**

**Dra. María Concepción Guisasola Zulueta.**

*A mis abuelos,  
por haberme dado a mis padres.*

*La parte experimental de este trabajo ha sido financiada parcialmente con una ayuda del F.I.S. (expediente 03/1308), realizándose en el Departamento de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital General Universitario Gregorio Marañón.*

## AGRADECIMIENTOS.

*A todos los profesores que en algún momento de mi vida me han enseñado a querer aprender.*

*A todos los pacientes que han participado en este estudio voluntariamente para fomentar el desarrollo científico en su entorno.*

*A la Dra. María Concepción Guisasola Zulueta y al Profesor D. Javier Vaquero Martín cuya dirección me ha llevado a la culminación de este trabajo.*

*A la Dra. Lola Vigil Escribano por hacerme fácil la interpretación de los resultados estadísticos.*

*A María Jesús Sánchez y a los técnicos del laboratorio de urgencias del Hospital General Universitario Gregorio Marañón por su imprescindible colaboración durante el procesamiento y análisis de las muestras.*

*A los Drs. Javier Rodríguez Álvarez y Gerardo Riquelme Arias, Jefes del Departamento de Traumatología y Cirugía Ortopédica del Hospital General Universitario Gregorio Marañón, y a todos mis compañeros del Departamento que siempre me prestaron su apoyo y se interesaron por mi trabajo.*

*A Julio de las Heras Sánchez-Heredero y al Dr. Oscar Riquelme García, por su ayuda permanente y desinteresada.*

*A Tedi y Rocío, por ser modelos diarios de constancia e inteligencia.*

*Muy especialmente a Paloma, por anteponerme en todo momento y ser mi más fiel aliada.*

*“Quiere este pobre soneto  
paliar tu amor propio herido.  
¿Porque te hayan suspendido,  
lanzas al estudio un reto?  
Se más valiente y discreto,  
jamás digas te han vencido,  
pues cuantos te han precedido  
se hallaron en tal aprieto.  
La vida de un estudiante  
tiene tropiezos inmensos  
siendo aplicado y constante,  
pero es la más elegante.  
¿Si no fueran los suspensos,  
quien no sería estudiante?”.*

D. Teodoro Chana Zanca.

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS:

- AB: antibiótico.
- AC: anticuerpo.
- ACTH: hormona adrenocorticotrópica.
- AINE: antiinflamatorio no esteroideo.
- AP: anatomía patológica.
- ASA: escala de la sociedad americana de anestesiología.
- ATP: adenosín tri fosfato.
- CH: concentrado de hematíes.
- COT: cirugía ortopédica y traumatología.
- CSF: factores estimulantes de colonias.
- DMID: diabetes mellitus insulín dependiente.
- DMNID: diabetes mellitus no insulín dependiente.
- DNA: ácido desoxinucleico.
- DT: desviación típica.
- EMO: extracción de material de osteosíntesis.
- EPISER: estudio prevalencia e impacto enfermedades reumáticas en España.
- GF: factores de crecimiento.
- Grp: proteínas reguladas por la glucosa.
- HS: choque térmico.
- HSC: proteína de choque térmico constitutiva.
- HSE: elemento de choque térmico.
- HSF: factores de choque térmico.
- HSPs: proteínas de choque térmico.
- *hsps*: genes de choque térmico.
- HTA: hipertensión arterial.
- IL: interleuquina.
- kDa: kilodaltons.
- LDL: lipoproteína de baja densidad.
- M: microbiología.
- mRNA: ácido ribonucleico mensajero.
- PCR: proteína C reactiva.
- PMNs: leucocitos polimorfonucleares neutrófilos.
- PTR: prótesis total de rodilla.
- RFA: reactantes de fase aguda.
- RIQ: rango intercuartil.
- RMN: resonancia magnética nuclear.
- Rx: radiografía.
- SI: sistema internacional.
- SOD: superóxido dismutasa.
- SP: grupo de proteínas de estrés.
- TAD: tensión arterial diastólica.
- TAS: tensión arterial sistólica.
- TNF $\alpha$ : factor de necrosis tumoral alfa.
- TSH: tirotropina u hormona estimulante del tiroides.
- VSG: velocidad de sedimentación globular.





---

# ÍNDICE

---

# ÍNDICE.

---

<b>I.- INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>5</b>
1.- <b>GONARTROSIS .....</b>	<b>6</b>
1.1.- etiopatogenia.....	7
1.2.- evaluación diagnóstica.....	10
1.2.A- anamnesis.....	10
1.2.B- exploración física.....	10
1.2.C- radiología simple.....	10
1.2.D- teleradiografías.....	11
1.2.E- ecografía y resonancia magnética nuclear.....	11
1.2.F- valores analíticos.....	11
1.3.- tratamiento quirúrgico de la gonartrosis.....	12
1.3.A- lavado articular y limpieza artroscópica.....	12
1.3.B- osteotomías.....	12
1.3.C- artroplastias.....	13
1.3.D- artrodesis.....	14
1.4.- evaluación de una prótesis de rodilla infectada.....	15
1.4.A- clasificación de las infecciones.....	16
1.4.B- agentes infecciosos.....	18
1.4.C- aproximación diagnóstica.....	18
2.- <b>CITOQUINAS Y REACTANTES DE FASE AGUDA ANTE UNA AGRESIÓN QUIRÚRGICA .....</b>	<b>25</b>
2.1.- citoquinas.....	28
2.2.- reactantes de fase aguda.....	29
2.2.A- fibrinógeno.....	30
2.2.B- proteína C reactiva.....	31
2.3.- proteínas de choque térmico.....	33
2.4.- velocidad de sedimentación globular.....	45
2.5.- recuento y fórmula leucocitaria.....	47
<b>II.- HIPÓTESIS DE TRABAJO .....</b>	<b>48</b>
1.- HIPÓTESIS.....	49
2.- OBJETIVOS.....	49
<b>III.- MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>50</b>
1.- <b>MATERIAL .....</b>	<b>51</b>
1.1.- diseño.....	51
1.2.- sujetos del estudio.....	51
1.2.A- detalles anestésicos.....	52
1.2.B- detalles quirúrgicos.....	52
2.- <b>MÉTODOS.....</b>	<b>54</b>
2.1.- variables de medición.....	54

2.2.- métodos de medición .....	54
2.2.A- recuento leucocitario .....	54
2.2.B- velocidad de sedimentación .....	55
2.2.C- fibrinógeno .....	55
2.2.D- interleuquina 1 $\beta$ .....	56
2.2.E- interleuquina 6 .....	56
2.2.F- factor de necrosis tumoral .....	56
2.2.G- proteína C reactiva .....	56
2.2.H- autoanticuerpos antiHSP70i .....	57
2.2.I- proteína de choque térmico 70i .....	57
2.3.- recogida de la información .....	58
2.4.- cronograma de las mediciones .....	58
2.5.- análisis de los datos .....	58
2.6.- cuestiones éticas .....	59

#### **IV.- RESULTADOS .....** 63

1.- ARTROPLASTIAS TOTALES PRIMARIAS DE RODILLA .....	64
1.1.- características basales de la muestra .....	64
1.1.A- características demográficas .....	64
1.1.B- antecedentes médicos .....	65
1.1.C- tratamiento farmacológico asociado .....	66
1.2.- detalles quirúrgicos .....	66
1.3.- respuesta al estrés anestésico-quirúrgico .....	67
1.3.A- recuento leucocitario .....	69
1.3.B- fibrinógeno .....	70
1.3.C- velocidad de sedimentación .....	71
1.3.D- proteína C reactiva .....	72
1.3.E- temperatura .....	73
1.3.F- tensión arterial sistólica .....	74
1.3.G- tensión arterial diastólica .....	75
1.3.H- interleuquina 1 $\beta$ .....	76
1.3.I- interleuquina 6 .....	77
1.3.J- TNF $\alpha$ .....	78
1.3.K- HSP70i .....	79
1.3.L- Ac anti HSP70i .....	80
2.- ARTROPLASTIAS TOTALES INFECTADAS DE RODILLA .....	82
2.1.- características basales de la muestra .....	82
2.1.A- características demográficas .....	82
2.1.B- antecedentes médicos .....	82
2.1.C- tratamiento farmacológico asociado .....	83
2.1.D- agentes infecciosos causantes .....	84
2.2.- detalles quirúrgicos .....	85
2.3.- valores de las variables en el momento del diagnóstico .....	86
3.- COMPARACIÓN DE AMBOS GRUPOS .....	88
3.1.- características basales de la muestra .....	88
3.1.A- características demográficas .....	88
3.1.B- antecedentes médicos .....	88
3.1.C- tratamiento farmacológico asociado .....	89
3.2.- detalles quirúrgicos .....	90

3.3.- respuesta al estrés anestésico-quirúrgico.....	91
3.3.A- recuento leucocitario.....	93
3.3.B- fibrinógeno.....	94
3.3.C- velocidad de sedimentación.....	95
3.3.D- proteína C reactiva.....	96
3.3.E- temperatura.....	97
3.3.F- tensión arterial sistólica.....	98
3.3.G- tensión arterial diastólica.....	99
3.3.H- interleuquina 1 $\beta$ .....	100
3.3.I- interleuquina 6.....	101
3.3.J- TNF $\alpha$ .....	102
3.3.K- HSP70i.....	103
3.3.L- Ac anti HSP70i.....	104
<b>V.- DISCUSIÓN</b> .....	<b>105</b>
1.- EL PORQUÉ DE ESTE ESTUDIO.....	106
2.- PATRÓN NORMAL DE RESPUESTA ANTE UNA AGRESIÓN ANESTÉSICO-QUIRÚRGICA .....	107
3.- COVARIABLES QUE PUEDEN MODIFICAR LA RESPUESTA A LA AGRESIÓN ANESTÉSICO-QUIRÚRGICA .....	116
4.- TIEMPOS DE NORMALIZACIÓN DE LOS REACTANTES DE FASE AGUDA .....	121
5.- LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	127
<b>VI.- CONCLUSIONES</b> .....	<b>130</b>
<b>VII.- BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>133</b>

---

# **INTRODUCCIÓN**

---

# **I.-INTRODUCCIÓN.**

---

## **1.- GONARTROSIS.**

La artrosis es considerada como la patología reumatológica más común. La forma que afecta a la rodilla es la más prevalente y la que ocasiona un mayor impacto socio-sanitario (2). La artrosis de la rodilla representa un proceso degenerativo que puede afectar a uno o varios de los tres compartimentos que presenta esta articulación. Más que ser considerada como una única enfermedad debe estudiarse como un grupo heterogéneo de patologías con manifestaciones clínicas similares y cambios patológicos y radiológicos comunes. La causa y etiopatogénesis de este desorden aún son desconocidas. Se presenta en etapas tardías de la vida y clínicamente se manifiesta con dolor, deformidad y limitación de la movilidad articular.

Es necesario diferenciar la lesión artrósica de la artrosis con manifestaciones clínicas, dado que toda artrosis antes de ser dolorosa, presentar algún déficit de movilidad o provocar deformidad articular, es decir antes de pasar al plano clínico, evoluciona de una manera asintomática durante un período de tiempo. Cuando los cambios involutivos del cartílago hialino articular son considerables, el hueso subcondral responde esclerosándose y formando osteofitos marginales que conllevarán una traducción radiológica. No obstante la existencia de estos signos radiográficos no tiene porque acompañarse de manifestaciones clínicas que limiten la vida del paciente.

Las alteraciones anatómicas del cartílago articular son muy comunes y están relacionadas con la edad. En estudios realizados en necropsias se detectan alteraciones

degenerativas ya en la segunda década de la vida. En la necropsia de 300 personas mayores de 50 años se hallaron lesiones en el cartílago rotuliano en el 39% y en el de los cóndilos femorales en el 23% (12). Sólo en una parte de la población las lesiones tienden a progresar y en este grupo encontraremos los casos de artrosis con repercusión clínica. El estudio EPISER realizado en España objetiva una prevalencia de gonartrosis sintomática en la población mayor de 20 años del 10,2%, siendo del 33,7% en personas mayores de 70 años. La incidencia anual estimada se sitúa entorno al 2,5%. En cuanto a la distribución por sexos vemos una mayor frecuencia de esta patología en mujeres que en hombres (14% y 5,7% respectivamente) (9,20).

### **1.1- ETIOPATOGENIA.**

Podríamos resumir la aparición de la artrosis como una conjunción de factores genéticos, bioquímicos y mecánicos que alterarían la respuesta metabólica de los condrocitos y su normal relación con la matriz del tejido cartilaginoso, que conllevaría la destrucción del cartílago hialino articular. Las células sinoviales, meniscales y los condrocitos producirían citoquinas que activarían la síntesis de otros mediadores inflamatorios, proteasas, y otros factores catabólicos, como el óxido nítrico, favoreciendo el catabolismo del tejido cartilaginoso, la apoptosis de los condrocitos y otros cambios estructurales articulares. Los residuos resultantes de la degradación desprendidos en el líquido sinovial, inducirían la síntesis de más citoquinas proinflamatorias, que empeorarían el estado lesional del cartílago (89).

Varios estudios han demostrado que el cartílago articular artrósico es metabólicamente más activo que el normal (22,27,91). El cartílago articular lesionado inicialmente responde con un aumento de la actividad sintetizadora, con el desarrollo



del retículo endoplásmico, lo que provoca la síntesis más rápida de proteoglicanos en el cartílago artrósico que en el sano. Sin embargo cuando la lesión es más intensa la replicación celular y la síntesis de proteoglicanos disminuye.

Entre los factores catabólicos del cartílago articular se encuentran las enzimas proteolíticas o proteasas, las citoquinas y los radicales libres de oxígeno. Dentro de las proteasas podemos diferenciar las metaloproteasas, las serimproteasas y las tiolproteasas. Las metaloproteasas actúan en el recambio fisiológico de la matriz del tejido conjuntivo durante el crecimiento y el desarrollo. Pueden actuar en el cartílago adulto normal contrarrestadas por los factores de crecimiento, pero su acción más manifiesta es el deterioro del cartílago en la artrosis. Las serimproteasas pertenecen al grupo de los activadores del plasminógeno/plasmina y son capaces de activar la colagenasa en presencia de estromelina. Las tiolproteasas se encuentran en los lisosomas de los condrocitos y poseen una intensa acción hidrolítica frente a la proteína central de los proteoglicanos. Las citoquinas favorecen la destrucción del cartílago e inhiben su reparación. Entre las citoquinas encontramos la interleucina 1 (IL1), la IL6 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ). La IL1 es sintetizada en las células mononucleares y estimula la expresión de las proteasas, de las prostaglandinas y de la forma inducible de la enzima óxido nítrico sintetasa. A su vez la IL1 inhibe la formación de colágeno II. El TNF $\alpha$  induce la reabsorción del cartílago y con la IL1 estimulan la síntesis de óxido nítrico, el cual es parte del proceso catabólico dentro de los condrocitos. La inhibición de la síntesis de proteoglicanos y del colágeno y de la proliferación de los condrocitos depende, en parte, del óxido nítrico endógeno (3,17,47,58,61,99,125).

La gonartrosis suele ser secundaria a un trastorno estático de los miembros inferiores que conlleve desviaciones en el plano frontal, genu varo más que genu valgo

(tabla 1). La obesidad es un factor de riesgo para agravar esta patología, estando una persona obesa expuesta a desarrollar gonartrosis bilateral 8 veces más que una persona sin sobrepeso. No se ha objetivado una causa sistémica por la que la obesidad empeore la evolución de la artrosis por lo que su efecto deletéreo se debe a un factor mecánico que sobrecarga el cartílago articular.

Factores intraarticulares pueden ser causantes de este cuadro degenerativo, bien por fracturas que interrumpan la congruencia articular, osteocondritis disecantes o lesiones meniscales.

Factores de riesgo para el desarrollo de la gonartrosis	Factores de riesgo para la progresión de la gonartrosis
Herencia	Obesidad
Edad	Baja densidad ósea
Sexo femenino	Baja ingesta de vitaminas C y D
Nódulos de Heberden / Artrosis de manos	Indometacina y otros AINEs
Obesidad	Inestabilidad
Alta densidad ósea	Genu varo
Traumatismos, meniscectomías e inestabilidades ligamentarias	Genu valgo
Laxitudes en varo o valgo	Condrocálcinosis
Ocupación / Deportes	Depósito cristales de pirofosfato cálcico
Debilidad de cuádriceps	Sinovitis de la rodilla

Tabla1. Factores de riesgo para sufrir cambios degenerativos artrósicos estructurales en la rodilla según Doherty (32,40,71).

### **1.2- EVALUACIÓN DIAGNÓSTICA.**

Cualquier sospecha de gonartrosis ha de ser valorada a través de una anamnesis, una exploración, una analítica básica y una radiografía que confirmará el diagnóstico y descartará patologías asociadas o que puedan justificar la clínica del paciente.

#### **1.2.A- Anamnesis.**

El síntoma principal es la gonalgia (46,62,83). En parte puede atribuirse a un aumento de la presión capsular e intraósea, microfracturas subcondrales, entesopatía y bursitis. Se trata de un dolor crónico de características mecánicas y su gravedad depende de la personalidad, de la ansiedad, del carácter distímico y de la actividad del paciente. También podemos constatar rigidez articular, especialmente de presencia matutina o después de un intervalo de inactividad, que característicamente presenta una corta evolución en el tiempo, no siendo superior a 30 minutos. Estos factores conllevan una impotencia funcional articular que pueden limitar al paciente para la realización de una vida cotidiana.

#### **1.2.B- Exploración física.**

Podemos encontrar signos de crepitación, inestabilidad, disminución del rango de movilidad y deformidad. Es frecuente constatar una atrofia muscular del cuádriceps.

#### **1.2.C- Radiología simple.**

Como mínimo debemos observar una proyección antero posterior y una lateral de rodilla. Clásicamente se ha descrito una disminución del espacio articular, esclerosis subcondral, geodas y osteofitos. Kellgren y Lawrence describieron una escala que puede ser útil para la graduación radiológica de la gonartrosis (tabla 2).

<b>Grado I</b>	Disminución espacio articular y presencia de osteofitos.
<b>Grado II</b>	Presencia de osteofitos y disminución del espacio articular.
<b>Grado III</b>	Osteofitos múltiples moderados, disminución espacio articular, esclerosis y posible deformidad de extremos óseos.
<b>Grado IV</b>	Osteofitos importantes, marcado descenso espacio articular, esclerosis severa y definitiva deformidad de extremos óseos.

Tabla 2. Escala de graduación de Kellgren y Lawrence (75).

#### **1.2.D- Telerradiografías.**

Una proyección antero-posterior en carga bipodal permite medir los grados de desviación existentes en varo o valgo, recordando la existencia de un valgo fisiológico aproximado de 6°.

#### **1.2.E- Ecografía y resonancia magnética nuclear (RMN).**

Podemos recurrir a estas técnicas para valorar el grosor del cartílago y descartar la presencia de derrame o patología periarticular asociada, pero estas dos técnicas no tienen gran trascendencia clínica para el diagnóstico común de la gonartrosis.

#### **1.2.F- Valores analíticos.**

Los parámetros analíticos pro-inflamatorios como la velocidad de sedimentación globular y la proteína C reactiva son normales, así como el factor reumatoide y los anticuerpos antinucleares, por tanto, no existen pruebas de laboratorio específicas para la gonartrosis (84,102). El líquido sinovial es transparente, tiene unas características viscosas y es filante, presentando menos de 2.000 células/ $\mu$ l.

### **1.3- TRATAMIENTO QUIRÚRGICO DE LA GONARTROSIS.**

El cirujano ortopédico ha enfocado durante muchos años la artrosis como un problema de solución quirúrgica. Sin embargo actualmente se tiende a seleccionar más a los pacientes y sólo cuando se han agotado las posibilidades de tratamiento médico y fisioterápico es cuando tendremos que enfocar el tratamiento hacia la vertiente quirúrgica. El objetivo principal del tratamiento quirúrgico es erradicar el dolor y recuperar la función articular perdida. Con este fin, podríamos sintetizar las intervenciones de las que disponemos en tres tipos (53,86,105):

#### **1.3.A- Lavado articular y limpieza artroscópica.**

Mediante esta técnica mínimamente invasiva podemos extirpar cuerpos libres osteofitarios, regularizar lesiones meniscales, practicar sinovectomías y perforaciones a nivel del cartílago que irían seguidas de la formación de un tejido fibroso y ofrecería mejorías clínicas durante periodos variables de tiempo. Con el lavado artroscópico, al eliminar enzimas proteolíticas, se ha descrito un efecto analgésico en el 80% de los pacientes intervenidos, que se mantendría entre los cuatro años y los seis meses (90). El uso de la artroscopia queda limitado a pacientes con molestias discretas a nivel de la interlínea articular, con miembro normoalineados y sin unos parámetros radiológicos muy evolucionados.

#### **1.3.B- Osteotomías.**

Mediante el tallado de una cuña de localización extraarticular, se pretende variar la orientación del fémur o la tibia para preservar la zona articular más lesionada de grados moderados de gonartrosis. Al preservar las superficies articulares se trata de una cirugía que puede dar buenos resultados funcionales y a la vez no impide la realización de una ulterior artroplastia de rodilla. Las osteotomías corrigen las

deformidades pero no el pinzamiento articular. Un estudio de una serie de pacientes con osteotomías correctoras ha demostrado que el 86% de ellos presentaba una buena función articular al año de la cirugía mientras que este porcentaje disminuía a un 28% a los 9 años (88). Podemos diferenciar estas correcciones de la alineación de los miembros en osteotomías de valguización para las desviaciones en varo, y de varización para las desviaciones en valgo:

-Osteotomías de valguización: es la osteotomía más comúnmente utilizada dado que la deformidad en varo es la causa más común de gonartrosis por desviación frontal del eje de los miembros inferiores. Se realiza al nivel de la zona proximal metafisaria de la tibia, y la indicación viene dada por la existencia de gonalgia en la interlínea interna de un paciente menor de 65 años de edad, sin sobrepeso, con una artrosis radiológicamente incipiente, arco de movilidad conservado y un varo menor de 12°. La articulación femoro-patelar debe estar centrada, bien conservada, y no debe existir una notable inestabilidad ligamentosa.

-Osteotomías de varización: las indicaciones son semejantes a las expuestas en las osteotomías valguizantes salvo que el paciente debe presentar desviación el valgo. Esta deformidad es poco común y suele estar asociada a una hipoplasia condilar externa femoral por lo que estas osteotomías suelen realizarse en la metafisis distal del fémur. No debemos realizar una técnica que conlleve una hipercorrección que pudiera ser deletérea para el futuro, incierto de antemano, de la articulación (57).

### **1.3.C- Artroplastias.**

El diseño protésico debe considerar las implicaciones que tiene el constreñimiento ligamentoso para elegir la geometría articular. Según el implante que consideremos idóneo para el paciente, el cirujano puede intentar mantener ambos ligamentos, laterales y cruzados, el ligamento cruzado posterior y los laterales,

solamente los ligamentos laterales, o sustituir la función de ambos ligamentos, laterales y cruzados. La eliminación de los ligamentos cruzados es una maniobra importante en la liberación de tejidos blandos de las deformidades en varo o en valgo reparadas y facilita la exposición quirúrgica en las rodillas apretadas, por tanto la corrección de estas deformidades se ve facilitada con el uso de un modelo estabilizado posterior. Sin embargo, al anular la función del ligamento cruzado posterior, no se produce el retroceso del componente femoral con lo que teóricamente se limita la flexión total obtenible con la artroplastia. Según la superficie articular que reemplacemos con el implante protésico, las prótesis pueden ser consideradas como monocompartimentales, bicompartimentales o totales. Actualmente se observa una tendencia a utilizar las artroplastias con elementos de cargas móviles, en las que el polietileno, que se articula con el componente femoral metálico y la bandeja tibial metálica, tiene movilidad para crear una articulación de doble superficie que disminuya las situaciones de sobrecarga en la superficie portante del polietileno y por debajo de este (19,71). La técnica de cementación de los implantes metálicos se está imponiendo cada vez más para aumentar el contacto de la superficie del implante con la superficie ósea y así conseguir una fijación primaria mayor. Las artroplastias monocompartimentales tienen unas indicaciones controvertidas y podrían reservarse para pacientes en los que sólo se viese un compartimiento afecto, que no presentasen sobrepeso y que tuviesen los ligamentos cruzados intactos.

Esta técnica quirúrgica no puede satisfacer a todos los pacientes y del 5% al 15% de las artroplastias precisarán una cirugía de revisión (87,112).

### **1.3.D- Arthrodesis.**

Mediante la resección de las superficies articulares y la fijación de estos bordes óseos utilizando técnicas de enclavado o de fijación externa, se pretende obtener

una anquilosis articular. Esta técnica, que elimina cualquier tipo de movilidad, se reserva para el fracaso de técnicas quirúrgicas menos invalidantes o para pacientes con un aparato flexo-extensor deficitario, y afortunadamente en la actualidad su uso es cada vez menor.

### **1.4- EVALUACIÓN DE UNA PROTESIS DE RODILLA INFECTADA.**

La infección de una artroplastia total de rodilla implica una evolución desoladora para el enfermo y el sistema sanitario. Para conseguir erradicar la infección suele ser necesario reintervenir quirúrgicamente al paciente lo que conlleva un deterioro funcional del mismo. Se calcula que el coste promedio que supone una artroplastia de rodilla infectada es de 50.000 dólares, generando un consumo de recursos hospitalarios 3-4 veces mayor que el de una artroplastia primaria y 2 veces mayor que el de una revisión aséptica (5,98). La infección es la segunda causa de fracaso de una artroplastia de rodilla, siendo la primera el aflojamiento aséptico. Un factor que podría explicar la mayor frecuencia de infecciones de prótesis de rodilla respecto a las de cadera es la existencia de una peor vascularización y una menor protección por las partes blandas (128,129). La frecuencia de infección profunda tras una prótesis total de rodilla varía del 0,5% al 5%. En la Clínica Mayo la frecuencia descrita en una serie de 18.749 casos fue del 2,5%, alcanzando el 5,6% los procedimientos de revisión y el 2% las intervenciones primarias, llegando a porcentajes del 15 al 25% con el uso de implantes constreñidos o en bisagra (8,38,51,113). Aunque la cifra de infecciones afortunadamente ha disminuido en los últimos años debido a la detección de factores de riesgo, mejoría de los protocolos de antibioterapia y cuidados en el tiempo quirúrgico,



existe un techo de infecciones difícil de sobrepasar, dado que la incidencia de infección profunda permanece constante entre el 1% y el 2% (39,100). Un análisis reciente atribuyó a la infección la causa del 38% de las intervenciones que presentaron un fracaso prematuro que exigió una revisión quirúrgica (18). Se han identificado variables intrínsecas del paciente y factores ambientales que aumentan la posibilidad de sufrir una infección tras la cirugía protésica. Dentro de las variables intrínsecas podemos destacar un estado inmunitario deteriorado, artritis reumatoide, diabetes, uso de corticoesteroides orales, hipopotasemia, edad muy avanzada, insuficiencia renal crónica, desnutrición, tabaquismo, obesidad, infección concomitante e intervenciones quirúrgicas previas (24,143). El cirujano debe actuar sobre los factores ambientales en el periodo perioperatorio, administrando un protocolo antibiótico intravenoso profiláctico, utilizando flujo laminar, reduciendo el tránsito del quirófano, empleando material adecuado para la preparación del campo quirúrgico y respetando las partes blandas cuidadosamente.

### **1.4.A- Clasificación de las infecciones.**

Las infecciones *superficiales* se confinan a la piel y planos subcutáneos, no penetrando más allá de la cápsula articular. Suelen presentarse como un eritema localizado, un drenaje o un hematoma superficial. Pueden beneficiarse de un desbridamiento local y antibioterapia intravenosa.

Las infecciones *profundas* al ser intraarticulares presentan un pronóstico menos favorable. Encontraremos una rodilla caliente y eritematosa, con un importante derrame articular y una marcada impotencia funcional.

La infección *aguda precoz* aparece durante el primer mes después de la cirugía, debido a hematomas intraarticulares infectados o a infecciones superficiales que se han convertido en intraarticulares.

Las infecciones *crónicas tardías* suelen originarse durante la intervención quirúrgica pero evolucionan silentes hasta pasados varios meses desde la intervención debido a que la inoculación es de gérmenes de baja virulencia y en escasa cantidad. Ello suele ocasionar una gonalgia desde el momento de la intervención que aumenta en intensidad gradualmente y ocasiona una impotencia funcional progresiva.

Las infecciones *hematógenas agudas* aparecen a partir de los dos primeros años de la cirugía y se deben a una diseminación hematógena que origina una siembra de microorganismos en una articulación que se encontraba previamente aséptica. Estas infecciones presentan un cuadro agudo de dolor, fiebre e impotencia funcional en pacientes que habitualmente presentan cierto grado de inmunodepresión o infecciones concomitantes en localizaciones no osteo-articulares (tabla 3).

<i>Tipo</i>	<b>Aguda precoz</b>	<b>Crónica tardía</b>	<b>Hematógena aguda</b>
<i>Inicio</i>	Menos de 1 mes después de la operación.	Más de 1 mes después de la operación.	Menos de 48 h de síntomas (con frecuencia a partir de los 2 años de la operación)
<i>Mecanismo</i>	Hematoma infectado o infección superficial de la herida que siembra la articulación.	Infección indolora desde la operación inicial.	Siembra hematógena de una articulación anteriormente aséptica.
<i>Tratamiento</i>	Irrigación y desbridamiento con conservación del implante.	Irrigación y desbridamiento con recambio protésico.	Irrigación y desbridamiento con conservación de la prótesis si menos de 48 h; de lo contrario, irrigación y desbridamiento con recambio protésico.

Tabla 3: clasificación de las artroplastias de rodilla infectadas (118).

### **1.4.B- Agentes infecciosos.**

Las bacterias más frecuentemente aisladas en infecciones profundas de las prótesis totales de rodilla son gram positivas, siendo los causantes de más de la mitad de las artroplastias infectadas el *Staphylococcus aureus* y el *Staphylococcus epidermidis* (36). Este último posee una gran capacidad de adherencia al polietileno que origina una muy difícil erradicación del germen mediante la terapia antibiótica. En ocasiones el agente causal es gram negativo, siendo esto más común en complicaciones agudas de la herida quirúrgica o en una siembra hematógena tardía. Las infecciones crónicas tardías se ocasionan por gérmenes avirulentos, como los estafilococos coagulasa-negativos, los estreptococos viridans, los cocos gram positivos anaerobios y las bacterias corineformes. Las infecciones hematógenas agudas son causadas por agentes agresivos como los *Staphylococcus aureus*, estreptococos beta hemolíticos y bacilos gram negativos (104). Infrecuentemente observamos contaminación de la herida quirúrgica por candidas que pueden acarrear infecciones de curso indolente.

