



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
"DR. VICTORIO DE LA FUENTE NARVAEZ"
DISTRITO FEDERAL**

HOSPITAL DE ORTOPEDIA Y HOSPITAL DE TRAUMATOLOGIA

**"ALTERACIONES DE LOS ELECTROLITOS DEL LÍQUIDO SINOVIAL EN
OSTEOARTRITIS"**

REVISION INTEGRATIVA DE LA LITERATURA.

**TESIS DE POSTGRADO
PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN:**

ORTOPEDIA

**PRESENTA:
DR. MARIO ALFONSO PARADA CARREÑO**

**DRA. ELIZABETH PÉREZ HERNÁNDEZ.
INVESTIGADOR RESPONSABLE Y TUTOR**



MEXICO D.F. AGOSTO DEL 2012 REGISTRO: R-2012-3401-25



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**Universidad Nacional Autónoma De México
Instituto Mexicano Del Seguro Social**

**Unidad Medica De Alta Especialidad
“Dr. Victorio De La Fuente Narváez”
Distrito Federal**

2

TESIS DE POSTGRADO:

**“ALTERACIONES DE LOS ELECTROLITOS DEL LÍQUIDO SINOVIAL EN
OSTEOARTRITIS”**

REVISION INTEGRATIVA DE LA LITERATURA.

Registro: R-2012-3401-25

Tesis alumno de especialidad en ortopedia:

Dr. Mario Alfonso Parada Carreño*

Investigador responsable y tutor: Dra. Elizabeth Pérez Hernández**

* Medico residente de 4to grado, Especialidad en Ortopedia y Traumatología, sede HTOVFN.

** Dra. Elizabeth Pérez Hernández, Medico Anatomopatólogo, Doctora en Ciencias, Especialidad en Patología Experimental, Jefe de la División de Educación e Investigación en Salud, Hospital de Ortopedia “Dr. Victorio de la Fuente Narváez” (HOVFN), Distrito Federal.

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
“DR. VICTORIO DE LA FUENTE NARVAEZ”
DISTRITO FEDERAL**

HOJA DE APROBACIÓN

3

Dr. Lorenzo Rogelio Bárcena Jiménez
Director de la Unidad Médica de Alta Especialidad “Dr. Victorio de la Fuente Narváez” - Distrito Federal

Dr. José Jaime González Hernández
Director del Hospital de Ortopedia de la Unidad Médica de Alta Especialidad
“Dr. Victorio de la Fuente Narváez” - Distrito Federal

Dr. Uriah Medardo Guevara López
Director de Educación e Investigación en Salud Unidad Médica de Alta Especialidad
“Dr. Victorio de la Fuente Narváez” - Distrito Federal

Dr. Leobardo Roberto Palapa García
Jefe de División de Educación en Salud, Hospital de Traumatología
“Dr. Victorio De La Fuente Narváez” - Distrito Federal

Dr. Rubén Torres González
Jefe De División de Investigación en Salud, Unidad Medica de Alta Especialidad
“Dr. Victorio De La Fuente Narváez” - Distrito Federal

Dra. Elizabeth Pérez Hernández
Jefe de División de Educación e Investigación en Salud, Hospital de Ortopedia, Unidad Médica de Alta Especialidad
"Dr. Víctor De La Fuente Narváez" - Distrito Federal
INVESTIGADOR RESPONSABLE Y TUTOR

Dr. Manuel Ignacio Barrera García
Coordinador Clínico de Educación en Salud del Hospital de Ortopedia Unidad Médica de Alta Especialidad
"Dr. Víctor de la Fuente Narváez" - Distrito Federal

Dr. Benjamín Joel Torres Fernández
Profesor Titular de la Especialidad de Ortopedia, Unidad Médica de Alta Especialidad
"Dr. Víctor de la Fuente Narváez" - Distrito Federal

