



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE MEDICINA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Condrocálcinosis de Rodilla: Identificación de Impresión Olfatoria en Líquido Sinovial. Estudio Piloto.

Presenta

Milton Ismael Ramírez Trujillo

Director de Tesis

M. en C. Marco Ulises Martínez-Martínez

Co-Director de Tesis

Dr. En C.A. Rogelio Flores Ramírez

Asesores

Dr. Lorenzo Rodríguez López

Dra. Mariana Salazar del Villar

Dr. David Alejandro Herrera van Oostdam

Dr. Cuauhtémoc Oros Ovalle

Dr. Rodrigo Benavente Fuentes

Dr. Jesús Ramírez Martínez

San Luis Potosí, S.L.P.

Enero 2020

1. DATOS GENERALES.

TÍTULO DEL ESTUDIO: Condrocálcinosis de Rodilla: Identificación de impresión olfatoria en Líquido Sinovial.

LÍNEA DE GENERACIÓN Y APLICACIÓN INNOVADORA DEL CONOCIMIENTO (LGAC): Estudios Clínicos – Epidemiológicos, Investigación Translacional y Desarrollo de Habilidades del Pensamiento Clínico-Epidemiológico.

INVESTIGADOR PRINCIPAL:

Nombre: Milton Ismael Ramírez Trujillo.

Cirujano Artroscopista. Traumatología y Ortopedia.

Número de contacto: celular: 44 42 81 38 51.

email: artroscopia@outlook.com

Adscripción: Departamento de Traumatología y Ortopedia, Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto.

Cargo: Médico Adjunto servicio Traumatología y Ortopedia.

Nivel máximo de estudios: Subespecialidad.

Pertenece a: Hospital Central (X) Departamento: Traumatología y Ortopedia.

U.A.S.L.P.(X) Departamento: Traumatología Y Ortopedia.

INSTITUCIONES PARTICIPANTES:

Institución: Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

CIACyT. Dr. Rogelio Flores.

Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto. Departamento de Anatomía Patológica.
Dr. Cuahutemoc Oros Ovalle.

Celular: 4448290521

DATOS GENERALES.

TÍTULO DEL ESTUDIO: Condrocálcinosis de Rodilla: Identificación de Huella Metabólica en Líquido Sinovial

PROGRAMA ACADÉMICO: Maestría en Ciencias e Investigación Clínica

LÍNEA DE GENERACIÓN Y APLICACIÓN INNOVADORA DEL CONOCIMIENTO (LGAC):

INVESTIGADOR PRINCIPAL:

Nombre: Milton Ismael Ramírez Trujillo

Adscripción: Traumatología y Ortopedia

Cargo: Médico Adjunto

Nivel máximo de estudios: Especialidad

Pertenece a: (X) H.C:

(X) U.A.S.L.P.

Departamento: Traumatología y Ortopedia

División: Traumatología y Ortopedia.

Subdirección: (X) No Aplica

Firma

DIRECTOR DE TESIS O CO-INVESTIGADOR:

Nombre: Marco Ulises Martínez-Martínez

Adscripción: Reumatología

Cargo: Médico Adjunto

Nivel máximo de estudios: Postgrado

Pertenece a: (X) H.C

(X) U.A.S.L.P.

Departamento: Medicina Interna

División: Reumatología

Subdirección:

No aplica (x)

Firma

ASESOR CLÍNICO O CO-INVESTIGADOR:

Nombre: Jesús Ramírez Martínez

Adscripción: Traumatología y Ortopedia

Cargo: Jefe de Servicio

Nivel máximo de estudios: Especialidad

Pertenece a: (X) H.C:

() U.A.S.L.P.

Departamento: Traumatología y Ortopedia

División: Traumatología y Ortopedia

Subdirección: No aplica (X)

Firma

ASESOR METODOLÓGICO O CO-INVESTIGADOR:

Nombre: Marco Ulises Martínez Martínez

Adscripción: Medicina Interna

Cargo: Médico Adjunto

Nivel máximo de estudios: Especialidad/Postgrado

Pertenece a: ☒ H.C. ☒ U.A.S.L.P.

Departamento: Reumatología

División: Reumatología

Subdirección:

No aplica (☒)

Firma



DEPARTAMENTOS PARTICIPANTES:

División: Anatomía Patológica

Nombre del jefe de división: Cuahutemoc Oros Ovalle

Firma



INSTITUCIONES PARTICIPANTES:

Institución Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto

Convenio

INTENCIÓN APLICATIVA:

Licenciatura (☐)

Especialidad (☐)

Maestría (☒)

Doctorado (☐)

Línea de investigación (☐)

AUTORIZADO POR:

Comité de Investigación con fecha:

Comité de Ética en Investigación con fecha:

Número de autorización:

DIRECTOR DE TESIS	
M. en C. Marco Ulises Martínez-Martínez.	
CO-DIRECTOR DE TESIS	
Dr. En C.A. Rogelio Flores Ramírez.	
ASESORES	
Dr. Lorenzo Rodríguez López	
Dra. Mariana Salazar del Villar.	
M. en C. David Alejandro Herrera Van Oostdam.	
Dr. Cuahutemoc Oros Ovalle.	
Dr. Rodrigo Benavente Fuentes.	
Dr. Jesús Ramírez Martínez.	
SINODALES	
M. en C. Mauricio Pierdant Pérez	
D. en C. Antonio Augusto Gordillo Moscoso	
Dr. Carlos Cesar Martínez Rodriguez.	
Dr. Juan Alejandro Alonso Molina	
M. en C. Ma. Del Pilar Fonseca Leal Jefe de Investigación y Posgrado Clínico, Facultad de Medicina UASLP	D. en C. Antonio Augusto Gordillo Moscoso. Coordinador de la Maestría en Ciencias e investigación. Coordinador de la Maestría en Ciencias en Investigación Clínica

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, que siempre me impulsan y creen en mí, incluso cuando yo no lo hago; tengo suerte de tener tan buenos padres.

Mis hermanos, por recordarme siempre quien soy, por su apoyo y cariño incondicional.

Mis preciosos sobrinos, para quienes siempre espero ser un ejemplo.

A mi familia, por hacerme sentir tan querido.

Mis maestros, por su paciencia, por impulsarme a dar ese extra y por que me permiten seguir aprendiendo de ellos.

Amigos, por soportarme incluso cuando yo no me aguanto y por hacerme sentir parte de su familia, son los mejores.

INDICE.

Glosario de Términos	7
Antecedentes.	9
Condrocálcinosis.	9
Datos Epidemiológicos.	9
Fisiopatología.	9
Factores Riesgo.	11
Presentación Clínica.	11
Diagnóstico.	12
Tratamiento.	14
Metabólica.	14
Nariz Electrónica.	15
Impacto de la Condrocálcinosis.	16
Pregunta de Investigación.	17
Justificación.	17
Objetivos.	17
Objetivo General.	17
Objetivos Específicos.	17
Objetivos Secundarios.	17
Hipótesis.	18
Diseño de Estudio.	18
Metodología.	18
Criterios Inclusión / No Inclusión.	18
Criterios de Eliminación.	18
Variables de Estudio.	19
Prueba Piloto.	19
Análisis Estadístico.	20
Aspectos Éticos.	20
Plan de Trabajo.	22
Concordancia de las Mediciones.	22
Recursos Materiales.	23
Capacitación de Personal.	23
Financiamiento.	23
Resultados.	24
Discusión.	30
Conclusión.	31
Limitaciones del Estudio.	31
Referencias Bibliográficas.	32
Anexos.	35
Hoja de Recolección de Datos.	35
Consentimiento Informado.	36
Revocación del Consentimiento Informado.	43
Aviso de Privacidad de Datos.	44
Tratamiento de las Muestras en Metabólica.	46
Carta del Comité de Ética.	48
Carta Compromiso Servicio de Patología.	49
Markdown.	50

Glosario de Términos.

OA: Osteoartrosis.

LEG: Lupus Eritematoso Sistémico.

DM: Diabetes Mellitus.

OATS: Transplante autólogo de cartílago.

NTPPPH: Pirofosfato hidrolasa.

TNAP: Fosfatasa Alcalina.

PPi: Pirofosfato inorgánico.

CPP: Pirofosfato de Calcio.

ANKH: Gen homólogo de proteína de anquilosis progresiva.

PH: Concentración de iones hidrógeno.

KSS: Cuestionario de funcionalidad de rodilla (knee Society Score).

WOMAC: Wester Ontario & McMaster Universities Osteoarthritis Index.

RMN: Resonancia Magnética Nuclear.

EM: Espectrometría de masas.

m/z: En Espectrometría, relación masa/carga.

LC-MS: Cromatografía líquida asociada a espectrometría de masas.

GC-MS: Cromatografía de gases asociada a espectrometría de masas.

GE-MS: Electroforesis capilar asociada a espectrometría de masas.

VOC: Compuesto orgánico volátil.

2.- ANTECEDENTES.

Condrocálcinosis.

La condrocálcinosis es una enfermedad de carácter reumático, que se caracteriza por el depósito de cristales de pirofosfato de calcio en el espesor del cartílago articular y su posterior liberación al medio o líquido sinovial, desencadenando en forma aguda, cuadros clínicos caracterizados por monoartritis aguda, que comparte similitudes a los episodios de monoartritis causadas por la gota, por lo que se ha denominado “pseudogota” (1).

La asociación con gota, hiperparatiroidismo y hemocromatosis, se presenta hasta 30% de esta entidad patológica (2).

De forma crónica, la condrocálcinosis calcifica el cartílago articular en pequeñas zonas en su cara subcondral del cartílago articular, que en ocasiones se observa incluso en las proyecciones radiográficas simples (3). El componente que más frecuentemente se observa es la acumulación de cristales de pirofosfato de calcio, aunque también se presentan cristales de fosfato octocálcico, hidroxipatita, dicálcico, urémicos y oxalato de calcio de acuerdo al análisis de líquido sinovial (4). Los cristales de pirofosfato de calcio, pueden depositarse además del cartílago, en tendones, ligamentos y cápsulas articulares. La articulación más frecuentemente afectada es la rodilla. En ocasiones, la enfermedad puede ser asintomática (4). La forma crónica frecuentemente se acompaña de osteoartritis, por lo que es una patología que requiere diagnóstico temprano y tratamiento específico para evitar los depósitos de cristales.

Datos Epidemiológicos.

La epidemiología de las artropatías por cristales y en este caso, la condrocálcinosis que es la más frecuente pero subdiagnosticada, depende de la edad. Su prevalencia se presenta en mayores de 50 años, aumentando hasta 7% por cada año en pacientes por arriba de los 65 años. La prevalencia de esta entidad es muy variada, pero parece afectar del 4 al 7% de la población adulta en Europa y EUA. Es difícil establecer la prevalencia de la enfermedad en virtud que el diagnóstico se establece por su presentación radiológica (presentación tardía), aunado a que la condrocálcinosis de rodilla puede ser en ocasiones, asintomática (6).

Las articulaciones dañadas por ataques previos, tienen una mayor disposición a la precipitación de cristales, tanto de pirofosfato de calcio como de ácido úrico, debido al cambio de PH a nivel del líquido sinovial, lo que reduce la solubilidad de los uratos. El aumento de pirofosfato de calcio, asociado a un ataque de gota, se denomina pseudogota. El hallazgo de cristales de pirofosfato de calcio en el cartílago articular y tejido subcondral, es reportado hasta en el 30% en pacientes que sobrepasan los 80 años (6).

Fisiopatología.

Normalmente se encuentran concentraciones bajas de calcio en el cartílago articular para evitar la calcificación del mismo. En los pacientes con diagnóstico de condrocálcinosis, la

concentración de sales de calcio a nivel intracartilaginoso aumenta, volviéndose insolubles, favoreciendo la formación o nucleación de cristales de pirofosfato de calcio (6). Estos cristales se precipitan en grupos, pasando por un proceso de nucleación, es justo en esta etapa cuando las alteraciones a nivel cartilaginoso son visibles de manera radiográfica (6), (14).

La calcificación del cartílago por sí solo, no produce síntomas. El desprendimiento de cristales y su posterior acumulación a nivel sinovial, desencadena un proceso inflamatorio agudo, aumentando su concentración en el líquido sinovial y dando como resultado un episodio de pseudogota o incluso un episodio de oligoartritis en casos más severos (4).

El depósito per sé de calcio a nivel del cartílago, favorece el deterioro del cartílago articular. El cartílago pierde la capacidad de absorber fuerzas axiales, alterando su estructura, llevando a tener dificultades en cuanto a la distribución de cargas, lo cual, como resultado final, condena a la articulación a un estado de artrosis acelerada (5).

A diferencia de los pacientes con diagnóstico de hiperuricemia, donde los cristales se forman cuando la capacidad de solubilidad del líquido sinovial ha sido superada, los cristales de pirofosfato de calcio se forman en el cartílago articular y cerca de la superficie articular de los condrocitos. Los cristales de pirofosfato de calcio son formados a nivel cartilaginoso, principalmente a partir de pirofosfato inorgánico, cerca de la superficie de los condrocitos que se encuentran en la matriz extracelular.

Los condrocitos son capaces de formar cristales de pirofosfato de calcio desde el ATP y otros nucleósidos, mediados por una serie de enzimas conocidas como nucleósido trifosfatasa (NTPPPH) y nucleósido fosfodiesterasa (3), (14). La degradación por hidrólisis a ortofosfato, es canalizada por pirofosfatasa inorgánicas, tal como la fosfatasa alcalina no específica de tejido (3), (14). Siempre debe haber un equilibrio entre la producción de pirofosfato inorgánico por NPP1 y su hidrólisis por TNAP (3), (14). Cuando existe una falla en la regulación de este binomio (modulado por factores como quimiocinas, factores de crecimiento, proteínas de transporte, enzimas y subproductos enzimáticos), predomina el cartílago “envejecido”, con la acumulación de PPi. Esto, finalmente, conduce al depósito de manera patológica de cristales de CPP a nivel cartilaginoso (3).