### **1.4.C- Aproximación diagnóstica.**

No existe ninguna prueba que posea una sensibilidad y especificidad del 100% para llegar al diagnóstico de una infección de un implante articular por lo que debemos basarnos en la presentación clínica del cuadro, la exploración del paciente y la interpretación de los resultados de las pruebas de imagen y de laboratorio (123,135).

-Anamnesis y exploración: como en toda la terapéutica médica constituyen el pilar más importante para el acercamiento diagnóstico siendo clave el estudio pormenorizado de la historia clínica, las gráficas de temperatura y las complicaciones postoperatorias que pudo presentar el paciente. Debemos tener un índice elevado de sospecha de una complicación infecciosa ante un dolor no relacionado con la actividad, que persiste desde la intervención quirúrgica, en un paciente que presentó problemas de

cicatrización de la herida, relató fiebre o escalofríos y sufrió malestar generalizado. Habitualmente nos encontraremos con una articulación caliente, rígida, eritematosa, dolorosa a la movilización pasiva y ocupada por un derrame. En casos más evidentes se puede observar necrosis cutánea o exudado a través de fistulas cutáneas.

-Pruebas de laboratorio: las pruebas de laboratorio más usadas en los pacientes con sospecha de infección de prótesis total de rodilla son la fórmula leucocitaria, la velocidad de sedimentación y la proteína C reactiva (52). Es poco común observar un número total elevado de leucocitos y una neutrofilia en una artroplastia infectada. Cuando la fórmula leucocitaria ya está alterada, la infección es patente y el diagnóstico es claro. La velocidad de sedimentación puede permanecer elevada durante 3 meses o más tras la cirugía. Si han transcurrido 6 meses, la velocidad continúa elevada y no existe otro foco, su valor predictivo positivo es del 80% (79). La proteína C reactiva es un reactante de fase aguda sintetizado por el hígado que aumenta de manera inespecífica ante neoplasias o procesos inflamatorios en general. Tras una agresión quirúrgica sufre un aumento que se normaliza transcurridas 2 ó 3 semanas (1,62).

-Técnicas de imagen: como mínimo, ante una prótesis de rodilla dolorosa debemos obtener 2 *proyecciones radiológicas* simples perpendiculares entre sí para valorar un posible aflojamiento de los componentes, formación de nuevo hueso perióstico, osteolisis periprotésica o formación de hueso heterotópico que serían indicativos de complicación infecciosa.

Habitualmente el estudio diagnóstico se completa con *gammagrafías* (leucocitos marcados con tecnecio 99 metaestable, citrato de galio 67 e indio 111). Sin embargo aunque estas gammagrafías son bastante sensibles, tienen poca especificidad, son caras y su uso requiere mucho tiempo. El tecnecio-99m fue el primer isótopo en usarse en los años 70 como marcador de la actividad ósea: ésta puede estar aumentada

en procesos infecciosos, y también en los aflojamientos asépticos. Por ello la especificidad de esta prueba no es buena, especialmente en la zona tibial durante el primer año, debido a que el metabolismo óseo puede encontrarse aumentado. Además si no existe un aporte sanguíneo suficiente podemos obtener falsos negativos (33). El galio-67 citrato es un radioisótopo que se acumula en áreas de inflamación. El uso secuencial tecnecio-galio es más seguro para el diagnóstico de posible infección (140). El indio-111 marcando leucocitos es utilizado para el diagnóstico en condiciones de aumento de vascularización y acúmulo de células sanguíneas (59,114). Se han usado otros radionucleidos como la inmunoglobulina G marcada con radioisótopos, siendo su papel similar al del indio-111. La gammagrafía pocas veces aporta por si misma información que nos ayude a tomar decisiones terapéuticas. Su uso está más orientado hacia casos en los que los componentes se encuentren bien integrados pero exista una sospecha de infección. En estos casos lo recomendable es el uso secuencial de tecnecio-99m y leucocitos marcados por indio-111. La sensibilidad del método secuencial es del 33% y su especificidad es del 86% (78).

-Artrocentesis: la obtención del líquido intraarticular es considerado como el patrón de referencia asistencial para determinar la existencia o la ausencia de una infección a nivel articular (6,79). Gracias al análisis del material aspirado además podemos identificar el agente causal y su sensibilidad antibiótica. Un recuento leucocitario del líquido aspirado superior a 25.000/mm<sup>3</sup> o una fórmula leucocitaria con más del 75% de leucocitos polimorfonucleares neutrófilos sugieren una infección. El líquido sinovial tiene aproximadamente un tercio de las proteínas contenidas en el suero mientras que la glucosa es similar en ambos medios. En los procesos infecciosos la glucosa disminuye y las proteínas aumentan. La especificidad del aspirado sinovial es del 97% y su sensibilidad del 67% (65). La causa más frecuente de falsos negativos es

la administración de antibióticos por vía oral o por la manipulación incorrecta de la muestra. Otras causas de falsos negativos son el empleo de anestésicos locales que pueden poseer propiedades bacteriostáticas, el uso de suero salino o la obtención de la muestra en una infección localizada en un punto que no esté en contacto con el líquido sinovial. Por ello los aspirados falsamente negativos no son infrecuentes y una sola aspiración negativa no descarta la infección. Cuando el resultado es negativo, la reaspiración, sin antibiótico, sin suero salino y sin anestesia local, proporciona una sensibilidad del 75% y una especificidad del 96%. Se puede realizar una tinción gram, aunque sólo un 25% de los aspirados de rodillas infectadas será positivo con dicha punción. Puede que los cultivos aeróbicos y anaeróbicos del líquido aspirado identifiquen la bacteria causal y su antibiograma, aproximadamente entre dos tercios y tres cuartas partes de los pacientes tratados (101).

*-Muestras intraoperatorias:* es obligatorio obtener cultivos intraoperatorios del líquido y tejido sinovial ante una sospecha de infección. Por ello no debemos administrar antibióticos profilácticos antes de la cirugía que enmascararían los resultados de las muestras. Los cultivos tienen poca trascendencia en la toma de decisiones en el momento de una posible reimplantación, pero representan una inestimable ayuda para una correcta orientación del ulterior tratamiento antibiótico (82). Los patólogos avezados pueden evaluar el estudio anatomopatológico intraoperatorio del tejido sinovial para determinar el número de PMNs por campo de gran aumento, con la técnica de la congelación de muestras. Se suele obtener una muestra de un centímetro de la superficie sinovial con aspecto más inflamado. Tras ser congelada, se obtienen secciones de 2 a 5 micras, y el cristal tras impregnarse durante 10 segundos en una solución al 10% de formol, se tiñe con hematoxilina-eosina. Inicialmente se comunicó que más de 5 polimorfonucleares neutrófilos por campo de gran aumento era indicativo

de infección pero recientemente se ha demostrado que 10 polimorfonuclares, en contraposición a 5 mejoran la especificidad del 96% al 99%, mientras que mantienen una sensibilidad del 84% (63). La tinción de gram intraoperatoria presenta poca sensibilidad para descartar una complicación infecciosa en el acto operatorio. Una serie de 413 tinciones de gram intraoperatorias obtenidas durante artroplastias de revisión, detectó correctamente 10 de los 68 casos infectados, lo que supone una sensibilidad de tan sólo el 14,7% (28). Se deben obtener un mínimo de 6 muestras totales de la pseudo cápsula, de la interfaz hueso prótesis, del canal medular óseo y de las partes con más apariencia de inflamación. Si en el cultivo aparece crecimiento bacteriano en más de un tercio de las muestras, el diagnóstico de infección se considera positivo.

<b>Obtención de muestras intraoperatorias para anatomía patológica (AP) y microbiología (M) (sin antibióticos 2 semanas antes de la intervención)</b>
1º: punción articular con aguja antes de la artrotomía (M)
2º: membrana sinovial y tejido patológico de granulación (M y AP)
3º: biopsia ósea periarticular (M y AP)
4º: material periprotésico, 2 ó 3 muestras (M y AP), tras la retirada de los implantes, incluyendo canal medular, femoral y tibial

Tabla 4: protocolo para la toma de muestras intraoperatorias. Cada muestra debe obtenerse con distinto instrumental y los cultivos deben realizarse en medios convencionales y en caldo enriquecido.

*-Esquema diagnóstico:* dado que la anamnesis, la exploración física, las pruebas analíticas, las radiografías simples y los estudios gammagráficos no siempre correlacionan bien con la infección, la aspiración del líquido articular sigue siendo la prueba más concluyente para detectar una complicación infecciosa en una artroplastia total de rodilla. Las muestras intraoperatorias analizadas por el patólogo y el microbiólogo nos confirmarán el diagnóstico y marcarán la pauta quirúrgica y antibiótica que deberá seguir el paciente. Los criterios para la confirmación diagnóstica

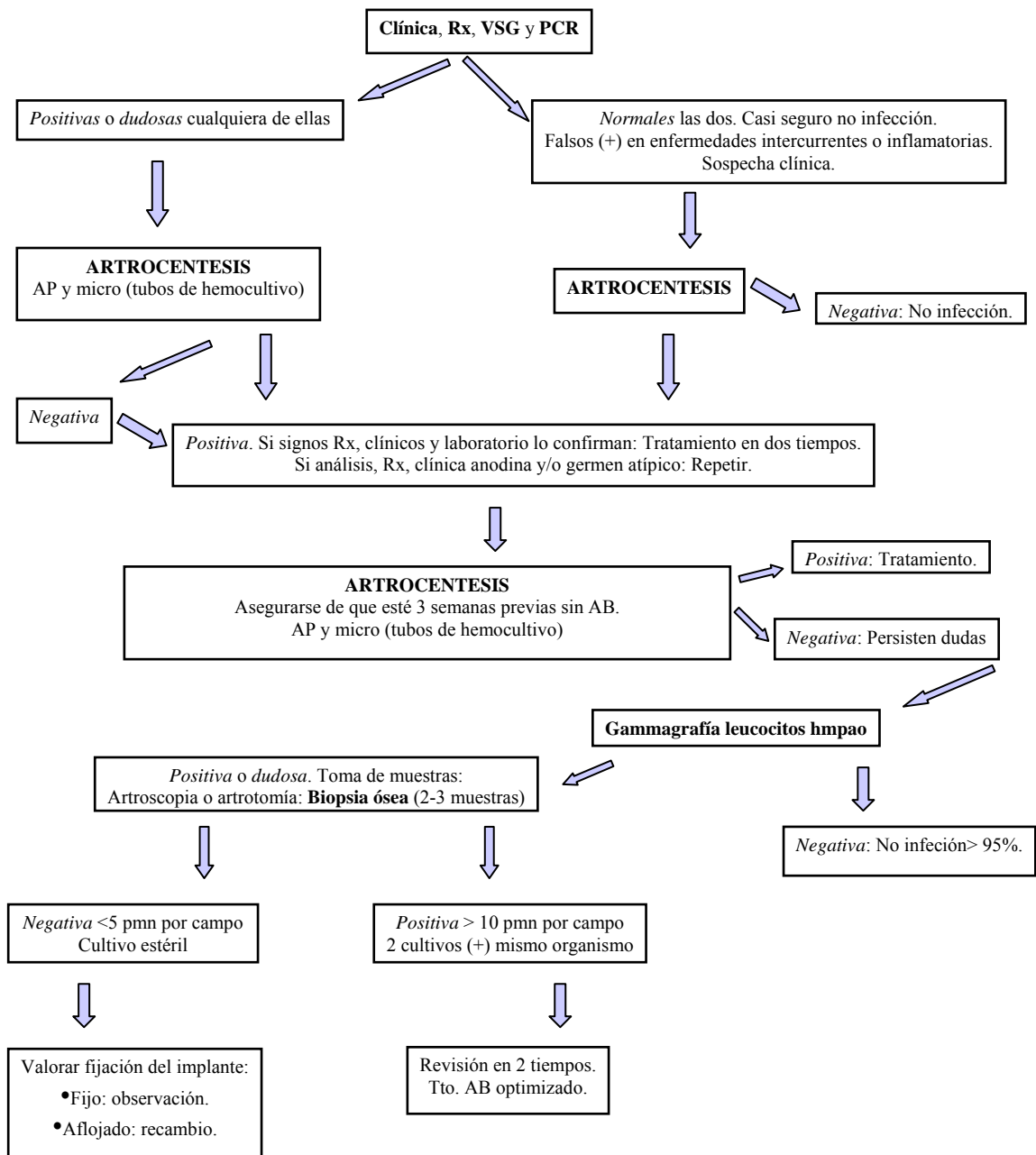
de una infección aguda precoz o una infección hematológica aguda son la presencia de exudado purulento que afecta a la articulación en el tiempo quirúrgico y el cultivo positivo del líquido articular. A estos criterios debemos añadirles la aparición de signos y síntomas clínicos durante el primer mes postquirúrgico en la infección aguda precoz, o la aparición de esta clínica en una prótesis previamente no dolorosa en la infección tardía hematológica (144,145).

Los criterios de confirmación diagnóstica de una infección tardía son: a) la presencia de una fístula articular con exclusión de otras causas (metalosis), b) exudado purulento en el tiempo quirúrgico, c) histología definitiva de infección en pacientes sin artropatía inflamatoria de base (más de 5 polimorfonucleares neutrófilos por campo de gran aumento), d) 3 o más cultivos intraoperatorios (de 5 posibles) con el mismo microorganismo o 2 muestras positivas y 2 signos clínicos o hematológicos ( PCR, VSG, gammagrafía, 2 primeros años, etc.), e) cultivo en muestras intraoperatorias de patógenos especiales (brucella, salmonella, M. tuberculosis), o f) clínica compatible con un cultivo de biopsia ósea significativo. El resto configuran criterios de probabilidad y posibilidad pero nunca de confirmación infecciosa (83,136).

Debemos mantener en mente el aforismo que hace referencia a la necesidad de pensar siempre en una infección ante una prótesis de rodilla dolorosa que no presenta una causa aparente que pudiera justificar dicha gonalgia.



Podríamos resumir nuestra toma de decisiones con este algoritmo (136):



## **2.- CITOQUINAS Y REACTANTES DE FASE AGUDA ANTE UNA AGRESIÓN QUIRÚRGICA.**

Las lesiones mayores, las intervenciones quirúrgicas o los accidentes, originan respuestas metabólicas, hormonales y hemodinámicas. Se caracterizan por una alteración en el metabolismo de las proteínas con balance nitrogenado negativo, hiperglucemia, incremento en la lipólisis y retención de sodio. Además se liberan hormonas contrarreguladoras, se produce fiebre y el hígado sintetiza numerosos factores de fase aguda (23). Esta respuesta es activada por diversos estímulos nociceptivos, por la lesión de los tejidos, por la isquemia y consecuente reperusión tisular, así como por las alteraciones hemodinámicas que presentan estos pacientes.

Ante toda agresión, el organismo responde mediante un mecanismo nervioso y otro hormonal. El mecanismo nervioso actúa inespecíficamente por medio del hipotálamo, los nervios vegetativos, la médula suprarrenal y los órganos cromafines. Desde los centros vegetativos del hipotálamo, los estímulos del estrés descienden a través de los nervios autónomos y espláncnicos a la médula suprarrenal con la consiguiente liberación de adrenalina y noradrenalina al torrente sanguíneo. Éstas actúan produciendo un aumento de la tensión arterial y una vasoconstricción. El mecanismo hormonal también actúa de una manera inespecífica. Esencialmente podemos resumirlo como una descarga masiva de ACTH, TSH y posteriormente cortisol (14). La traducción sistémica radica en un estado predominantemente catabólico, con elevación de las concentraciones plasmáticas de catecolaminas, cortisol y glucagón. Aparecerá eosinofilia, polinucleosis, linfocitosis, aumento de los fagocitos y aumento de la formación de anticuerpos.

A nivel local, la respuesta a la agresión quirúrgica consiste en un fenómeno inflamatorio necesario para la reparación hística y para la defensa ante el trauma.

En general, la cirugía y los procedimientos anestésicos inducen una depresión inmunitaria, siendo posible demostrar un descenso en el número y actividad de las células inmunocompetentes circulantes, y alteraciones en la síntesis de proteínas de fase aguda y de interleuquinas. Su estudio es complejo dado que es difícil valorar el efecto aislado de cada factor indicado, y el diseño de los estudios experimentales o clínicos suelen aportar visiones sesgadas. La reposición de las pérdidas hemáticas supone un factor añadido a la alteración inmunológica, presentando un efecto inmunodepresor la transfusión de sangre homóloga, asociando ésta un mayor riesgo de complicaciones infecciosas (66). Después del trauma quirúrgico aparece una severa disfunción de los mecanismos de defensa del huésped junto a una parálisis de la inmunidad mediada por las células, como consecuencia de una excesiva, sistémica y no selectiva respuesta inflamatoria (14).

La infección postoperatoria se relaciona con diversos factores. Unos dependen de la herida quirúrgica, y por tanto del trauma tisular, de la contaminación de la herida, de la duración y del tipo de intervención quirúrgica. Otro grupo hace referencia a la situación perioperatoria del paciente: estado nutricional, patología asociada, situación hemodinámica, o situación inmune. El último grupo considera los procedimientos perioperatorios utilizados: los agentes anestésicos, analgésicos, antibióticos, transfusiones sanguíneas, expansores de volumen, etc.

Es complejo conocer los cambios inmunológicos observados en el periodo perioperatorio de un paciente, debido a la dificultad para reconocerlos con los métodos clínicos disponibles actualmente ya que no está establecida la cronología e importancia relativa de dichos cambios.

Tres tipos de pruebas pueden informarnos sobre el estado inmunitario de un paciente: a) concentraciones séricas y propiedades de moléculas circulantes implicadas en la respuesta inmune, b) pruebas *in vitro* sobre células inmunocompetentes, c) estudio de las características, número y proporción de las células extraídas del sistema circulatorio. Sin embargo sólo una pequeña parte de las células inmunocompetentes las encontramos en el torrente circulatorio (31% de los neutrófilos y 2% de los linfocitos), lo que limita el poder extrapolar los hallazgos sobre las células circulantes a la población celular total (73). Además en la herida quirúrgica pueden existir modificaciones locales que tengan una influencia variable sobre la población celular total.

La inflamación es una respuesta inespecífica de los tejidos ante la agresión. La agresión y los agentes infecciosos inducen la degranulación de los mastocitos (células cargadas de sustancias histaminoides de acción inmediata), la activación directa del sistema del complemento, la liberación y activación de mediadores inflamatorios (prostaglandinas y el sistema calicreína) que inducen vasodilatación, y aumento de permeabilidad capilar a grandes moléculas defensivas y facilitan la emigración de células con capacidad fagocítica (quimiotaxis). Los fagocitos circulantes (neutrófilos, monocitos, basófilos y eosinófilos) procedentes de la médula ósea, están modulados por mediadores de la inflamación y otros productos celulares como la IL1 y el TNF $\alpha$ , así como por péptidos y endotoxinas bacterianas. Al llegar al foco de infección se adhieren a los microorganismos los fagocitan y los digieren. La fagocitosis es mayor si el material está recubierto por las proteínas plasmáticas llamadas opsoninas, que son básicamente anticuerpos, u otras proteínas de fase aguda. Estas proteínas (proteína C reactiva, fragmento activado del complemento C3, fibronectina plasmática, interferones,

etc.) son moléculas complejas que modulan y amplifican la respuesta inmune favoreciendo el desarrollo de mecanismos defensivos adaptativos e innatos (45).

La inflamación va a originar una serie de manifestaciones sistémicas. Tras la lesión se produce un reajuste de las proteínas plasmáticas debido a alteraciones de su síntesis hepática, y por tanto la IL6, y la IL1 y el TNF modifican su transcripción al alza. Se produce un aumento de la síntesis de proteína C reactiva, el fibrinógeno y el amiloide sérico A, una disminución de la transferrina y de la albúmina. Además observamos una leucocitosis a expensas de los PMNs. La inflamación origina fiebre por la acción de las citoquinas sobre el hipotálamo anterior, donde se sitúa el termostato central del organismo y promueven la producción de prostaglandina E2, lo que conduce al aumento de la temperatura corporal (10).

### **2.1- CITOQUINAS.**

Las citoquinas son proteínas solubles producidas por una amplia variedad de tipos celulares hematopoyéticos y no hematopoyéticos. Ejercen una acción local autocrina y paracrina, y en ocasiones una acción sistémica endocrina. Regulan la duración, amplitud y tipo de respuesta, así como la naturaleza de la inflamación local y sistémica que dicha reacción provoca tras la estimulación. Es característico de las citoquinas el tener un bajo peso molecular, una estructura polipeptídica y una síntesis transitoria tras el estímulo. Tienen una naturaleza pleiotrópica y redundante y su acción la ejercen interactuando con receptores específicos. Forman parte de una red funcional sometida a varios mecanismos de regulación. Las citoquinas las podemos agrupar en diferentes familias entre las que podemos destacar: interleuquinas, factores de necrosis

tumoral, factores estimulantes de colonias (CSF), factores de crecimiento (GF) e intercrinas (92).

La activación de las células del sistema inmunitario está regulada en gran parte por la producción ordenada de citoquinas que controlan la activación de los genes y la expresión de las moléculas de superficie celular.

Los leucocitos son los principales responsables de la defensa frente a las infecciones por microorganismos, con un componente específico formado por los linfocitos y otro no específico formado por los granulocitos y los macrófagos. Los leucocitos circulan en la sangre y en el sistema linfático, y ante un daño tisular son reclutados desde la sangre al tejido afectado de forma específica. Así, por ejemplo, los eosinófilos son selectivos de reacciones alérgicas o infecciones por parásitos, mientras que los PMNs se extravasan a zonas con inflamación aguda o daño tisular.

### **2.2- REACTANTES DE FASE AGUDA.**

Ante cualquier infección o daño tisular se desencadenan cambios metabólicos dirigidos a destruir al agente inflamatorio y favorecer la cicatrización de los tejidos. Entre estos cambios se incluyen la fiebre, la leucocitosis, alteraciones de la permeabilidad vascular, variaciones del catabolismo muscular y modificaciones de la síntesis hepática de enzimas.

Los reactantes de fase aguda (RFA) son un grupo de proteínas sintetizadas en el hígado en respuesta al estímulo producido por las citoquinas liberadas en el foco inflamatorio desde los macrófagos, principalmente IL1, IL6 y TNF $\alpha$ . Está formado por componentes del sistema del complemento, proteínas de la cascada de la coagulación, inhibidores de proteasas, proteínas ligadoras de metales, PCR, etc. cuya concentración

en suero aumenta en respuesta al daño tisular, en proporción variable. Por el contrario, las concentraciones de algunas proteínas séricas, como la albúmina, la prealbúmina y la transferrina, se reducen por la disminución de su síntesis y el incremento del volumen de distribución.

(+)100-1.000 veces valor basal	(+)2-4 veces valor basal	(+)0.5 veces valor basal	(-)
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪PCR</li> <li>▪Componente sérico A de la amiloidosis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪α-1 antitripsina</li> <li>▪α-1 glucoproteína ácida</li> <li>▪α-1 quimiotripsina</li> <li>▪Haptoglobina</li> <li>▪Fibrinógeno</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪Ceruloplasmina</li> <li>▪Factores del complemento C3-C4</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪Albúmina</li> <li>▪Transferrina</li> </ul>

Tabla 5: reactantes de fase aguda y número de veces que se modifican sus niveles plasmáticos (73).

Estos reactantes cumplen un papel defensivo, como por ejemplo la PCR uniéndose a las membranas celulares a modo de opsonina.

**2.2. A- Fibrinógeno.**

Se trata de una glucoproteína plasmática soluble de elevado peso molecular, compuesta por tres pares de cadenas polipeptídicas. Se sintetiza en el hígado bajo el control de diversos factores estimulantes y tiene una vida media de unas 100 horas. Desempeña un papel central en la coagulación, denominándose factor I: por la acción de la trombina se transforma en fibrina insoluble. Interviene en la reología sanguínea y potencia la agregación plaquetaria cuando está elevado. Además actúa como reactante de fase aguda aumentando en situaciones en las que existe inflamación o destrucción tisular como ocurre ante el estrés médico o quirúrgico.

Se ha considerado un factor de riesgo independiente para el desarrollo de enfermedades vasculares cuando se encuentra en cifras superiores a 350 mg/dl (147). Se han descrito niveles más elevados en personas hipertensas, fumadoras, obesas, ancianas

o con valores elevados de LDL, y se han observado niveles menores en personas que realizan ejercicio regularmente o que consumen alcohol de manera moderada (122).

### **2.2. B- Proteína C reactiva (PCR).**

Se describió como el primer reactante de fase aguda que se fija a los linfocitos T e inhibe la agregación plaquetaria y la retracción del coágulo. Se haya involucrada directamente en la eliminación del tejido necrótico y los microorganismos causantes de infecciones. Pertenece a la fracción de las Beta globulinas, de peso molecular próximo a los 120.000 daltons, y su concentración guarda correlación con la VSG (94).

En la actualidad es el reactante de fase aguda mejor estudiado y que posee mayor aplicación clínica.

A menudo el aumento de PCR va paralelo al aumento de la VSG, pero el incremento de la PCR suele preceder al de la VSG y desciende antes que esta última al desaparecer el estímulo causante. Al contrario que la VSG, la PCR no está influida por factores dependientes de los hematíes (anemia, policitemia, macrocitosis, microcitosis, esferocitosis), por la insuficiencia cardiaca ni por la hipergammaglobulinemia (67).

Los intervalos normales de referencia son de 0 a 5,6 mg/dl (unidades convencionales) o 0 a 0,01 g/l (unidades SI). Se considera que un valor previo basal normal, bien establecido, confiere mayor valor discriminante en la detección de un incremento aún pequeño (72).

La valoración de la PCR es de gran utilidad como herramienta diagnóstica, pero también es útil para la monitorización del curso y la respuesta al tratamiento de numerosas enfermedades inflamatorias, especialmente los desórdenes reumatológicos, y para el diagnóstico de la presencia de enfermedades inflamatorias de origen infeccioso. También es un eficaz biomarcador en la detección y sospecha de infecciones



postquirúrgicas ya que si bien la PCR aumenta con la agresión quirúrgica, la evolución natural es sufrir un incremento dentro de las primeras 24 horas tras la intervención con un pico máximo entre las 24 y 72 horas posteriores, y una normalización de sus niveles tras 2 ó 3 semanas en ausencia de complicaciones infecciosas. Su concentración plasmática empieza a elevarse a las 4-6 horas de la agresión quirúrgica, permaneciendo elevada mientras dure la situación patológica y volviendo en breve a la normalidad cuando se resuelva la situación estresante, debido a que la PCR posee una corta vida media de 4 a 7 horas (110).

La concentración alcanzada por esta proteína refleja la intensidad del proceso inflamatorio subyacente, de manera que puede alcanzar rápidamente niveles mil veces superiores a su concentración basal en el curso de reacciones inflamatorias muy intensas. Algunos estudios indican un aumento mayor de los niveles de esta proteína en artroplastias de rodilla que en artroplastias de cadera, pero no se ha podido demostrar significación estadística y además si la evolución postoperatoria es normal el nivel sérico postoperatorio disminuye siguiendo un mismo patrón en ambas intervenciones (142). Un aumento persistente o un segundo incremento de los niveles plasmáticos son sugerentes de complicaciones infecciosas o tromboembólicas, apareciendo incluso antes del inicio de las manifestaciones clínicas relatadas por el paciente.

En síntesis la PCR aumenta en (72):

a) Enfermedades inflamatorias: artritis reumatoide, fiebre reumática, monoartritis y artritis seronegativas, espondilitis inflamatorias vasculíticas con o sin síntomas articulares, la polimialgia reumática, arteritis de células gigantes, enfermedad inflamatoria intestinal crónica y enfermedad de Wegener.

b) Necrosis tisular por isquemia o infarto. La más representativa es el infarto agudo de miocardio que muestra incrementos de PCR a las 6 horas con tendencia a la normalización a los 7 días.

c) Tumores malignos: pulmón, mama y tubo digestivo. Después del tratamiento con éxito y normalización de la PCR, la evolución de la misma puede ser un buen marcador pronóstico tumoral.

d) Rechazo de trasplante de órganos ó de médula ósea.

e) Traumatismos, fracturas ó quemaduras.

f) Infecciones, particularmente las bacterianas. Las elevaciones son más modestas en las infecciones víricas.

La PCR no se modifica en (72):

a) Enfermedades autoinmunes (esclerodermia, lupus sistémico, colitis ulcerosa y dermatomiositis) en estado refractario.

b) Angor, sin lesión tisular.

c) Accidente vascular cerebral. Epilepsia o estado convulsivante.

d) Embarazo.

e) Enfermedades virales comunes como resfriado común o gripe.

f) Asma y reacciones asmáticas ó alérgicas.

### **2.3- PROTEÍNAS DE CHOQUE TÉRMICO.**

Los organismos han tenido que adaptarse mediante el desarrollo de mecanismos de defensa, a condiciones ambientales adversas que originan estrés agudo o crónico. En esta respuesta adaptativa que intenta proteger a la célula de agresiones

letales se objetiva el incremento de la síntesis de un grupo de proteínas de estrés (SP) y más concretamente de las denominadas proteínas de choque térmico (Heat Shock Proteins, *HSPs*).

La mayoría de estas HSPs se expresan de forma constitutiva en células no sometidas a situaciones de estrés (11,21,29,30). La mayor parte de estas proteínas constitutivas funcionan como caperona moleculares, facilitando diversos aspectos celulares del plegamiento, la maduración, el transporte y la degradación de las proteínas. En situaciones patológicas, se observa un incremento en la síntesis de estas caperona para afrontar la elevada concentración de proteínas alteradas, siendo capaces de estabilizar proteínas no plegadas o parcialmente plegadas, evitando así posibles interacciones inapropiadas inter e intramoleculares. Estas proteínas juegan un importante papel clínico en las enfermedades degenerativas, el traumatismo tisular, la respuesta inmune y la oncogénesis (96).

Todas las células, tanto eucariotas como procariotas, reaccionan frente a la hipertermia o ante cualquier otro agente estresante, activando los genes que codifican el grupo de proteínas inducidas por el estrés (tabla 6).