Los polimorfismos del gen ANKH, conducen una importante vía en el transporte de pirofosfato, así como en la liberación de ATP por los condrocitos, lo que, de última manera, aumenta la formación de cristales (3), (14).

Los procesos fisiopatológicos de artritis inducida por cristales de CPP, tienen gran similitud con la gota; sin embargo, la reacción inflamatoria causada por los cristales de CPP tiende a tener un curso más subclínico, lo que se puede explicar por la interacción de los cristales con las células fagocíticas y su activación mitogénica y liberación de las citoquinas proinflamatorias, llevándonos a un ataque de pseudogota o en casos más severos, oligoartritis aguda (3).

Factores Riesgo.

La Condrocalcinosis es una enfermedad que afecta a pacientes mayores a 55 años. Radiológicamente se puede identificar en el 44% de los pacientes mayores a 84 años, la prevalencia aumenta hasta en un 50% por cada década, arriba de los 60 años (6).

Los traumatismos o fracturas previas, de las superficies de la rodilla son factores de riesgo para originar el depósito de pirofosfato de calcio a nivel meniscal (22). Se ha encontrado también asociación de entre artritis reumatoide y condrocalcinosis

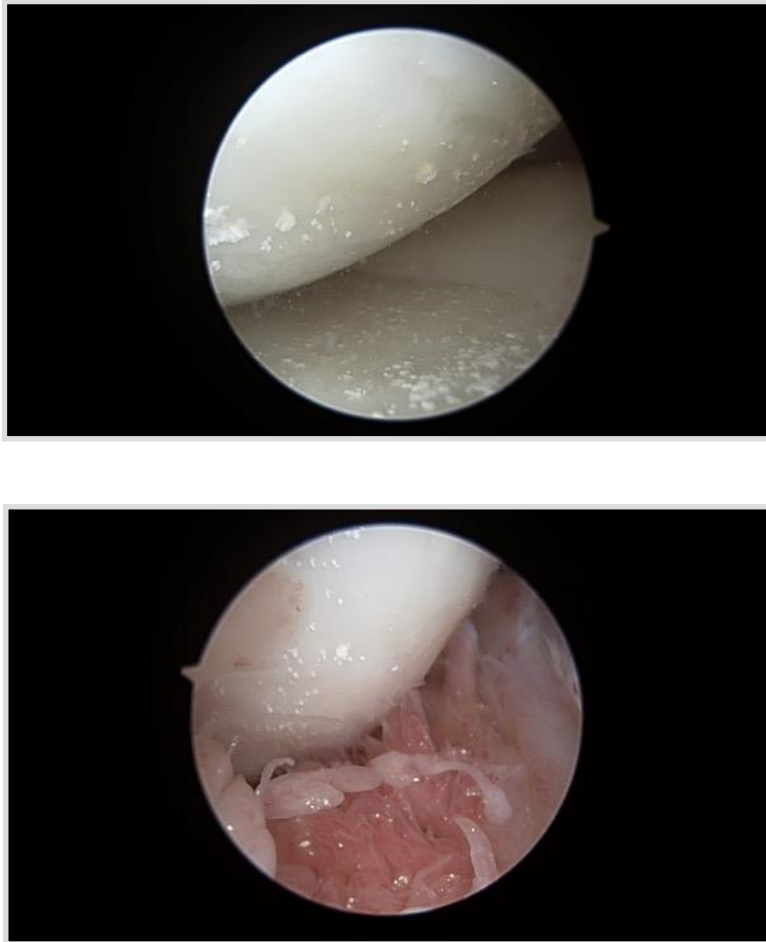


Figura 1 y 2. Imagen artroscópica de rodilla, se observan depósitos de pirofosfato de calcio en forma aguda en tejidos articulares (puntos brillantes) (5).

El ataque agudo puede suceder en las siguientes condiciones: antecedente de traumatismos o incluso en estado posoperatorio. No se conocen asociaciones dietéticas. En cuanto a correlaciones medicamentosas, se ha observado aumento en su incidencia con la infiltración de terapia de viscosuplementación, diuréticos y estimulantes de colonias de granulocitos (5).

Presentación Clínica.

Para este estudio, nos referiremos principalmente a la condrocalcinosis crónica, la cual tiene implicaciones terapéuticas y pronósticas (mayor deterioro articular). (1), (4), (14), (16).

La condrocálcinosis es el resultado del depósito intraarticular de cristales de pirofosfato de calcio, uno de los factores asociados es el daño articular previo. Por lo que se conoce, los pacientes que tienen ambas patologías (osteoartritis y condrocálcinosis) tienen destrucción articular. Abhishek & Cols. (10) En su estudio publicado en Arthritis Care and Research del 2013, concluyen que la única presentación de la osteoartritis que no estaba asociada a una presentación erosiva en presencia de diagnóstico de condrocálcinosis, era la OA de cadera, en cambio, la presentación en rodilla, era la forma más comúnmente agresiva, teniendo más incapacidad, dolor y menores puntajes en escalas de funcionalidad llevando a los pacientes a una peor calidad de vida (13), (15), (25).

Todas las presentaciones clínicas afectan predominantemente a las mujeres, aumenta la frecuencia con la edad, sin embargo, en la mayor parte de los pacientes no ocasiona síntomas.

La forma crónica de osteoartritis, se presenta en formas muy severas, teniendo como síntomas predominantes inflamación crónica y dolor asociado. Debe hacerse diagnóstico diferencial de la osteoartritis común. En casos muy raros, se llega a presentar similitud diagnóstica a la artritis reumatoide (15).

En resumen, la condrocálcinosis en su variante crónica, se caracteriza por cambios estructurales a nivel de la articulación, cambios que afectan tanto al cartílago articular, hueso subcondral y estructuras intraarticulares, volviéndolas más rígidas, proclives a presentar cambios degenerativos tempranos, llevándonos a presentar, incluso en edades tempranas, variantes de gonartrosis más agresivas y destructivas como lo es la gonartrosis erosiva.

Diagnóstico.

Debido a la alta incidencia de patologías que se asocian a esta entidad, la determinación básica incluye determinación de niveles séricos de calcio, magnesio, fósforo, fosfatasa alcalina, determinaciones de hierro y sus determinantes metabólicas y pruebas de función tiroidea.

En general la enfermedad no es diagnosticada en hasta en el 68% de los pacientes (11).

En pacientes que han sido sometidos a artroplastía total de rodilla, hasta el 20% tienen datos microscópicos compatibles con condrocálcinosis (6), (11). El diagnóstico certero se establece mediante la identificación de cristales en líquido sinovial mediante biopsia de cartílago

articular (11). La radiografía convencional presenta cambios sugestivos de depósito de cristales, pero la sensibilidad es baja.

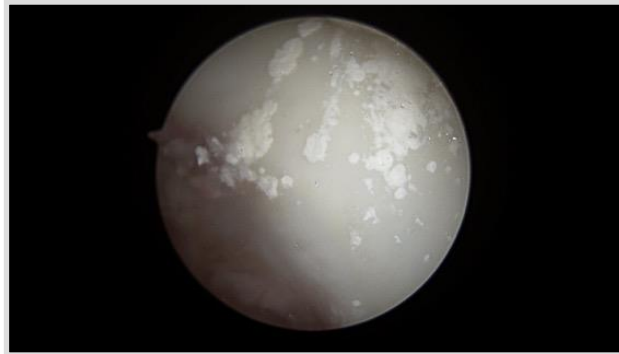


Figura 3. Cambios crónicos por depósitos de pirofosfato de calcio. Imagen artroscópica de rodilla con foco en cóndilo medial, rodilla derecha.

Se han utilizado ultrasonido musculoesquelético y Resonancia Magnética Nuclear para diagnosticar condrocalcinosis con resultados variables (6).



Figuras 4 y 5. Imágenes radiográficas donde se observa depósito crónico de pirofosfato a nivel de mango rotador y meniscos.

Algunos estudios han identificado en ultrasonido una especificidad (62%) y sensibilidad (66.7%), y un valor predictivo comparado con el análisis de líquido sinovial (análisis por microscopía).

La biopsia de cartílago articular, se toma como el diagnóstico definitivo de esta patología, al identificar cristales a nivel intracartilaginoso y en la región subcondral (11). En resumen, los estudios de imagen y líquido sinovial tienen baja sensibilidad comparado con la búsqueda de cristales en la biopsia.

Tratamiento.

El tratamiento de la condrocálcinosis crónica en pacientes con osteoartritis incluye medicamentos que se utilizan en el ataque agudo de gota (12), (16).

El uso diario de colchicina a dosis bajas (0.6 a 1.2 mg) reduce el dolor e inflamación (7).

Los anti-inflamatorios no esteroideos pueden tener similares efectos que en pacientes con dolor crónico. Actualmente, algunos estudios han mencionado que el uso de hidroxicloroquina o Metotrexato puede ser benéfico en los pacientes con condrocálcinosis (8) (9).

En casos muy severos, el reemplazo articular puede ser necesario en los pacientes con condrocálcinosis, estudios actuales muestran similitud entre el reemplazo por condrocálcinosis o por artritis degenerativa (10).

Metabolómica.

El estudio del genoma humano generó el nacimiento de las ciencias conocidas como genómica y proteómica, encargadas del estudio y análisis de manera global de genes y proteínas respectivamente.

Al inicio de los 90, se hizo más énfasis en el estudio, de manera conjunta de los metabolitos que se presentan en todo sistema o conjunto biológico, de una manera más específica y por su mayor alcance en fluidos como saliva, orina, sangre, líquido cefalorraquídeo e incluso en biopsias de diferentes tejidos o cultivos de tipo celular, dando como resultado, el nacimiento de la tercera ciencia “ómica” (17), (18): la metabolómica y a su derivado; la metabonomía (estudio de estímulos fisiopatológicos o modificaciones génicas mediante medidas multiparamétricas).

La metabolómica, es una nueva línea de estudio de amplio espectro de aplicación diagnóstica, reciente desarrollo y alto impacto, principalmente aborda el estudio de manera no sesgada de todos los metabolitos presentes en un tejido y órgano particular en una particular unidad de tiempo del desarrollo, bajo ciertas condiciones particulares, para así permitir de esta forma, valorar la contribución de los factores tanto genéticos, ambientales y como el conjunto de variables afectan a este fenómeno (18).

Los metabolitos, son moléculas de bajo y mediano peso molecular, menores a 1.500 Daltons, observados en todo tipo de proceso celular. La medición de la concentración de los mismos puede llegar a indicar la presencia de determinada patología o de factores predisponentes (19).

El número de metabolitos puede oscilar entre 3-20 mil. En tanto que la genómica y la proteómica indican los estados pasados o todo lo “que pudo haber pasado”, el análisis

metabolómico, indica lo que realmente pasó (cascada ómica), ya que presenta una “huella metabolómica” medible según el proceso químico que se llevó a cabo, a éste proceso y al producto de ello, se le ha llamado, “huella metabolómica”, es el método que mejor puede medir y caracterizar las características fenotípicas de los seres vivos (20).

En el análisis de los metabolomas están involucrados; la expresión de genes, múltiples factores de tipo ambiental como, alimentación del individuo, ejercicio, estrés de múltiples tipos, ciclo menstrual, entre otros (20).

La metabolómica ha probado ser eficaz en la monitorización de pacientes trasplantados, permite detectar conjuntos de metabolitos que indican en estadios iniciales si se producirá el rechazo al órgano implantado. El diagnóstico de enfermedades es otro ramo en cuanto a aplicación se refiere: cáncer de próstata con determinación de metabolómica de orina, es uno de los que más auge en la actualidad tiene. Líneas de investigación como la detección de factores riesgo y la medicina personalizada son importantes consideraciones a seguir y que actualmente se encuentran en desarrollo (21).

Nariz Electrónica.

Las narices electrónicas (e-nose) se basan en conjuntos de diferentes tipos de sensores que responden a las características específicas de una molécula de olor, en su mayoría compuestos orgánicos volátiles (VOC). A diferencia de la cromatografía de gases y la espectrometría de masas, las narices electrónicas pueden distinguir el espectro de VOC mediante el reconocimiento de patrones. La tecnología E-nose se ha utilizado con éxito en aplicaciones comerciales, incluida la industria militar, ambiental y alimentaria.

La biología humana es muy compleja, y los dispositivos de diagnóstico tienen principalmente la tarea de capturar biomarcadores que se relacionan con el estado de salud individual y traducirlos en señales analíticamente útiles capaces de respaldar un diagnóstico particular o sugerir exámenes más dirigidos. Esto requiere una cadena de elementos instrumentales (sensores, algoritmo analítico) que determinan el rendimiento de diagnóstico del instrumento. Por lo tanto, los indicadores de rendimiento incluyen: selectividad para componentes únicos o múltiples, sensibilidad instrumental (límites de detección y cuantificación), relaciones dosis-respuesta y eventualmente valores predictivos positivos y negativos para la enfermedad. Con respecto al análisis de gases complejos, los desarrollos tecnológicos durante las últimas décadas han proporcionado dispositivos de detección e identificación química que capturan firmas de mezclas de VOC. Estos se llaman "narices electrónicas" (narices electrónicas). En lugar de identificar los componentes moleculares individuales de las mezclas de COV, las narices electrónicas proporcionan una llamada "impresión olfativa" que, en relación con el aire exhalado, se denomina "huella respiratoria".

La mayoría de las narices electrónicas existentes se basan en sensores de gases químicos, aunque recientemente se han explotado principios de trabajo innovadores en el intento de reproducir el funcionamiento de los receptores bio olfativos (51). En los últimos años, la tecnología de nariz electrónica se ha probado en todos los campos imaginables relacionados

con olores y gases inodoros, en particular en la industria de alimentos y bebidas, monitoreo ambiental, fines militares y, muy recientemente, para el diagnóstico de enfermedades.

Impacto de la Condrocálcinosis.

De acuerdo a la evidencia actual es necesario realizar el diagnóstico temprano de la condrocálcinosis, por su asociación con la gravedad de la osteoartrosis (52).

Bobby Kwanghoon Han, Woojin Kim and Cols, reportaron que la asociación osteoartritis condrocálcinosis ocasionaba lesiones más destructivas y manifestaciones clínicas más limitantes (23). 2015.

Angel Checa y William Chun, reportaron mayor índice de lesiones meniscales en pacientes con diagnóstico previo de condrocálcinosis, aun en ausencia de antecedentes traumáticos. (22).

Estella Musacchio y Cols, estudiaron el impacto de la condrocálcinosis sobre la discapacidad funcional en los pacientes ancianos con diagnóstico previo de osteoartritis, observando que la asociación entre condrocálcinosis y osteoartritis, aumentaba la severidad de los síntomas y discapacidad, independientemente de la edad y severidad de la osteoartrosis (24).



Figura 6. Nariz Electrónica.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿Cuál es la impresión olfativa del líquido sinovial en pacientes con condrocálcinosis de rodilla?

4.- JUSTIFICACIÓN.

La biopsia de cartílago articular es el “estándar de oro” para el diagnóstico de condrocálcinosis de rodilla, pero es un método invasivo y costoso. La alta asociación de condrocálcinosis con la gravedad de osteoartritis, justifica su búsqueda de manera temprana para implementar terapias adecuadas y disminuir la progresión de la enfermedad de carácter degenerativo.

Es conveniente buscar alternativas menos invasivas y costosas para el diagnóstico en pacientes con procesos degenerativos avanzados o en aquellos que están en una etapa asintomática. En esta patología, el diagnóstico y tratamiento temprano, podría evitar el progreso de las alteraciones estructurales no solo del cartílago articular, sino también de estructuras como los meniscos y otros tejidos periarticulares.

Si logramos identificar una huella impresión olfativa de condrocálcinosis de rodilla, sería posible diseñar pruebas diagnósticas, que permitan identificar la enfermedad en etapas tempranas, con un método invasivo, pero menos agresivo que la biopsia.

5. - OBJETIVOS.

5.1. Objetivo general

Identificar la impresión olfatoria en líquido sinovial en pacientes con condrocálcinosis de rodilla.

5.2. Objetivos específicos

- a). - Identificar Impresión olfatoria del líquido sinovial en pacientes que se encuentre condrocálcinosis de rodilla en la biopsia que se realizará posterior a artroplastia de rodilla.
- b). - Identificar la impresión olfatoria del líquido sinovial en pacientes sin diagnóstico de condrocálcinosis en la biopsia que se realizará posterior a artroplastia de rodilla.
- c). - Identificar la impresión olfatoria que caractericen a ambos grupos de pacientes

5.3.- Objetivos secundarios.

- a). - Conocer la capacidad diagnóstica de la condrocálcinosis mediante determinación de impresión olfatoria del líquido sinovial.

6. - HIPÓTESIS.

Existe una impresión olfatoria en líquido sinovial en pacientes con diagnóstico de condrocálcinosis de rodilla.

7. - DISEÑO DEL ESTUDIO.

Estudio Transversal Analítico.

8. - METODOLOGIA.

Lugar de realización: Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto, Departamento de Traumatología y Ortopedia, División de Cirugía Articular.

Universo:

Pacientes candidatos a reemplazo primario de rodilla.

Muestreo: No Probabilístico por conveniencia.

8.1.- Criterios de Selección:

Criterios de Inclusión.

- a). - Firma de consentimiento informado.
- b). - Mayores de 50 años
- c). - Pacientes candidatos a reemplazo total primario de rodilla.
- d). - Expediente clínico y radiológico completo.
- e). - Viabilidad para la toma de biopsia de cartílago articular transoperatoria.
- f). - Viabilidad para la toma de líquido sinovial de rodilla transoperatoriamente.

Criterios de No Inclusión.

- a). - Infección activa (Artritis séptica).
- b). - Artrofibrosis de Rodilla.

Criterios de Eliminación.

- a). - Contaminación de la muestra de líquido sinovial.
- b). - Biopsia: muestra insuficiente.
- c). - Incapacidad de obtener muestra de líquido sinovial / tejido para biopsia.

8.2.- Variables de estudio.

Cuadro de variables.

VARIABLE	CODIGO	DESCRIPCION	ESCALA DE MEDICION	VALOR
CONDROCALCINOSIS	Condroc	Diagnóstico de condrocalcinosis por estándar de referencia (biopsia)	DICOTOMICA	SI / NO
IMPRESION OLFATORIA	IMP	Conjunto de metabolitos asociados al diagnóstico de condrocalcinosis.	COMPONENTE PRINCIPAL	SI / NO

8.3. Cálculo del tamaño de muestra.

Se realizará análisis de componentes principales, requiriendo una relación de 10 sujetos por cada componente principal que se decida incluir en el modelo, esto, según lo expresa Osborne et al. Por esto, el tamaño final de la muestra será directamente proporcional al número de componentes principales que se decidan incluir (32). Por ahora, se espera determinar 5 componentes principales que expliquen el modelo, por lo que la muestra será 50 pacientes (a determinar según metabolomas obtenidos).

8.4. Prueba Piloto.

Este estudio funciona como prueba piloto.

8.5.- Análisis Estadístico.

Se realizará medidas por resumen por variable. Se utilizó escala continua si su distribución es normal (media, desviación estándar) y en caso de no ser normales, medianas y rangos intercuartílicos. Se utilizará porcentajes y frecuencias en caso de variables discretas.

Para determinar la huella metabolómica y sus metabolitos que expliquen el modelo, se utilizó análisis de componentes principales. La determinación de metabolitos se realizó por medio de Random Forest y por medio de técnicas de regresión de Lasso.

8.6.- Aspectos Éticos.

El protocolo actual se sometió al Comité de Ética del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”, teniendo aprobación del mismo con registro 50-18.

Las Pruebas y los recursos diagnósticos que se llevaron a cabo en el estudio, no transgreden las Normas de la Conferencia de Helsinki, tanto inicial en 1964 como su revisión realizada en el 2013.

Los participantes incluidos en el estudio, firmaron un consentimiento informado en el cual se informó y explicó los procesos por los que el paciente pasará durante el estudio. Los datos obtenidos durante el estudio, fueron utilizados solamente por el equipo de trabajo por lo que se informó a los participantes del estudio sobre el aviso de privacidad y lo que este significa. Este estudio se encuentra apegado a la Ley General de Salud de la República Mexicana, en su Título Quinto, el cual refiere a la Investigación en el área de la salud; también en el artículo 100, el cual hace referendo a la investigación en seres humanos, en sus apartados III y IV, en donde se da a conocer que puede llevarse a cabo el estudio solo cuando exista una justificación razonable y se lleve a cabo un régimen de seguridad donde no expone a riesgos ni daños innecesarios al sujeto en experimentación y que además se deberá contar con el consentimiento informado por escrito una vez que el sujeto de estudio se encuentre enterado de los objetivos de la experimentación, así como de las posibles consecuencias tanto positivas como negativas para su salud.

El anterior párrafo, se expone según lo dispuesto en la Ley de Salud del Estado de San Luis Potosí, en su artículo 84-III.

El consentimiento informado, fue diseñado en base en la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, la cual expone los lineamientos para llevar a cabo estudios y proyectos de investigación clínica en seres humanos y en base al Código Civil Mexicano, en sus Artículos 1803 y 1812, que hablan sobre las obligaciones que se deben tener al redactar un consentimiento informado.

La totalidad de pacientes que se incluyeron en el presente estudio, se les informó de manera exhaustiva sobre las características del estudio: sus métodos, beneficios, riesgos, etc. Se resolvieron todas las preguntas del paciente para posteriormente pasar a firma del consentimiento.

Se considera una investigación de riesgo mínimo, los pacientes serán sometidos a tomas de muestra para analizar la metabolómica de las mismas (las muestras que se tomarán, serán durante la intervención quirúrgica, siendo estos 10 ml de sangre, 5 ml de líquido sinovial y una muestra de cartílago que se obtendrán de los cortes óseos que se realizan durante la artroplastía de rodilla, por lo que no implica un riesgo agregado al evento quirúrgico, ya que forma parte del mismo evento quirúrgico per sé.).

Los costos adicionales no serán cubiertos por los pacientes, si no que serán totalmente cubiertos por los investigadores principales.

Los tubos BD y Vacutainer con remanentes sanguíneos y de líquido sinovial, serán almacenados de manera hermética en tubos de color rojo hasta su recolección para disposición final. Los RPBI generados del proyecto, tendrán un final conforme a la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM 087 ECOL SSA1 2002.

Cabe mencionar que todas las muestras serán codificadas para protección de la identidad de los sujetos de estudio.

Se agrega en el apartado de Anexos el consentimiento informado.

8.7.- PLAN DE TRABAJO.

a). - Ya aprobado el protocolo por el comité de ética correspondiente, procedemos a realizar reclutamiento de pacientes. Se determinó paciente candidato a reemplazo articular primario de rodilla, se programó para su procedimiento quirúrgico. Ya en cirugía, se tomó (de manera transquirúrgica) muestra sanguínea (10 ml), muestra de líquido sinovial (5ml) y biopsia de cartílago articular, las cuales, al ser la recolección de muestras de manera transquirúrgica, implican un mínimo riesgo para el paciente. La toma de biopsia se obtuvo de los cortes óseos, por lo que no implica riesgo mecánico para los pacientes, ya que los cortes óseos usualmente son tratados como desechos biológicos.

b). - Una vez obtenido las biopsias de cartílago articular de rodilla, se enviaron al departamento de Anatomía Patológica del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” para su Análisis mediante tinciones para condrocálcinosis [Se utilizó tinción Rojo Alizarina, sal monofónica por laboratorios MERCK (C.I. 58005)]. Ya con los resultados de la biopsia, se definieron dos grupos: los pacientes que SI presenten condrocálcinosis y los pacientes que NO la presentaron, definiendo así los grupos de estudio.

c). – Las muestras de líquido sinovial y sangre para su posterior análisis en nariz electrónica, se enviaron de manera inmediata tras su obtención, al Centro para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y Tecnología (CIACYT, instancia universitaria dependiente de Rectoría de la UASLP) (para análisis más detallado, revisar anexo 4).

e). - Selección de metabolomas: Una vez obtenidos los metabolomas del análisis de metabolómica, se seleccionaron mediante análisis de componentes principales los componentes cuales tengan la capacidad de identificar o asociarse con el diagnóstico de condrocálcinosis, tanto del grupo con condrocálcinosis como del grupo sin diagnóstico de la misma, disminuyendo así la dimensión de la base de datos.

f). - Presentación de resultados.

Concordancia en las mediciones.

Se realizó evaluación de la concordancia de las mediciones en cuanto a biopsia por dos patólogos los cuales evaluaron el diagnóstico o no de condrocálcinosis, mediante concordancia de 20 muestras de patología (laminillas) a través de la determinación del índice de Kappa, teniendo límites de confianza al 95%., obteniendo un resultado de 0.68.

En cuanto a la validación para el análisis de las muestras (índice de reproducibilidad) mediante nariz electrónica, se utilizó coeficiente de valoración intra ensayo.

9. - RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES

Recursos humanos: Investigar principal y 1 residente del servicio de Traumatología y Ortopedia.

Recursos materiales: Sufragados por investigador principal. Los costes del análisis mediante nariz electrónica, serán sufragados por el CIECYT y el análisis de biopsia por el Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto.

10.- CAPACITACIÓN DE PERSONAL

Capacitación de personal: No necesaria.

Adiestramiento de personal: No necesaria.

Todas las muestras fueron tomadas por el investigador principal.

11.- FINANCIAMIENTO:

FINANCIAMIENTO DE TIPO INTERNO: El investigador principal, costeó los gastos necesarios para el estudio.

12.- RESULTADOS.

Población.

En el presente estudio, se reclutaron e incluyeron un total de 46 sujetos de estudio, siendo 17 hombres (37%) y 29 mujeres (63%). El promedio de edad fue de 66.28 años, \pm 8.6 años, 12 sujetos tienen como antecedente diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 y 16 con diagnóstico de hipertensión arterial sistémica. En cuanto al grado de artrosis, 24 pacientes fueron ingresados al estudio con diagnóstico de Gonartrosis grado III y 22 con diagnóstico de Gonartrosis grado IV. Ninguno de los pacientes contaba con diagnóstico de condrocálcinosis al momento del ingreso al estudio.

Tabla 1: Población.

Sexo	Femenino (63%)
Edad	66
Grado de Artrosis	III- 24 / IV - 22
DM	26%
HAS	34%
Sintomatología	29.3 \pm 17.4

Posteriormente al análisis de la biopsia de cartílago articular, se realizó la división en cuanto a la presencia o no de condrocálcinosis, obteniendo 26 pacientes en el grupo con diagnóstico de condrocálcinosis y 20 en el grupo sin diagnóstico del mismo.