Las HSPs, constituyen el grupo de las proteínas de estrés más estudiadas e intervienen en diversas etapas de la biosíntesis proteica (desde la síntesis de las cadenas polipeptídicas hasta su traslocación y degradación).

La célula activa, como consecuencia del estrés, la denominada respuesta al choque térmico, (HSR: “heat shock response”), ello va a suponer un incremento en la síntesis de distintos miembros de las familias HSPs. Tal incremento se produce inicialmente desde mRNAs preexistentes (“prompt” HSPs) y se continuará con la síntesis de HSPs cuyo control ocurre preferentemente, a nivel transcripcional. El nivel

de expresión de hspes es directamente proporcional a la intensidad del estímulo inductor de la HSR (146).

La HSR fue originalmente descrita en *Drosophila* como un fenómeno inducido de expresión génica. En 1962 Ritossa y cols, observaron en los cromosomas de las glándulas salivares la aparición de abultamientos (“puffs”) cromosómicos tras someter a las larvas de *Drosophila* a 30min de hipertermia, concretamente a 30°C (temperatura 5°C superior a la considerada como fisiológica, para el desarrollo larvario). Dichos engrosamientos se observaban al minuto de iniciado el estímulo térmico y se mantenían durante la hora siguiente. De igual forma, si las larvas eran sometidas a un segundo estímulo térmico, la aparición de los abultamientos volvían a observarse pero, esta vez, retrasada en el tiempo a las 3h de iniciado el mismo. Iguales resultados se conseguían si los cromosomas eran expuestos a distintos compuestos químicos (el 2-4 dinitrofenolo salicilatos) (116).

En 1974 Tissierês y cols demostraron con experiencias similares que, simultáneamente a la aparición de los engrosamientos cromosómicos inducidos por HS, se detectaba un incremento en los niveles de ciertas proteínas. Estas proteínas, indetectables en condiciones basales, fueron separadas en PAGE-SDS en función de sus Pms. Desde entonces, fueron denominadas “proteínas de choque térmico” (131).

En 1977, Lindquist-McKenzie y cols, observaron que, en *Drosophila*, tras HS se producía un incremento en la formación de nuevos polisomas y la desaparición de otros preexistentes; ello suponía la disminución en la síntesis proteica global (81).

En 1978, Kelly describió la síntesis de HSPs en fibroblastos de pollo cuando éstos eran incubados con análogos de aminoácidos o tras HS, lo que convirtió a la HSR en una respuesta adaptativa universal, propiedad general de todos los organismos vivos (69).

En 1980, Hightower observó cómo muchos de los agentes inductores de la HSR son desnaturalizantes proteicos, por lo que propuso que la acumulación intracelular de proteínas desnaturalizadas o incorrectamente plegadas, podría ser el desencadenante de la HSR (77).

La HSR ocurría, también, al exponer las células a otros agentes desnaturalizantes proteicos, como los metales pesados u otros venenos metabólicos. Por ello, se postuló que la HSR era un mecanismo defensivo fundamental para la célula. Esta hipótesis se confirmó, años después, tras el estudio de los genes implicados en la HSR. La mutación de estos genes iba a provocar la aparición de alteraciones en el desarrollo celular, alteraciones en la síntesis de DNA y RNA, imposibilidad de división celular, así como la aparición de procesos proteolíticos anormales (108).

En la secuencia evolutiva biológica de las especies, más de 99% han sucumbido al no superar agresiones medioambientales. Así pues, se han seleccionado, gracias a la evolución de los genes de respuesta al estrés, los organismos que han logrado adaptarse a situaciones adversas, siendo una muestra de las ganancias evolutivas. Hoy en día se consideran estas secuencias genómicas como las más abundantes y conservadas que existen en la naturaleza. Aunque la naturaleza de los agentes estresantes sea diferente en términos físicos o químicos las reacciones biológicas que inducen son similares, y todos ellos inducen la expresión de los genes hsp.

Enzimas fase I y II, glutathion	Biotransformación, detoxificación y eliminación de productos tóxicos
Citoquinas	Diferenciación; proliferación y expansión de macrófagos e inmunocitos
Factores del crecimiento	Proliferación y expansión de varios tipos celulares
Hormonas	Estimulación de células precursoras
SOD, catalasa	Potenciación del sistema antioxidante
Proteínas del choque térmico	Carabinas moleculares y péptidos antigénicos
Enzimas reparadores	Endonucleasas, ligasas, proteasas

Tabla 6: superfamilia de genes de resistencia al estrés (108).

Además de las HSPs constitutivas que intervienen en gran número de procesos biológicos fundamentales, existen otras que se sintetizan bajo la influencia de diversos estímulos que podríamos resumir en:

*-Fenómenos fisiológicos normales:* la progresión del ciclo celular, el desarrollo embrionario, la diferenciación celular y el estímulo hormonal.

*-Estados fisiopatológicos:* la infección por bacterias y virus, el cáncer, el envejecimiento, el estrés oxidativo, la isquemia, la hipertrofia, la respuesta inmune, la inflamación, etc.

*-Situaciones de estrés medioambiental:* elevación de la temperatura, fármacos hepatotóxicos, análogos de aminoácidos, inhibidores del metabolismo energético, metales de transición, etc.

La célula tiene una misión fundamental que es la producción de proteínas funcionales bien definidas en su conformación tridimensional derivada de su estructura primaria, siendo esenciales para la vida el plegamiento proteico y el ensamblaje de las unidades proteicas recién sintetizadas (117). Tanto en las células procariotas como en las eucariotas, estas funciones se realizan gracias a dos clases de proteínas: a) enzimas

convencionales que catalizan reacciones específicas de isomerización, pudiendo así limitar la tasa de plegamiento proteico, y b) caperona molecular que estabilizan las estructuras proteicas plegadas o incompletamente plegadas, y protegen de la interacción inapropiada entre o en el interior de las cadenas peptídicas, que conducen a la agregación (120).

Durante la síntesis, transporte, ensamblaje en oligómeros y secreción, las proteínas presentan conformaciones inestables fácilmente agregables, e incluso las proteínas maduras, durante el ejercicio normal de sus funciones pueden pasar por esas conformaciones frágiles. Las caperona molecular han surgido para proteger a las proteínas que se encuentran en estados inestables y necesitan asistencia externa, ayudando a conseguir una conformación funcional correcta. Además las caperona molecular intervienen en la translocación de las proteínas desde su sitio de origen hasta su destino final donde ejercerán su función (97,146).

Anfinsen (4) demostró que las cadenas polipeptídicas, gracias a que su conformación tridimensional está determinada por su estructura primaria, pueden plegarse espontáneamente para formar las proteínas nativas funcionales. A este principio fundamental de la biología, debemos añadirle la necesidad de la ayuda aportada por las caperona molecular. Este término fue utilizado por primera vez por el grupo de Laskey (74) para describir la función de la nucleoplasmina en el ensamblaje del DNA y las histonas para formar los nucleosomas. Debido a que en el interior de la célula las condiciones de elevada concentración proteica, temperatura y fuerza iónica, son muy desfavorables para el correcto plegamiento proteico, estas proteínas actúan previniendo interacciones impropias entre superficies potencialmente complementarias, mediante su unión no covalente a las estructuras polipeptídicas no nativas de otras proteínas ayudándolas a alcanzar su conformación tridimensional “in vivo”. Las

caperonas moleculares son familias de proteínas, abundantes y ubicuas, muchas de las cuales son proteínas de estrés. Con ellas se eleva el rendimiento de las reacciones de plegamiento y se potencia la recuperación celular después de una agresión. Algunas familias de caperonas son muy específicas en su acción, que en la mayoría de los casos se produce a expensas de ATP (148).

Para considerar una molécula como una caperona, esta debe asistir al plegamiento o desdoblamiento de estructuras proteicas pero no debe formar parte de estas estructuras cuando estén realizando su función biológica (108).

En resumen, las funciones de las caperonas moleculares son (69):

- a) Prevenir la agregación de proteínas mutantes o lesionadas.
- b) Promover el correcto plegamiento y la glicosilación de proteínas segregadas y de membrana.
- c) Solubilizar los agregados proteicos.
- d) Catalizar el ensamblaje de los multímeros y el plegamiento proteico.
- e) Promover la ubiquitinación y la degradación de las proteínas anormales no reparables.
- f) Regular su propia expresión en el citosol y en el retículo endoplásmico.
- g) Suprimir el programa apoptogénico.

Hoy en día utilizamos por extensión, el término HSPs para todas las proteínas de estrés, no sólo para aquellas inducidas en la respuesta al choque térmico. El término HSP va seguido de un número que indica la masa molecular determinada por SDS-PAGE en kilodaltons (kDa). Las más conocidas entre las eucariotas son las HSPs8, HSPs27, HSPs70, HSPs90 y HSPs110 (15,31,34,56,81). Otras proteínas de estrés se identificaron inicialmente como específicas de la respuesta celular a la privación de glucosa, por lo que se denominaron *Grp* (glucose regulated protein). Tanto



las HSPs como las Grps se localizan en varios compartimentos de la célula eucariota: núcleo, nucleolo, citosol, mitocondria, retículo endoplásmico y cloroplastos. En las células procariotas, que carecen de orgánulos, se localizan en el citoplasma, en la membrana citoplasmática y en el espacio periplásmico.

Si en una célula existe una versión inducible y otra constitutiva de la misma HSP, la constitutiva se denomina *HSC (heat shock cognate protein)*, como por ejemplo la HSP70i y la HSC70.

Hemos de tener en cuenta que las proteínas de una familia pueden interaccionar con las de otras para el desarrollo de sus funciones, y que los límites entre las familias no están bien definidos, pero la clasificación de éstas nos será útil para organizar la información obtenida de su estudio (tabla 7).

Nombre	Tamaño (k/Da)	Homólogo bacteriano	Localización	Función
Ubiquitina	8		Citosol/ núcleo	Degradación proteínas proteosoma (no lisosómica)
HSP10	10	GroES	Mitocondria/ cloroplasto	Cocaperona de la HSP60
HSP20-30	20-30		Citosol/ núcleo	Caperonas moleculares. Reguladoras de la actina.
HSP33	33		Citosol	Caperona molecular. Estrés oxidativo
HSP47	47		Retículo endoplásmico	Caperona colágeno
HSP56	56		Citosol	Forma parte de receptor hormona esteroidea; se une al FK506
HSP60	60	GroEL	Mitocondria/ cloroplasto	Caperona molecular (caperonina)
TCP-1	60	GroEL	Citosol/ núcleo	Caperona molecular relacionada con Hsp60
HSP72	70	DnaK	Citosol/ núcleo	Caperona molecular inducible
HSP73	70	DnaK	Citosol/ núcleo	Caperona molecular constitutiva
HSP75	70	DnaK	Mitocondria/ cloroplasto	Caperona molecular constitutiva
Grp 78 (BiP)	70	DnaK	Retículo endoplásmico	Caperona molecular constitutiva
HSP90	90	HtpG	Citosol/ núcleo	Forma parte del receptor hormona esteroidea; caperona molecular
HSP104-110	104-110	Familia CLp	Citosol/ núcleo	Caperona molecular

Tabla 7: clasificación de las proteínas de estrés (21).

La expresión de las HSPs ha de estar sujeta a un estricto control debido a que su acumulación durante largos periodos de tiempo puede resultar perniciosa. Se ha observado en células termotolerantes, una disminución en la transcripción y en la estabilidad del mRNA, lo que indica que la expresión de las HSPs se encuentra limitada para evitar los potenciales efectos citotóxicos de estas proteínas. Un modo de prevenir la acumulación de las HSPs es elevar la degradación del mRNA HSP, que va a contribuir a limitar la expresión de los genes *hsp*s.

La síntesis de las HSPs debido a la activación transcripcional de los genes *hsp*s, está regulada por unos factores de transcripción denominados *HSF* (heat shock factors). Los HSFs son proteínas transreguladoras que requieren una vez activadas, trasladarse al núcleo donde reconoce a un elemento modulador, el *HSE* (heat shock element) localizado en los promotores de los genes *hsp*s. En el hombre se han descrito 4 HSFs, siendo el más conocido y estudiado, el HSF1. En situaciones de reposo, el HSF1 se mantiene como un monómero en el citosol, y ante cualquier estímulo estresante, se traslada al núcleo donde se oligomeriza, adquiriendo así la capacidad de unirse a la secuencia de nucleótidos consenso en la molécula de DNA, denominada HSE, localizada dentro del elemento promotor de los genes *hsp*s. Esta trimerización del HSF1 es esencial para su función al proporcionarle la afinidad necesaria para unirse al DNA e interactuar con el HSE. La unión del HSF con el DNA mediante el dominio de enlace en el terminal amino, afecta la activación transcripcional a través de secuencias en el terminal carboxílico. Así, al unirse el trímero HSF1 con el HSE, se activa la transcripción de los genes *hsp*s, la síntesis de mRNAs y la traducción a HSPs.

En las células de mamíferos la activación de los HSF puede resumirse en las siguientes etapas (108): a) liberación del HSF del complejo con HSP70; b)

oligomerización; c) traslado al núcleo; d) unión al HSE; d) incremento de la actividad transcripcional (figura 1).

La estructura básica del HSE tiene la secuencia 5'-nGGAn-3' o su orientación opuesta 5'-nTCCn-3'. El número de repeticiones de pentanucleótidos puede ser variable, pero un HSE funcional está compuesto al menos por tres pentámeros y la reiteración adicional de unidades pentaméricas ocasiona una mayor afinidad en las interacciones entre el HSF1 y el HSE. El HSE de los promotores de las HSPs70 y las HSPs90, se compone de cinco y seis unidades pentaméricas respectivamente, en cercana proximidad a los elementos promotores basales, cuya función es independiente de la respuesta al estrés. El HSF1 puede reaccionar con el HSE, bien directamente a temperatura normal o después de su activación por cualquier situación de estrés. En el primer caso, descrito en levaduras, se forma un complejo HSE-HSF, que puede ser activado por la fosforilación del HSF. El segundo caso, descrito en organismos superiores, consiste en la formación el complejo HSF1-HSP70 en condiciones normales. El HSF se libera de este complejo por elevación de la temperatura o situación de estrés, se trimeriza, se une al HSE y se activa la transcripción del gen *hsp70*. La disociación del complejo HSF-HSP70 ocurre debido a que es mayor la afinidad de la HSP70 por las proteínas desnaturalizadas que por el HSF1. Esta regulación es similar a la regulación de la expresión de los genes eucariotas por los intensificadores (*enhancers*). En condiciones normales, unos segmentos de secuencias represoras inhiben la síntesis de las HSPs. Estos segmentos están localizados en lugares situados en posición anterior, proximos a los HSEs.

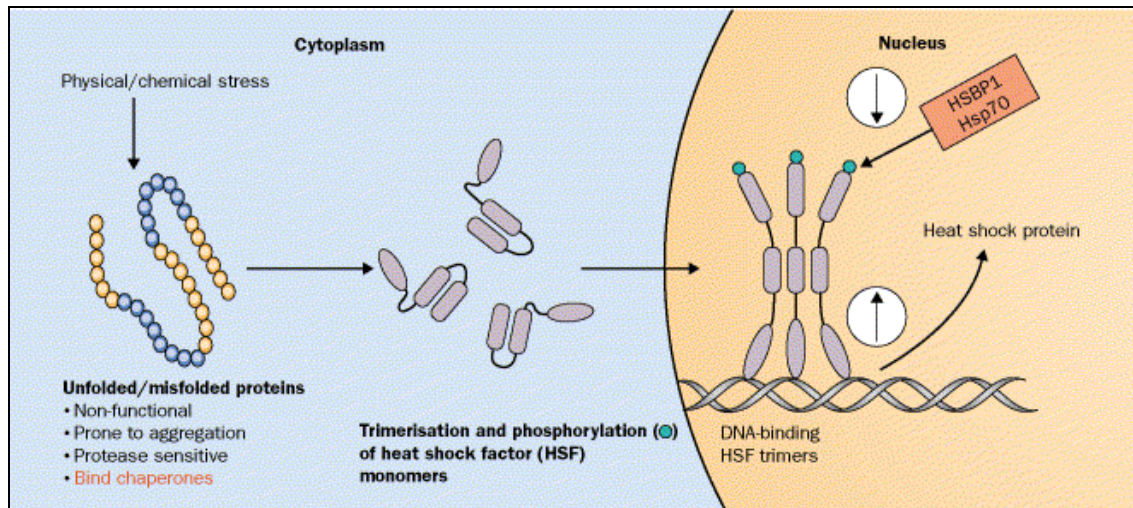


Figura 1: inducción y regulación de la expresión de las proteínas de choque térmico. El estrés químico o físico induce la producción de plegamientos proteicos incorrectos. Los monómeros de HSF en el citoplasma forman trímeros, se fosforilizan y se translocan al núcleo donde se unen a las regiones de genes promotores de las HSP, favoreciendo la transcripción de los genes *hsp*. Esta transcripción está frenada por la interacción de la HSP70 o HSBP1 con los trímeros de HSF.

Tomada de Pockley AG. **Heat shock proteins as regulators of the immune response.** *The Lancet* 2003 Aug; Vol 362 (9): 469-476.

Se han propuesto diversos modelos de activación del HSF1 y de autorregulación de la HSP70 (68,77,80,95). En células no estresadas, el HSF1 se mantiene en el citosol en forma de monómero, sin capacidad para translocarse al núcleo y unirse al DNA, por su asociación/interacción con la HSP70. El choque térmico o cualquier otra situación estresante, al elevar la concentración intracelular de proteínas desnaturalizadas o no adecuadamente plegadas, hace que estas proteínas utilicen la HSP70 disponible y en caso de agotarla, tendrán que utilizar la HSP70 que se encuentra unida al HSF. El monómero HSF una vez liberado de la HSP70, puede translocarse al núcleo donde se oligomeriza formando el trímero que posee capacidad para unirse al HSE. El trímero entonces, una vez fosforilado, activa la expresión los genes *hsps*. La activación transcripcional de estos genes promueve, a su vez, la síntesis de la HSP70. Cuando se ha sintetizado suficiente cantidad de HSP70 para evitar que la concentración

intracelular sea demasiado elevado, la HSP interacciona con el HSF activo y se forma nuevamente el complejo HSF-HSP70. La formación de este complejo conduce entonces a la disociación del HSF del DNA.

La síntesis de HSPs también se observa durante los procesos infecciosos tanto en los microorganismos como en el organismo invadido. Las HSPs microbianas son un factor de virulencia de los gérmenes. Estas moléculas son además antígenos inmunodominantes y los anticuerpos frente a las HSPs bacterianas, especialmente frente a la HSP60, se encuentran elevadas en individuos infectados o vacunados. Las citoquinas están vinculadas con las proteínas de estrés y además es evidente la significación de la función de estas proteínas de estrés en el desarrollo de la respuesta inmune. Se ha atribuido una función en la determinación de la composición correcta de las inmunoglobulinas a la HSP70i y además se ha demostrado la intervención de la HSP70i en el procesamiento de los antígenos y su transporte a la membrana de las células accesorias. Otras posibles funciones de la HSP70i son el traslado de antígenos al interior de los lisosomas para su procesamiento, el transporte de péptidos antigénicos desde el citosol al interior del retículo endoplásmico, y la amplificación del proceso de formación de péptidos antigénicos estimulando la formación de complejos proteosoma e incrementando la presentación en la membrana de los complejos principales de histocompatibilidad I con el antígeno endógeno (106).

### **2.4- VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN GLOBULAR (VSG).**

Esta prueba valora la velocidad con la que precipitan hacia el fondo de una pipeta milimetrada los glóbulos rojos de una muestra de sangre. En condiciones normales durante la primera hora el volumen precipitado no es superior a los 15 mm en

los hombres y a los 20 mm en las mujeres (1). Los valores suelen aumentar con la edad. Dado que los reactantes de fase aguda son macromoléculas asimétricas hepáticas con carga positiva, los estados patológicos en los que se encuentren elevados los niveles de estas proteínas favorecerán la agregación de los hematíes formando pilas de monedas, con lo que aumentan su peso sin aumentar proporcionalmente su superficie y por ello sedimentaran más rápidamente. No se debe olvidar que en estados patológicos en los que existan elevaciones importantes de proteínas circulantes, concretamente las gammaglobulinas monoclonales, la velocidad se acelera pero no es debida a la presencia de un fenómeno inflamatorio. Por el contrario enfermedades que causen una alteración morfológica de los hematíes interfieren físicamente sobre la capacidad de los mismos para agregarse por lo que la velocidad puede ser normal aún en presencia de importantes elevaciones de los reactantes de fase aguda.

El aumento de la VSG fundamentalmente refleja el nivel de fibrinógeno y en menor grado el de otras proteínas reactivas de fase aguda. Su elevación en el curso de un fenómeno inflamatorio es absolutamente inespecífica e independiente de la etiología del mismo. Además es menos sensible para valorar la respuesta a un tratamiento. La velocidad puede permanecer elevada durante 3 o más meses tras la cirugía sin ser indicativa de complicaciones postquirúrgicas, aunque su aumento, en ausencia de otro foco, después de 6 meses tiene un valor predictivo positivo del 80% para detectar complicaciones infecciosas.

La VSG es una prueba muy sensible, pues se modifica en múltiples procesos inflamatorios o infecciosos, por lo que resulta muy poco específica. Además una VSG normal no excluye la existencia de una enfermedad orgánica y su ascenso es relativamente tardío tras la exposición a la noxa.

### **2.5- RECUESTO Y FÓRMULA LEUCOCITARIA.**

Es una de las determinaciones más características de las enfermedades infecciosas. La fórmula leucocitaria determina el porcentaje, en relación al total, de cada variedad de leucocitos (neutrófilos, basófilos, eosinófilos, linfocitos y monocitos).

En ausencia de enfermedad solemos encontrarlos en un número de 4.000-10.000 por mm<sup>3</sup>.

En general se trata de un elemento muy variable, no encontrándose asociación entre la leucocitosis y los signos clínicos de infección en un 60% de los casos, originando muchos falsos positivos (62).



---

## **HIPÓTESIS DE TRABAJO**

---

---

## **II.- HIPÓTESIS DE TRABAJO.**

---

### **1.-HIPÓTESIS.**

Las proteínas de choque térmico pueden ser un biomarcador eficaz de la infección en las artroplastias totales de rodilla.

### **2.-OBJETIVOS.**

Los objetivos del presente estudio son:

1.- Examinar la biología de las HSPs y otros reactantes de fase aguda en pacientes, a los cuales se les implanta una prótesis total de rodilla y no presentan ninguna complicación postquirúrgica, como posibles biomarcadores de estrés quirúrgico.

2.- Estudiar la biología de las HSPs y otros reactantes de fase aguda en pacientes diagnosticados de una complicación infecciosa crónica tardía de una artroplastia total de rodilla, como posibles biomarcadores diagnósticos de infección protésica.

---

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

---

### **III.- MATERIAL Y MÉTODOS.**

---

#### **1.- MATERIAL.**

##### **1.1- DISEÑO.**

Estudio piloto observacional prospectivo descriptivo con componentes analíticos.

##### **1.2- SUJETOS DE ESTUDIO.**

Se reclutaron 35 pacientes de forma consecutiva a partir de marzo del 2003, que reunieron los siguientes criterios de inclusión:

-Pacientes, hombres o mujeres, mayores de 65 años, con diagnóstico de gonartrosis primaria evolucionada (grados III-IV de Kellgren y Lawrence) (75) y que fueran a ser intervenidos quirúrgicamente colocándoles una prótesis de rodilla en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

-Pacientes intervenidos bajo anestesia raquídea.

-Pacientes que otorguen su consentimiento informado escrito para participar en el estudio.

-Pacientes en los que el platillo tibial y el escudo protésico femoral se cementen.

Concurrentemente, y a partir de la misma fecha, y con el fin de conseguir el segundo objetivo, se reclutaron 10 pacientes a los que se les hubiera implantado una prótesis de rodilla y presentasen criterios de infección (mediante biomarcadores predictivos usados en la clínica y estudio anatómico-microbiológico de los especímenes obtenidos durante la intervención) y que reunieran los criterios anteriormente citados (excepto el primero).

Ya que se trata de un estudio piloto, no hubo una predeterminación del tamaño muestral.

### **1.2.A- Detalles anestésicos.**

Se empleó un bloqueo combinado epi-raquídeo, utilizando para la intervención quirúrgica una raquianestesia mediante 10 mg de bupivacaína hiperbárica al 0,5%, y un catéter epidural para el postoperatorio mediante perfusión continua de bupivacaína al 0,125% con un ritmo de 6-10 ml/hora durante las primeras 48 horas. Se administró una dosis de 2 gramos de cefazolina antes de realizar la isquemia de la extremidad intervenida.

### **1.2.B- Detalles quirúrgicos.**

Todos los pacientes fueron intervenidos, por médicos especialistas en C.O.T., de una manera programada en los quirófanos de ortopedia de nuestro departamento. En dichas salas no se dispone de sistemas de flujo laminar. Los pacientes fueron colocados en decúbito supino en la mesa quirúrgica. Se procedió a preparar la extremidad a intervenir con una solución orgánica yodada y posteriormente se aisló el campo quirúrgico con paños estériles. Entonces se activó el sistema de isquemia, localizado en la porción más proximal del muslo, a un nivel 100mg de mercurio superior a la tensión arterial sistólica del paciente. La vía de abordaje utilizada fue la anterior, con la que se lograba una exposición de la articulación de la rodilla a través de

una artrotomía parapatelar medial. Se implantaron los componentes protésicos de acuerdo a las recomendaciones facilitadas por las casas comerciales, teniendo en cuenta que el modelo Insall-Burstein II (Zimmer®) es un implante estabilizado posterior, por lo que se debe resear el ligamento cruzado posterior y este es reemplazado por el diseño protésico, con lo que es necesaria una mayor resección ósea que cuando implantamos el modelo Profix (Smith-Nephew®) (figura 2). La elección del modelo de implante utilizado en cada caso se realizó, tras un estudio detallado, de acuerdo a la existencia o no de deformidad de ejes en los miembros inferiores, estabilidad articular, calidad ósea y rango de movilidad.

Se cementaron tanto los implantes tibiales como los femorales, con cemento CMW-1 (®), para facilitar la fijación primaria. En ningún caso se usó el componente rotuliano. Una vez conseguida la consistencia deseada del metilmetacrilato se procedió a soltar el torniquete de isquemia para coagular los puntos sangrantes. Finalmente se dejó un sistema de drenaje intraarticular y se cerró por planos.

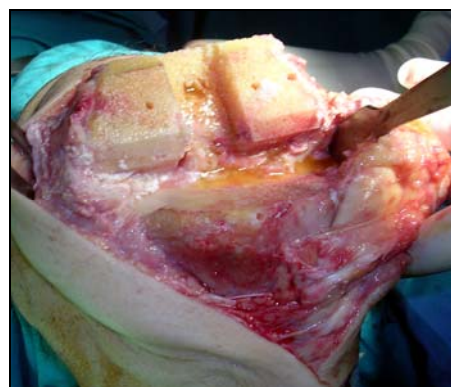


Figura 2: Obsérvese la mayor resección ósea femoral necesaria para implantar el modelo posteroestabilizado (figura de la derecha).

Después de la intervención se inició el tratamiento rehabilitador en las primeras 24 horas mediante artromotor, iniciando la deambulación con ayuda de dos bastones ingleses a las 48 horas, tras la retirada del sistema de drenaje.

## **2.- MÉTODOS.**

### **2.1- VARIABLES Y MEDICIÓN.**

A través de la anamnesis de los pacientes se obtuvieron las variables demográficas y clínicas detalladas en el anexo I.

Se procedió a la extracción de 10 ml de sangre de cada paciente (figura 3); 5 ml se procesaron en el laboratorio central del Hospital General Universitario “Gregorio Marañón”, para cuantificar proteína C reactiva, fibrinógeno, VSG y recuento y fórmula leucocitaria. Con los 5 ml restantes, tras 15 minutos de reposo y coagulación, se procedió a su centrifugación durante 10 minutos a 2500 rpm para la obtención del suero, el cual fue alicuotado, en cuatro tubos eppendorf previamente identificados. Las muestras se guardaron a  $-40^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento. En cada una de ellas, se analizaron los siguientes parámetros:

- Interleuquina  $1\alpha$ .
- Interleuquina 6.
- Factor de necrosis tumoral  $\alpha$ .
- Autoanticuerpos circulantes antiHSP 70i.
- HSP 70i sérica.

### **2.2- MÉTODOS DE MEDICIÓN.**

#### **2.2.A- Recuento Leucocitario.**

- Aparato: Coulter Gen`'s; Medida por volumen, conductividad y dispersión de luz láser.

- Reactivos: Azul de metileno en solución buffer al 0,06%; ácido sulfúrico con estabilización al 0,15%; solución buffer ISOTÓN (de Beckman Coulter).

- Tubo verde: Contiene EDTA (ácido etilendiaminitetracético) K3.



Figura 3: Tubos utilizados para la toma de las muestras sanguíneas de los pacientes del estudio.

### **2.2. B- Velocidad de sedimentación.**

- Aparato: Vesmatic 60 (marca registrada por Menarini®).

- Ves-Matic: Sistema automático para la determinación de la velocidad de eritrosedimentación.

- Tubo negro: contiene citrato sódico (0,36 ml).

### **2.2. C- Fibrinógeno.**

- Aparato: ACL Fatura Plus.

-Tipo: Fibrinógeno derivado (básico de coagulación); Instrumentatio laboratory.

- Reactivo: Tromboplastina cálcica (extracto liofilizado de conejo).

- Tubo azul: contiene citrato trisódico.



### **2.2. D- Interleuquina 1 $\beta$ .**

Técnica de ELISA comercial (MedSystems Diagnostics GMBH, BMS224/2MST ®), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La concentración de IL-1 $\beta$ , se obtiene por interpolación sobre curva patrón, de regresión lineal y se expresa en pg/ml. Los valores normales en suero son de 0 pg/ml.

### **2.2. E- Interleuquina 6.**

Técnica de ELISA comercial (MedSystems Diagnostics GMBH, BMS213/2MST ®), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La concentración de IL-6 se obtiene por interpolación sobre curva patrón, de regresión lineal y se expresa en pg/ml. Los valores normales se encuentran en un rango de 0-14.1 pg/ml, con una media de 1.3 pg/ml y una desviación estándar de 3.2pg/ml.

### **2.2.F- Factor Necrosis Tumoral.**

Técnica de ELISA comercial (Bender MedSystems BMS223INST ®), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La concentración de TNF $\alpha$ , se obtiene por interpolación sobre curva patrón, de regresión lineal y se expresa en pg/ml. No se detecta TNF $\alpha$  en el suero de sujetos sanos.

### **2.2.G- Proteína C reactiva.**

La PCR es medida por un ELISA comercial (CRP-MTPL-EIA, ITISA Biomédica ®), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Al valor medio de la absorbancia de cada estándar se le asigna la concentración correspondiente de PCR, se elabora una curva de calibración log/lineal. La concentración de PCR de las muestras problema, se obtiene por interpolación sobre curva patrón, y se expresa en mg/dl. El límite superior del rango normal se sitúa entre 5 y 8 mg/dl. Para la toma de las muestras se utilizó el tubo morado.

### **2.2.H- Respuesta autoinmune: autoanticuerpos antiHSP70i.**

Estos anticuerpos son medidos por un ELISA comercial (Stressgen EKS-750 ®) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Básicamente en placas de 96 pocillos, se encuentra prefijada una cantidad constante de HSP70i humana recombinante. Se elabora una curva patrón a partir de los estándares suministrados por el fabricante con los siguientes valores: 1000 ng/ml, 500 ng/ml, 250 ng/ml, 125 ng/ml, 62,5 ng/ml, 31,25 ng/ml. Las muestras de suero se diluyen 1:1000, y tanto los estándares como las muestras, se aplican por duplicado (100 µl). Se lee a una longitud de onda de 450 nm (referencia 540-570 nm). Los resultados de absorbancia se interpolan sobre la curva patrón, con una regresión lineal y se expresan en ng/ml.

### **2.2.I- HSP70i.**

La cuantificación de la concentración de HSP70i en suero de nuestros pacientes se realizó mediante una ELISA comercial (Stressgen, StressXpress® HSP70 ELISA Kit) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En placas de microtitración, se encuentra prefijada una concentración fija de un Ac monoclonal antiHSP70i. Las muestras de suero, diluidas en una proporción 1:5 se aplicaron por duplicado en un volumen final de 100 µl. La HSP70i circulante es inmovilizada por estos Ac y detectada a través de anticuerpos policlonales de conejo específicos contra estas proteínas y un sustrato de tetrametilbenzidina que genera un color azul de intensidad proporcional a la cantidad de HSP70 de cada muestra. La intensidad del color se lee a una longitud de onda de 450 nm (referencia 540-570 nm). La curva patrón se elabora simultáneamente con las muestras problema a partir de los estándares suministrados por el fabricante con los siguientes valores: 50 ng/ml, 25 ng/ml, 12,5 ng/ml, 6,25 ng/ml, 3,25 ng/ml y 1,62 ng/ml, y representada de forma bilogarítmica. La concentración de HSP70i de las

muestras se cuantifica al interpolar las lecturas de absorbancia sobre la curva patrón y se expresa en ng/ml o pg/ml, de acuerdo con las densidades ópticas obtenidas.

### **2.3- RECOGIDA DE LA INFORMACIÓN.**

Toda la información se recogió en una ficha específicamente diseñada para el estudio (anexo I) y se archivó en una base de datos para su posterior análisis.

### **2.4- CRONOGRAMA DE LAS MEDICIONES.**

Se obtuvieron todas las muestras con el siguiente cronograma:

**T0:** Muestra obtenida una hora antes de la intervención.

**T1:** Muestra obtenida a las 24 horas de la intervención.

**T2:** Muestra obtenida al mes de la intervención.

**T3:** Muestra obtenida a los tres meses de la intervención.

### **2.5- ANÁLISIS DE LOS DATOS.**

Se realizó una estadística descriptiva de las variables medidas utilizando medidas de frecuencia (absolutas y porcentajes) para las medidas de forma categórica y medidas de centralización y dispersión (media, desviación típica, mediana y rango intercuartil) para aquellas medidas de forma cuantitativa.

Para comparar y buscar posibles asociaciones se realizaron las pruebas estadísticas pertinentes, bien paramétricas o no paramétricas, utilizando la prueba de Friedman para comparar los valores repetidos de las variables medidas en los mismos

sujetos, y la prueba de U de Mann-Whitney (si variables cuantitativas) o la prueba de Fisher (si variables categóricas) para comparar las variables entre las artroplastias primarias de rodillas infectadas o no.

El nivel de significación fue de  $P < 0,05$ . Se utilizó el programa estadístico SPSS 11,5 para Windows.

Este trabajo se realizó en colaboración con el laboratorio de Biología Celular de la Unidad de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

### **2.6- CUESTIONES ÉTICAS.**

Esta investigación se desarrolló de acuerdo a las normas de buena práctica clínica con plena aceptación de las normas éticas vigentes (Declaración de Helsinki, revisión de Edimburgo 2000).

Este protocolo se revisó, aprobó y tuteló por el comité de Investigación y por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital General Universitario Gregorio Marañón (anexo III).

A todos los pacientes se les solicitó su consentimiento informado por escrito, mediante un formulario (anexo II), para participar en este proyecto, informándoles del objetivo del estudio, los procedimientos, los riesgos y beneficios potenciales, las garantías de que su participación es voluntaria, la protección de la confidencialidad acorde a la legislación vigente, y se le ofreció la posibilidad de hacer preguntas sobre el estudio.

**ANEXO I:****DATOS DE FILIACIÓN DE LAS MUESTRAS:**

- ❑ INICIALES DEL PACIENTE:
- ❑ GRUPO DE INCLUSIÓN:
- ❑ EDAD:
- ❑ SEXO:
- ❑ N° HISTORIA:
- ❑ ENFERMEDADES ASOCIADAS:
- ❑ ALERGIAS:                                 A.S.A.:
- ❑ QX PREVIAS:                               DIAS LISTA ESPERA:
- ❑ MEDICACIÓN HABITUAL:
- ❑ FECHA INTERVENCIÓN:       MODELO IMPLANTE:       E.M.O.:
- ❑ GRUPO SANGUÍNEO:                MINUTOS ISQUEMIA:
- ❑ PRECISÓ TRANSFUSIÓN POSTQX:     N° CONCENTRADOS:

**MEDICIONES REALIZADAS:**

CRONOGRAMA	T0(1h preQx)	T1 ( 24 h)	T2 (1 m)	T3 (3 m)
LEUCOCITOS				
FIBRINOGENO				
V.S.G.				
P.C.R.				
IL 1 $\beta$				
IL 6				
TNF $\alpha$				
HSP 70i				
Ac anti HSP 70i				
TEMPERATURA				
T.A.S./T.A.D.				

**ANEXO II:**

**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Don Francisco Chana Rodríguez, licenciado en Medicina y Cirugía, médico residente del Servicio de Cirugía ortopédica y traumatología del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid e investigador del proyecto “ PROTEINAS DE CHOQUE TERMICO EN LAS ARTROPLASTIAS TOTALES DE RODILLA”  
**INFORMA a :**

Don/ña....., sometido/a a tratamiento quirúrgico (diagnóstico: .....), en el Departamento de Cirugía, siendo el Dr. Javier Vaquero Martín su médico responsable.

Que se lleva a cabo en el Departamento referido y en colaboración con la Unidad de Medicina y Cirugía Experimental, el proyecto arriba indicado. Proyecto que consiste, en términos generales, en el estudio de las proteínas del suero sanguíneo, a efectos de detectar posibles alteraciones de su composición y funcionamiento, hoy no bien conocidos y que pudieran incidir en la evolución postoperatoria de la intervención a la que va a ser sometido, tanto en sus efectos inmediatos como a largo plazo.

Para obtener datos relevantes, que puedan tener aplicación clínica en un futuro próximo, es necesario estudiar muestras biológicas procedentes de tejidos humanos; razón por la que solicitamos su libre participación.

El material que se precisa es una cantidad mínima de sangre (10 ml) obtenida en las exploraciones rutinarias a las que usted va a ser sometido. No se necesitan, por ello, maniobras accesorias de ningún tipo. Tampoco interfiere con los diferentes estudios que han de definir la naturaleza o el seguimiento de su enfermedad.

Los resultados que se obtengan del estudio no le reportarán beneficio directo alguno, ni a efectos diagnósticos, ni de orientación terapéutica, ni de pronóstico de su enfermedad. Sin embargo, las conclusiones del proyecto sí que tendrán aplicación clínica en futuros pacientes; por ello, su consentimiento, sin duda, tendrá una incidencia favorable en un futuro próximo.

Los resultados que se obtengan serán completamente confidenciales y anónimos, y no se reflejarán en su historia clínica. Quedarán almacenados en un banco de datos, y constarán, exclusivamente, de las iniciales de su nombre y dos apellidos, edad, sexo, diagnóstico anatomopatológico y estado evolutivo de la enfermedad.

En Madrid, a día ..... del mes de ..... del año 200.....

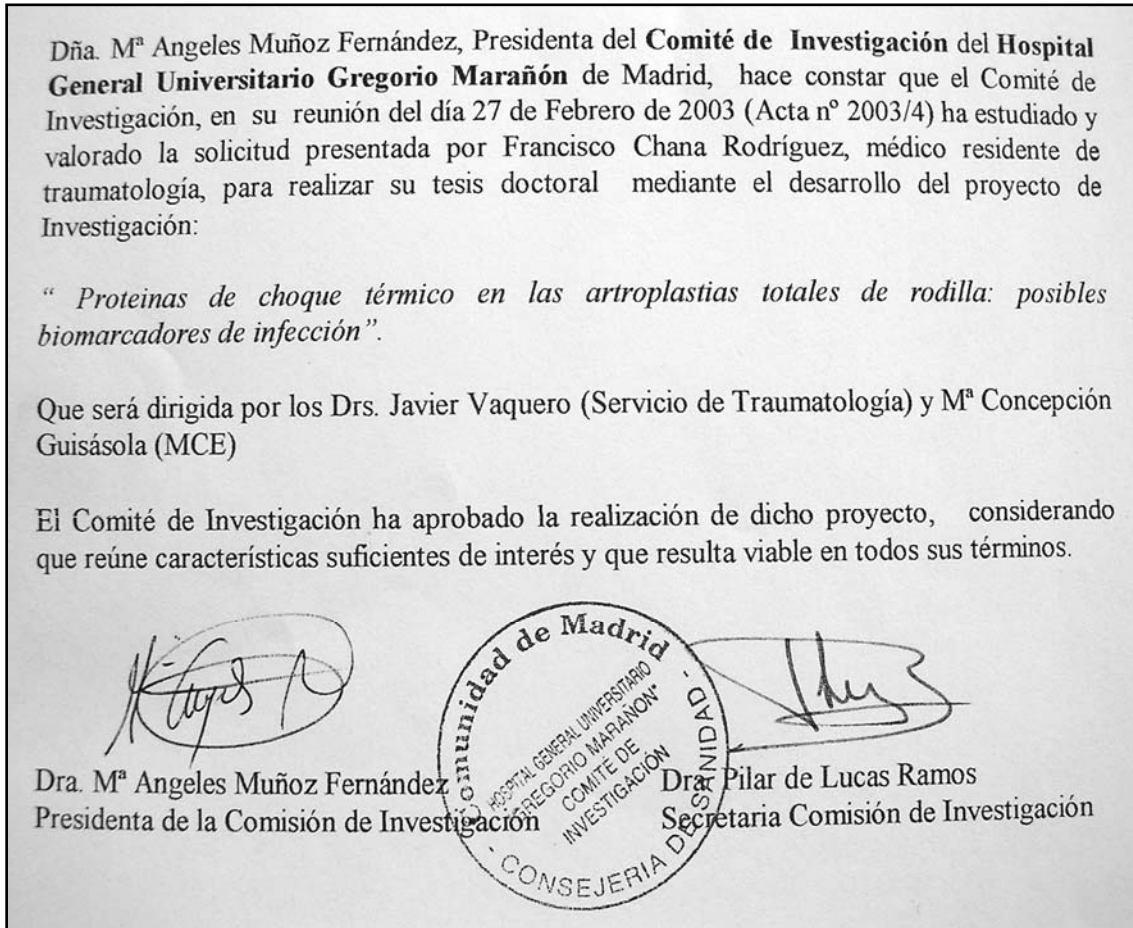
Enterado y conforme:

El médico responsable:

Fdo. D/Dña.

Fdo. Dr.

**ANEXO III:**



Reproducción de la carta de aprobación del proyecto de investigación emitida por el Comité de Investigación del Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

---

## **RESULTADOS**

---



## **IV.- RESULTADOS.**

De la recogida inicial de datos se desprende una información que vamos a desglosar en tres grandes apartados, correspondiendo los dos primeros a los dos grupos de estudio, y el tercero a la comparación entre ambos.

### **1.- ARTROPLASTIAS TOTALES PRIMARIAS DE RODILLA.**

De los 36 pacientes seleccionados inicialmente, sólo pudimos obtener un seguimiento completo de todas las variables en 20 de ellos, por abandono del estudio (2 pacientes), por alteración de las muestras en su obtención o en su procesamiento (4 pacientes), o limitaciones presupuestarias (10 pacientes).

#### **1.1-CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA MUESTRA.**

##### **1.1. A-*Características demográficas.***

15 pacientes son mujeres y 5 varones, con edades comprendidas entre 67 y 90 años.

Variables	Pacientes con P.T.R. primaria N=20
Sexo ( ♀ )	75%(15)
Edad años (media±DT) [mediana (RIQ)]	74± 5,1 [74 (2,5)]

Tabla 8: características demográficas del grupo de pacientes con P.T.R. primaria.

**1.1. B-Antecedentes médicos.**

El diagnóstico inicial para la colocación de la prótesis fue gonartrosis primaria en todos los casos.

Cabe destacar la alta prevalencia de hipertensión arterial (HTA), y una prevalencia discretamente superior, a la descrita en diversos estudios epidemiológicos, de alteraciones del metabolismo de la glucosa (diabetes mellitus insulín dependiente (DMID) y no insulín dependiente (DMNID)).

Ninguno de estos pacientes había sido sometido previamente a tratamiento quirúrgico sobre alguna articulación, aunque la mayoría de los casos sí habían sido intervenidos quirúrgicamente en alguna ocasión.

En la tabla 9 se muestran las enfermedades asociadas de estos pacientes.

Variables	Pacientes con P.T.R. primaria N=20
DMID	10%(2)
DMNID	15%(3)
HTA	75%(15)
Enfermedad coronaria	15%(3)
Depresión	10%(2)
Artritis reumatoide	8,8%(3)
Artrosis (localización distinta de rodillas)	25%(5)
Úlcus	5,9%(2)
Hernia de hiato	5%(1)
Alergias	15%(3)
Intervenciones quirúrgicas previas	80%(16)

Tabla 9: antecedentes médicos del grupo de pacientes con P.T.R. primaria.

**1.1. C-Tratamiento farmacológico asociado.**

En la tabla 10 se muestran los fármacos utilizados por estos pacientes antes de ser intervenidos.

Debido al estadio evolutivo de la gonartrosis, premisa de este grupo, la mayoría de los casos estaban sometidos a un tratamiento analgésico. Este tratamiento sintomático no controlaba la gonalgia en ningún caso.

Variables	Pacientes con P.T.R. primaria N=20
Anticoagulante oral	5%(1)
Antiagregante plaquetarios	15%(3)
Omeprazol	20%(4)
Analgésicos sin efecto antiinflamatorio	70%(14)
AINEs	25%(5)
Parches de opioides	10%(2)

Tabla 10: tratamiento farmacológico del grupo de pacientes con P.T.R. primaria.

**1.2-DETALLES QUIRÚRGICOS.**

Se constató el grupo sanguíneo al que pertenecen los pacientes, el riesgo anestésico de la intervención, los días transcurridos hasta la cirugía desde que fueron incluidos en la lista de espera quirúrgica, el modelo de implante utilizado, la necesidad de retirar el material de osteosíntesis de una osteotomía previa, los minutos de isquemia necesarios en el acto quirúrgico y los concentrados de hematíes que tuvieron que transfundirse a 12 pacientes.

Variables	Pacientes con P.T.R. primaria N=20
Grupo A+	52,6%(10)
Grupo A-	5,3%(1)
Grupo B+	15,8%(3)
Grupo O+	26,3%(5)
No transfusión	42,1%(8)
2 CH*	47,4%(9)
3 CH*	5,3%(1)
4 CH*	5,3%(1)
CH* en quirófano	40%(8)
Min. isquemia	67
A.S.A. I	20%(4)
A.S.A. II	60%(12)
A.S.A. III	20%(4)
Días en lista de espera	125
Insall Burstein II®	30%(6)
Profix®	70%(14)
E.M.O. grapa	0%(0)

CH\*: concentrado de hematíes

Tabla 11: detalles quirúrgicos del grupo de pacientes con P.T.R. primaria.

### **1.3-RESPUESTA AL ESTRÉS ANESTÉSICO-QUIRÚRGICO.**

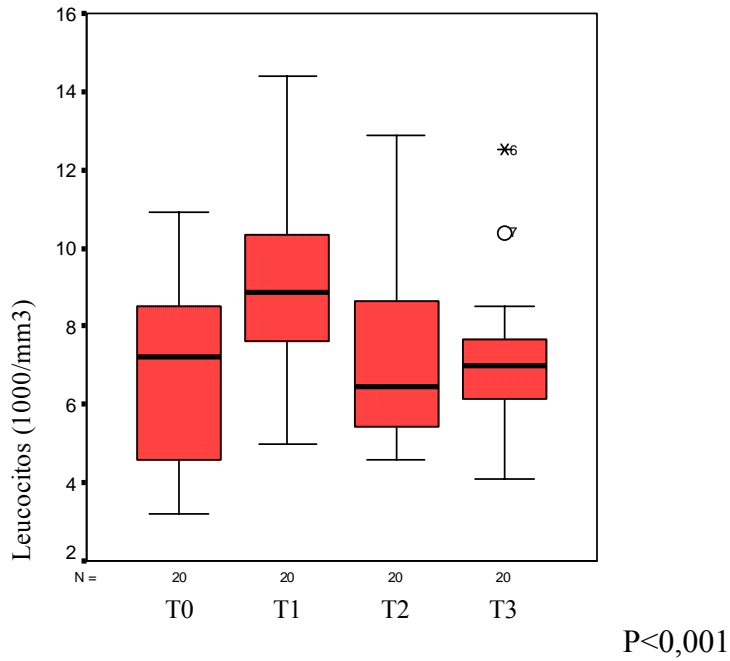
Las repercusiones del fenómeno inflamatorio necesario para la reparación hística y para la defensa ante el estrés anestésico-quirúrgico lo podemos resumir con la tabla 12.

Variables	Pacientes con P.T.R. primaria N=20 (media±DT) [mediana (RIQ)]
Leucocitos /mm <sup>3</sup>	6855±2295 [7200 (4050)]
Fibrinógeno mg/dl	370,1±100,3 [380,5 (97,8)]
VSG mm/h	22,3±16,1 [19,5 (17,8)]
PCR mg/dl	0,4±0,4 [0,4 (0,5)]
Temperatura °C	36,2±0,3 [36,2 (0,5)]
T.A.S. mmHg	144±20 [140 (29,3)]
T.A.D. mmHg	78±9,9 [80 (10)]
IL 1β pg/ml	2,12±1,23 [2,22 (1,43)]
IL 6 pg/ml	0,73±3,19 [0 (0)]
TNF α pg/ml	12,16±15,18 [3,06 (25,50)]
HSP 70i pg/ml	2255±3037 [986 (3030)]
Ac anti HSP 70i ng/ml	757,4±525,3 [567,5 (320,5)]

Tabla 12: mediciones de las variables del grupo de pacientes con P.T.R. primaria en T0.

Es interesante observar gráficamente la variación de los valores de las variables estudiadas de acuerdo con el cronograma establecido. Utilizando la prueba de Friedman, para analizar los valores de las distintas variables medidas de forma repetida a lo largo del tiempo, encontramos variaciones estadísticamente significativas de los niveles de leucocitos, fibrinógeno, VSG, PCR, temperatura, ambas tensiones sanguíneas, la interleuquina 6 y los anticuerpos anti HSP70i.

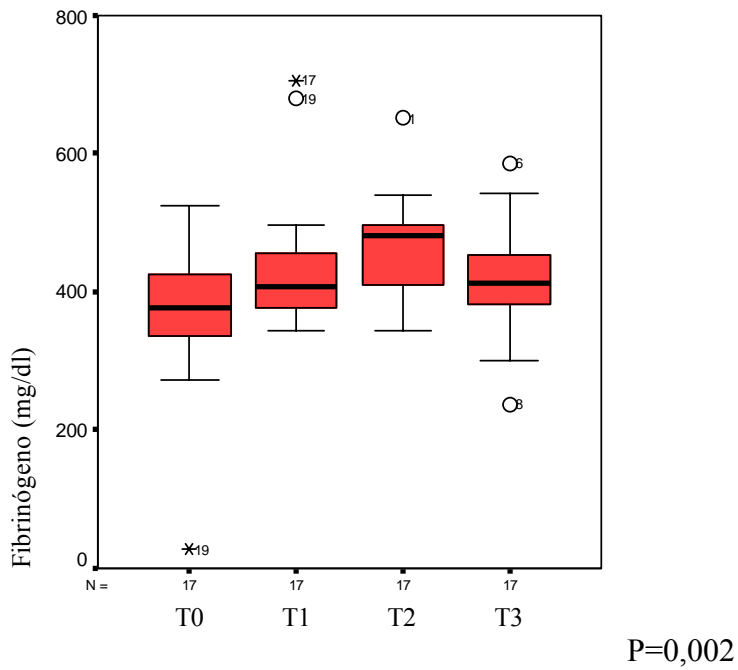
1.3. A- Recuento Leucocitario.



Gráfica 1: evolución recuento leucocitario en el cronograma de las P.T.R. primarias.

Leucocitos/mm <sup>3</sup>	T0	T1	T2	T3
Media	<b>6855</b>	<b>9090</b>	<b>7340</b>	<b>7090</b>
Mediana	<b>7200</b>	<b>8850</b>	<b>6450</b>	<b>7000</b>
Varianza	5269	6728	6303	3759
DT	2295	2593	2510	1938
Mínimo	3200	5000	4600	4100
Máximo	1090	1440	1290	1250
RIQ	<b>4050</b>	<b>3025</b>	<b>3300</b>	<b>1600</b>

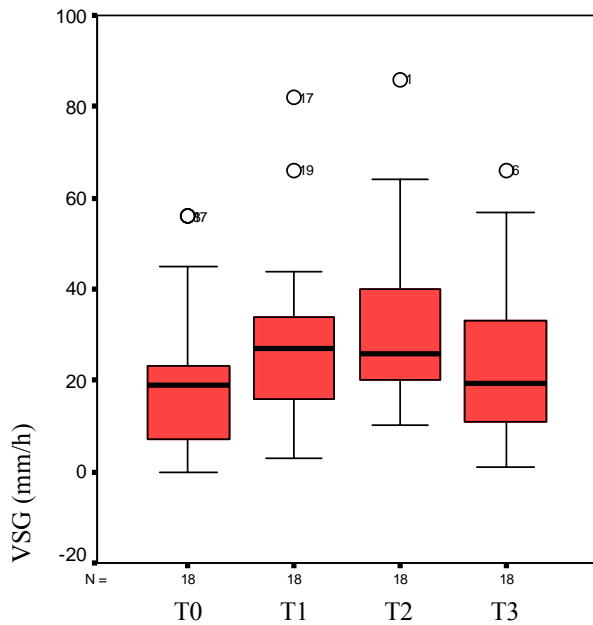
1.3. B- Fibrinógeno.



Gráfica 2: evolución niveles fibrinógeno en el cronograma de las P.T.R. primarias.

Fibrinógeno mg/dl	T0	T1	T2	T3
Media	<b>370,1</b>	<b>440,5</b>	<b>449,3</b>	<b>411,4</b>
Mediana	<b>380,5</b>	<b>408</b>	<b>461</b>	<b>411,5</b>
Varianza	10050,8	10824,5	6609,4	7461,3
DT	100,3	104	81,3	86,4
Mínimo	27	344	307	237
Máximo	524	707	651	587
RIQ	<b>97,8</b>	<b>93,5</b>	<b>111,5</b>	<b>107</b>

1.3. C- Velocidad de sedimentación.



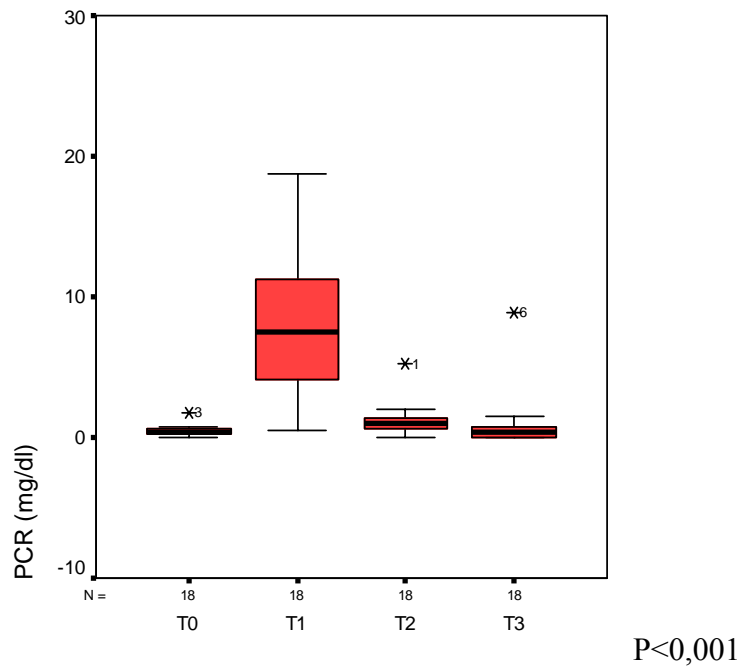
P=0,006

Gráfica 3: evolución niveles VSG en el cronograma de las P.T.R. primarias.

VSG mm/h	T0	T1	T2	T3
Media	<b>22,3</b>	<b>29,7</b>	<b>31,3</b>	<b>24,7</b>
Mediana	<b>19,5</b>	<b>27</b>	<b>26</b>	<b>20</b>
Varianza	259,3	379,2	409,8	278,2
DT	16,1	19,5	20,2	16,7
Mínimo	0	3	9	1
Máximo	56	82	86	66
RIQ	<b>17,8</b>	<b>19,5</b>	<b>23</b>	<b>22,5</b>



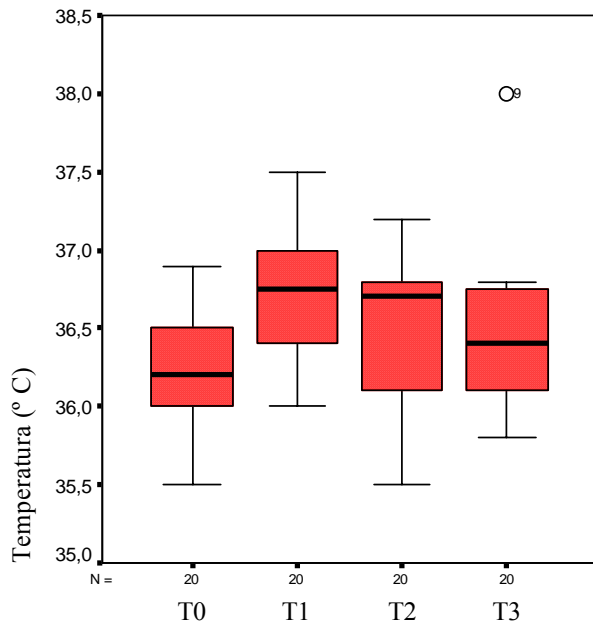
1.3. D- Proteína C reactiva.



Gráfica 4: evolución niveles PCR en el cronograma de las P.T.R. primarias.

PCR mg/dl	T0	T1	T2	T3
Media	<b>0,4</b>	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>0,8</b>
Mediana	<b>0,4</b>	<b>7,7</b>	<b>0,9</b>	<b>0,4</b>
Varianza	0,2	20,2	1,3	3,8
DT	0,4	4,5	1,3	1,9
Mínimo	0	0,5	0	0
Máximo	1,8	18,8	5,2	8,9
RIQ	<b>0,5</b>	<b>7,1</b>	<b>1,1</b>	<b>0,7</b>

1.3. E- Temperatura.

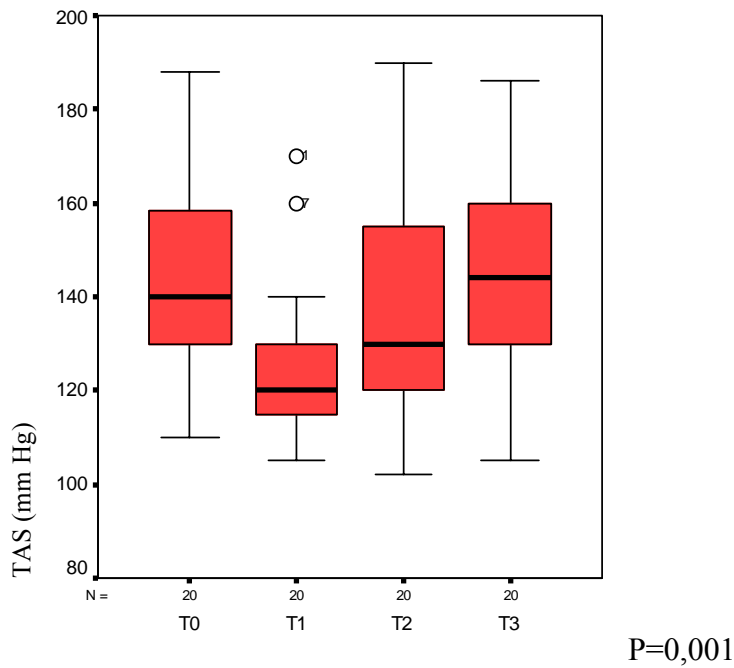


P=0,002

Gráfica 5: evolución valores temperatura en el cronograma de las P.T.R. primarias.