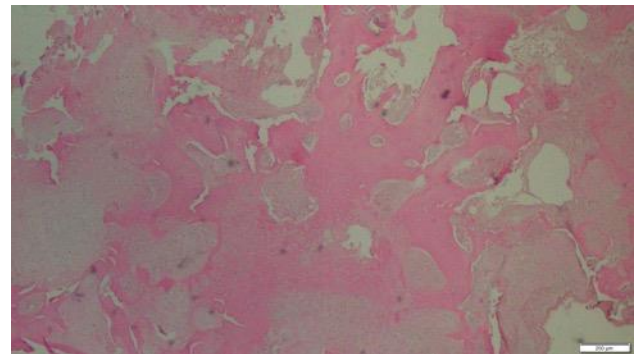
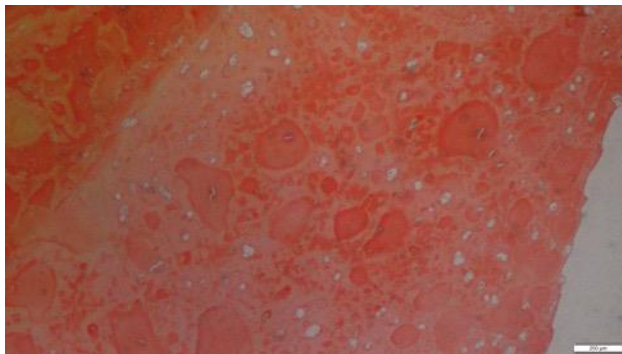


Figura a: tinción positiva con Rojo Alizarina. Figura b: Tinción negativa a Rojo Alizarina.

Tabla 2. Diferencias entre grupos.

Variable	Condrocálcinosis. n=27	No Condrocálcinosis. n=19	Valor de p	Prueba.
Sexo: Femenino, n(%)	18 (69%)	17 (85%)	p = 0.41	x2
Edad: mediana, IQR	66 (11)	68 (11)		Media / DE
Grado Artrosis				
Grado III, n (%)	8 (30%)	16 (84%)	p = 0.02	x2
Grado IV, n (%)	19 (70%)	3 (16%)	p = 0.28	x2
DM: positivo, n (%)	6 (23%)	8(42%)	p = 0.59	x2
HAS: positivo, n (%)	8 (30%)	7(36%)	p = 0.55	x2
Artrosis sintomática mediana, (IQR)	24 (24)	36 (27)		Media / DE
Lado afectado: derecho, n (%)	16 (60%)	8 (42%)	p = 0.006	x2

En cuanto a las características basales, no existieron diferencias entre aquellos pacientes incluidos dentro del grupo de condrocálcinosis y aquellos que no presentaban la enfermedad, como lo muestra la tabla 2.

Análisis de Líquido Sinovial.

Se realizó análisis de líquido sinovial, esto mediante el uso de Cyranose 320 (Sensigent ®), este equipo es una nariz electrónica portátil con 32 quimioresistores (sensores) (Para un mayor enfoque sobre el método de análisis, revisar anexos y sección correspondiente a metodología). En primer lugar, se realizó análisis de componentes principales, haciendo el análisis para seleccionar 5 componentes con mayor peso para explicar de manera consensual el modelo de análisis, obteniendo los siguientes resultados:

Mediante la gráfica de PCA (análisis de componentes principales), se observó que fueron precisamente 5 componentes los cuales explican de manera concisa el modelo de estudio, desde dos componentes principales se explica el 89.9% de la variabilidad, llegando a 96.6%

de heterogeneidad de la muestra, dejando solamente 3.4% de variabilidad de la muestra restante. Ambos resultados se muestran en la gráfica 1 y 2.

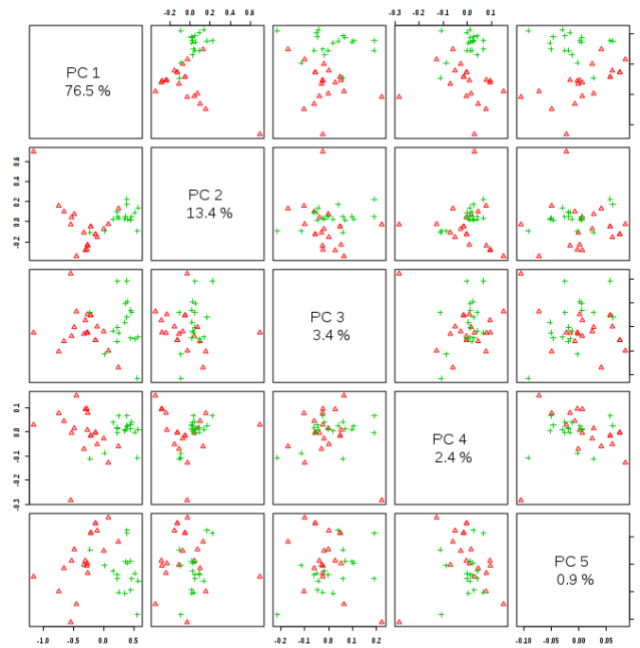


Figura 1. Análisis de Componentes Principales.

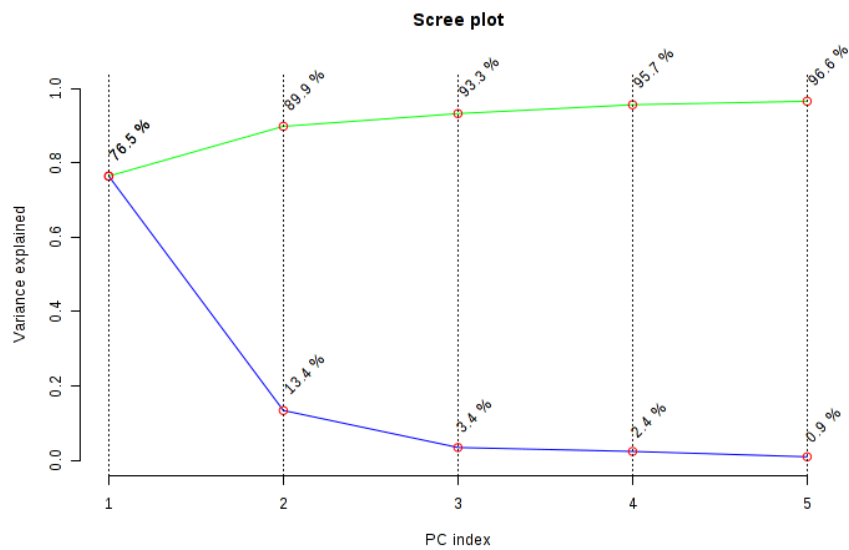


Figura 2. Sumatoria de los componentes seleccionados, explicando 96.6% del modelo.

Posteriormente, realizamos Score Plot, para identificar la variación entre ambos grupos y ver de manera gráfica si hay diferencias explicativas en base a los datos anteriormente expuestos. Llama la atención la distinción de ambos grupos.

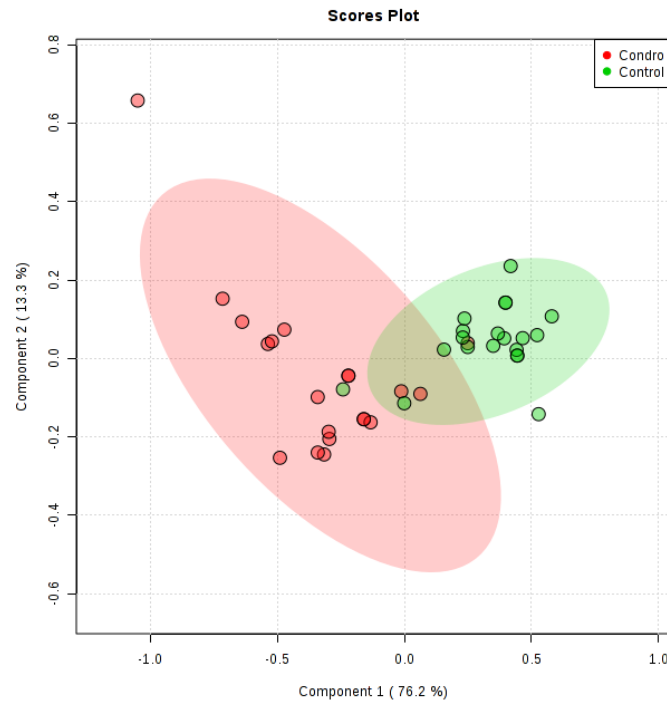


Figura 3. Score Plot. Muestra en Rojo los componentes principales del grupo con Condrocálcinosis y en verde en aquella muestra sin diagnóstico de la misma.

En cuando a la dispersión de datos, se muestra las siguientes figuras:

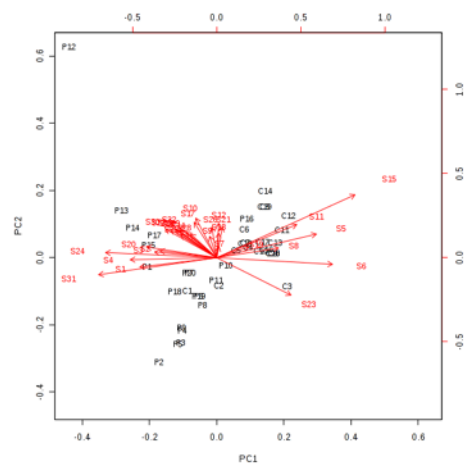
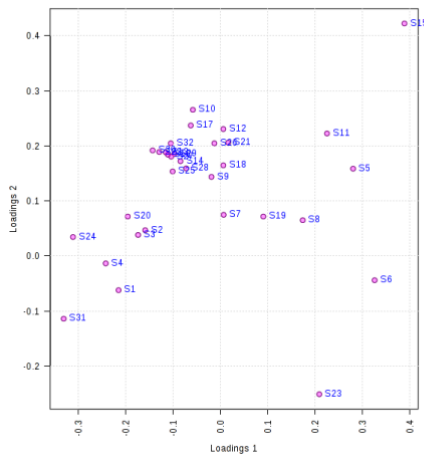
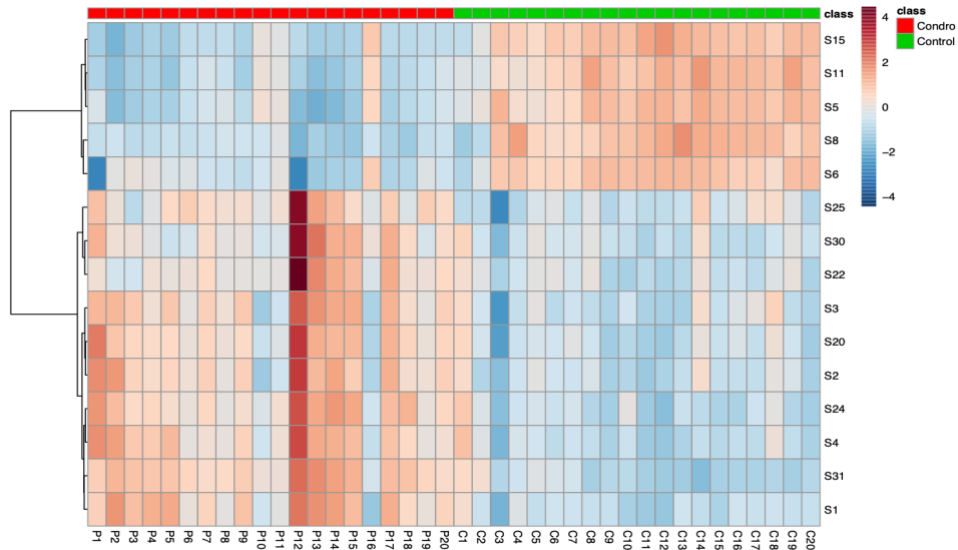


Figura 4 y 5.

Dispersión de datos. a). - Dispersión de datos según sensores reactivos. b). - Dispersión de datos según pacientes y controles.

Heatmaps.

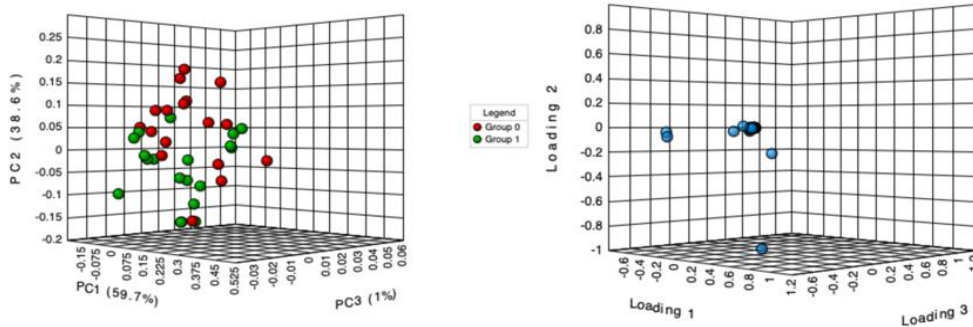
Figura 6. Heatmap.



Observar en este gráfico tipo Heatmap, de rojo los pacientes con diagnóstico de condrocálcinosis, en verde los pacientes sin diagnóstico de la misma que funcionaron como controles. Llama la atención el área estimulada de los pacientes del estudio, destacando los sensores S15, S11, S5, S8 y S6 (expresados en el eje de las Y) a diferencia del área estimulada que corresponde a los pacientes control, estimulando sensores S25, S30, S22, S3, S20, S24, S4, S31 y S1, siendo sensores totalmente diferentes a los estimulados por los pacientes estudiados.

Por último, se realizó una gráfica en 3 dimensiones, exponiendo el comportamiento de la huella olfatoria en 3 planos, observando la posibilidad de identificar ambos grupos de estudio:

Figura 7 y 8. Modelos 3D del Análisis de Componentes Principales.