Temperatura °C	T0	T1	T2	T3
Media	<b>36,2</b>	<b>36,7</b>	<b>36,5</b>	<b>36,5</b>
Mediana	<b>36,2</b>	<b>36,8</b>	<b>36,7</b>	<b>36,4</b>
Varianza	0,1	0,2	0,2	0,2
DT	0,3	0,4	0,5	0,5
Mínimo	35,5	36	35,5	35,8
Máximo	36,9	37,5	37,2	38
RIQ	<b>0,5</b>	<b>0,6</b>	<b>0,8</b>	<b>0,7</b>

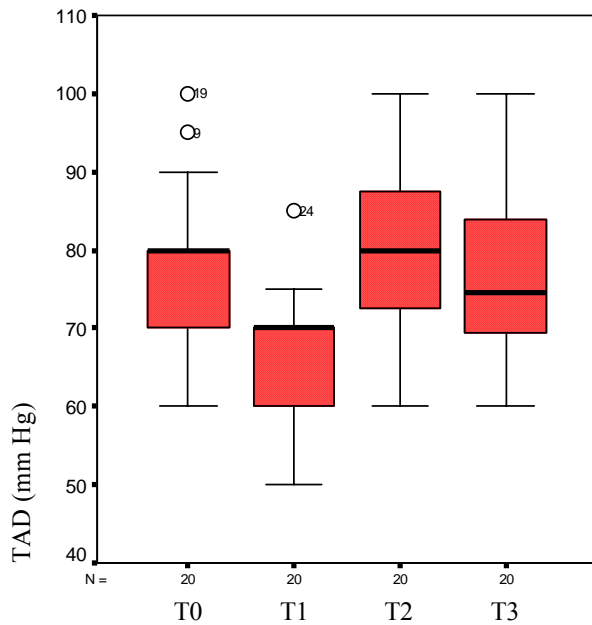
**1.3. F- Tensión arterial sistólica.**



Gráfica 6: evolución valores T.A.S en el cronograma de las P.T.R. primarias.

T.A.S. mmHg	T0	T1	T2	T3
Media	<b>144</b>	<b>125</b>	<b>139</b>	<b>145</b>
Mediana	<b>140</b>	<b>120</b>	<b>130</b>	<b>144</b>
Varianza	404	268,4	555,3	547
DT	20	16,4	23,6	23,4
Mínimo	110	105	102	105
Máximo	188	170	190	186
RIQ	<b>29,3</b>	<b>17,5</b>	<b>35</b>	<b>30</b>

1.3. G- Tensión arterial diastólica.

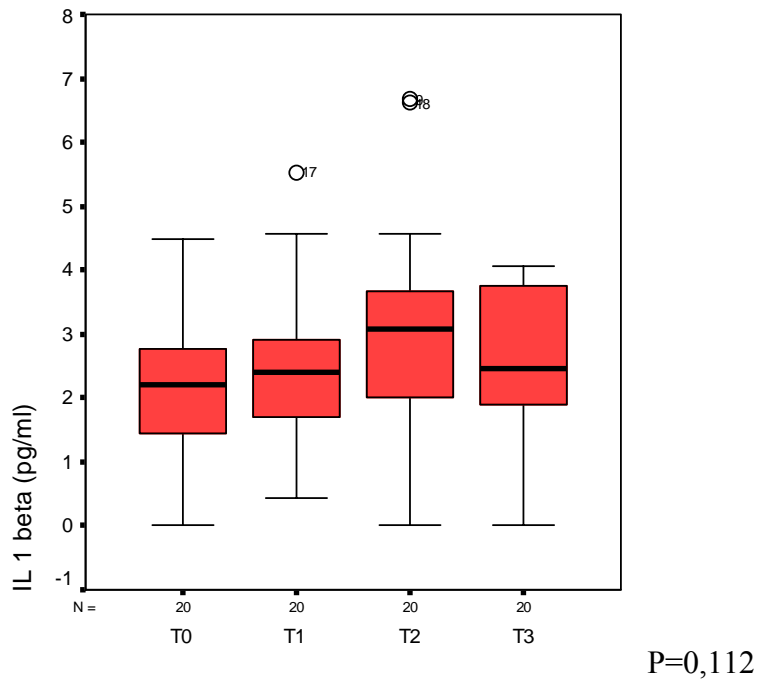


P<0,001

Gráfica 7: evolución valores T.A.D. en el cronograma de las P.T.R. primarias.

T.A.D. mmHg	T0	T1	T2	T3
Media	78	67	80	77
Mediana	80	70	80	75
Varianza	98	63,9	160,3	152,5
DT	9,9	8	12,7	12,3
Mínimo	60	50	60	60
Máximo	100	85	100	100
RIQ	10	10	17,5	15,8

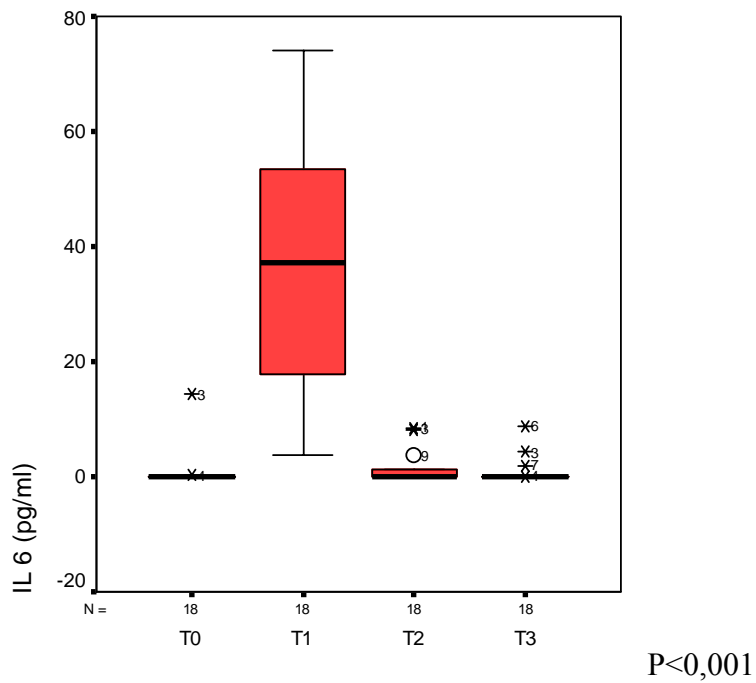
1.3. H- Interleucina 1β.



Gráfica 8: evolución niveles IL 1β en el cronograma de las P.T.R. primarias.

IL 1β pg/ml	T0	T1	T2	T3
Media	<b>2,12</b>	<b>2,50</b>	<b>3,03</b>	<b>2,41</b>
Mediana	<b>2,22</b>	<b>2,39</b>	<b>3,09</b>	<b>2,47</b>
Varianza	1,51	1,31	2,65	1,69
DT	1,23	1,15	1,63	1,30
Mínimo	0	0,44	0	0
Máximo	4,48	5,53	6,67	4,05
RIQ	<b>1,43</b>	<b>1,27</b>	<b>1,88</b>	<b>1,93</b>

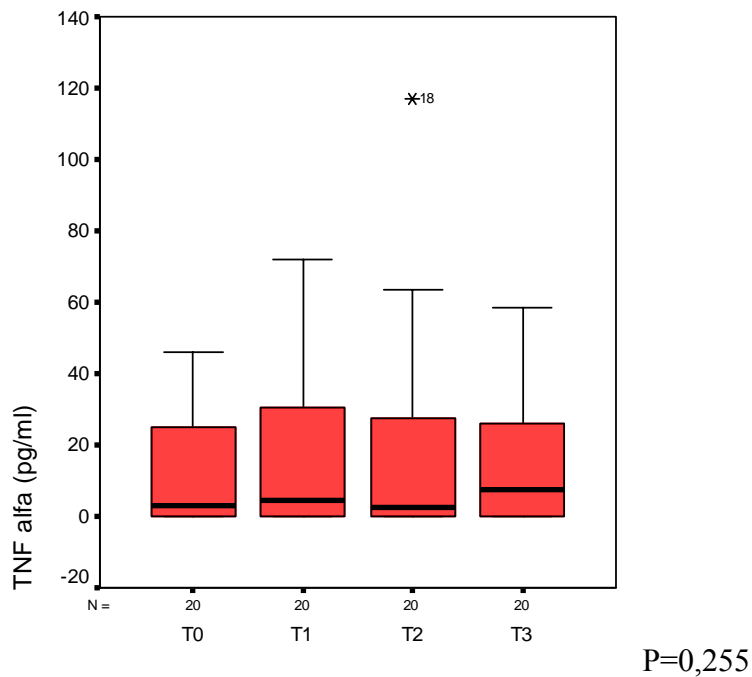
1.3. I- Interleucina 6.



Gráfica 9: evolución niveles IL 6 en el cronograma de las P.T.R. primarias.

IL 6 pg/ml	T0	T1	T2	T3
Media	<b>0,73</b>	<b>38,74</b>	<b>1,28</b>	<b>0,80</b>
Mediana	<b>0</b>	<b>38,10</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
Varianza	10,21	468,16	6,67	4,89
DT	3,19	21,64	2,58	2,21
Mínimo	0	3,67	0	0
Máximo	14,30	74	8,52	8,84
RIQ	<b>0</b>	<b>36,60</b>	<b>1,27</b>	<b>0</b>

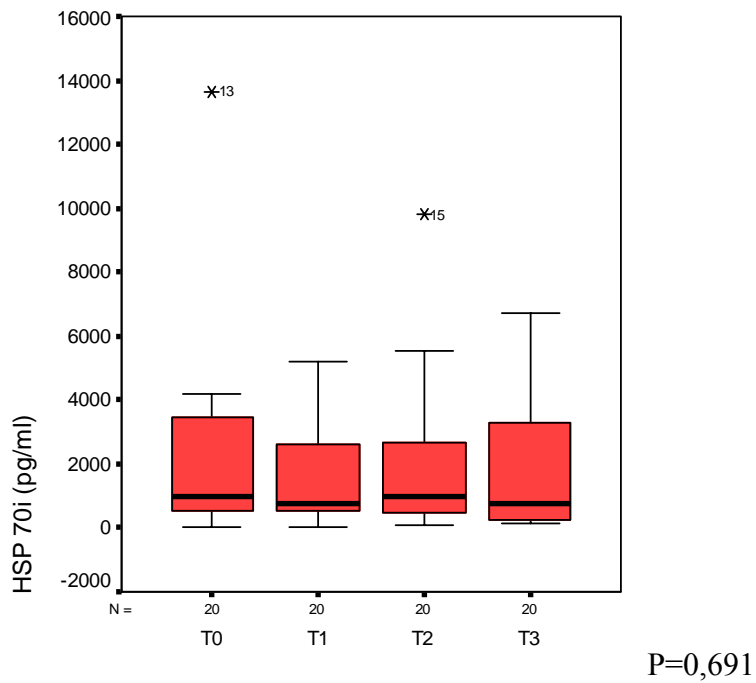
1.3. J- *TNF-α*.



Gráfica 10: evolución niveles TNFα en el cronograma de las P.T.R. primarias.

TNF α pg/ml	T0	T1	T2	T3
Media	<b>12,16</b>	<b>17,69</b>	<b>17,89</b>	<b>12,75</b>
Mediana	<b>3,06</b>	<b>4,63</b>	<b>2,33</b>	<b>7,58</b>
Varianza	230,29	553,05	878,09	262,03
DT	15,18	23,52	29,63	16,19
Mínimo	0	0	0	0
Máximo	45,90	71,90	117	58,50
RIQ	<b>25,50</b>	<b>32,43</b>	<b>30,15</b>	<b>26,25</b>

1.3. K- HSP70i.

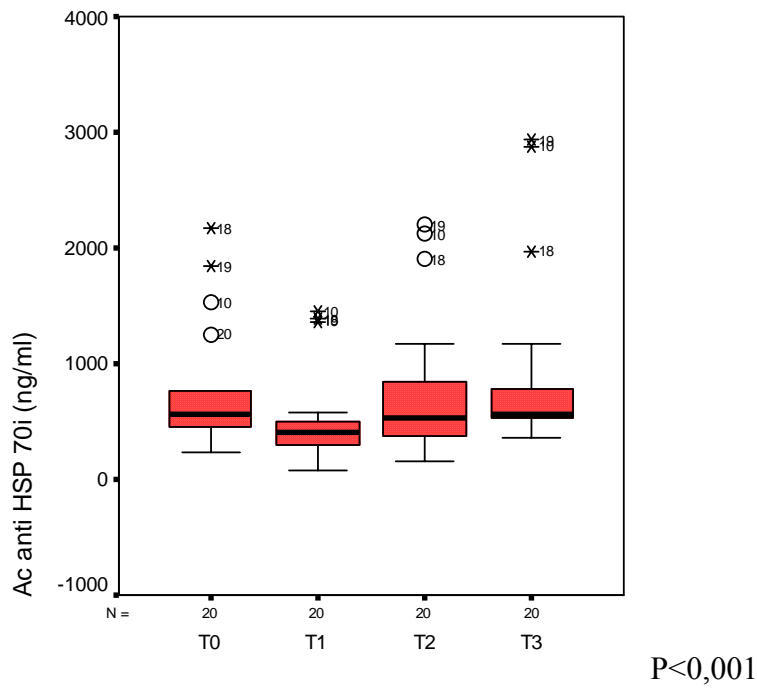


Gráfica 11: evolución niveles HSP 70i en el cronograma de las P.T.R. primarias.

HSP70i pg/ml	T0	T1	T2	T3
Media	<b>2255</b>	<b>1591</b>	<b>1905</b>	<b>1943</b>
Mediana	<b>986</b>	<b>746</b>	<b>992</b>	<b>766</b>
Varianza	9224061	2788886	5402423	4856545
DT	3037	1670	2324	2204
Mínimo	0	3	89	148
Máximo	13651	5206	9804	6706
RIQ	<b>3030</b>	<b>2199</b>	<b>2295</b>	<b>3096</b>



1.3. L- Ac anti HSP70i.



Gráfica 12: evolución niveles Ac anti HSP70 en el cronograma de las P.T.R. primarias.

Ac anti HSP70i ng/ml	T0	T1	T2	T3
Media	<b>757,4</b>	<b>516,4</b>	<b>779,3</b>	<b>888,6</b>
Mediana	<b>567,5</b>	<b>413</b>	<b>528</b>	<b>557,5</b>
Varianza	275910	159453	370578	603581
DT	525,3	399,3	608,8	776,9
Mínimo	236	85	154	362
Máximo	2170	1450	2200	2930
RIQ	<b>320,5</b>	<b>209,5</b>	<b>498,3</b>	<b>318,8</b>

En cuanto a la evolución de los reactantes de fase aguda en el grupo de pacientes con prótesis de rodilla primaria, los leucocitos, la IL 6 y la PCR presentan un pico máximo a las 24 horas de la intervención, observándose niveles preoperatorios en la extracción obtenida al mes (gráficas 1, 9 y 4); El fibrinógeno y la VSG muestran un ascenso hasta la extracción tomada al mes de la cirugía, y continúan con niveles superiores a los basales incluso después de tres meses (gráficas 2 y 3). La temperatura corporal suele ser menor en la primera determinación (media 36'2) y mayor en la segunda (media 36'7), debido al enfriamiento que suelen sufrir los pacientes en las unidades de preparación para la anestesia y la reacción exotérmica en respuesta al trauma quirúrgico observado (gráfica 5). Favorecido por la pérdida sanguínea sufrida en la cirugía, se observa una disminución de las tensiones arteriales sistólicas y diastólicas medias el día después de la intervención (gráficas 6 y 7). Los anticuerpos anti HSP70i muestran un descenso a las 24 de la intervención para luego mostrar niveles progresivamente superiores a los niveles preoperatorios al mes y a los tres meses de la artroplastia.

**2.- ARTROPLASTIAS TOTALES INFECTADAS DE RODILLA.**

**2.1-CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA MUESTRA.**

**2.1. A-*Características demográficas.***

8 pacientes son mujeres y 2 varones, con edades comprendidas entre 65 y 80 años.

Variables	Pacientes con P.T.R. infectada N=10
Sexo ( ♀ )	80%(8)
Edad años (media+DT) [mediana (RIQ)]	71 $\pm$ 4,4 [70 (5,3)]

Tabla 13: características demográficas del grupo de pacientes con P.T.R. infectada.

**2.1. B-*Antecedentes médicos.***

En la tabla 14 se muestran las enfermedades asociadas de estos pacientes antes de ser intervenidos.

Evidentemente todos tenían como antecedente el haber sido sometidos a un estrés anestésico-quirúrgico previo. Se constató una importante prevalencia de diabetes en este grupo. Se observaron 2 casos de trastornos distímicos secundarios probablemente al curso tórpido de la infección protésica.

Variables	Pacientes con P.T.R. infectada N=10
DMID	10%(1)
DMNID	30%(3)
HTA	50%(5)
Enfermedad coronaria	0%(0)
Depresión	20%(2)
Artritis reumatoide	0%(0)
Artrosis (localización distinta de rodillas)	0%(0)
Úlcus	0%(0)
Hernia de hiato	0%(0)
Alergias	40%(4)
Intervenciones quirúrgicas previas	100%(10)

Tabla 14: antecedentes médicos del grupo de pacientes con P.T.R. infectada.

### **2.1. C-Tratamiento farmacológico asociado.**

En la tabla 15 se muestran los fármacos utilizados por estos pacientes antes de ser intervenidos. Pese a presentar factores de riesgo para el desarrollo de una gastropatía inducida por fármacos, se observó un escaso uso de gastroprotectores.

Variables	Pacientes con P.T.R. infectada N=10
Anticoagulante oral	0%(0)
Antiagregante plaquetarios	0%(0)
Omeprazol	10%(1)
Analgésicos sin efecto antiinflamatorio	80%(8)
AINEs	30%(3)
Parches de opioides	0%(0)

Tabla 15: tratamiento farmacológico del grupo de pacientes con P.T.R. infectada.

### **2.1. D-Agentes infecciosos causantes.**

Siguiendo el protocolo de toma de muestras intraoperatorias para anatomía patológica y microbiología, tras un periodo de 2 semanas sin antibióticos que pudieran enmascarar los resultados, se confirmó la infección de las prótesis de los pacientes del grupo II. La tabla 16 muestra los diferentes agentes causales, observándose infección por un único microorganismo en 4 casos. En 7 pacientes el cultivo fue positivo para el mismo microorganismo y en la misma proporción tanto en líquido articular como en el cultivo de la biopsia, y en tres casos sólo en el cultivo de biopsia.

	GII -1	GII -2	GII -3	GII -4	GII -5	GII -6	GII -7	GII -8	GII -9	GII -10
<i>Staphylococcus aureus</i>		Sí		Sí	Sí	Sí			Sí	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sí		Sí					Sí		
<i>Eubacterium limos</i>				Sí						
<i>Enterobacter faecalis</i>				Sí						Sí
<i>Propionibacterium acnes</i>					Sí					
<i>Aspergillus terreus</i>						Sí				
<i>Streptococcus pyogenes A</i>										Sí
<i>Bacillus SP</i>										Sí
<i>Enterobacter Cloacae</i>							Sí			

Tabla 16: microorganismos cultivados en los 10 pacientes infectados.

## **2.2-DETALLES QUIRÚRGICOS.**

El grupo sanguíneo más común de estos pacientes fue el O positivo. Originariamente la enfermedad que motivo la indicación de una artroplastia primaria fue el diagnóstico de gonartrosis en todos los sujetos estudiados.

Ocho casos presentaban infección de un modelo no postero-estabilizado, y en dos ocasiones se trataba de una artroplastia implantada tras extraer, en el mismo acto quirúrgico, una placa de síntesis de una osteotomía tibial valguizante. Ningún paciente presentaba historia de artroplastia de revisión previa ni portaba algún implante en otra articulación. El 90 % podían ser clasificados como riesgo anestésico A.S.A. I-II.

Variables	Pacientes con P.T.R. infectada N=10
Grupo A+	14,3%(1)
Grupo A-	0%(0)
Grupo B+	14,3%(1)
Grupo O+	71,4%(5)
A.S.A. I	40%(4)
A.S.A. II	50%(5)
A.S.A. III	10%(1)
Insall Burstein II®	20%(2)
Profix®	80%(8)
E.M.O. grapa	20%(2)

Tabla 17: detalles quirúrgicos del grupo de pacientes con P.T.R. infectada.

### **2.3-VALORES DE LAS VARIABLES EN EL MOMENTO DEL DIAGNÓSTICO.**

Los valores analíticos basales en el momento del diagnóstico de la complicación infecciosa de las artroplastias totales de rodilla los podemos resumir en la tabla 18.

Variables	Pacientes con P.T.R. infectada N=10 (media±DT) [mediana (RIQ)]
Leucocitos /mm <sup>3</sup>	8400±3562 [7200 (3225)]
Fibrinógeno mg/dl	552±172 [522 (211)]
VSG mm/h	54±41,5 [37,5 (76)]
PCR mg/dl	3,8±5,2 [1,7 (5,7)]
Temperatura °C	36,7±0,5 [36,8 (0,7)]
T.A.S. mmHg	150±20 [150 (35)]
T.A.D. mmHg	79±11 [80 (20)]
IL 1β pg/ml	2,45±2,64 [2,29 (4,37)]
IL 6 pg/ml	3,25±7,53 [0 (3,28)]
TNF α pg/ml	27,32±11,39 [29,95 (11,20)]
HSP 70i pg/ml	2016±1852 [1361 (3904)]
Ac anti HSP 70i ng/ml	780±351 [686 (511)]

Tabla 18: mediciones de las variables del grupo de pacientes con P.T.R. infectada.



### **3.-COMPARACIÓN AMBOS GRUPOS.**

#### **3.1-CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA MUESTRA.**

En las tablas 19, 20 y 21 se presentan los resultados de las características demográficas, antecedentes médicos asociados y tratamiento previo a la intervención en el grupo de pacientes a los que se les implanta una prótesis total de rodilla primaria (n=20) y pacientes con prótesis de rodilla infectada (n=10), así como su significación estadística.

##### **3.1. A-*Características demográficas.***

Variables	Pacientes con P.T.R. primaria N=20	Pacientes con P.T.R. infectada N=10	Significación estadística (p)
Sexo ( ♀ )	75%(15)	80%(8)	1 (*)
Edad años (media+DT) [mediana (RIQ)]	74± 5,1 [74 (2,5)]	71 ± 4,4 [70 (5,3)]	0,482 (**)

Prueba de Fisher (\*)

Prueba U de Mann-Whitney (\*\*)

Tabla 19: comparación de las características demográficas de ambos grupos.

##### **3.1. B-*Antecedentes médicos.***

Cabe destacar un mayor porcentaje de diabetes no insulín dependiente en los pacientes con prótesis de rodilla infectada frente a los no infectados, siendo llamativamente mayor la prevalencia de HTA en los pacientes no infectados.

Variables	Pacientes con P.T.R. primaria N=20	Pacientes con P.T.R. infectada N=10	Significación estadística (p)*
Artrosis (localización distinta de rodillas)	25%(5)	0%(0)	0,140
Úlcus	5,9%(2)	0%(0)	1
Hernia de hiato	5%(1)	0%(0)	1
Alergias	15%(3)	40%(4)	0,181
Intervenciones quirúrgicas previas	80%(16)	100%(10)	0,272
DMID	10%(2)	10%(1)	1
DMNID	15%(3)	30%(3)	0,372
HTA	75%(15)	50%(5)	0,231
Enfermedad coronaria	15%(3)	0%(0)	0,532
Depresión	10%(2)	20%(2)	0,584
Artritis reumatoide	8,8%(3)	0%(0)	1

\*Prueba de Fisher

Tabla 20: comparación de los antecedentes médicos de ambos grupos.

### 3.1. C-Tratamiento farmacológico asociado.

No encontramos diferencia estadísticamente significativa en cuanto a los tratamientos a los que estaban sometidos los pacientes de ambos grupos.

Variables	Pacientes con P.T.R. primaria N=20	Pacientes con P.T.R. infectada N=10	Significación estadística (p)*
Anticoagulante oral	5%(1)	0%(0)	1
Antiagregante plaquetarios	15%(3)	0%(0)	0,532
Omeprazol	20%(4)	10%(1)	0,640
Analgésicos sin efecto antiinflamatorio	70%(14)	80%(8)	0,682
AINEs	25%(5)	30%(3)	1
Parches de opioides	10%(2)	0%(0)	0,540

\*Prueba de Fisher

Tabla 21: comparación de los tratamientos farmacológicos de ambos grupos.

### **3.2-DETALLES QUIRÚRGICOS.**

En ambos grupos se observa una tendencia al uso de implantes no postero-estabilizados, y el factor de complicación infecciosa no es considerado como un riesgo anestésico añadido a la hora de ser valorados los pacientes en la consulta prequirúrgica realizada por el servicio de anestesiología.

A diferencia del grupo de artroplastias no complicadas, en el grupo de las infectadas 2 pacientes precisaron de la extracción del material de osteosíntesis de osteotomías tibiales fallidas en el mismo acto de la implantación de la prótesis, lo que supuso un aumento del tiempo de cirugía y una mayor agresión que teóricamente favorece el desarrollo de complicaciones infecciosas.

Variables	Pacientes con P.T.R. primaria N=20	Pacientes con P.T.R. infectada N=10	Significación estadística (p)*
Grupo A+	52,6%(10)	14,3%(1)	0,178
Grupo A-	5,3%(1)	0%(0)	1
Grupo B+	15,8%(3)	14,3%(1)	1
Grupo O+	26,3%(5)	71,4%(5)	0,069
A.S.A. I	20%(4)	40%(4)	0,384
A.S.A. II	60%(12)	50%(5)	0,705
A.S.A. III	20%(4)	10%(1)	0,640
Insall Burstein II®	30%(6)	20%(2)	0,682
Profix®	70%(14)	80%(8)	0,682
E.M.O. grapa	0%(0)	20%(2)	0,103

\* Prueba de Fisher

Tabla 22: comparación de detalles quirúrgicos de ambos grupos.

### **3.3-RESPUESTA AL ESTRÉS ANESTÉSICO-QUIRÚRGICO.**

En la tabla 23 se muestran los datos referentes a los reactantes de fase aguda de ambos grupos y tensión arterial y temperatura, resultando, estadísticamente significativos, más altos en el grupo de pacientes con prótesis de rodilla infectada, el fibrinógeno, la VSG, la PCR, la IL 6, el TNF $\alpha$  y la temperatura, siendo esta última una diferencia con nula relevancia clínica.

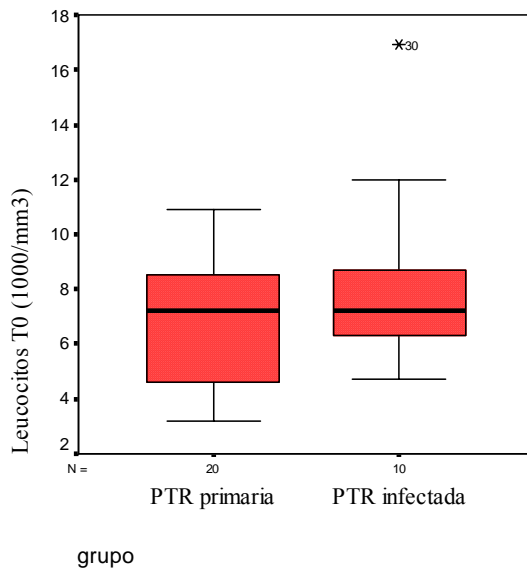
RESULTADOS

Variables	Pacientes con P.T.R. primaria N=20 (media+DT) [mediana (RIQ)]	Pacientes con P.T.R. infectada N=10 (media+DT) [mediana (RIQ)]	Significación estadística (p)*
Leucocitos /mm <sup>3</sup>	6855±2295 [7200 (4050)]	8400±3562 [7200 (3225)]	0,373
Fibrinógeno mg/dl	370,1±100,3 [380,5 (97,8)]	552±172 [522 (211)]	0,001
VSG mm/h	22,3±16,1 [19,5 (17,8 )]	54±41,5 [37,5 (76)]	0,039
PCR mg/dl	0,4±0,4 [0,4 (0,5)]	3,8±5,2 [1,7 (5,7)]	0,035
Temperatura °C	36,2±0,3 [36,2 (0,5)]	36,7±0,5 [36,8 (0,7)]	0,008
T.A.S. mmHg	144±20 [140 (29,3)]	150±20 [150 (35)]	0,588
T.A.D. mmHg	78±9,9 [80 (10)]	79±11 [80 (20)]	0,650
IL 1β pg/ml	2,12±1,23 [2,22 (1,43)]	2,45±2,64 [2,29 (4,37)]	0,983
IL 6 pg/ml	0,73±3,19 [0 (0)]	3,25±7,53 [0 (3,28)]	0,082
TNF α pg/ml	12,16±15,18 [3,06 (25,50)]	27,32±11,39 [29,95 (11,20)]	0,008
HSP 70i pg/ml	2255±3037 [986 (3030)]	2016±1852 [1361 (3904)]	0,948
Ac anti HSP 70i ng/ml	757,4±525,3 [567,5 (320,5)]	780±351 [686 (511)]	0,373

\* Prueba U de Mann-Whitney

Tabla 23: comparación de las mediciones de las variables de ambos grupos.

**3.3. A- Recuento Leucocitario.**

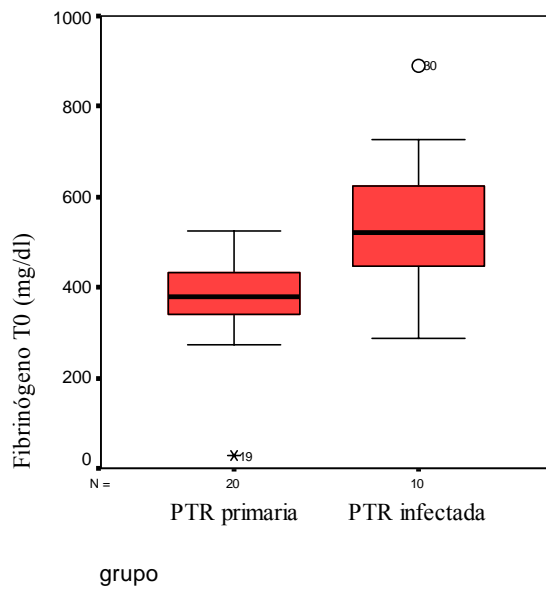


Prueba U de Mann-Whitney.  $P = 0,373$ .

Gráfica 13: comparación nivel basal del recuento leucocitario en ambos grupos.

Leucocitos/mm <sup>3</sup>	P.T.R. primaria T0	P.T.R. infectada
Media	<b>6855</b>	<b>8400</b>
Mediana	<b>7200</b>	<b>7200</b>
Varianza	5269	1269
DT	2295	3562
Mínimo	3200	4700
Máximo	1090	1690
RIQ	<b>4050</b>	<b>3225</b>

**3.3. B- Fibrinógeno.**

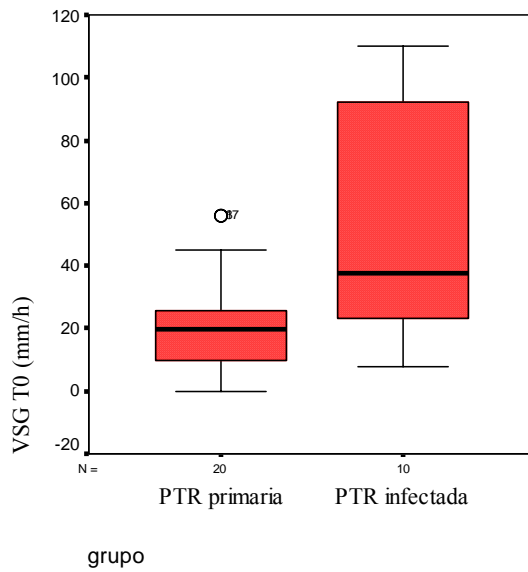


Prueba U de Mann-Whitney.  $P = 0,001$ .

Gráfica 14: comparación nivel basal de fibrinógeno en ambos grupos.

Fibrinógeno mg/dl	P.T.R. primaria T0	P.T.R. infectada
Media	<b>370,1</b>	<b>552</b>
Mediana	<b>380,5</b>	<b>522</b>
Varianza	10050,8	29593
DT	100,3	172
Mínimo	27	286
Máximo	524	891
RIQ	<b>97,8</b>	<b>211</b>

**3.3. C- Velocidad de sedimentación.**



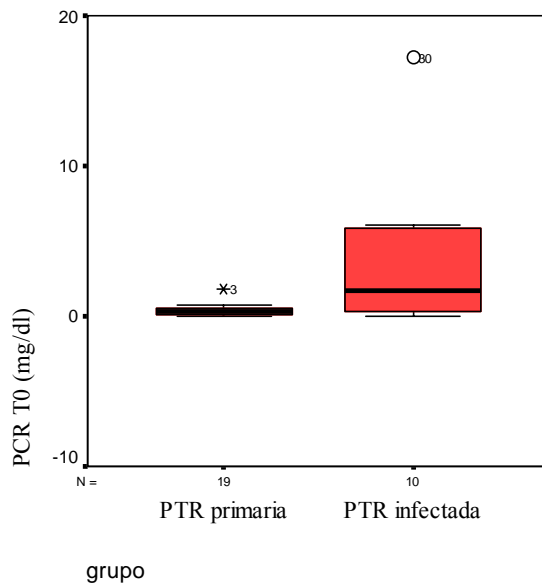
Prueba U de Mann-Whitney.  $P = 0,039$ .

Gráfica 15: comparación nivel basal de la velocidad de sedimentación globular en ambos grupos.

VSG mm/h	P.T.R. primaria T0	P.T.R. infectada
Media	<b>22,3</b>	<b>54</b>
Mediana	<b>19,5</b>	<b>37,5</b>
Varianza	259,3	1725,3
DT	16,1	41,5
Mínimo	0	8
Máximo	56	110
RIQ	<b>17,8</b>	<b>76</b>



**3.3. D- Proteína C reactiva.**

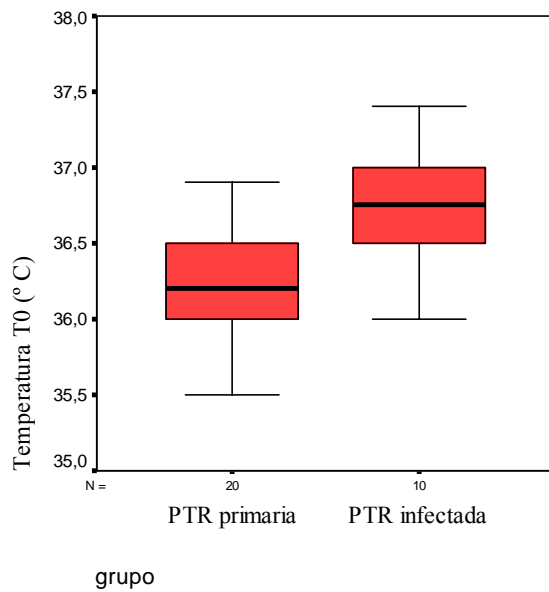


Prueba U de Mann-Whitney.  $P = 0,035$ .

Gráfica 16: comparación nivel basal de la proteína C reactiva en ambos grupos.

PCR mg/dl	P.T.R. primaria T0	P.T.R. infectada
Media	<b>0,4</b>	<b>3,8</b>
Mediana	<b>0,4</b>	<b>1,7</b>
Varianza	0,2	27,3
DT	0,4	5,2
Mínimo	0	0
Máximo	1,8	17,2
RIQ	<b>0,5</b>	<b>5,7</b>

**3.3. E- Temperatura.**

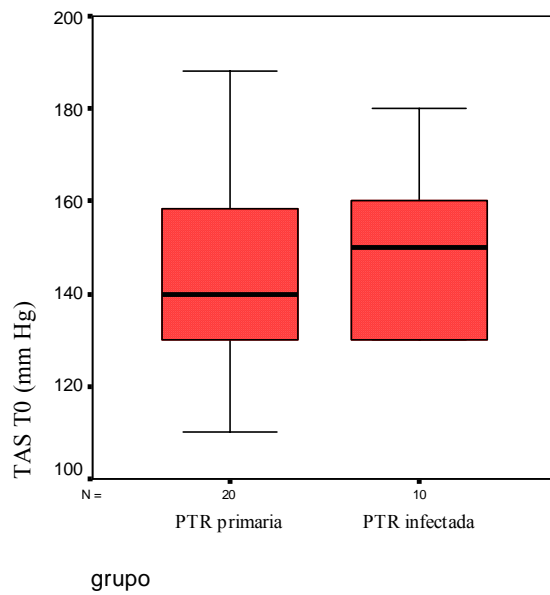


*Prueba U de Mann-Whitney. P = 0,008.*

Gráfica 17: comparación nivel basal de la temperatura corporal en ambos grupos.

Temperatura °C	P.T.R. primaria T0	P.T.R. infectada
Media	<b>36,2</b>	<b>36,7</b>
Mediana	<b>36,2</b>	<b>36,8</b>
Varianza	0,1	0,2
DT	0,3	0,5
Mínimo	35,5	36
Máximo	36,9	37,4
RIQ	<b>0,5</b>	<b>0,7</b>

**3.3. F- Tensión arterial sistólica.**

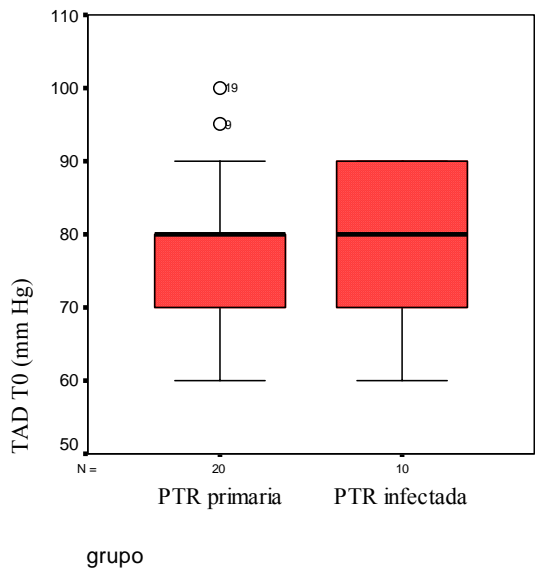


Prueba U de Mann-Whitney.  $P = 0,588$ .

Gráfica 18: comparación nivel basal de la tensión arterial sistólica en ambos grupos.

T.A.S. mmHg	P.T.R. primaria T0	P.T.R. infectada
Media	<b>144</b>	<b>150</b>
Mediana	<b>140</b>	<b>150</b>
Varianza	404	400
DT	20	20
Mínimo	110	130
Máximo	188	180
RIQ	<b>29,3</b>	<b>35</b>

**3.3. G- Tensión arterial diastólica.**

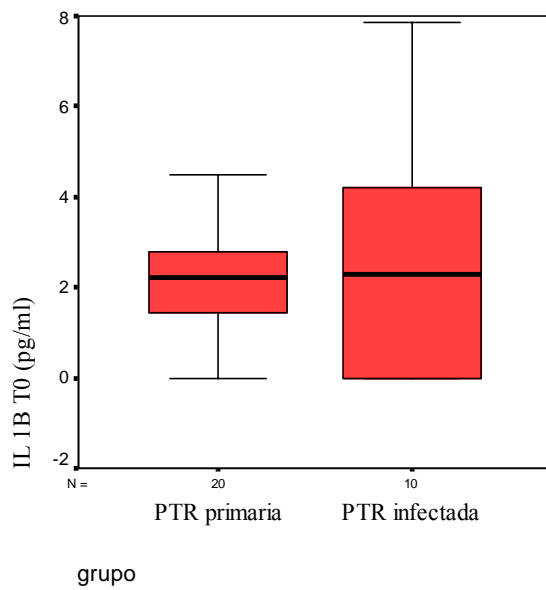


Prueba U de Mann-Whitney.  $P = 0,650$ .

Gráfica 19: comparación nivel basal de la tensión arterial diastólica en ambos grupos.

T.A.D. mmHg	P.T.R. primaria T0	P.T.R. infectada
Media	<b>78</b>	<b>79</b>
Mediana	<b>80</b>	<b>80</b>
Varianza	98	121
DT	9,9	11
Mínimo	60	60
Máximo	100	90
RIQ	<b>10</b>	<b>20</b>

**3.3. H- Interleucina 1 $\beta$ .**

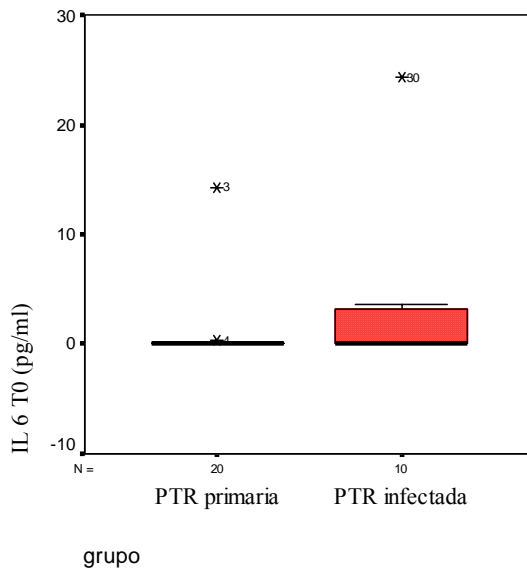


*Prueba U de Mann-Whitney. P = 0,983.*

Gráfica 20: comparación nivel basal de la interleucina 1 $\beta$  en ambos grupos.

IL 1 $\beta$ pg/ml	P.T.R. primaria T0	P.T.R. infectada
Media	<b>2,12</b>	<b>2,45</b>
Mediana	<b>2,22</b>	<b>2,29</b>
Varianza	1,51	6,99
DT	1,23	2,64
Mínimo	0	0
Máximo	4,48	7,87
RIQ	<b>1,43</b>	<b>4,37</b>

**3.3. I- Interleucina 6.**

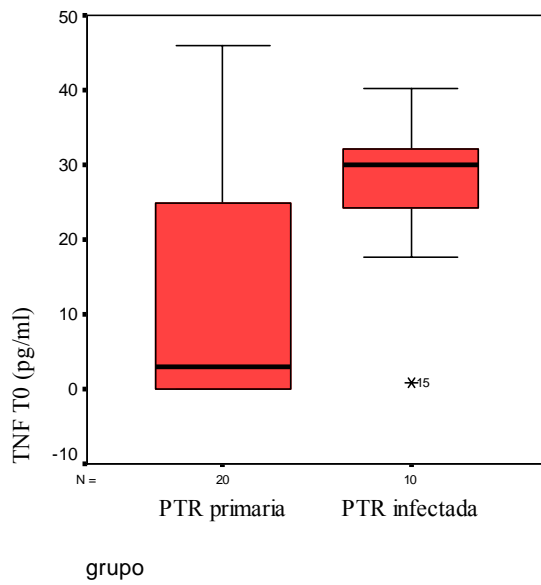


Prueba U de Mann-Whitney.  $P = 0,082$ .

Gráfica 21: comparación nivel basal de la interleucina 6 en ambos grupos.

IL 6 pg/ml	P.T.R. primaria T0	P.T.R. infectada
Media	<b>0,73</b>	<b>3,25</b>
Mediana	<b>0</b>	<b>0</b>
Varianza	10,21	56,66
DT	3,19	7,53
Mínimo	0	0
Máximo	14,30	24,30
RIQ	<b>0</b>	<b>3,28</b>

3.3. J- *TNF- $\alpha$*

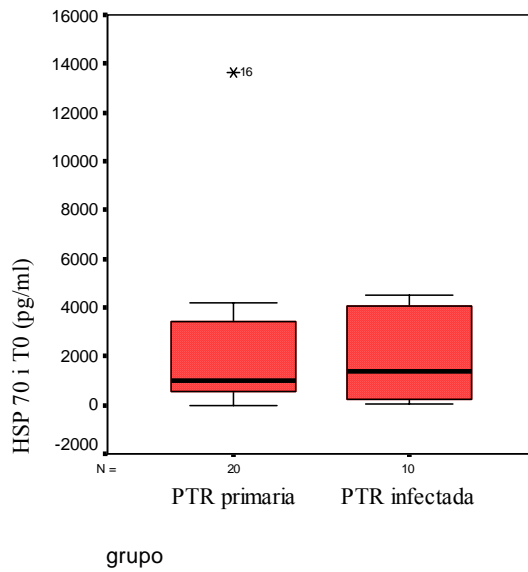


Prueba U de Mann-Whitney.  $P = 0,008$ .

Gráfica 22: comparación nivel basal del factor de necrosis tumoral  $\alpha$  en ambos grupos.

TNF $\alpha$ PG/ML	P.T.R. primaria T0	P.T.R. infectada
Media	<b>12,16</b>	<b>27,32</b>
Mediana	<b>3,06</b>	<b>29,95</b>
Varianza	230,29	129,71
DT	15,18	11,39
Mínimo	0	0,90
Máximo	45,90	40,20
RIQ	<b>25,50</b>	<b>11,20</b>

3.3. K- HSP70i.



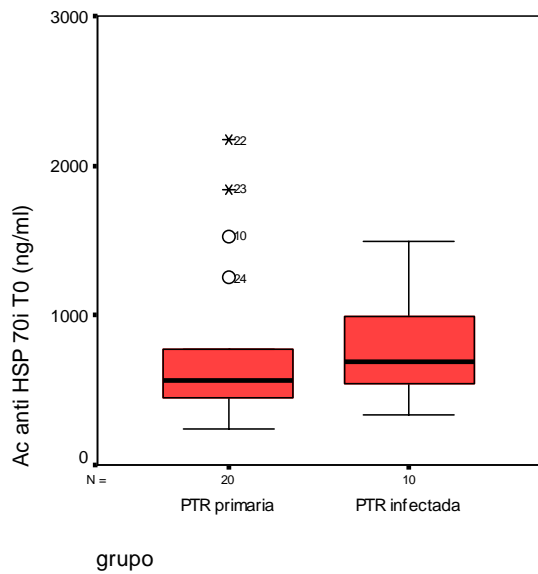
Pruebat U de Mann-Whitney.  $P = 0,948$ .

Gráfica 23: comparación nivel basal de la HSP70i en ambos grupos.

HSP70i pg/ml	P.T.R. primaria T0	P.T.R. infectada
Media	<b>2255</b>	<b>2016</b>
Mediana	<b>986</b>	<b>1361</b>
Varianza	9224061	3429920
DT	3037	1852
Mínimo	0	66
Máximo	13651	4536
RIQ	<b>3030</b>	<b>3904</b>



3.3. L- Ac anti HSP70i.



Prueba U de Mann-Whitney.  $P = 0,373$ .

Gráfica 24: comparación nivel basal de los anticuerpos anti HSP70 en ambos grupos.

Ac anti HSP70i ng/ml	P.T.R. primaria T0	P.T.R. infectada
Media	757,4	780
Mediana	567,5	686
Varianza	275910	123477
DT	525,3	351
Mínimo	236	334
Máximo	2170	1490
RIQ	320,5	511

---

## **DISCUSIÓN**

---

---

## **V.- DISCUSIÓN.**

---

Antes de comenzar esta discusión nos gustaría recordar que la teleología del presente estudio es examinar la biología de las HSPs y otros biomarcadores en pacientes, a los cuales se les implanta una prótesis total de rodilla primaria, y en pacientes portadores de una prótesis total de rodilla primaria que presentan una complicación infecciosa crónica tardía.

Para contrastar nuestros resultados seguiremos el siguiente orden:

- 1.- El porqué de este estudio.
- 2.- Patrón normal de respuesta ante una agresión anestésico-quirúrgica.
- 3.- Covariables que pueden modificar la respuesta.
- 4.- Tiempos de normalización de los reactantes de fase aguda.
- 5.- Limitaciones del estudio.

### **1.- EL PORQUÉ DE ESTE ESTUDIO.**

El diagnóstico de la infección protésica constituye un desafío del quehacer diario de todos los cirujanos ortopédicos, ya que ninguna de las pruebas utilizadas en el diagnóstico habitual tiene una sensibilidad y una especificidad del 100% (62). La combinación de varias de ellas dentro de un algoritmo diagnóstico ha mejorado el rendimiento de las mismas, pero no en tal medida como para erradicar los errores diagnósticos que originan un gran gasto socio-sanitario, especialmente los falsos negativos.

En el momento de iniciar nuestro estudio no existía ninguna publicación sobre las proteínas de choque térmico en la especialidad de la Cirugía Ortopédica y eran

escasas las investigaciones de la respuesta de estas proteínas ante agresiones quirúrgicas.

### **2.- PATRÓN NORMAL DE RESPUESTA ANTE UNA AGRESIÓN**

#### **ANESTÉSICO-QUIRÚRGICA.**

La activación de células endoteliales, la interacción de plaquetas activadas con leucocitos y la activación leucocitaria son puntos clave en la hemostasia y en la respuesta inflamatoria tisular ante las agresiones inducidas por las intervenciones quirúrgicas y los traumatismos accidentales. Este proceso inflamatorio-hemostático es normalmente una respuesta localizada en el lugar de la lesión. Para incrementar esta respuesta local, se liberan citoquinas con la finalidad de dar una respuesta sistémica regulada. A veces esta respuesta se desarrolla sin control y se produce un síndrome sistémico de respuesta inflamatoria (23,137).

La activación de la coagulación se ha visto correlacionada positivamente con la extensión de la agresión quirúrgica, considerando la duración de la intervención y la pérdida sanguínea, y con el incremento de la activación plaquetaria. Por ello técnicas quirúrgicas que respetan más los tejidos como son las técnicas endoscópicas, comparadas con las técnicas convencionales, muestran unos cambios perioperatorios menores de los reactantes de fase aguda y una evolución postoperatoria más favorable. Se han descrito niveles significativamente menores de mediadores inflamatorios circulantes y mejor evolución clínica a corto tiempo en los pacientes intervenidos mediante técnicas endovasculares que en los que se realizaba un procedimiento abierto, probablemente por las menores incisiones cutáneas, por el menor daño tisular y por la menor duración de los procedimientos (137).

Un traumatismo o una quemadura grave y la cirugía mayor inducen una variable de supresión de la respuesta inmune, aumentando la susceptibilidad a la infección. La inmunosupresión que aparece tras la cirugía parece ser el resultado de dos mecanismos, que son una sistémica, excesiva e indiscriminada respuesta inflamatoria y un fracaso de la inmunidad mediada por células, por lo que aunque una parte del sistema inmune presenta una abrumadora respuesta a la lesión, otra está paralizada.

La capacidad defensiva de los fagocitos, monocitos y macrófagos, se ve alterada por la cirugía. Se han descrito modificaciones en sus capacidades de motilidad, quimiotactismo, fagocitosis y producción de lisozima: se incrementan inmediatamente después de la cirugía y se sigue de una depresión funcional de duración variable. Es conocido el aumento relativo de monocitos circulantes tras el trauma quirúrgico, que se acompaña, sin embargo, de una disminución general de la capacidad fagocítica de todo el sistema (133).

Un marcador de actividad inflamatoria unánimemente aceptado es la proteína C reactiva (49,142). Se ha observado elevada en traumatismos mayores, en infecciones y en cirugías regladas no complicadas, con un pico máximo entre las 24 y las 48 horas. En la segunda determinación de nuestro cronograma, a las 24 horas de la intervención, observamos valores superiores, apreciándose una normalización al mes de la cirugía. Está reflejado en la literatura un aumento de la PCR en pacientes quemados hasta el sexto día de evolución, permaneciendo significativamente elevados incluso tres semanas en los casos en los que se afectaba más del 30% de la superficie corporal, mientras que si era menor del 30% se observaba un descenso progresivo de las concentraciones. La IL6 en estos enfermos se consideró el mejor predictor para la evolución de la sepsis, atribuyéndose mortalidades del 75% cuando los niveles plasmáticos eran superiores a 500 pg/ml, y observando concentraciones

significativamente mayores en pacientes con quemaduras mayores del 30% de su superficie corporal, indicando una mayor respuesta inflamatoria (26).

Durante los últimos años, un gran número de investigadores clínicos han estudiado los efectos del trauma sobre los mediadores celulares, especialmente sobre las citoquinas de actividad proinflamatoria como son el TNF $\alpha$ , la IL1, la IL6 y la IL8 (10,42,55). Así se constata en relación con el trauma un importante aumento de la síntesis y secreción de todos estos mediadores inflamatorios. Se han estudiado los valores de TNF $\alpha$  y la IL6 tras cirugía electiva, encontrando pocos cambios en el TNF $\alpha$ , pero sí una elevación de la proteína de fase aguda PCR tras el pico más elevado de la IL6. Esta correlación ha sido confirmada en estudios posteriores, al igual que por el nuestro. El aumento de la IL6 tenía una pobre relación con el recuento leucocitario, la intensidad de la hemorragia o duración de la cirugía (41). Sin embargo algún autor sí encontró relación entre los valores elevados de la IL6 y la duración de la cirugía (45). Otros trabajos describen una elevación de la IL6 y la IL8 dentro de las 12 horas que siguen al trauma (134).

La IL1, la IL6 y quizás el TNF $\alpha$  contribuyen, por tanto, a la respuesta hipermetabólica en la fase aguda que aparece tras el trauma, de forma incluso que la IL6 podría ser un interesante predictor de morbilidad. Sin embargo se debe señalar que, aunque la mayoría de los autores catalogan a la IL6 como una IL que fomenta el catabolismo, algunos investigadores han atribuido una función antiinflamatoria a la IL6 al atenuar ésta al TNF $\alpha$  y además reducir la actividad de la IL1 (85). Sin embargo en nuestro estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas, entre los pacientes bajo tratamiento con AINEs respecto a los que no recibían dichos fármacos, en los niveles de HSP70i.

La agresión ocasionada por un procedimiento quirúrgico y anestésico fomenta la liberación de especies reactivas de oxígeno y citoquinas capaces de inducir la síntesis de HSPs (34). Este estrés desencadena una respuesta cuyo fin es reestablecer la homeostasis, mediante cambios endocrinos, metabólicos e inmunológicos. Todas las células reaccionan frente a cualquier estrés activando unos genes que codifican un grupo de proteínas dirigidas a restablecer la homeostasis celular, denominadas proteínas de estrés o más genéricamente proteínas de choque térmico (HSPs). El nivel de expresión de estos genes es directamente proporcional a la intensidad del estímulo inductor. El grado de inducción de la síntesis de HSPs depende, por tanto, de la intensidad y de la duración de la exposición al estrés. El incremento es transitorio, pero el tiempo que permanece depende de cada estirpe celular (70).

El cáncer, la isquemia-reperfusión, los procesos febriles o la infección inducen un incremento en la expresión génica y síntesis de HSPs. Estas proteínas también están involucradas en los mecanismos de protección frente al estrés oxidativo causado por muy diversas causas, como la radiación ultravioleta y las citoquinas proinflamatorias, entre las que cabe señalar al TNF $\alpha$  y a las IL1 y 6 (44,64,138).

Dentro de todas las HSPs, la familia de las HSPs70 es la más común y la más abundante de las caperonas moleculares y está codificada por unos genes muy conservados evolutivamente. Al poseer un papel citoprotector, especialmente la HSP70i, se les puede atribuir un papel de biomarcador diagnóstico de daño celular, pudiendo poseer una potencial utilidad terapéutica (37,124). Según Pockley las proteínas de choque térmico se expresan de una manera constitutiva, correspondiendo al 5-10% del total de las proteínas en ausencia de enfermedad, pero su concentración intracelular puede elevarse de 2 a 3 veces por agresiones que alteren la correcta agregación de las proteínas (108).

Al ser moléculas inmunodominantes, las HSPs actúan como potentes autoantígenos, y al ser liberadas por los tejidos lesionados, son reconocidas por las células presentadoras de antígenos, iniciándose una respuesta inmunitaria innata (139). Una parte importante de la respuesta inmune frente a microorganismos patógenos es dirigida a través de péptidos derivados de estas proteínas. De la similar filogenia de estas moléculas entre los microbios y los hospedadores, y su potencial reacción cruzada, se deriva su característica de poderosos autoantígenos que representan una delgada frontera entre la autoinmunidad y la infección (50). Se ha postulado también la importancia de estas proteínas en el control de la inmunidad innata. Debido a su capacidad antigénica, al ser liberadas al torrente circulatorio desde las células necróticas, son reconocidas por las células presentadoras de antígenos. Estas proteínas facilitan la transferencia de antígenos proteicos al complejo mayor de histocompatibilidad tipo I, induciendo una respuesta inmune celular con la activación de los linfocitos T. Esta activación de la inmunidad innata proporcionaría un mecanismo protector que potencialmente podría atenuar la severidad de la lesión orgánica observada tras un trauma al disminuir la respuesta inflamatoria (70).

La expresión de las HSPs también se manifiesta durante un proceso infeccioso en el que interaccionan el organismo hospedador y un agente patógeno. El estrés celular y la expresión de las HSPs se observa tanto en el microorganismo invasor como en el organismo invadido. El papel de las HSPs microbianas se ha estudiado intensamente en términos de inmunidad antiinfecciosa y se ha encontrado que es un factor de virulencia de algunos gérmenes. Se han demostrado títulos elevados de anticuerpos frente a las HSP bacterianas en personas infectadas o vacunadas, por lo cual pueden utilizarse como marcadores efectivos de la vacunación (68).



Los mediadores de la inflamación, principalmente los derivados del ácido araquidónico, especies reactivas de oxígeno y citoquinas, son liberados por el tejido lesionado. Las citoquinas pueden alterar la expresión de los genes *hsps* directa o indirectamente, a través de su actividad pirogénica. Esto concierne especialmente a las citoquinas IL1 e IL2, interferones y TNF $\alpha$  (48). Se han observado numerosas relaciones entre las citoquinas y las proteínas de estrés (108). Es evidente la significación de la función de las proteínas de estrés en el desarrollo de la respuesta inmune. Se ha atribuido una función específica a las HSPs70 en la determinación de la composición correcta de las moléculas de inmunoglobulinas (103). Se ha demostrado que los miembros de la familia HSPs70 intervienen en el procesamiento de los antígenos y su transporte a la membrana de las células accesorias (13). Otras funciones de las HSPs70 son el transporte de antígenos al interior de los lisosomas para su posterior procesamiento, y el transporte de péptidos antigénicos desde el citosol al interior del retículo endoplásmico. Las HSPs70 también pueden amplificar la formación de péptidos antigénicos estimulando la formación de complejos proteosoma, e incrementando la presentación en la membrana de los complejos principales de histocompatibilidad I con el antígeno endógeno (121,126).

El efecto protector de la fiebre se ha discutido ampliamente desde Hipócrates. Dado que la HSR se induce por la hipertermia, se han demostrado incrementos en la expresión de HSPs en condiciones sépticas e inflamatorias (16). Los efectos citoprotectores de las HSPs pueden explicar algunos de los efectos beneficiosos de la fiebre. Diversos estudios han detectado que la inducción de la respuesta al estrés por un tratamiento térmico previo, protege del shock séptico siendo paralela la duración de la protección al nivel de la expresión de las HSPs, debiéndose el incremento de la supervivencia a un mayor equilibrio hemodinámico y a una menor lesión pulmonar y

hepática (127,130). Welch describió una peor evolución de pacientes diagnosticados de golpe de calor con niveles elevados de Ac anti HSP70i y disminuidos de HSP70i, dado que no se beneficiarían de su efecto citoprotector al no estimular las respuestas inmunes innatas ni adaptativas (141).

La respuesta al estrés inhibe la expresión de la óxido nítrico sintetasa inducible y los incrementos en los niveles séricos de TNF $\alpha$ , IL2 e IL6. Esto lleva a la conclusión que la respuesta al choque térmico puede modular la respuesta proinflamatoria y de esta manera proteger al individuo. Se ha demostrado que la disminución del TNF $\alpha$  sérico no es resultado de una menor síntesis este, sino más bien de la inhibición de su liberación por los macrófagos por una probable unión directa de la HSP70i al TNF $\alpha$  (43). Por tanto un mecanismo por el cual la HSP70i puede actuar como proteína protectora en casos de sepsis, es la inhibición de la respuesta proinflamatoria permitiendo así el mantenimiento del equilibrio hemodinámico. Se ha postulado otro mecanismo protector mediado por la HSP70i, cuya sobreexpresión atenuaría la apoptosis de células sometidas a agentes nocivos (16).