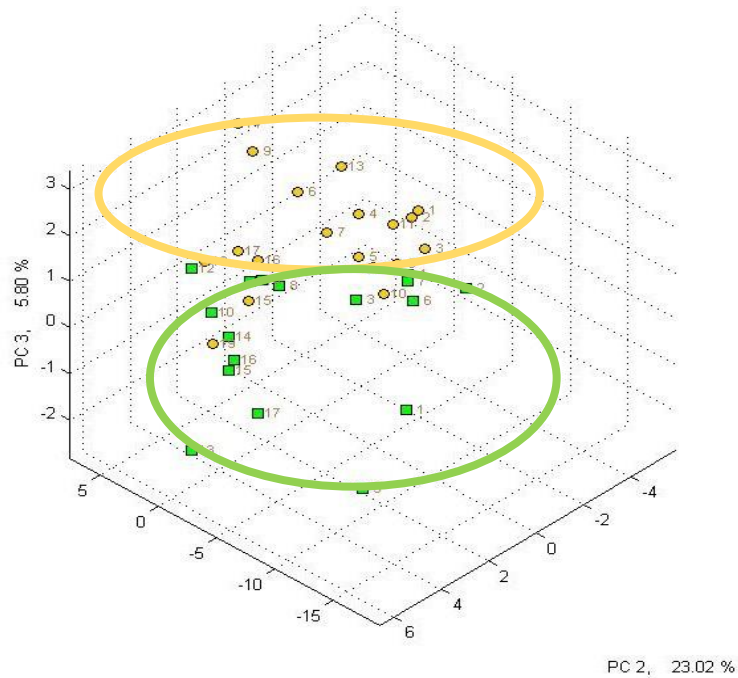


Figura 9. Representación 3D del Análisis de Componentes Principales, mostrando la divergencia de ambos grupos de estudio. (Círculo amarillo = Pacientes con condrocálcinosis). También muestra el comportamiento de la huella olfatoria en 3 planos, observando la posibilidad de identificar ambos grupos de estudio: Amarillo, pacientes con condrocálcinosis, verdes, pacientes control.

13.- Discusión.

Este estudio pretende identificar el diagnóstico de condrocálcinosis de rodilla mediante metabolómica de líquido sinovial, en donde se estudiaron 2 grupos de pacientes, con diagnóstico de condrocálcinosis de rodilla y sin el diagnóstico de la misma. Se identificaron 5 componentes mediante estudio de metabolómica por análisis mediante nariz electrónica, expresando el 96.6% del modelo de estudio mediante análisis de componentes principales. En nuestro estudio, como ya se mencionó anteriormente, se identificaron 5 componentes principales que explicaron el 96,6% del modelo estudiado (incluso, desde el segundo componente, se explica el 90% del modelo). Es estudios previos sobre metabolómica de líquido sinovial, se han identificado múltiples metabolomas dependiendo del método de análisis utilizado en los estudios; sin embargo, es poca la información y/o estudios realizados con el método de nariz electrónica. Los resultados de este estudio dan una primera indicación de que el análisis de líquido sinovial mediante nariz electrónica, puede distinguir entre pacientes con condrocálcinosis de rodilla diferenciarlos de los controles sanos. La fisiopatología de la condrocálcinosis es compleja y se basa en múltiples mecanismos; Cualquiera o una combinación de estos mecanismos, incluida la inflamación, puede influir en la huella o impresión olfatoria. Los estudios actuales sobre diferentes patologías respiratorias, han demostrado que es posible identificar marcadores inflamatorios (por ejemplo, TNF-alfa) en el condensado del aliento exhalado utilizando un inmunoensayo enzimático (14, 15). Por lo tanto, la capacidad de la nariz electrónica para distinguir a los pacientes con condrocálcinosis de los controles sanos podría (también) deberse a la influencia de la inflamación a la que están condicionados los pacientes con condrocálcinosis (16). En este estudio, la huella o impresión olfatoria de los pacientes con condrocálcinosis se comparó con el de los controles sanos. Llama la atención la gran heterogeneidad de los resultados en ambos grupos, mismos que diferencian exponiendo la capacidad diagnóstica de este método de estudio. En cuanto a todas las demás variables del estudio, ambos grupos se comportaron muy similares.

Por lo tanto, no está claro si la nariz electrónica hizo una discriminación entre los pacientes con condrocálcinosis y los controles sanos en función de algún componente específico para condrocálcinosis y no de algo se tiene en común con otras afecciones (por ejemplo, dolor, degeneración articular, lesión de tejido subcondral, etc.).

La nariz electrónica clasificó erróneamente 3 controles sanos. La clasificación errónea de los pacientes podría deberse a las diferentes etapas clínicas de la misma condrocálcinosis (aguda, subaguda, crónica). Otra explicación para la clasificación errónea de los participantes es que todavía no está claro si la nariz electrónica es capaz de medir enfermedades específicas.

Antes de que la nariz electrónica pueda usarse en la práctica clínica, se necesita investigación adicional para determinar si es capaz de distinguir entre pacientes con condrocálcinosis con otras enfermedades que muestran síntomas y signos similares o mecanismos fisiopatológicos subyacentes similares, especialmente inflamación.

Debido a los buenos resultados de este estudio, gran parte de la validación del mismo se debe a las muestras cegadas. Sin, embargo, se necesita una mayor muestra donde los resultados muestren que la nariz electrónica es capaz de diferenciar a los pacientes con condrocálcinosis de las poblaciones de pacientes sin esa enfermedad, entonces tendremos evidencia científica convincente del uso de la nariz electrónica como una muy buena herramienta diagnóstica en la práctica clínica.

Hay algunas limitaciones en este estudio. Los principales inconvenientes del pequeño tamaño de muestra y el reclutamiento de muestras. No hubo un grupo de control de la misma edad sin cambios degenerativos de la articulación de la rodilla, aunque tales muestras son difíciles de obtener y éticamente no viable. Los pacientes del estudio eran principalmente mujeres, por lo que los resultados podrían no ser aplicables a pacientes masculinos con OA. Por lo tanto, se debe realizar un estudio prospectivo a mayor escala con sujetos tratados de forma homogénea por edad y sexo para verificar las vías metabólicas dominantes con la progresión de la enfermedad usando incluso, método de análisis de metabolómica mas avanzados como lo son la cromatografía de gases o incluso, el uso de resonancia magnética, mediante los cuales se podrían identificar de manera mas específica los componentes propios de cada grupo de pacientes, obteniendo resultados incluso a nivel molecular, facilitando identificar las vías metabólicas involucradas en la fisiopatología de dicha enfermedad.

14.- Conclusiones.

Este estudio demostró que cada uno de los grupos de OA en etapas tempranas y tardías tenía perfiles de metabolitos discriminativos entre ambas enfermedades que fueron capaz de identificarlas mediante el uso de nariz electrónica. Estos hallazgos implican que las vías metabólicas podrían alterarse de manera sólida con la gravedad estructural de la condrocálcinosis y su relación con la OA y podrían proporcionar información potencial para las intervenciones dirigidas a detener la progresión de la enfermedad en las primeras etapas. También demostramos que un enfoque metabolómico podría ser una herramienta útil y efectiva para investigar una visión holística del metabolismo subyacente de las enfermedades. Cabe mencionar que, a pesar de tener como método de análisis principal, la nariz electrónica, el cual es un método que no discrimina los metabolitos como entes independientes, si no al contrario, los enumera en base a características similares y los agrupa como tal, en el ámbito clínico tiene una mayor importancia y aplicación clínica, el saber si el resultado es positivo o negativo en base a la muestra y paciente a estudiar. Por lo tanto, creemos que el resultado de este estudio aporta una muy importante herramienta de diagnóstico que incluso se puede tomar como un diagnóstico preventivo, para su posterior aplicación, evitando el desarrollo de las formas crónicas y destructivas de la articulación. La huella olfatoria puede ser una herramienta muy importante de diagnóstico para nuestra enfermedad en estudio, incluso, pudiéndose extender a otras enfermedades.

15.- Limitaciones.

Las limitaciones de este estudio principalmente se refieren al tamaño de la muestra, ya que, aunque se obtuvieron resultados alentadores, aún hay un largo camino para llegar a la prueba diagnóstica como tal. Otro de las limitaciones importantes de este estudio es el método de análisis, ya que usamos, como lo hemos dicho a lo largo de todo el trabajo, la nariz electrónica. El uso de cromatografía o incluso análisis por resonancia magnética, aportaría de manera más específica los metabolitos involucrados en la enfermedad. Sin embargo, a pesar de las limitaciones, este estudio abre un panorama bastante importante para el estudio de enfermedades por este método de análisis.

12.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- 1.- Rosenthal AK, Ryan LM. Calcium Pyrophosphate Deposition Disease. *N Engl J Med.* el 30 de junio de 2016;374(26):2575–84.
- 2.- Kohn NN, Hughes RE, McCARTY DJ, Faires JS. The significance of calcium phosphate crystals in the synovial fluid of arthritic patients: the “pseudogout syndrome”. II. Identification of crystals. *Ann Intern Med.* mayo de 1962;56:738–45.
- 3.- Schlee S, Bollheimer LC, Bertsch T, Sieber CC, Härle P. Crystal arthritides - gout and calcium pyrophosphate arthritis : Part 1: Epidemiology and pathophysiology. *Z Gerontol Geriatr.* el 23 de febrero de 2017.
- 4.- Zhang W, Doherty M, Bardin T, Barskova V, Guerne P-A, Jansen TL, et al. European League Against Rheumatism recommendations for calcium pyrophosphate deposition. Part I: terminology and diagnosis. *Ann Rheum Dis.* abril de 2011;70(4):563–70.
- 5.- Schlee S, Bollheimer LC, Bertsch T, Sieber CC, Härle P. Crystal arthritides - gout and calcium pyrophosphate arthritis : Part 2: clinical features, diagnosis and differential diagnostics. *Z Gerontol Geriatr.* el 23 de febrero de 2017;
- 6.- Mulay SR, Anders H-J. Crystallopathies. *N Engl J Med.* el 23 de junio de 2016;374(25):2465–76.
- 7.- Abhishek A, Doherty M. Update on calcium pyrophosphate deposition. *Clin Exp Rheumatol.* agosto de 2016;34(4 Suppl 98):32–8.
- 8.- Checa A, Chun W. Rates of meniscal tearing in patients with chondrocalcinosis. *Clin Rheumatol.* marzo de 2015;34(3):573–7.
- 9.- Higgins PA. Gout and pseudogout. *JAAPA Off J Am Acad Physician Assist.* marzo de 2016;29(3):50–2.
- 10.- Abhishek A, Doherty S, Maciewicz RA, Muir K, Zhang W, Doherty M. Does Chondrocalcinosis Associate With a Distinct Radiographic Phenotype of Osteoarthritis in Knees and Hips? A Case-Control Study. *Arthritis Care Res.* febrero de 2016;68(2):211–6.
- 11.- Kumar V, Pandit HG, Liddle AD, Borrer W, Jenkins C, Mellon SJ, et al. Comparison of outcomes after UKA in patients with and without chondrocalcinosis: a matched cohort study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc Off J ESSKA.* enero de 2017;25(1):319–24.
- 12.- Abhishek A, Doherty S, Maciewicz R, Muir K, Zhang W, Doherty M. Evidence of a systemic predisposition to chondrocalcinosis and association between chondrocalcinosis and osteoarthritis at distant joints: a cross-sectional study. *Arthritis Care Res.* julio de 2013;65(7):1052–8.
- 13.- Filippou G, Adinolfi A, Cimmino MA, Scirè CA, Carta S, Lorenzini S, et al. Diagnostic accuracy of ultrasound, conventional radiography and synovial fluid analysis in the diagnosis of calcium pyrophosphate dihydrate crystal deposition disease. *Clin Exp Rheumatol.* abril de 2016;34(2):254–60.
- 14.- Alvarillos A, Spilberg I. Colchicine prophylaxis in pseudogout. *J Rheumatol.* agosto de 1986;13(4):804–5.
- 15.- Rothschild B, Yakubov LE. Prospective 6-month, double-blind trial of hydroxychloroquine treatment of CPDD. *Compr Ther.* mayo de 1997;23(5):327–31.

- 16.- Chollet-Janin A, Finckh A, Dudler J, Guerne P-A. Methotrexate as an alternative therapy for chronic calcium pyrophosphate deposition disease: an exploratory analysis. *Arthritis Rheum.* febrero de 2007;56(2):688–92.
- 17.- Schmidt CW. Metabolomics: what's happening downstream of DNA. *Environ Health Perspect.* mayo de 2004;112(7):A410–415.
- 18.- Lindon, JC, Nicholson, JK, Holmes, E. *Handbook of Metabonomics and Metabolomics.* ELSEVIER; 2007. 572 p.
- 19.- Lindon JC, Nicholson JK. Spectroscopic and statistical techniques for information recovery in metabonomics and metabolomics. *Annu Rev Anal Chem Palo Alto Calif.* 2008;1:45–69.
- 20.- Wishart DS. Applications of metabolomics in drug discovery and development. *Drugs RD.* 2008;9(5):307–22.
- 21.- Sreekumar A, Poisson LM, Rajendiran TM, Khan AP, Cao Q, Yu J, et al. Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression. *Nature.* el 12 de febrero de 2009;457(7231):910–4.
- 22.- Hoxha A, Ruffatti A, Alberioli E, Lorenzin M, Oliviero F, Mattia E, et al. Erosive osteoarthritis, psoriatic arthritis and pseudogout; a casual association? *Clin Rheumatol.* julio de 2016;35(7):1885–9.
- 24.- Han BK, Kim W, Niu J, Basnyat S, Barshay V, Gaughan JP, et al. Chondrocalcinosis in Knee joints is associated with Pain but not with Synovitis: Data from the Osteoarthritis Initiative. *Arthritis Care Res.* el 27 de enero de 2017;
- 25.- Musacchio E, Ramonda R, Perissinotto E, Sartori L, Hirsch R, Punzi L, et al. The impact of knee and hip chondrocalcinosis on disability in older people: the ProVA Study from northeastern Italy. *Ann Rheum Dis.* noviembre de 2011;70(11):1937–43.
- 26.- Osborne JW, Costello AB. Sample size and subject to item ratio in principal components analysis. *Pract Assess Res Eval.* 2004;9(11):8.
- 27.- Flahault A, Cadilhac M, Thomas G. Sample size calculation should be performed for design accuracy in diagnostic test studies. *J Clin Epidemiol.* agosto de 2005;58(8):859–62.
- 28.- <http://www.metabolomicsplatform.com>, es la página de la Plataforma Metabolómica de CIBERDEM-URV, en la que se describen los recursos y servicios metabolómicos ofrecido
- 29.- <http://www.metabolomicssociety.org>, página de la Sociedad Metabolómica Internacional, en la que se describen sus principales actividades y conferencia
- 30.- <http://www.hmdb.ca>, página de la Human Metabolome Data Base.
- 31.- http://masspec.scripps.edu/metabo_science/index.php, página de un centro de referencia metabolómica basada en espectrometría de masas
- 32.- http://www1.imperial.ac.uk/medicine/about/divisions/sora/biomol_med/, página de uno de los grupos pioneros en metabolómica.
- 33.- Osborne JW, Costello AB. Sample size and subject to item ratio in principal components analysis. - Practical Assessment, Research & Evaluation. 2004;9(11).
- 34.- Flahault A, Cadilhac M, Thomas G. Sample size calculation should be performed for design accuracy in diagnostic test studies. *J Clin Epidemiol.* 2005 Aug;58(8):859– 62.