En este estudio se ha observado una discreta reducción en los valores de HSP70i en el tiempo postoperatorio inmediato y unos niveles discretamente superiores en los pacientes que presentaban una complicación infecciosa. La agresión quirúrgica-anestésica, intensa y prolongada, puede desencadenar una rápida respuesta que induzca la síntesis inmediata de grandes cantidades de HSP70i. El gen hsp70 carece de intrones, lo que favorece su involucración en la respuesta inmediata. Al alcanzar una concentración crítica de HSP70i que sea desproporcionada a la cantidad de proteínas desnaturalizadas existentes, la caperona se une a los factores de transcripción de choque térmico (HSF) y se bloquea la expresión del gen disminuyendo la síntesis de HSP70i. A esto se puede añadir un consumo excesivo de HSP70i, que explicaría la disminución

postquirúrgica de los niveles de la proteína, ya que en los leucocitos las HSP participan en la neutralización de las especies reactivas de oxígeno producidas en estas situaciones (54). La respuesta de los anticuerpos anti HSP70i fue paralela a la disminución de las HSP70 séricas, lo que corrobora la posible activación de la inmunidad innata mediada por HSPs. Hasta la fecha el análisis de estas determinaciones no ha sido publicado en el contexto de la cirugía ortopédica, por lo cual no podemos comparar nuestros resultados con otros autores de nuestra especialidad. Sin embargo, sí existen estudios en otras especialidades quirúrgicas en las que se han observado resultados similares (25,50).

Pittet realizó un estudio para valorar si era posible determinar precozmente las HSP70i en el suero de pacientes que habían sufrido un traumatismo severo y analizar el papel de estas proteínas como marcadores de la supervivencia de estos enfermos (107). Determinó el nivel sérico de HSP70i en 70 pacientes ingresados en una unidad de reanimación tras sufrir un traumatismo múltiple, realizando determinaciones al ingreso, a las 12 horas y a las 24 horas. Las HSP70i se detectaron en las 3 determinaciones de todos los pacientes estudiados, observándose una disminución progresiva de los valores medios en las 3 determinaciones. En contraste, no se detectaron niveles de HSP70i en voluntarios sanos y se observaron niveles mínimos en pacientes que habían sufrido traumatismos menores. Los pacientes que presentaban un valores de HSP70i superiores a 15 ng/mL sobrevivieron al traumatismo, mientras que los pacientes que mostraban valores inferiores presentaron una tasa de mortalidad del 29% para unos valores de la escala de lesiones abreviada similares. En contraste no se observaron diferencias en los niveles séricos de la HSP70i entre los supervivientes y los fallecidos a las 12 y 24 horas del ingreso hospitalario. Los pacientes con niveles elevados de HSP70i presentaban simultáneamente valores de la coagulación elevados (tiempo de protrombina y tiempo parcial de tromboplastina) y niveles plasmáticos de

bicarbonato inferiores, que de una manera indirecta indican una severidad mayor de la hemorragia (131). Dado que la primera determinación se realizaba a escasos minutos (20-30 minutos) de sufrir el traumatismo es poco probable que el nivel elevado que presentaban algunos de estos pacientes fuera el resultado de una respuesta inducida.

Hashiguchi determinó el valor medio de las HSP27, 70 y 90 en pacientes politraumatizados, demostrando un aumento en la expresión de estas HSPs durante las dos primeras semanas que siguen al trauma, encontrando un aumento estadísticamente significativo de los niveles medidos en el tercer día respecto al primero, siendo este último superior al encontrado en una población sana (54).

La fuente de las HSPs70 circulantes es actualmente desconocida (132). Tras una respuesta inducida de estrés, células inmunocompetentes como los neutrófilos y los macrófagos expresan HSP70i en sus membranas plasmáticas, por lo que se ha propuesto la posibilidad de que estas proteínas se liberen y circulen libres en suero (56). Recientemente se ha sugerido que las células necróticas, pero no las apoptóticas, pueden liberar estas proteínas intracelulares al espacio extracelular. Esto podría explicar porqué los pacientes politraumatizados presentan niveles séricos mayores que aquellos enfermos con lesiones más localizadas en una zona del cuerpo.

Se necesitan estudios más amplios para determinar los mecanismos por los cuales las HSPs70 circulantes pueden modular la severidad de la respuesta inflamatoria al trauma quirúrgico.

### **3.- COVARIABLES QUE PUEDEN MODIFICAR LA RESPUESTA A LA AGRESIÓN ANESTÉSICO-QUIRÚRGICA .**

1.- La prevalencia de la diabetes mellitus, en general, es de alrededor del 5% (83), pero en nuestra población se sitúa alrededor del 25% y pese a ello no se encuentra que la proporción de infección sea más elevada en las personas afectadas por esta dolencia. Deberíamos aumentar el tamaño muestral para considerar este punto.

2.- Un paciente ASA III se ha correlacionado con un riesgo 9 veces mayor de sufrir una complicación infecciosa, en una artroplastia primaria de rodilla, por algunos autores (62). Esta selección justificaría en parte la elevada incidencia de infecciones en el hospital donde desarrollamos nuestro estudio.

Los factores de riesgo que más firmemente se han relacionado con la infección de estos pacientes son la existencia de cirugía previa, la infección en otro foco en el momento de la cirugía y la existencia de algún estado de inmunosupresión. Aunque se ha descrito una tasa de infecciones 2 veces mayor en hombres que en mujeres, en nuestra muestra el 80% de las infecciones se presentaron en mujeres.

3.- Pockley describió unos valores medios de HSP60 tres veces mayores en mujeres sanas que en hombres y también unos niveles significativamente mayores de Ac anti HSP60 en mujeres (109). No se han relatado diferencias en las concentraciones séricas de HSP entre mujeres pre y post menopáusicas (115). En nuestra serie todas las pacientes fueron mayores de 65 años, cumpliendo así un criterio de inclusión establecido, por lo que no se pudo estudiar la influencia de los estrógenos sobre las variables medidas. Al comparar, entre los hombres y las mujeres, los valores determinados en nuestro proyecto no observamos una diferencia estadísticamente significativa entre dichos grupos.

4.- Recientes estudios han descrito un descenso progresivo de los niveles séricos de HSP70i con el envejecimiento, observándose in vitro un descenso en la expresión de las HSPs70 en células envejecidas, indicando que el proceso del envejecimiento podría estar relacionado con la reducción de la producción de las HSPs70 tanto en hombres como en mujeres (16,139). No obstante en nuestro estudio no había diferencias en la media de edad de las dos poblaciones estudiadas por lo que este aserto no ha podido ser contrastada.

5.- Las proteínas de choque térmico pueden ser el nexa entre la infección y la autoinmunidad al estar involucradas en la tolerancia de enfermedades inmunes y en la regulación de la inmunidad frente a bacterias. La existencia de HSPs en el torrente circulatorio podría formar parte de un complejo mecanismo de regulación que mantendría la tolerancia gracias a estas moléculas ampliamente conservadas y extensamente expresadas. Las proteínas de choque térmico están implicadas en un amplio grupo de enfermedades autoinmunes incluyendo la artritis, la esclerosis múltiple y la diabetes (107,108,109). Anticuerpos anti HSP60 se encuentran elevados en individuos diagnosticados de vasculitis, arterioesclerosis e hipertensión, encontrándose una asociación entre los títulos de anticuerpos y la severidad de las enfermedades (25,141). La influencia potencial de las proteínas de choque térmico sobre la patogénesis de estas enfermedades autoinmunes se ve apoyada con el aumento de HSPs en las articulaciones de pacientes con artritis reumatoide. También se ha demostrado en pacientes con artritis crónica juvenil la influencia del nivel de HSP circulante sobre la regresión clínica de esta enfermedad (68).

6.- Los antiinflamatorios no esteroideos son fármacos con propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias (60). La mayoría de los efectos de estas drogas están mediados por la inhibición de la enzima prostaglandina sintetasa y por la

alteración de la síntesis de eicosanoides. Las citoquinas liberadas por los macrófagos son los primeros mediadores de la respuesta inflamatoria aguda, y están consideradas como colaboradoras de la progresión de las enfermedades inflamatorias, encontrándose elevadas en los líquidos sinoviales de los pacientes afectos de artritis reumatoide. Los AINEs son capaces de activar el HSF de una forma citoplásmica latente a una forma nuclear capaz de unirse al ADN (60). De esta manera producirían un cambio de la expresión génica de las células que conllevaría una supresión de genes involucrados en la activación de los macrófagos, y un aumento en los genes de las proteínas de estrés. Al actuar los aines activando el HSF1, éste regula a la baja los promotores de los genes de la IL1 $\beta$ , por lo que modularía la respuesta febril y la fase inflamatoria aguda (48). Por un mecanismo similar, disminuye la síntesis de los niveles de la IL6, la IL8, la IL10, el TNF $\alpha$  y las moléculas de adhesión involucradas en la activación de los macrófagos (55). Todas estas citoquinas ejercen un importante papel en la fisiopatología de la artritis reumatoide, por lo que la activación por medios farmacológicos del HSF1 podría utilizarse para modular la evolución de esta patología. La mayoría de los AINEs inducen la expresión de HSP70i, la cual protege a las células del efecto deletéreo causado por el TNF $\alpha$ . Por ello está ampliamente aceptada la teoría de que el efecto antiinflamatorio de los AINEs se debe en parte a los cambios en la expresión génica de los monocitos humanos (60).

7.- Se han inducido, in vivo, respuestas de HSP70 ante lesiones isquémicas cerebrales y lesiones por reperfusión (70). Algunos estudios han encontrado una correlación significativa entre los niveles de HSP70i y la presencia de arterioesclerosis coronaria, descartando relación entre Ac anti HSP70i y los tradicionales factores de riesgo como son la hipertensión, la hipercolesterolemia o el tabaquismo, por lo que se ha sugerido la implicación de dichos anticuerpos en la

patogénesis y progresión de estas enfermedades, que es independiente de la edad de los sujetos (25,149). Chan et al. describieron un aumento en la síntesis de las HSP70i en la aorta de ratas sometidas a un estrés isquémico agudo, atribuyéndole a estas HSPs un papel citoprotector y homeostático frente a estres hemodinámicos (25). Se ha confirmado la cualidad de biomarcador de estrés celular de las HSPs70 considerando el fenómeno de preconditionamiento isquémico como una respuesta adaptativa de las células que han sido sometidas a breves periodos de isquemia, y por las cuales las células desarrollan una mayor resistencia a la necrosis isquémica en episodios posteriores de isquemia prolongada; el preconditionamiento isquémico induce en ciertos modelos la producción de HSP70i, por lo cual cabe sospechar que la HSP70i esté involucradas en el mecanismo de protección cardiaca. Qingbo sin embargo observó niveles de HSP60 significativamente aumentados en pacientes con arterioesclerosis carotídea, por lo que sugirió un papel directo de activación de los macrófagos y de las células endoteliales que fomentaría la progresión de esta lesión (127).

Pese a lo referido, con los datos actuales de nuestro estudio, tras aplicar el test estadístico de la U de Mann-Whitney, no puede inferirse que los pacientes hipertensos, y por tanto con enfermedad cardiovascular, del grupo de pacientes a los que se les ha implantado una prótesis total de rodilla sin complicaciones infecciosas tengan valores de HSP70i ni de Ac anti HSP70i mayores que los normotensos. No ampliamos el tamaño muestral con los pacientes diagnosticados de infección dado que la condición de complicación infecciosa podría sesgar la comparación.

8.- Las bacterias patógenas más frecuentemente aisladas en las infecciones profundas periprotésicas son gram positivas. Los gérmenes que más frecuentemente se implican en estas infecciones son el *Staphylococcus Aureus* y el



Staphylococcus Epidermidis. Ello coincide parcialmente con nuestro estudio dado que además encontramos otros microorganismos involucrados, de una agresividad más lenta, por lo que la semiología es menos florida que en las infecciones agudas precoces y por ello se demoraría el diagnóstico. El dolor es uno de los síntomas clínicos que más frecuentemente aparece en nuestro estudio, y se ha de recordar que es uno de los marcadores más característicos de infección protésica.

Wilson ha referido que los cocos gram positivos Staphylococcus aureus son los causantes del 63% de las infecciones, cifra similar a la que encontró Schoifet en su muestra siendo responsables del 58% (143). Bacilos gram negativos se asocian a heridas con drenajes prolongados. Aumentan su prevalencia en los casos en que ha existido este drenaje prolongado aunque siguen siendo los Staphylococcus los gérmenes más frecuentes. Suelen ser contaminantes secundarios y se presentan como infecciones polimicrobianas. En las infecciones hematógenas agudas el Staphylococcus aureus es el más frecuente (5). En las infecciones agudas precoces en cada 3 de 4 casos el germen es Gram positivo. La infección crónica tardía se corresponde a formas de inicio precoz, no diagnosticadas o tratadas antes de un mes. Responden mal a la antibioterapia aislada por lo que es necesario un recambio protésico. Se suelen confundir con un problema inflamatorio o mecánico debido a que el inóculo bacteriano es pequeño y parcheado, y se asocian a Staphylococcus coagulasa negativos. El Staphylococcus epidermidis tiene una gran capacidad de adherencia al polietileno. Existe una estrecha relación entre la resistencia bacteriana a los antibióticos y la capacidad de las bacterias a producir una adhesión y colonización de la superficie del implante.

Los pacientes que presentan fistulas crónicas activas desarrollan infecciones mixtas en las que se aíslan diversos gérmenes. La aparición de bacterias

resistentes se fomenta con la administración de antibióticos de manera errónea y continuada en el tiempo.

#### **4.- TIEMPOS DE NORMALIZACIÓN DE LOS REACTANTES DE FASE**

##### **AGUDA.**

Tras una agresión se han descrito cambios inmunológicos que entre otros incluyen un estado de inmunodeficiencia celular, síntesis de inmunoglobulinas inducidas por endotoxinas, liberación de material de degradación tisular, hormonas y citoquinas en la circulación sistémica y una respuesta inflamatoria sistémica. Las citoquinas participan en una gran red de señales en las que unas interaccionan con otras con efectos tanto de tipo aditivo, como inhibitorio o incluso sinérgico. El principal estimulador de la producción de la mayoría de las proteínas de fase aguda es la IL6 (133). La presencia de elevadas cantidades de IL6 se relaciona con la inflamación ya que, entre otras funciones, activa la formación de anticuerpos por parte de los linfocitos B. Algunos estudios apuntan hacia el uso de esta interleuquina como marcador eficaz para la detección de infección en pacientes neutropénicos. Esta IL juega un importante papel en la activación de la respuesta inmune tras una agresión, por lo que es interesante determinar su curso evolutivo. Al presentar una vida media corta, en nuestros pacientes sólo hemos observado un importante aumento en la segunda determinación, obteniendo valores similares a los prequirúrgicos al mes de la artroplastia primaria.

La PCR es el prototipo de proteína humana de la fase aguda inflamatoria (119). El principal papel de la PCR es reconocer en el plasma el material potencialmente tóxico autógeno liberado de las células dañadas, destoxificarlo y facilitar su limpieza del medio plasmático. Se han descrito elevaciones séricas 12-24 horas después de iniciarse las infecciones neonatales. Tras una intervención quirúrgica,

a las 24 horas alcanza su valor más alto, llegando a alcanzar 60 veces su valor normal. Los niveles máximos de PCR en una artroplastia total de cadera se han descrito en el segundo y tercer día tras la cirugía, para posteriormente disminuir rápidamente, aunque permanecen elevados más allá del día decimocuarto, por lo que es considerado como el valor biológico que más precozmente se altera en la fase aguda inflamatoria. El pico de la interleuquina 6 observado en nuestro estudio se correlacionó positivamente con el pico de la PCR, mostrando un ascenso de los niveles de ambos parámetros en la determinación realizada a las 24 de la intervención quirúrgica que retornaría a unos valores prequirúrgicos en la medición realizada al mes de la cirugía. La PCR es altamente sensible (96%) pero muy inespecífica (92%) (94,111,119). La PCR especialmente eficaz en la monitorización de la respuesta de los pacientes al tratamiento antibiótico, se considera más sensible que la VSG para el diagnóstico de infección. Ante una infección, disminuye antes que la VSG cuando se resuelve el proceso. Es la prueba de laboratorio más comúnmente empleada, junto a la VSG, para detectar y monitorizar las respuestas de fase aguda, y algunos autores propugnan su uso combinado para aumentar su precisión. En condiciones normales, el límite superior de la concentración de PCR se encuentra entre 5 y 8 mg/dl, aumentando rápidamente ante una reacción inflamatoria aguda. La concentración alcanzada va pareja a la intensidad del proceso inflamatorio. Cuando la agresión cesa, esta proteína vuelve, rápidamente, a sus niveles basales en un plazo de 2 a 3 semanas, por lo que niveles elevados pasado este periodo de tiempo nos deben alertar de una posible complicación infecciosa o tromboembólica (83). Aunque no se ha evidenciado una diferencia estadísticamente significativa, se ha descrito que el aumento observado en la PCR es mayor tras una artroplastia de rodilla que tras una de cadera, aunque el nivel de ambas desciende en el mismo tiempo tras la cirugía (142). Los resultados que hemos ido obteniendo apoyan la postura de observar

la evolución de este parámetro, más que considerar un valor elevado de modo aislado, dado que en alguno de nuestros pacientes se han obtenido valores muy elevados, no presentando no obstante ninguna incidencia en la evolución postquirúrgica. En cirugía programada abdominal Buttenschoen describió un pico máximo de la PCR a las 48 horas tras la cirugía y unos niveles elevados durante al menos de 2 semanas, observando un pico máximo de IL6 a la hora, de un día de duración, y una normalización a las 48 horas de la intervención (50). Boeken ha atribuido a la PCR un papel predictor de las complicaciones infecciosas postquirúrgicas observadas en los pacientes sometidos a by-pass coronario bajo circulación extracorpórea, de tal manera que valores preoperatorios elevados estarían asociados al aumento de la probabilidad de sufrir una infección en el postoperatorio, y desaconsejarían la intervención (41).

El aumento de la VSG denota el nivel de fibrinógeno y en menor grado el de otras proteínas de fase aguda (1). Siempre se debe descartar la presencia de una gammaglobulina patológica, que daría un falso positivo. Podemos observar valores elevados durante el primer año de evolución tras una cirugía de reemplazo articular y en diversas situaciones patológicas como son algunos tumores malignos, infecciones o enfermedades reumáticas. Su elevación en un fenómeno inflamatorio es inespecífica y no tiene ninguna conexión con la etiología del mismo. En cambio, resulta muy útil su valor predictivo negativo (p.e. si es  $<$  de 25 mm/h, no habrá infección), que ha sido confirmado en un 95% de los casos. La sensibilidad media ronda el 83%, con una precisión del 80% (73). La VSG puede permanecer elevada durante meses después de una artroplastia no complicada y durante el periodo postoperatorio inmediato (1). En nuestra serie observamos una mayor velocidad media en la determinación realizada al mes de la intervención quirúrgica, permaneciendo elevada, respecto a los niveles basales, incluso a los tres meses de la artroplastia primaria. Levitsky et al. demostraron

en una serie de 72 revisiones de infecciones de artroplastias que una VSG preoperatorio superior a 30 mm/h tenía tan sólo una sensibilidad del 60% y una especificidad del 65% para detectar la infección (94). Se ha descrito un valor medio superior a 50 mm/h en varias series de prótesis totales de rodilla infectadas, pero existen falsos positivos y negativos. Tras una artroplastia primaria, las cifras de VSG no alcanzan el valor máximo hasta 5 días después de la intervención, pudiendo permanecer elevadas hasta 42 días. La VSG se incrementa también en muchas afecciones no infecciosas en particular el aflojamiento aséptico, y en las artropatías inflamatorias, como la artritis reumatoide, que son frecuentes en los pacientes que requieren una artroplastia total (62).

Si no existe una intervención reciente, un problema oncológico, una artritis o vasculopatía reumatoidea, una infección o un proceso inflamatorio, y encontramos valores de VSG y PCR superiores a 35 mm/h y 10 mg/l respectivamente, debemos sospechar complicación infecciosa de la artroplastia.

Si se excluyen procesos inflamatorios, la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo descritos para el diagnóstico de infección en una artroplastia total de cadera son de 0'82, 0'85, 0'58 y 0'95 respectivamente para la VSG, y 0'96, 0'92, 0'74 y 0'99 respectivamente para los niveles de PCR (93,118). En nuestro estudio todos los pacientes que presentaron una infección tenían elevado la VSG o la PCR, pero no siempre ambas, por ello la combinación de unos niveles normales de VSG y de PCR es fiable para predecir la ausencia de infección, recomendándose realizar un cultivo del líquido articular cuando la VSG o la PCR estén elevadas, o cuando persista una sospecha clínica de complicación infecciosa.

El fibrinógeno es una glucoproteína sintetizada en el hígado que tiene una vida media de 100 horas. Se ha descrito un aumento de sus niveles séricos con la

edad, a razón de 10 mg por cada década. Otros factores que aumentan sus valores son el tabaquismo, la hipertensión, el aumento de colesterol de las lipoproteínas de baja densidad, la diabetes, la menopausia, el estrés, el frío, las infecciones y la obesidad. Se suele recomendar ser muy crítico con las determinaciones obtenidas durante los dos meses que siguen a un infarto de miocardio, una intervención quirúrgica, una infección, un traumatismo importante o un embarazo, debido a que durante ese tiempo y en esas condiciones se pueden encontrar niveles séricos elevados (119). En nuestros pacientes se observó un ascenso de los niveles séricos en la segunda determinación, permaneciendo elevados, respecto a los valores preoperatorios, a los tres meses.

La leucocitosis es una de las alteraciones más típica de las enfermedades infecciosas, sin embargo es un elemento muy variable, de tal manera que puede no encontrarse relación con signos clínicos de infección en un 60% de los casos, originando muchos falsos positivos, y resulta de poca utilidad diagnóstica en ausencia de una infección evidente. En una serie publicada, solamente el 28% de las rodillas infectadas presentaron un recuento leucocitario superior a  $11.000/\text{mm}^3$  (62). Rara vez se encuentra leucocitosis en pacientes en los que se sospecha la infección, observándola en casos en los que la infección sistémica suele ser manifiesta. En nuestro estudio observamos una elevación del recuento leucocitario en la segunda determinación y no encontramos diferencia entre las prótesis primarias y las infectadas.

Aunque se sabe que algunas citoquinas como la IL1, la IL6 y el TNF $\alpha$  son mediadores inflamatorios precoces, son muchos los interrogantes que surgen en torno a su papel, dinámica de secreción y células responsables de su liberación en las intervenciones quirúrgicas y en las complicaciones infecciosas de las artroplastias. Al estudiar la variación de estas tres variables de acuerdo con el cronograma establecido solamente encontramos variaciones estadísticamente significativas en los niveles de la

IL 6, presentando escasas modificaciones el TNF $\alpha$  y la IL 1  $\beta$ . Mancilla et al. relacionaron los niveles de las IL1, IL6 y el TNF $\alpha$  con la predicción de evolución clínica de neonatos con sepsis grave, encontrando evoluciones vitales de peor pronóstico ante valores elevados de estas tres citoquinas (85). También se constató que la determinación en las primeras horas de vida de la IL6 contribuye de una manera más rápida al diagnóstico de infección neonatal que otros marcadores clásicos, debido a su elevación precoz, presentando la determinación precoz de la PCR y el TNF $\alpha$  una alta especificidad pero una escasa sensibilidad en las infecciones bacterianas.

La IL1 $\beta$  es la forma más abundante de las IL. Es fundamentalmente sintetizada por los macrófagos y en menor cuantía por los neutrófilos, linfocitos y otras series celulares. Una amplia gama de efectos biológicos son mediados por esta IL, estando implicada en múltiples procesos relacionados con la respuesta inflamatoria, destacando principalmente su papel en el incremento de la síntesis de proteínas hepáticas, de óxido nítrico, exacerbación de la actividad fagocítica por células monocíticas de bacterias y una actividad pirógena (7).

El TNF $\alpha$  se encuentra a modo de reservorio en la superficie de las células que lo producen, especialmente macrófagos y linfocitos T CD4+, siendo movilizado en diversas situaciones como son el contacto con lipopolisacáridos bacterianos o agresiones quirúrgicas.

La IL6 es un importante mediador en la respuesta sistémica precoz del huésped a la infección, alcanzando picos máximos de concentración rápidamente tras el inicio e la bacteriemia, varias horas antes de que comience la regulación de la PCR mediada por la propia IL6. Sin embargo, su vida media es corta y desciende de manera progresiva tras alcanzar su pico mientras que otros mediadores permanecen elevados. Por ello la limitación que supone la elevación transitoria de dicho parámetro se puede

superar asociando oros marcadores como la PCR que se mantienen elevados de forma más prolongada. La utilidad de la PCR se encuentra en la realización de determinaciones seriadas, ya que sus concentraciones séricas se incrementan a partir de las 12-24 horas de iniciarse la agresión quirúrgica o infecciosa.

Los reactantes de fase aguda ofrecen una moderada eficacia diagnóstica ante la sospecha de una complicación infecciosa por lo que deben apoyar al diagnóstico basado en los criterios clínicos. En definitiva, no existe ninguna prueba única y concluyente de infección protésica y es la positividad de varias de ellas conjuntamente la que lleva a la sospecha diagnóstica de infección. Estas y todas las demás pruebas no dejarán de ser complementarias al seguimiento de nuestros pacientes basado necesariamente en una correcta anamnesis y en una delicada exploración. Gracias a la existencia actual de métodos de enzimoimmunoanálisis quimioluminiscente relativamente sencillos de aplicar, se ha eliminado uno de los principales inconvenientes para la determinación de estos parámetros en la práctica clínica que era su compleja determinación.

### **5.- LIMITACIONES DEL ESTUDIO.**

Pese a que durante la concepción y desarrollo de este estudio se intentaron evitar errores, especialmente de método, en toda investigación pueden surgir imprevistos o nuevas orientaciones al ir profundizando en el tema y al ir avanzando en esta apasionante empresa.

1.- Uno de los mayores inconvenientes es la baja prevalencia de las infecciones de artroplastias primarias totales de rodilla. Durante el periodo en el que se realizó la captación de los casos la prevalencia observada fue del 3%, siendo similar a la descrita en la literatura en la mayoría de los centros. Por ello el número de pacientes



incluidos en la investigación fue menor de lo que hubiéramos deseado, tras casi dos años de recogida de datos. Ciertamente es que los estudios sobre el tema de las infecciones protésicas no suelen presentar grandes tamaños muestrales, y en el caso de ciertas variables estudiadas no existe investigación previa alguna en el campo de la cirugía ortopédica.

2.- En relación con el punto anterior, hemos estudiado conjuntamente las artroplastias con modelo Profix® y con modelo Insall-Burstein II®, con un número muy reducido de estas últimas por lo que la hipótesis que podríamos postular al comparar un modelo que sea más respetuoso con la reserva ósea y una repercusión biomolecular más atenuada, presenta una inferencia estadística menguada.

3.- Debido a la edad de la población muestral elegida, es lógico encontrar enfermedades asociadas y toma de fármacos que actúen como covariables que pueden alterar el resultado final. Esto se evitaría eliminando dichas covariables, pero entonces se dificultaría aún más la inclusión de los sujetos del estudio con una complicación infecciosa que afortunadamente para la sociedad presenta una baja prevalencia. Probablemente la ampliación del estudio, incrementando el tamaño muestral, dotaría a estos resultados preliminares de mayor potencia estadística.

4.- Al tener que repetir las mediciones al mes y a los tres meses de la cirugía para completar el cronograma preestablecido, varios pacientes rehusaron la realización de las extracciones el día de la cita, a pesar de haber accedido durante el ingreso, previa autorización mediante la firma del consentimiento informado elaborado específicamente para este estudio, por lo que se generaron unas pérdidas de información que no pudieron ser compensadas al final del estudio.

5.- Debido a las limitaciones presupuestarias disponibles para la realización de este estudio, al elevado precio del material necesario para la

cuantificación de las diversas variables estudiadas y a la gran cantidad de muestras obtenidas, nos vimos obligados a reducir el número de pacientes estudiados, no procesando alguna de las muestras perfectamente obtenidas y almacenadas.

Aún queda mucho por aprender de la biología de las proteínas de choque térmico. Se trata de unas potentes moléculas que deben tener un gran papel en la fisiología y en la inmunología dado que se han perpetuado extraordinariamente en la evolución filogénica. El profundizar en el entendimiento de sus mecanismos reguladores podría ayudarnos a utilizarlas para el diagnóstico y el tratamiento futuro de diversas enfermedades.

---

## **CONCLUSIONES**

---

---

## **VI.- CONCLUSIONES.**

---

1.- Al examinar la biología de las HSPs y otros biomarcadores en pacientes, a los cuales se les implanta una prótesis total de rodilla y no presentan ninguna complicación postquirúrgica, hemos encontrado variaciones estadísticamente significativas de los niveles de leucocitos, fibrinógeno, VSG, PCR, IL 6 y Ac anti HSP70i. Por ello, pese a la falta de especificidad diagnóstica, la medida conjunta de los niveles en el suero de los reactantes de fase aguda es útil para detectar la presencia o la intensidad de un proceso inflamatorio.

a) El pico de la interleuquina 6 observado en nuestro estudio se correlacionó positivamente con el pico de la PCR, mostrando un ascenso de los niveles de ambos parámetros en la determinación realizada a las 24 de la intervención quirúrgica que retornaría a unos valores prequirúrgicos en la medición realizada al mes de la cirugía.

b) En nuestra serie observamos una VSG elevada, respecto a los niveles basales, al mes de la intervención, permaneciendo aumentada incluso a los 3 meses de la cirugía.

c) Los valores de los Ac anti HSP70i circulantes disminuyeron de forma significativa a las 24 horas de la intervención quirúrgica, traduciendo la depresión de la inmunidad que se produce como consecuencia del estrés quirúrgico.

d) A las 24 horas de la cirugía se produjo un incremento significativo del recuento leucocitario reactivo a la agresión quirúrgica.

2.- Al estudiar la biología de las HSPs70i y otros reactantes de fase aguda en pacientes diagnosticados de una complicación infecciosa crónica tardía de una

artroplastia total de rodilla, como posibles biomarcadores diagnósticos de infección protésica, se han observado unos niveles discretamente superiores en estos pacientes, sin alcanzar una significación estadística, respecto a sus controles no infectados, por lo que esta variación en la concentración sérica de los niveles de HSPs70 excluye a priori su uso como biomarcador eficaz de la infección en las artroplastias totales de rodilla.

---

## **BIBLIOGRAFÍA**

---

---

## **VII.- BIBLIOGRAFÍA.**

---

- 1.- **Aalto W, Osterman K, Peltola, H, Rasanen J.** Changes in erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein after total hip arthroplasty. Clin Orthop. 1984; 184: 118-120.
  
- 2.- **Ahlbäck S.** Osteoarthritis of the knee. A radiographic investigation. Acta Radiol (Diagn), 1968; (suppl.277):7.
  