- 35.- Wu, H., et al., Metabolomic investigation of gastric cancer tissue using gas chromatography/mass spectrometry. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2010. 396(4): p. 1385-1395.
- 36.- Beata Mickiewicz, Bryan J. Heard. Metabolic Profiling of Synovial Fluid in a Unilateral Ovine Model of Anterior Cruciate Ligament Reconstruction of the Knee Suggest Biomarkers for Early Osteoarthritis. *J. of Orthopaedic Research*. January 2015. (8) p(71-77).
- 37.- Elizabeth M. Leiner, Kirk L. Pappan. Lipid Profile of Human Synovial Fluid Following Intra-articular Ankle Fracture. *J. Orthopaedic Research*. March 2017 p. 657-666.
- 38.- Renata Bujak, Wiktoria Struck-Lewicka. Metabolomics for laboratory Diagnosis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 113(2015) 108-120.
- 39.- E.C. Horning, M.G. Horning, Metabolic profiles: gas-phase methods for analysis of metabolites, *Clin. Chem.* 17 (1971) 802–809.
- 40.- E.C. Horning, M.G. Horning, Human metabolic profiles obtained by GC and GC/MS, *J. Chromatogr. Sci.* 9 (1971) 129–140.
- 41.- L. Pauling, A.B. Robinson, R. Teranishi, P. Cary, Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 68 (1971) 2374–2376.
- 43.- J.K. Nicholson, J.C. Lindon, E. Holmes, Metabonomics: understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data, *Xenobiotica* 29 (1999) 1181–1189.
- 44.- O. Fiehn, Combining genomics, metabolome analysis, and biochemical modeling to understand metabolic networks, *Comp. Funct. Genom.* 2 (2001) 155–168.
- 45.- M.G. Barderas, C.M. Laborde, M. Posada, F. de la Cuesta, I. Zubiri, F. Vivanco, G. Alvarez-Llamas, Metabolomic profiling for identification of novel potential biomarkers in cardiovascular diseases, *J. Biomed. Biotechnol.* 790132 (2011), <http://dx.doi.org/10.1155/2011/790132>.
- 46.- E.Szyman'ska, E.Saccenti, A.K.Smilde, J.A.Westerhuis, Double-check: validation of metabolomic data, *Anal. Chim. Acta* 618 (2008) 1–12.
- 47.- O. Beckonert, H.C. Keun, T.M.D. Ebbels, J. Bundy, E. Holmes, J.C. Lindon, J.K. Nicholson, Metabolic profiling, metabolomic and metabonomic procedures for NMR spectroscopy of urine, plasma, serum and tissue extracts, *Nat. Protoc.* 2 (2007) 2692–2703.
- 48.- D.I. Ellis, W.B. Dunn, J.L. Griffin, J.W. Allwood, R. Goodacre, Metabolic fingerprinting as a diagnostic tool, *Pharmacogenomics* 8 (2007) 1243–1266.
- 49.- V. Mapelli, L. Olsson, J. Nielsen, Metabolic footprinting in microbiology: methods and applications in functional genomics and biotechnology, *Trends Biotechnol.* 26 (2008) 490–497.
- 50.- J.C. Lindon, J.K. Nicholson, Analytical technologies for metabonomics and metabolomics, and multi-omic information recovery, *TrAC: Trend Anal. Chem.* 27 (2008) 194–204.
- 51.- Röck F, Barsan N, Weimar U (2008) Electronic nose: current status and future trends. *Chem Rev* 108:705–725
- 52.- Fens N, de Nijs SB, Peters S et al (2011) Exhaled air molecular profiling in relation to inflammatory subtype and activity in COPD. *Eur Respir J* 38:1301–1309

ANEXOS.

Anexo 1. Hoja de recolección de datos.

ID:		
Fecha.		
Nombre del Paciente.		
Domicilio / Teléfono		
Edad / Sexo		
Rodilla Afectada.	<input type="checkbox"/> Izquierda. <input type="checkbox"/> Derecha.	
Grado de Artrosis.		
Datos Radiográficos	<input type="checkbox"/> Sin datos. <input type="checkbox"/> Esclerosis Subcondral. <input type="checkbox"/> Estrechamiento espacio articular. <input type="checkbox"/> Osteofitos marginales. <input type="checkbox"/> Compromiso Unicompartamental. <input type="checkbox"/> Compromiso Bicompartamental. <input type="checkbox"/> Compromiso Tricompartamental.	
Líquido Sinovial.	<input type="checkbox"/> Se obtuvo. <input type="checkbox"/> Incapacidad en su obtención.	
Sangre.	<input type="checkbox"/> Se obtuvo. <input type="checkbox"/> Incapacidad para la obtención.	
Biopsia.	Se obtuvo la muestra <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Cóndilo Medial. <input type="checkbox"/> Cóndilo Femoral.	
Resultado Biopsia	<input type="checkbox"/> Condrocálcinosis. <input type="checkbox"/> No Condrocálcinosis.	
Metabolomas Líquido Sinovial.		
Metabolomas Suero.		

Anexo 2: Consentimiento Informado.

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI.
FACULTAD DE MEDICINA.
MAESTRÍA EN CIENCIAS E INVESTIGACIÓN CLINICA.
HOSPITAL CENTRAL DR. IGNACIO MORONES PRIETO
DEPARTAMENTO DE TRAUMATOLOGÍA Y ORTOPEDIA.**

CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Título del Proyecto.

Condrocálcinosis de Rodilla: Identificación de Huella o Impresión Olfatoria en Líquido Sinovial.

No. Registro Autorización.

Periodo de Ejecución del Protocolo.

Investigador Principal

Adscripción del Investigador Principal

Dr. Milton I. Ramírez Trujillo.

Médico Adjunto Servicio de Traumatología y Ortopedia.
Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto.
San Luis Potosí, San Luis Potosí.

Investigador Responsable en Hospital

Adscripción del Investigador Responsable.

Dr. Marco Ulises Martínez Martínez.

Médico Adjunto Servicio de Reumatología.
Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto.
San Luis Potosí, San Luis Potosí.

El Departamento de Traumatología y Ortopedia del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”, pretende realizar un protocolo de investigación con el objetivo de estudiar y determinar la huella metabólica en líquido sinovial de rodilla. En este estudio, se pretende incluir 50 pacientes durante 1 año, iniciando en la fecha aprobación del protocolo, los cuales son pacientes mayores de 50 años, que sean candidatos a un reemplazo primario de rodilla (que se les colocará una prótesis en la rodilla), que tengan su expediente completo, realizándose en el Departamento de Ortopedia y Traumatología del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”.

Información al Paciente.

La condrocálcinosis, es una enfermedad, la cual consiste en la acumulación de cristales de pirofosfato cálcico en el grosor del cartílago articular. De forma crónica o de manera tardía, la condrocálcinosis hace que el cartílago de la rodilla, se degenere o “desgaste” de una manera muy agresiva. Los cristales de pirofosfato de calcio, pueden depositarse además del cartílago, en tendones, ligamentos y cápsulas articulares. La articulación más frecuentemente afectada es la rodilla. En ocasiones, la enfermedad puede incluso ser asintomática. La forma crónica frecuentemente se acompaña de osteoartritis, por lo cual es una patología que requiere tratamiento específico para el desgaste del cartílago por los cristales de calcio, ya que, si se diagnostica de manera temprana, tendrá una mejor evolución.

La metabólica, es una nueva línea de estudio que se usa para investigar nuevos diagnósticos, la cual tiene como objetivo principal, identificar componentes de sangre, o líquidos de diferentes partes del cuerpo, para así, valorar la contribución de los factores tanto genéticos, ambientales y como el conjunto de variables para asociar a una enfermedad

Usted ha sido invitado(a) a participar en este estudio ya que cumple con los criterios necesarios para participar en el mismo (enunciados con anterioridad). En este estudio, se pretende estudiar mediante una muestra de líquido sinovial (obtenido durante su cirugía) y una muestra de sangre (obtenida mediante una jeringa estéril, del pliegue del codo, donde usualmente se toma sus estudios rutinarios), la asociación que existe entre los metabolomas en sangre (componentes sanguíneos determinados por la técnica ya mencionada “metabólica”) y líquido sinovial (obtenido durante su cirugía del hueso de deshecho) y el diagnóstico de condrocálcinosis de rodilla. Para llevar a cabo este estudio, se incluirán pacientes para formar 2 grupos, uno en el cual el paciente se determine con diagnóstico de condrocálcinosis y aquéllos que no la tengan.

Procedimientos a los que se someterán los pacientes.

Si usted acepta participar en este estudio de investigación es de manera voluntaria, se le pedirá que lea cuidadosamente este documento y al terminar haga todas las preguntas necesarias al médico investigador responsable (Dr. Milton Ismael Ramírez Trujillo), para poder resolver sus dudas. Cuando se le hayan respondido todas sus dudas, se le pedirá firme su aceptación de participación final de este documento y se le pedirán datos como su nombre,

edad, peso, estatura y antecedentes personales en una entrevista aproximada de 10 minutos que se realizará por el investigador principal (Dr. Milton Ismael Ramírez Trujillo). Para mantener su privacidad en cuanto a los datos, se le asignará un código con el cual, solo los investigadores principales sabrán su identidad.

Su médico tratante, ha explicado con fluidez cuales son las características de su enfermedad y la importancia de mantener el control de la misma, y por qué usted ha sido seleccionado para una artroplastía primaria de rodilla también conocida como prótesis de rodilla.

Además de la entrevista, le solicitaremos autorización para realizar mediciones clínicas de los movimientos de sus rodillas, y en el momento de su cirugía, se tomarán 10 ml de sangre (con jeringa estéril, del pliegue del codo, como usualmente se toma sus estudios para sus consultas médicas), 5 ml de líquido sinovial de la rodilla afectada y una porción (biopsia) de hueso de la misma rodilla (ambos tomados durante su cirugía, en donde no sentirá molestia alguna y serán tomados de material que usualmente se deshecha), en donde cabe mencionar, que al ser parte del procedimiento quirúrgico, no afectarán el resultado de su evento quirúrgico y no provocarán dolor, por que como se mencionó anteriormente, se encontrará bajo anestesia durante su cirugía.

Beneficios para el paciente.

Usted no recibirá un beneficio directo o inmediato cuando se realicen las tomas de tejido. Usted estará colaborando con el área de Investigación del departamento de Traumatología y Ortopedia del Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto. Este estudio, busca una manera diferente de diagnosticar de una manera más temprana la enfermedad conocida como condrocálcinosis mediante el análisis de sangre y líquido sinovial.

Potenciales Riesgos para el paciente.

Los riesgos potenciales de su participación son mínimos. El personal que está realizando el estudio, se encuentra altamente capacitado.

En cuanto a la muestra o biopsia de hueso, esta se realizará durante la cirugía, en donde se tomará dicha muestra de los cortes de hueso que se realiza en su rodilla para colocar la prótesis, en donde, dichos cortes, al ser producto de deshecho, no afectarán el resultado de su cirugía.

Importante es que usted no recibirá ningún pago por formar parte y participar en el estudio, además se le entregará una copia de este documento.

Confidencialidad.

La información que le será solicitada y usted proporcionará, será utilizada con el fin de encontrar la huella metabólica de la enfermedad conocida como condrocálcinosis en una toma de líquido sinovial. Para lo cual, se le pedirán datos como nombre, dirección, números telefónicos, edad, así como otros datos que se consideren necesarios y los cuales se encuentren dentro de la Ley antes mencionada.

Por nuestra parte, es importante hacer de su conocimiento, que todos los datos proporcionados serán tratados bajo extremas medidas de seguridad y siempre garantizando su confidencialidad. Toda esta información se conjuntará con la de otros pacientes para realizar el presente estudio. Con la finalidad de mantener el anonimato, se asignará un código para el uso de sus datos.

Si usted así lo decide, los investigadores responsables de este estudio, le podrán informar a su médico tratante que usted ha aceptado participar en este estudio, para que la información

que se obtenga sea incluida en su expediente clínico. Con esta finalidad, le pediremos que indique al final de este documento si está o no de acuerdo con lo expresado anteriormente.

Los resultados de este estudio, serán publicados con fines científicos en revistas médicas especializadas dirigidas al personal médico. También, estos mismos resultados, pueden ser presentados en reuniones científicas en donde se discuten hallazgos que han tenido junto a otros estudios con el mismo diagnóstico. Los datos se presentarán de forma anónima y de tal manera que usted o cualquiera de los pacientes que participen en este estudio no podrán ser identificados.