- 3.- **Álvaro-Gracia JM, Laffon A.** Las Citoquinas en la patogenia de la artrosis. En: Paulino J, ed. Artrosis. Visión actual. Madrid: Grupo Aula Médica, S.A., 1997: 55-75.
  
- 4.- **Anfinsen CB.** Principles that govern the holding of protein chains. Science. 1973; 181: 223-230.
  
- 5.- **Ayers DC, Denno DA, Johanson NA, Pellegrini VD.** Common complications of total knee arthroplasty. J Bone Joint Surg. 1997; 79-A: 278-311.
  
- 6.- **Barrack RL, Jennigs RW, Wolfe MW, Berton AJ.** The value of preoperative aspiration before total knee revision. Clin Orthop. 1997; 345: 8-16.
  
- 7.- **Basu A, Krady JK, O'Malley M, Stryren SD, Levison SW.** The type interleukin-1 receptor is essential for the efficient activation of microglia and the induction of

multiple proinflammatory mediators in response to brain injury. *J Neurosci.* 2002; 22: 6071-6082.

**8.- Bengtson S, Knutson K, Lideren L.** Treatment of infected knee arthroplasty. *Clin Orthop.* 1989; 245: 173-178.

**9.- Benito P, Monfort J.** Etiopatogenia, clasificación y epidemiología de la artrosis. En: Alonso A, et al, eds. *Manual de Enfermedades Reumáticas de la Sociedad Española de Reumatología.* 3ª edición. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 2000: 463-475.

**10.- Benson M, Wennergren G, Fransson M, Cardell L.** Altered levels of the soluble IL-1, IL-4 and TNF receptors, as well as the IL-1 receptor antagonist, in the intermittent allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Imm* 2004; 134: 227-232.

**11.- Bermington J.** Proteína. En: Alvear M T ed. *Diccionario enciclopédico del laboratorio clínico.* Buenos Aires: Medica Panamericana, 1991: 1137 - 1138.

**12.- Blanco FJ, Fernández Sueiro JL, de Toro Santos Fj, Gado F.** Artrosis. *Medicine (Barc)* 2001; 8: 1781-1789.

**13.- Boshoff T, Lombard F, Biselen R, Bornman JJ, Bachelet M, Polla BS, Bornman L.** Differential basal synthesis of Hsp70/Hsc70 contributes to interindividual variation in Hsp70/Hsc70 inducibility. *Cell. Mol. Life Sci.* 2000; 57: 1317-1325.



- 14.- Brown B, Campbell W, Barton A et al.** Biosíntesis de las hormonas tiroideas. Bioquímica y fisiología básica. En: Clark W, Brater O, Johnson A. eds. Farmacología médica Goth. 13ª edición. Barcelona: Mosby .1992: 573 - 574.
- 15.- Burel C, Mezger V, Pinto N, Rallu M, Trigon S, Morage M.** Mammalian heat shock protein families. Expression and function. *Experientia*. 1992; 48: 629-634.
- 16.- Buzzard KA, Giaccia AJ, Killender M, Anderson RI.** Heat shock protein 72 modulates pathways of stress-induced apoptosis. *J Biol Chem*. 1998; 273: 17147-17153.
- 17.- Byers PD, Couteponi CA, Farkas TA.** A post-mortem study of the hip joint. *Ann Rheum Dis*. 1970; 29: 15-31.
- 18.- Cabo X.** Diagnóstico en el aflojamiento aséptico. Décimosegundo Congreso de la Sociedad Catalana de Cirugía Ortopédica y Traumatológica: 97 -105. Mayo 1999.
- 19.- Callaghan JJ, Insall JN, Greenwald AS, Dernos DA, Komistek AD, Murray DW et al.** Mobile-bearing knee replacement. Concepts and results. *J Bone Joint Surg Am*, 2000; 82: 1020-1041.
- 20.- Carmona L.** Estudio EPISER. Prevalencia e impacto de las enfermedades reumáticas en la población adulta española. Madrid: MSD y Sociedad Española de Reumatología. 2001: 61-75.

- 21.- Cascales M.** Proteínas del estrés y carabinas moleculares. En: Cascales M, ed. Proyecciones clínicas y terapéuticas. Discurso inaugural Instituto de España Real Academia de Farmacia. Madrid: Realigraf, 2002: 101-135.
- 22.- Cascells SW.** Gross pathologic changes in the knee joint of the aged individual. A study of 300 cases. Clin Orthop. 1978; 132: 227-232.
- 23.- Cordero I.** Respuesta metabólica al estrés anestésico quirúrgico. Act med. 2002; 10: 1-6.
- 24.- Coventry MB.** Treatment of infections occurring in total hip surgery. Orthop Clin North Am. 1975; 6: 991-1003.
- 25.- Chan YC, Shukla N, Abdus-Samee, Berwanger CS, Stansby G.** Anti-heat-shock protein 70kDa antibodies in vascular patients. Eur J Vasc Endovasc Surg. 1999; 18: 381-385.
- 26.- Dahler-Eriksen BS, Lauritzen T.** Near-patient test for C-reactive protein in general practice. Clin Chem. 1999; 45: 478-485.
- 27.- Delafuente JC.** Clucosamine in the treatment of osteoarthritis. Rheum Dis Clin North Am. 2000; 26: 1-11.
- 28.- Della Valle CJ, Scher DM, Kim YH, et al.** The role of intraoperative gram stain in revision total joint arthroplasty. J Arthroplasty 1999; 14: 500-504.

- 29.- De Maio A.** Heat shock proteins: Facts, thoughts, and dreams. Shock 1999; 11: 1-12.
- 30.- DeMeester SL, Buchman TG, Cobb JP.** The heat shock paradox: does NF-kB determine cell fate?. FASEB J. 2001; 15: 270-274.
- 31.- Díez-Fernández C, Cascales M.** Proteínas del estrés y hepatotoxicidad. En: M. Cascales, ed. Bioquímica y Fisiopatología del Estrés Oxidativo Real Academia de Farmacia. Madrid: Fundación Casares Gil, 1997: 157-181.
- 32.- Doherty M.** Risk factors for progresión of knee osteoarthritis. Lancet 2001; 358: 775-776.
- 33.- Eddelston A L, Williams R.** Radioinmunoanálisis sensibles para detectar anticuerpos contra una lipoproteína de la membrana hepática (LSP): Hallazgos en hepatitis crónica y otras hepatopatías. En: Rose N, Friedmnan H eds. El laboratorio en inmunología clínica. Buenos Aires: Médica Panamericana. 1984: 474 - 483.
- 34.- Ellis RJ, van der Vies SM.** Molecular chaperones. Annu Rev Biochem. 1991; 60: 321-347.
- 35.- Escrivá F, Jiménez A.** Proteínas plasmáticas. En: Herrera E ed. Biología molecular y bioquímica fisiológica. Madrid: Mc Graw Hill Interamericana.1991: 1285 - 1295.

- 36.- Evello J.** Infección herida quirúrgica, infección estafilocócica. In: Perea ed. Enfermedades infecciosas, patogénesis y diagnóstico. Barcelona: Salvat 1983: 564 - 572.
- 37.- Feder JH, Rossi JM, Solomon J, Solomon N, Lundquist S.** The consequences of expressing hsp70 in Drosophila cells at normal temperatures. Genes Dev. 1992; 6: 1402-1413.
- 38.- Fitzgerald RH Jr.** Medical and surgical management of the patient with an infected total knee arthroplasty, in Lotke PA, Garino JP (eds): Revision Total Knee Arthroplasty. Philadelphia, PA, Lippincott-Rave, 1999; 371-386.
- 39.- Fitzgerald RH Jr, Notan DR, Ilstrup DM, Van Scoy RE, Washington JA II, Coventry MB.** Deep wound sepsis following total hip arthroplasty. J Bone Joint Surg Am. 1977; 59: 847-855.
- 40.- Floman Y, Eyre DR, Glimcher MJ.** Induction of osteoarthritis in the rabbit knee joint. Biochemical studies on the articular cartilage. Clin Orthop 1980; 147: 278-288.
- 41.- Fransen EJ.; Maessen JG.; Elenbaas TW.; Van Aarnhem EE.; Van Dieijen-Visser MP.** Enhanced preoperative C-reactive protein plasma levels as a risk factor for postoperative infections after cardiac surgery. Ann Thorac Surg. 1999; 67: 134 - 138.

- 42.- Franz A, Bauer K, Schalk A, Garland S et al.** Measurement of interleukin 8 in combination with C-reactive protein reduced unnecessary antibiotic therapy in newborn infants: a multicenter, randomized, controlled trial. *Pediatrics*, 2004; 114: 1-8.
- 43.- Freedman RB, Hirst TR, Tuit MF.** Protein disulphide isomerase: building bridges in protein folding. *Trends Biochem Sci.* 1994; 19: 331-336.
- 44.- Freitas I, Fernández-Somoza M, Essenefed-Sekler E, Cardier JE.** Serum levels of the apoptosis associated molecules, tumor necrosis factor-alpha, tumor necrosis factor type-I receptor and Fas/FasL, in sepsis. *Chest.* 2004; 125: 2238-2246.
- 45.- Giannoudis PV; Smith MR; Evans RT ; Bellamy MC; Guillou PJ.** Serum CPR and IL – 6 after trauma. Not predictive of septic complications in 31 patients. *Acta Orthop Scand.* 1998. 69: 184 -188.
- 46.- Gilmet TJ, Normandin C, De Seze S.** La gonarthrose. En: De Seze S. *Breviaire de Rhumatologie*, 4.<sup>a</sup> ed. París : Expansion Scientifique, 1975 ; 259-261.
- 47.- Goldring MB.** The role of the chondrocyte in osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1916-1926.
- 48.- Goldring M, Fukuo K, Kirkhead J, Dudek E, Sandell L.** Transcriptional suppression by IL-1 and interferon-gamma of type II collagen gene expression in human chondrocytes. *J Cell Biochem* 1994; 54: 85-99.

- 49.- Gosling P, Dickson GR.** Serum C reactive protein in patients with serious trauma. *Injury* 1992 ; 23: 483 - 486.
- 50.- Guisasola MC, Ramos R, Fernández L, Suárez A, García-Barreno P.** Proteínas de choque térmico en el estrés quirúrgico: toracotomía frente a herniorrafia. *Cir Esp* 2004; 75: 350-355.
- 51.- Hansen AD, Osmon DR, Nelson CL.** Prevention of deep perioperative joint infection. *J Bone Joint Surg* 1996; 78-A: 458-464.
- 52.- Hanssen AD, Rand JA.** Evaluation and treatment of infection at the site of a total hip or knee arthroplasty. *Instr Course Lect* 1999; 48: 111-122.
- 53.- Hanssen AD, Stuart MJ, Scott RD, Scuderi GR.** Surgical Options for the Middle-Age Patient with Osteo-arthritis of the Knee Joint. *J. Bone Joint Surg* 2000; 82: 1767-1769.
- 54.- Hashiguchi N, Ogura H, Tanaka H.** Enhanced Expression of Heat Shock Proteins in Leukocytes from Trauma Patients. *J Trauma* 2001; 50: 102-107.
- 55.- Hata H, Sakaguchi N, Yoshitomi H, Iwakura Y, Sekikawa K et al.** Distinct contribution of IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1, and IL-10 to T cell-mediated spontaneous autoimmune arthritis in mice. *J. Clin. Invest* 2004; 114: 582-588.

- 56.- Hendrick JP, Hartl FU.** Molecular chaperone functions of heat-shock proteins. *Annu Rev Biochem* 1993; 62: 349-384.
- 57.- Herradón F, Vaquero J, Cotarelo J.** Las osteotomías varizantes de rodilla ¿una solución temporal?. *Rev Pat Rodilla* 1999; 7: 9-15.
- 58.- Homandberg B.** Cartilage damage by matrix degradation products: fibronectin fragments. *Clin Orthop* 2001; 391S: S100-S107.
- 59.- Hotchkiss RS, Karl IE.** The Pathophysiology and Treatment of Sepsis. *N Engl J Med* 2003; 348: 138-150.
- 60.- Housby JN, Cahill CM, Chu B, Bickford K.** Non-steroidal anti-inflammatory drugs inhibit the expression of cytokines and induce HSP70 in human monocytes. *Cytokine* 1999 May; 11: 347-358.
- 61.- Ikebe T, Hirata M, Koga T.** Effects of human recombinant tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin I on the synthesis of glycosaminoglycan and DNA in cultured rat costal chondrocytes. *J Immunol* 1988; 140: 904-911.
- 62.- Insall JN.** Infection of total knee arthroplasty. *Instr Course Lect* 1986; 35: 319-324.
- 63.- Itasaka T, Kawai A, Sato T, Mitani S, Inoue H.** Diagnosis of infection after total hip arthroplasty. *J Orthop Sci.* 2001; 6: 320-326.

**64.- Jacob U, Muse W, Eser M, Bardwell JCA.** Chaperone activity with a redox switch. *Cell* 1999; 96: 341-352.

**65.- Javaloyas M, Montreal M.** Tratamiento antibiótico por vía oral de la osteomielitis bacteriana del adulto: resultados tras dos años de seguimiento. *Med Clin.* 1999; 488-489.

**66.- Jenny G, Schaub JM, Féraud G, Métais P, Kempf I.** Intérêt du dosage de la C. Réactive protéine dans l'infection ostéoarticulaire. *Rev Chir Orthop.* 1986; 72: 197-201.

**67.- Jenny J-Y, Gaudias J, Bourguignat A, Féraud G, Kempf I.** La protéine C-réactive et la transthyréline dans le diagnostic précoce de l'infection après fracture ouverte des membres inférieurs (étude préliminaire). *Rev Chir Orthop.* 1999; 85: 321-327.

**68.- Kaufmann SHE.** Heat shock proteins and autoimmunity: A critical appraisal. *Intern Arch Allergy Immunol.* 1994; 103: 317-322.

**69.- Keller WL.** Molecular chaperones: How J domains turn on Hsp70s. *Curr Biol.* 1999; 9: R305-R308.

**70.- Kiang JG, Tsokos GC.** Heat Shock Protein 70 kDa: Molecular Biology, Biochemistry, and Physiology. *Pharmacol. Ther.* 1998; 80: 183-201.



- 71.- Kim W, Rand JA, Chao EYS.** Biomechanics of the knee. En: Rand JA (ed.). Total Knee arthroplasty. New York: Raven Press, 1993; 32.
- 72.- Kushner I.** C reactive protein in rheumatology. *Arthritis Rheum.* 1999; 1: 1065 – 1068.
- 73.- Kushner I, Rzewnicki DL.** The acute phase response: general aspect. *Baillière`s Clin Rheumatol*, 1994; 8: 513-531.
- 74.- Laskey RA, Honda BM, Mills AD, Finch JT.** Nucleosomes are assembled by an acidic protein which binds histones and transfer them to DNA. *Nature* 1978; 275: 416-420.
- 75.- Lawrence JS, Bremner JM, Bier F.** Osteoarthritis. Prevalence in the population and relationship between symptoms and x-ray changes. *Ann Rheum Dis.* 1966; 25: 1-24.
- 76.- Lehrnebeher Lh, Venzon D, De Hagg M, Chanock S.J, Kuhl S.** Assessment of measuring circulating levels of interleukin-6, interleukin-8, C-reactive protein, Soluble Fc gamma receptor type III, and Mannose-binding protein in febrile children with cancer and neutropenia. *Clin Infect Dis.* 1999; 29: 414 – 418.
- 77.- Leppä S, Sistonen L.** Heat Shock Response - Pathophysiological implications. *Annals of Medicine* 1997; 29: 73-78.

**78.- Ledesma L.** Detección precoz de la infección aguda en cirugía ortopédica electiva. Tesis doctoral 2000.

**79.- Levitsky KA, Hozack WJ, Balderstron RA.** Evaluation of the painful prosthetic joint: relative value of bone scan, sedimentation rate, and joint aspiration. *J Arthroplasty* 1991; 6: 237-244.

**80.- Lis J, Wu C.** Transcriptional regulation of heat shock genes. En: Conaway RC y Conaway JW, eds. *Heat shock genes*. Nueva York: Raven Press, 1994: 50-65.

**81.- Lin J, Adams LG, Ficht TA.** Characterization of the heat shock response in *Brucella abortus* and isoation of genes encoding the GroE heat shock protein *Infect Immun*. 1992; 60: 2425-2431.

**82.- Lonner JH, Desai P, Dicesare PE, Steiner G, Zuckerman JD.** The reliability of analysis of intraoperative frozen sections for identifying active infection during revision hip or knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*. 1996; 78: 1553-1558.

**83.- Lotke PA.** Treatment of the infected total knee replacement. En: Lotke PA, ed. *Postoperative Infections in Orthopaedic Surgery: Prevention and Treatment*. Park Ridge, IL: American Academy of Orthopaedic Surgeons, 1992: 47-71.

**84.- Lowman EW.** Osteoarthritis. *JAMA* 1955; 157: 487-488.

- 85.- Mancilla-Ramírez J, Arredondo-García JL, Vannier E, Dinarello ChA.** Interleucina-1, Interleucina-6 y Factor de Necrosis Tumoral en sepsis neonatal. *Perinatol Reprod Hum.* 1996; 10: 230-237.
- 86.- Maquet P.** Treatment chirurgical de lárthrose fémorotibiale. *Acta Orthop Bélgica,* 1982; 48: 172-174.
- 87.- Maquet PGJ.** Biomechanics of the knee. En: Maquet PGJ, ed. Application to the pathogenesis and surgical treatment of osteoarthritis. Berlin: Heidelberg; New York: Springer-Verlag, 1976: 200-235.
- 88.- Matthews LS, Goldstein SA, Malvita TA, Katz BP, Kaufer H.** Proximal tibial osteotomy. Factors that influence the duration of satisfactory function. *Clin Orthop.* 1988: 193-200.
- 89.- Meachim G, Emery IH.** Cell counts of normal and osteoarthritic articular cartilage in relation to the uptake of sulphate ( $^{35}\text{S}04$ ) in vitro. *Ann Rheum Dis.* 1962;21: 45-50.
- 90.- Merchan EC, Galindo E.** Arthroscopy-guided surgery versus nonoperative treatment for limited degenerative osteoarthritis of the femorotivial joint in patients over 50 years of age: a propective comparative study. *Arthroscopy* 1993; 9: 663-667.
- 91.- Mitrovic D, Gruson M, Demignon J, Mercier P, Aprile F, De Seze S.** Metabolism of human femoral head cartilage in osteoarthrosis and subcapital fracture. *Ann Rheum Dis.* 1981; 40: 18-26.

- 92.- Montgomery R., Dryer R.L.** Aspectos estructurales de proteínas específicas. En: Montgomery R., Dryer R.L, Comway T, Spector A eds. Bioquímica Médica. Barcelona: Salvat. 1982; 68 – 94.
- 93.- Morales J, Cabo J, Coscujuela A, Hernández JA, Fernández A.** La proteína C reactiva en el seguimiento de las infecciones óseas. Avances 2002; 32: 196-201.
- 94.- Morales J J, Cabo J, Fernández Sabaté A, Clos R, Villena M, Ariza J.** The biological tests used in acute-phase of inflammation in bone infection. Eur J Orthop Surg Traumatol . 1995; 5: 33 – 36.
- 95.- Morimoto RI.** Cells in stress: transcriptional activation of heat shock genes. Science. 1993; 259: 1409-1410.
- 96.- Morimoto RI.** Regulation of the heat shock transcriptional response: cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones and negative regulators. Gen Develop. 1998; 12: 3788-3796.
- 97.- Morimoto RI, Sarge KD, Abravaya K.** Transcriptional regulation of heat shock genes. A paradigm for inducible genomic responses. J Biol Chem. 1992; 267: 21987-21990.
- 98.- Morrey BF, Westholm F, Schoifet S, Rand JA, Bryan RS.** Long-term results of various treatment options for infected total knee arthroplasty. Clin Orthop. 1989; 248: 120-128.

**99.- Moskowitz RW, Goldberg VM, Malesud CJ.** Metabolic responses of cartilage in experimentally induced osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1981; 40: 584-592.

**100.- Mulvey TJ, Thornhill TS, Kelly MA, Healy WL.** Complications associated with total knee arthroplasty, in Pellicci PM, Tria AJ Jr, Garvin KL (eds): *Orthopaedic Knowledge Update: Hip and Knee Reconstruction 2*. Rosemont, IL, American Academy of Orthopaedic Surgeons, 2000; 323-337.

**101.- O'Neill DA, Harris WH.** Failed total hip replacement: Assessment by plain radiographs, arthrograms, and aspiration of the hip joint. *J Bone Joint Surg Am* 1984; 66: 540-546.

**102.- Pascual Gómez E.** Pruebas de laboratorio en el diagnóstico de enfermedades reumáticas. *Patología reumática básica. Medicine*. 1982; 4: 25 – 39.

**103.- Park HS, Lee JS, Huh SH, Seo JS, Choi EJ.** Hsp72 functions as a natural inhibitory protein of c-Jun N-terminal Kinase. *EMBO J*. 2001; 20: 446-456.

**104.- Peersman G, Laskin R, Davis J, Peterson M.** Infection in total knee replacement: A retrospective review of 6489 total knee replacements. *Clin Orthop*. 2001; 392: 15-23.

**105.- Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Abramson SB.** Osteoarthritis, an inflammatory disease. Potencial implication for the selection of new therapeutic targets. *Arthritis Rheum*. 2001; 44: 1237-1247.

**106.- Pilon M, Schekman R.** Protein translocation: how Hsp70 pulls it of. *Cell* 1999; 97: 679-682.

**107.- Pittet J, Lee H, Morabito D, Howard MB.** Serum Levels of Hsp 72 Measured Early after Trauma Correlate With Survival. *J Trauma* 2002; 52: 611-617.

**108.- Pockley AG.** Heat shock proteins as regulators of the immune response. *The Lancet* 2003; 362: 469-476.

**109.- Pockley AG, Bulmer J, Hanks BM, Wright BH.** Identification of human heat shock protein 60 and anti-Hsp60 antibodies in the peripheral circulation of normal individuals. *Cell stress chaperon* 1999; 4: 29-35.

**110.- Polla BS, Bachelet M, Elia G, Santoro MG.** Stress proteins in inflammation. *Ann NY Acad Sci.* 1998; 851: 75-85.

**111.- Polla BS, Perin M, Pizurki L.** Regulation and function of stress proteins in allergy and inflammation. *Clin Exp Allergy.* 1993; 23: 548-556.

**112.- Poss R, Thornhill TS, Ewald FC, Thomas WH, Batte NJ, Sledge CB.** Factors influencing the incidence and outcome of infection following total joint arthroplasty. *Clin Orthop.* 1984; 182: 117-126.

**113.- Rand JA.** Sepsis following total knee arthroplasty. Rand, JA, ed. *Total Knee Arthroplasty.* New York; Raven Press. 1993; 349-375.

- 114.- Rand JA, Brown ML.** The value of indium III leukocyte scanning in the evaluation of painful or infected total knee arthroplasties. Clin Orthop. 1990; 259: 179-182.
- 115.- Ribera J M, Ferrandiz C, Fernandery R et al .Estruch R, Valdes M, Figuerola J M et al.** Metabolismo y nutrición. Malnutrición proteico energética. Farreras. En: Castillo R, Estape J, Foz M, Lience E, Montserrat E, Revert LL. Medicina interna. 13ª edición. Madrid: Harcourt Brace 1995. Vol. II: 1984 - 1988.
- 116.- Rittosa F.** A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in Drosophila. Experientia. 1962; 18: 571-573.
- 117.- Rittosa F.** Discovery of the heat shock response. Cell Stress Chaperon. 1996; 1: 97-98.
- 118.- Rodríguez EC, Ortega A, Carro A.** Diagnóstico y tratamiento de la infección protésica de rodilla. En: Ortega A y Rodríguez EC, eds. Recambios protésicos de rodilla. Madrid: Médica Panamericana, 1998: 132-145..
- 119.- Rowe I F.** C-reactive protein. En : Coombs R, Fitzgerald R, eds. Infection in the orthopaedic patient London: Butherworthy 1989: 75 - 77.
- 120.- Ruddon RW, Bedows E.** Assisted protein folding. J Biol Chem. 1997; 272: 3125-3128.

- 121.- Schwartz AL, Ciechanover A.** The ubiquitin-proteasome pathway and pathogenesis of human diseases. *Annu Rev Med.* 1999; 50: 57-74.
- 122.- Schwart CH.** Metabolismo hepático. In: Kelley W, De vita V, DuPont H et al eds. *Medicina Interna.* Buenos Aires: Panamericana. 1990: 491 – 502.
- 123.- Segawa H, Tukayama DT, Kyle RF, Becker DA, Gustilo RD.** Infection after total knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg.* 1999; 81: 1434-1437.
- 124.- Sherman MY, Goldberg AL.** Cellular defenses against unfolded proteins: A cell biologist thinks about neurodegenerative diseases. *Neuron.* 2001; 29: 15-32.
- 125.- Shinmei M, Masuda K, Kikuchi T, Shimomura Y.** The role of cytokines in chondrocyte mediated cartilage degradation. *J Rheumatol.* 1989; 16: 32-34.
- 126.- Song J, Takeda M, Morimoto RI.** Bag1-HSP70 mediates a physiological stress signaling pathway that regulates RAF-1/ERK and cell growth. *Nature Cell Biol.* 2001; 3: 276-282.
- 127.- Sorger PK.** Heat shock factor and the heat shock response. *Cell.* 1991; 65: 363-366.
- 128.- Spangehl M, Masri B, O'Connell J, Dunca C.** Prospective analysis of preoperative and intraoperative investigations for the diagnosis of infection at the sites



of two hundred and two revision total hip arthroplasties. J Bone Joint Surg. 1999; 81: 672 –683.

**129.- Spanghl MJ, Younger AS, Masri BA, Duncan CP.** Diagnosis of infection following total hip arthroplasty. J Bone Joint Surg Am 1997; 79: 1578-1588.

**130.- Stulik J, Hernychova L, Macela A, Krocova Z, Kroca M.** Production of stress inducible heat-shock protein 70 in mouse peritoneal adherent cells alter in vivo infection by Francisella tularensis. Folia Microbiol. 1999; 44: 306-310.

**131.- Takayama S, Bimston DN, Matsuzawa S, Freeman BC, AimeSempe C, Xie ZH, Morimoto RI, Reed JC.** BAG-1 modulates the chaperone activity of Hsp70/Hsc70. EMBO J.1997; 16: 4887-4896.

**132.- Theodorakis NG, Drujan D, De Maio A.** Thermotolerant cells show an attenuated expresion of Hsp70 after heat shock. J Biol Chem 1999; 274: 12081-12086.

**133.- Valdez J.** Respuesta metabólica al trauma. Arch Cir Gen Dig 2000; 1: 1-73.

**134.- Van Dissel J, Van Langevelde P, Westendorp R, Kwappenbe K.** Anti-inflammatory cytokine profile and mortality in febrile patients. Lancet 1998; 351: 950-953.

**135.- Verges G.** Enfermedades infecciosas. Pruebas diagnosticas. En: Giralt J, Cassan A eds. Enciclopedia de medicina y salud. Barcelona: Sigma 1991. Vol 7; 65-73.

**136.- Villanueva M, Villa A, Fahandez-Saddi H, García-Lechuz JM.** Artroplastia total de rodilla infectada. Guías y protocolos de tratamiento en el HGU Gregorio Marañón. Hospital General 2004; 4: 45-57.

**137.- Voet D., Voet J G.** El sistema endocrino. Comunicaciones bioquímicas: Hormonas y neurotransmisores. En: Wiley J e hijos eds. Bioquímica. Barcelona: Omega. 1992: 1234-1247.

**138.- Wagstaff MJ, Collaco-Moraes Y, Smith J, de Belleroches JS, Coffin RS y Latchman DS.** Protection of neuronal cells from apoptosis by Hsp27 delivered with a herpes simplex virus-based vector. J Biol Chem. 1999; 274: 5061-5069.

**139.- Wallin R, Lundqvist A, Moré SH.** Heat-shock proteins as activators of the innate immune system. Trends in Immunology 2002; 23: 130-135.

**140.- Wegener WA, Alavi A.** Diagnostic imaging of musculoskeletal infection. Roentgenography; gallium, indium-labeled white blood cell, gammaglobulin, bone scintigraphy and MRI. Orthop Clin N Am. 1991; 22: 401-418.

**141.- Welch AD, Rai SK, Salvato MS, Band H, Malkovsky M.** Hsp72-mediated augmentation of MHC class I surface expression and endogenous antigen presentation. Intern Immunol. 1998; 10: 609-617.

**142.- White J, Kelly M, Dunsmuir R.** C- reactive protein level after total hip and total knee replacement. J Bone Joint Surg Br. 1998; 80: 909–1011.

**143.- Wilson MG, Kelley K, Thornhill TS.** Infection as a complication of total knee-replacement arthroplasty: Risk factors and treatment in sixty-seven cases. *J Bone Joint Surg Am.* 1990; 72: 878-883.

**144.- Windsor RE, Insall JN.** Management of the infected total knee arthroplasty. En: Insall JN, Windsor RE, Scott WN, Kelly MA, Aglietti P, eds. *Surgery of the Knee* 2ª ed. Nueva York, NY: Churchill Livingstone, 1993: vol 2: 959-974.

**145.- Windsor RE, Insall JN, Urs WK, Millar DV, Brause BD.** Two-stage reimplantation for the salvage of total knee arthroplasty complicated by infection: Further follow-up and refinement of indications. *J Bone Joint Surg Am.* 1990; 72: 272-278.

**146.- Wu C.** Heat shock transcription factors: Structure and regulation. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol* 1995; 11: 441-469

**147.- Young D S.** Parámetros de laboratorio de importancia clínica. En: Fauci A, Wilson J, Brounwald E et al eds. *Harrison T. R. Principios de medicina interna.* 14ª edición. Madrid: Mc Graw Hill Interamericana, 1998: vol 2: 2929 - 2940.

**148.- Young JC, Moaref I, Hartl FU.** Hsp90: A specialized by essential protein-folding tool. *J Cell Biol.* 2001; 154: 267-273.

**149.- Zhong L, Xuejun P, Hidalgo GE, Hirschowitz EA.** Antibodies to HSP70 and HSP90 in serum in non-small cell lung cancer lung patients. *Cancer detection and prevention* 2003; 27: 285-290.