De acuerdo a la Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados y de acuerdo con la Ley de Protección de Datos Personales del Estado de San Luis Potosí, sus datos personales no podrán tratarse, transferirse o utilizarse para fines no descritos expresamente en este documento, a menos que sea estrictamente necesario para el ejercicio y cumplimiento tanto de las obligaciones y atribuciones expresamente revisadas en las normas y reglamentos que condicionan la conducta de los investigadores responsables del estudio; se dé cumplimiento a un mandato legal; sea necesarios por razones de seguridad pública, salud público, orden pública o guardar de derechos de terceras personas.

Participación o retiro.

Usted tiene la libertad de negarse a participar en este estudio de investigación; pero si decide participar, usted puede en cualquier momento y sin explicación alguna, anular el consentimiento que ahora usted está firmando. La decisión de participar en el estudio, o de no hacerlo, debe saber usted que no afectará el trato médico que usted reciba en el Hospital para el tratamiento de su enfermedad. Si usted decide ya no participar en este estudio, deberá comunicarlo al Dr. Milton Ismael Ramírez Trujillo, al teléfono 4442813851, quien le proporcionará un documento muy sencillo en el que usted pondrá algunos de sus datos e indicará que ya no desea participar en el estudio.

Consideraciones Éticas.

Este estudio se considera de bajo riesgo ya que no se tomarán decisiones referentes a su tratamiento y únicamente se le solicitará la autorización para la toma de muestras como única participación. La muestra de sangre se tomará del pliegue de su codo (como usualmente se toman cualquier estudio de sangre de rutina), la muestra de hueso, se tomarán de los cortes de hueso que usualmente se desechan durante el procedimiento, el líquido sinovial por igual, se tomará durante la cirugía, mismo que se tomará del desecho.

No solicitamos autorización para revisar su expediente clínico, únicamente se le hará una pequeña entrevista como ya se explicó previamente.

Compromiso de respuesta a preguntas y dudas.

Para cualquier aclaración sobre este documento, este estudio o sus intervenciones, usted puede comunicarse con:

Dr. Milton Ismael Ramírez Trujillo.

Departamento de Traumatología y Ortopedia

Servicio de Reemplazo Articular.

Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto.

Av. Venustiano Carranza 2395,

Col. Zona Universitaria, San Luis Potosí, S.L.P.

C.P. 78290

**San Luis Potosí, San Luis Potosí.
Cel. 44 42 81 38 51**

Si usted tiene preguntas generales relacionadas con sus derechos como participante de un estudio de investigación puede comunicarse con el coordinador del Comité Estatal de Ética en Investigación: Dr. Antonio Gordillo Moscoso al teléfono 01 444 826 2342 ext. 6688 en un horario de 9:00-13:00 hrs.

Aceptación del documento de Consentimiento Informado.

Si usted está de acuerdo con la participación de manera voluntaria en el estudio de investigación, proporcione su nombre, firma y fecha de este documento en los espacios proporcionados en la parte inferior de este documento. En caso de que usted esté de acuerdo y firme, quiere decir que:

- 1.- Se me ha dado información completa y adecuada de forma verbal y por escrito sobre el objetivo del estudio y se ha explicado los riesgos y beneficios de participar con un lenguaje claro y entendible.
- 2.- Se ha informado que se puede retirar del consentimiento informado y terminar la participación del estudio. Se han realizado todas las preguntas a la persona que realiza el proceso de consentimiento y se han dado respuestas satisfactorias.
- 3.- Se han aclarado cualquier punto de no entendimiento en relación a la participación en este estudio.
- 4.- He respondido todas las preguntas en torno al estado de salud en forma precisa y sin esconder información alguna.
- 5.- Soy mayor de edad y legalmente capaz de entender y firmar consentimiento informado.
- 6.- Acepto participar en este estudio de manera voluntaria. Entiendo que mi negación a participar, no implica penalización o pérdida de beneficios.
- 7.- Se me ha explicado de forma personal y clínica que me he consentido a proporcionar, conservar la privacidad y que se utilizará solo para fines que deriven del estudio.
- 8.- Los investigadores que participan en este proyecto se han comprometido a darle información actual obtenida durante el presente estudio en el momento en el que lo solicite y me entregarán una copia de este documento de consentimiento informado.

Por medio del presente documento de consentimiento informado, acepto participar en el estudio “Condrocálcinosis de rodilla: determinación de huella metabólica en líquido sinovial”, de manera libre y voluntaria.

Autorización para el uso de datos clínicos.

Se solicita que indique su acuerdo y desacuerdo para que los investigadores responsables de este proyecto puedan utilizar los datos clínicos, de manera anónima para la realización de este protocolo de investigación, cuyos objetivos y procedimientos se le han explicado y que usted de manera libre y voluntaria les ha proporcionado. Marque con una X su respuesta:

___ Si, doy mi autorización a los investigadores que participan en este proyecto para el uso de los datos clínicos que les he proporcionado en la investigación que me han explicado.

___ No doy mi autorización a los investigadores que participan en este proyecto para el uso de los datos clínicos que les he proporcionado en la investigación que me han explicado.

___ Si, doy mi autorización para que mi médico tratante sea informado sobre los resultados de este estudio.

Por medio de este documento de consentimiento informado, acepto participar en el estudio de investigación denominado “Condrocálcinosis de Rodilla: Identificación de huella metabólica en líquido sinovial”.

NOMBRE DEL PACIENTE

FIRMA

--	--

FECHA DE FIRMA:

NOMBRE TESTIGO 1

FIRMA TESTIGO 1

--	--

FECHA DE FIRMA:

DIRECCIÓN / TELEFONO.

NOMBRE TESTIGO 2

FIRMA TESTIGO 2

--	--

FECHA DE FIRMA:

DIRECCIÓN / TELEFONO.

<p>DR. MILTON ISMAEL RAMIREZ TRUJILLO. INVESTIGADOR PRINCIPAL RESPONSABLE DEL ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN. HOSPITAL CENTRAL DR. IGNACIO MORONES PRIETO. DEPARTAMENTO DE TRAUMATOLOGIA Y ORTOPEDIA. DIVISIÓN DE REEMPLAZO ARTICULAR. CP. 9002515</p>

<p>DR. MARCO ULISES MARTINEZ MARTINEZ INVESTIGADOR RESPONSABLE DEL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN EN EL HOSPITAL DE ADSCRIPCION HOSPITAL CENTRAL DR. IGNACIO MORONES PRIETO. DEPARTAMENTO DE REUMATOLOGÍA.</p>

Anexo 3: Revocación Consentimiento Informado.

REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Manifiesto al investigador principal, el Dr. Milton Ismael Ramírez Trujillo, que es mi voluntad revocar el consentimiento informado que he aceptado el día _____, para participar en el protocolo de Investigación, titulado “Condrocálcinosis de Rodilla: Identificación de huella metabólica en líquido sinovial”. Es derecho solicitar mis datos clínicos y personales, así como los resultados de las pruebas que me han realizado hasta el momento sean eliminadas de esta investigación y ya no sean incluidas en los resultados finales y los reportes o publicaciones que se generarán de este estudio de investigación.

NOMBRE DEL PACIENTE

FIRMA

--	--

NOMBRE TESTIGO 1	FIRMA
NOMBRE TESTIGO 2	FIRMA

<p>DR. MILTON ISMAEL RAMIREZ TRUJILLO. INVESTIGADOR PRINCIPAL RESPONSABLE DEL ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN. HOSPITAL CENTRAL DR. IGNACIO MORONES PRIETO. DEPARTAMENTO DE TRAUMATOLOGIA Y ORTOPEDIA. DIVISIÓN DE REEMPLAZO ARTICULAR. CP. 9002515</p>

Anexo 4.- Aviso de Privacidad de Datos.

Aviso de Privacidad.

En base a lo estipulado en la Ley Federal de la Protección de Datos Personales en Posesión de Particulares, se le pide lea de manera cuidadosa y de forma responsable, como se protegerán sus datos personales.

Título del Estudio: Condrocálcinosis de Rodilla: Identificación de impresión olfatoria.

Investigadores responsables del estudio: Dr. Milton I. Ramírez Trujillo, Dr. Marco Martínez-Martínez.

Contacto: Dr. Milton I. Ramírez Trujillo. Tel. Cel. 44 42 81 38 51.

INFORMACIÓN SOLICITADA.

La información que le será solicitada y usted proporcionará, será utilizada con el fin de encontrar la huella metabólica de la enfermedad conocida como condrocálcinosis en una toma de líquido sinovial. Para lo cual, se le pedirán datos como nombre, dirección, números telefónicos, edad, así como otros datos que se consideren necesarios y los cuales se encuentren dentro de la Ley antes mencionada.

Por nuestra parte, es importante hacer de su conocimiento, que todos los datos proporcionados serán tratados bajo extremas medidas de seguridad y siempre garantizando su confidencialidad.

Usted, como dueño de sus datos personales, tiene el derecho de cancelar, así como de oponerse al consentimiento que se haya otorgado al inicio del estudio, esto, al dirigir una carta por escrito al investigador principal: Dr. Milton I. Ramírez Trujillo, Tel. Cel. 44 42 81 38 51, email: artroscopia@outlook.com.

Si por su parte no presenta objeción alguna para que sus datos personales se compartan en las instancias anteriormente mencionadas (CIECYT, Hospital Central y UASLP), , se entenderá que ha otorgado el consentimiento para dicho uso. Si usted está de acuerdo con lo anteriormente mencionado, favor de marcar las líneas siguientes.

_____ No me gustaría que mis datos personales sean transferidos en las condiciones que señala el presente aviso de privacidad. Asimismo, se le entregará un formato, por parte del investigador principal, el cual deberá firmar de conformidad.

Nombre y Firma del Titular. _____
San Luis Potosí, San Luis Potosí, a _____ de _____ del 20____.



17 MAYO 2018
COMITE DE ETICA
EN INVESTIGACION
SAN LUIS POTOSI, S.L.P.

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI
FACULTAD DE MEDICINA.
MAESTRÍA EN CIENCIAS E INVESTIGACIÓN CLÍNICA.
HOSPITAL CENTRAL DR. IGNACIO MORONES PRIETO
DEPARTAMENTO DE TRAUMATOLOGÍA Y ORTOPEDIA



Hospital Central
Dr. Ignacio Morones Prieto

COMITE
DE
INVESTIGACION

CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Título del Proyecto.

Condrocalcinosis de Rodilla: Diagnóstico Mediante Metabolómica en Líquido Sinovial.

No. Registro Autorización.

Periodo de Ejecución del Protocolo.

Investigador Principal

Dr. Milton I. Ramírez Trujillo.

Adscripción del Investigador Principal

Médico Adjunto Servicio de Traumatología y Ortopedia.

Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto.

San Luis Potosí, San Luis Potosí.

Investigador Responsable en Hospital

Dr. Marco Ulises Martínez Martínez.

Adscripción del Investigador Responsable.

Médico Adjunto Servicio de Reumatología.

Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto.

San Luis Potosí, San Luis Potosí.

El Departamento de Traumatología y Ortopedia del Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto", pretende realizar un protocolo de investigación con el objetivo de estudiar y determinar la huella metabolómica en líquido sinovial de rodilla. En este estudio, se pretende incluir 60 pacientes durante el periodo de 1 año, a partir de la fecha aprobación del protocolo, los cuales son pacientes mayores de 50 años, que sean candidatos a un reemplazo primario de rodilla (que se les colocará una prótesis en la rodilla), que tengan su expediente completo, realizándose en el Servicio de Traumatología y Ortopedia del Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto".

Información al Paciente.

La condrocalcinosis, es una enfermedad, la cual consiste en el depósito de cristales de calcio a nivel del cartilago de la rodilla.

De forma crónica o de manera tardía, la condrocalcinosis hace que el cartilago de la rodilla, se degenere o "desgaste" de una manera muy agresiva. Los cristales de pirofosfato de calcio, pueden depositarse además del cartilago, en tendones, ligamentos y cápsulas articulares. La articulación más frecuentemente afectada es la rodilla. En ocasiones, la enfermedad puede

Anexo 5. Tratamiento de las muestras (Metabolómica).

Una vez tomadas las muestras, se almacenarán a -70 grados centígrados. después, se hará extracción mediante fase sólida (SPME), ya que ésta será utilizada como método de extracción. La cromatografía de gases aunada a espectrometría de masas, será utilizada como método de detección y separación. Las fibras evaluadas fueron 1.-Carboxen-Polidimetilsiloxano (CAR-PDMS) de 75 y 85 micrómetros y 2.- Carbowax-Divinilbenceno (CW-DVB) de 65 y 100 micrómetros. Para el análisis se utilizó un Cromatógrafo de Gases acoplado a un detector de Masas con Impacto electrónico con una columna HP 5MS (60m x 0.25 mm x 0.25 micras). La Espectrofotometría de Masas en modalidad SCAN (30-300 m/z), se utilizó para identificar con una mayor exactitud cercana los componentes a analizar (exactitud cercana al 99%). Este método realiza la comparación del espectro de la molécula analizada en relación a la biblioteca del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología de Estados Unidos (NIST). Los compuestos se seleccionarán mediante el Monitoreo Selectivo de Iones (SIM) mediante fragmentos de masas específicos.

El análisis de los metabolitos puede llevarse a cabo por tres métodos:

- 1.- Por medio de Identificación del Metabolito: realizado por NMR, en el cual los picos obtenidos tienen similitudes a un metabolito específico ya determinado.
- 2.- Métodos no Supervisados: en los cuales incluye análisis de componentes principales (PCA), el cual es un algoritmo encargado de reducir el tamaño de una determinada base de datos con el fin de explicar lo de la manera mas concordante la variación de los datos. Los componentes principales no son relacionados y los componentes considerados de manera primaria, son los que cuentan con una mayor variación. Ya identificados los componentes principales, estos se grafican en un mapa de PCA. Cada conjunto identificado representa una huella metabolómica distinta, dichas huellas pueden son utilizadas como marcadores tanto pronósticos como diagnósticos.
- 3.- Métodos Supervisados: se incluye análisis discriminativo de cuadrados parciales, en este método se describe matriz y resultados definiendo una superficie bidimensional “n” separando los datos en diferentes clases.
- 4.- Análisis de Trayectoria Geométrica.
- 5.- Modelaje Basado en Entropía.
- 6.- Algoritmos genéticos, como Regresión o Lasso.

Se utilizó Flash Gas Chromatography Electronic Nose la cual es una base de datos que contiene 295000 índices de kovats que se obtuvieron de 44000 compuestos. Se compone de 2 columnas de polaridad diferente dispuestas en paralelo, la DB-5 y la llamada DB 1701. Adjunto a esto, Ionizadores de flama cuya función es aumentar la sensibilidad.

Análisis mediante Nariz Electrónica.

Para la determinación del patrón químico de los grupos de estudio se utilizó la Cyranose 320 (Sensigent ®), este equipo es una nariz electrónica portátil con 32 quimioresistores (sensores). Los quimiorreceptores están compuestos de polímeros de carbono incorporados a una matriz. Esta matriz adsorbe los compuestos orgánicos volátiles de la muestra causando un aumento en la resistencia eléctrica. Este cambio de resistencia eléctrica resulta en una huella digital específica (breathprint) ocasionada por las diferencias en la resistencia eléctrica. Cada quimioresistor tiene diferentes propiedades en la adsorción de compuestos

orgánicos volátiles produciendo diversos grados de respuesta debido a su composición de polímeros (poly-vinyl butyral, poly-vinyl acetate, poly-styrene y poly-ethylene oxide) y a las nanopartículas de conducción (carbono negro y nanotubos de carbono) por las que están compuestos. las muestras de suero se descongelaron a temperatura ambiente y posteriormente se agregaron 300 μ l a un vial de 20 ml y se sellaron con una septa, posteriormente se llevaron a incubación durante 30 min a 37°C con la finalidad de favorecer la volatilización de los COVs. Posteriormente se tomaron 10 mL/ min de la muestra volatilizada con a nariz electrónica y se extrajeron los datos de los 32 sensores.

Anexo 6. Tratamiento de las muestras (Biopsia).

Una vez obtenido el tejido apto para proceso de biopsia, se envió al departamento de Anatomía Patológica del Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto. Ya en laboratorio, se llevó a cabo el proceso de fijación mediante el uso de formaldehído al 10% con buffer. Una vez fijado el tejido, se llevó a procesamiento en parafina (inclusión o parafinización) obteniendo bloques de parafina, mismos que se les realizaron cortes histológicos de 4 micras de espesor, posteriormente, dichos cortes se colocaron en laminillas de cristal para su posterior tinción, usando Rojo de Alizarina.

Para el proceso del retiro de la parafina, los cortes fueron sometidos a impresiones secuenciales, primero en xilol (Xilol I: 10 minutos y Xilol II: 10 minutos), posteriormente, como segunda inmersión, se utilizó etanol (alcohol 100% por 5 minutos; alcohol 96% por 5 minutos; alcohol 80% por 5 minutos y por último alcohol 70%, 5 minutos mas). Para la tercera inmersión secuencial, se utilizó agua destilada durante 5 minutos.

Una vez obtenido el proceso de desparafinización, las laminillas con los tejidos incluidos, fueron sometidos a tinción con Rojo Alizarina y su posterior montaje, siendo estos listos para el estudio microscópico.

Anexo 7. Carta Aprobación Comité de Ética.



HOSPITAL CENTRAL
"DR. IGNACIO
MORONES PRIETO"

San Luis Potosí, S.L.P., a 17 de mayo de 2018

Dr. Milton Ismael Ramírez Trujillo
Investigador Principal:

Por este medio se le comunica que su protocolo de investigación titulado **"Condrocálcinosis de Rodilla: Identificación de Huella Metabólica en Líquido Sinovial"**, fue evaluado por el Comité de Investigación, con Registro en COFEPRIS 17 CI 24 028 093, así como por el Comité de Ética en Investigación de esta Institución con Registro CONBIOETICA-24-CEI-001-20160427, y fue dictaminado como:


APROBADO

El número de registro es **50-18**, el cual deberá agregar a la documentación subsecuente, que presente a ambos comités.

De igual forma pido sea tan amable de comunicar a los Comités de Investigación y de Ética en Investigación: la fecha de inicio de su proyecto, la evolución y el informe final pertinente.

*Se le recuerda que todos los pacientes que participen en el estudio deben firmar la versión sellada del formato de consentimiento informado.

Atentamente


Dra. Ma. Del Pilar Fonseca Leal
Sub-Directora de Educación e Investigación en Salud
Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto"



C.C.P. Archivo

Av. Venustiano Carranza No. 2395
Zona Universitaria
San Luis Potosí, S.L.P. C.P. 78290
Tel. 01 (444) 198-10-00
www.hospitalcentral.gob.mx

Anexo 8. Carta de Compromiso Servicio Patología.

San Luis Potosí, 3 de Mayo de 2018.

Comité de Ética en Investigación.
HC. "Dr. Ignacio Morones Prieto".

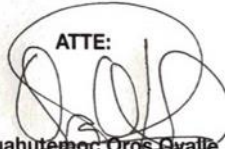
P R E S E N T E

A quien corresponda.

Por medio de la presente, se hace de su conocimiento, que el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto", nos encontramos enterados del Protocolo de Investigación titulado **"Condrocálcinosis de Rodilla: Identificación de Huella Metabólica en Líquido Sinovial"** que será llevado a cabo por el **Dr. Milton Ismael Ramírez Trujillo en el Departamento de Traumatología y Ortopedia**, para lo cual, se incluye análisis de biopsias de cartilago articular de rodilla, en la cual, el Departmante antes mencionado, se compromete a realizar el análisis de las biopsias las cuales no conllevan un costo alguno. Asimismo, las tinciones serán financiadas por el investigador principal, no interfiriendo con la logística del Hospital Central o del Seguro Popular.

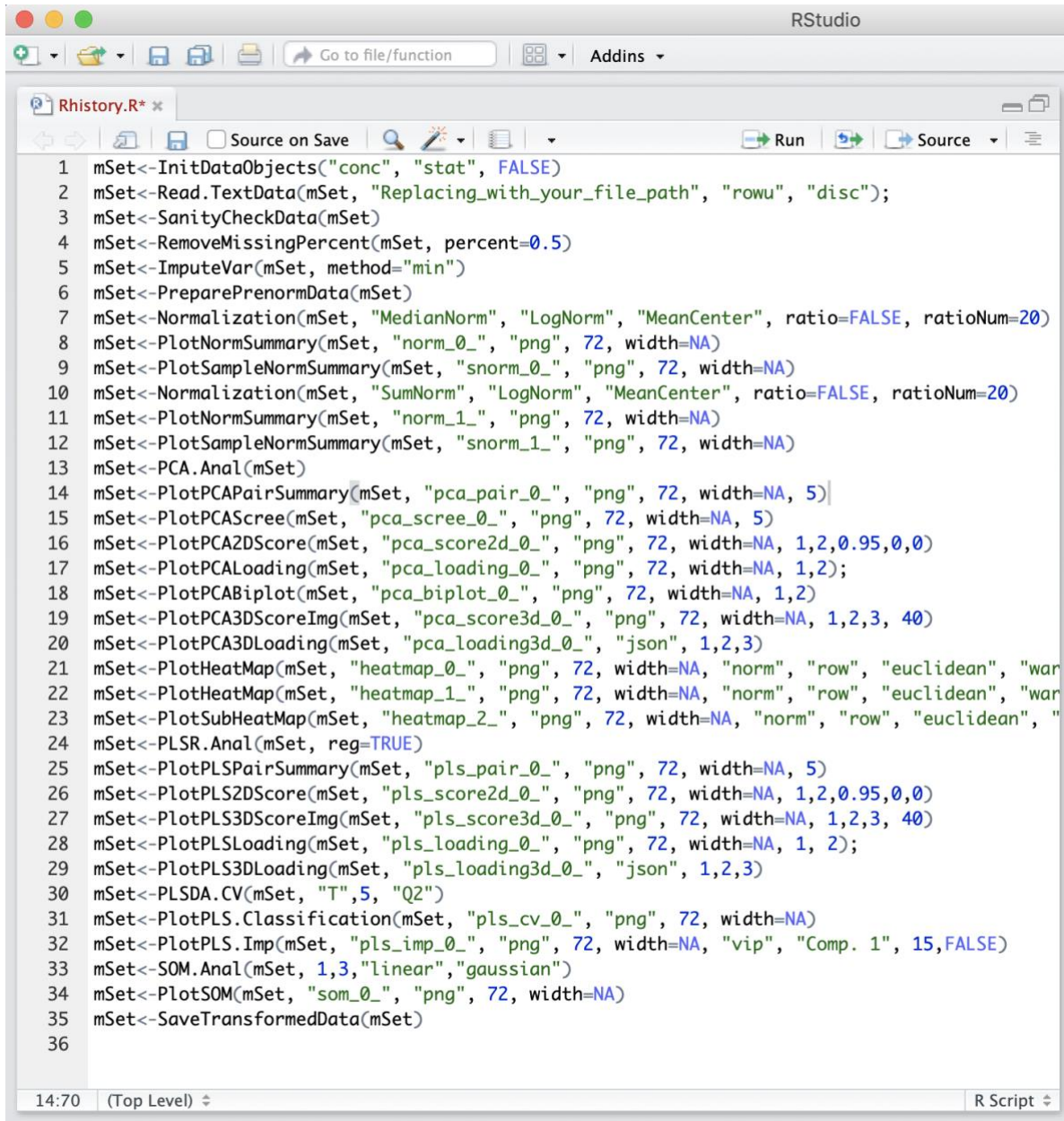
Sin mas por el momento, reciba un cordial saludo.

ATTE:



Dr. Cuahutemoc Oros Ovalle.
Jefe del Departamento de Anatomía Patológica.
Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto.

Anexo 9. Markdown.



```

1 mSet<-InitDataObjects("conc", "stat", FALSE)
2 mSet<-Read.TextData(mSet, "Replacing_with_your_file_path", "rowu", "disc");
3 mSet<-SanityCheckData(mSet)
4 mSet<-RemoveMissingPercent(mSet, percent=0.5)
5 mSet<-ImputeVar(mSet, method="min")
6 mSet<-PreparePrenormData(mSet)
7 mSet<-Normalization(mSet, "MedianNorm", "LogNorm", "MeanCenter", ratio=FALSE, ratioNum=20)
8 mSet<-PlotNormSummary(mSet, "norm_0_", "png", 72, width=NA)
9 mSet<-PlotSampleNormSummary(mSet, "snorm_0_", "png", 72, width=NA)
10 mSet<-Normalization(mSet, "SumNorm", "LogNorm", "MeanCenter", ratio=FALSE, ratioNum=20)
11 mSet<-PlotNormSummary(mSet, "norm_1_", "png", 72, width=NA)
12 mSet<-PlotSampleNormSummary(mSet, "snorm_1_", "png", 72, width=NA)
13 mSet<-PCA.Anal(mSet)
14 mSet<-PlotPCAPairSummary(mSet, "pca_pair_0_", "png", 72, width=NA, 5)
15 mSet<-PlotPCAScree(mSet, "pca_scre_0_", "png", 72, width=NA, 5)
16 mSet<-PlotPCA2DScore(mSet, "pca_score2d_0_", "png", 72, width=NA, 1,2,0.95,0,0)
17 mSet<-PlotPCALoading(mSet, "pca_loading_0_", "png", 72, width=NA, 1,2);
18 mSet<-PlotPCABiplot(mSet, "pca_biplot_0_", "png", 72, width=NA, 1,2)
19 mSet<-PlotPCA3DScoreImg(mSet, "pca_score3d_0_", "png", 72, width=NA, 1,2,3, 40)
20 mSet<-PlotPCA3DLoading(mSet, "pca_loading3d_0_", "json", 1,2,3)
21 mSet<-PlotHeatMap(mSet, "heatmap_0_", "png", 72, width=NA, "norm", "row", "euclidean", "war
22 mSet<-PlotHeatMap(mSet, "heatmap_1_", "png", 72, width=NA, "norm", "row", "euclidean", "war
23 mSet<-PlotSubHeatMap(mSet, "heatmap_2_", "png", 72, width=NA, "norm", "row", "euclidean", "
24 mSet<-PLSR.Anal(mSet, reg=TRUE)
25 mSet<-PlotPLSPairSummary(mSet, "pls_pair_0_", "png", 72, width=NA, 5)
26 mSet<-PlotPLS2DScore(mSet, "pls_score2d_0_", "png", 72, width=NA, 1,2,0.95,0,0)
27 mSet<-PlotPLS3DScoreImg(mSet, "pls_score3d_0_", "png", 72, width=NA, 1,2,3, 40)
28 mSet<-PlotPLSLoading(mSet, "pls_loading_0_", "png", 72, width=NA, 1, 2);
29 mSet<-PlotPLS3DLoading(mSet, "pls_loading3d_0_", "json", 1,2,3)
30 mSet<-PLSDA.CV(mSet, "T", 5, "Q2")
31 mSet<-PlotPLS.Classification(mSet, "pls_cv_0_", "png", 72, width=NA)
32 mSet<-PlotPLS.Imp(mSet, "pls_imp_0_", "png", 72, width=NA, "vip", "Comp. 1", 15,FALSE)
33 mSet<-SOM.Anal(mSet, 1,3,"linear","gaussian")
34 mSet<-PlotSOM(mSet, "som_0_", "png", 72, width=NA)
35 mSet<-SaveTransformedData(mSet)
36

```