INDICE

1. Resumen.....	1
2. Marco Teórico.....	4
3. Justificación y Planteamiento del problema.....	8
4. Pregunta de investigación	9
5. Objetivos.....	9
6. Hipótesis.....	9
7. Materiales y Métodos.....	9
7.1 Diseño del estudio.....	9
7.2 Sitio del estudio.....	9
7.3 Periodo del estudio.....	9
7.4 Criterios de selección de estudios	10
7.5 Estrategias de búsqueda	10
7.6 Evaluación de la calidad de la información	11
7.7 Análisis de los datos.....	11
7.8 Síntesis de la información.....	12
7.9 Recursos humanos y materiales.....	13
7.10 Flujograma.....	14
8. Consideraciones éticas.....	14
9. Resultados.....	15
9.1 Resultados de la búsqueda	15
9.2 Redacción de la revisión	16
10. Conclusiones.....	25
11. Referencias.....	27
12. Cronograma de actividades.....	28

1. RESUMEN

La osteoartritis (OA) es la enfermedad articular crónica degenerativa más común, de distribución mundial y la principal causa de dolor y discapacidad. Este padecimiento afecta más frecuentemente las articulaciones de carga como cadera, rodilla y columna y se asocia a diversos factores de riesgo como obesidad, factores genéticos, ejercicio de alto impacto y envejecimiento.

El líquido sinovial (LS) es un reflejo de los cambios que ocurren en el cartílago articular, sin embargo, en la mayoría de las ocasiones no se realiza una valoración adecuada, ni se brinda importancia a su estudio. En trabajos previos, se han descrito cambios en las concentraciones de electrolitos postmortem en LS y humor vítreo relacionadas con el tiempo de evolución de la muerte. En OA las alteraciones del proceso de mecanotransducción en condrocitos pudieran estar reflejadas en las concentraciones de electrolitos en el LS, sin embargo, a pesar del conocimiento de este proceso, se desconoce la existencia de esta asociación con la enfermedad.

Objetivo: Realizar una revisión integrativa de la literatura respecto a los cambios electrolíticos del LS en OA.

Material y métodos: Tipo de estudio: Revisión integrativa. Se incluirán todos aquellos estudios experimentales y clínicos en los cuales se haya realizado un análisis bioquímico (electrolitos: sodio, potasio, calcio, cloro, magnesio y fósforo) de LS en OA.

Resultados: Los cambios artrósicos progresivos se han demostrado con el aumento de los niveles de citoquinas asociadas a OA (21 citoquinas en el LS asociadas a OA de rodilla, entre ellas IL-2, IL-5, y MCP-1.), que se correlacionan con el aumento y la evidencia de inflamación del tejido sinovial en la articulación de la rodilla que se evidencia en las tomas de biopsias.

El papel de la proteína morfogenética ósea (BMP-7) en el proceso patológico de la degeneración del cartílago podría relacionarse con la patogénesis de la OA de la rodilla. La sobreexpresión de BMP-7 en el plasma y el LS se relaciona con daños progresivos en la articulación en OA de rodilla.

Recientemente, se ha demostrado que los condrocitos responden a cambios en la osmolaridad en la regulación de la expresión génica de factores condrogénicos de transcripción (Sox9) y / o constituyentes de la matriz extracelular (MEC). Se sugiere que las células progenitoras mesenquimales (sfMPCs) tienen un papel en el control iónico intracelular y pueden equilibrar rigurosamente el flujo de agua y iones a través de la membrana plasmática con variabilidad en la osmolaridad.

La pérdida de la MEC durante las enfermedades degenerativas de las articulaciones, como en OA, y la disminución de la osmolaridad en el microambiente de los condrocitos contribuyen a la disminución de los niveles de RNAm de SOX9 observada en los condrocitos en la artrosis del cartílago.

El valor promedio del pH del LS de las articulaciones con OA fue de 7.9. La concentración de ácido hialurónico, albúmina, y globulina-G en el LS normal varió de 3.0 a 3.5, 7 a 18, y de 0.5 a 2.9 mg / ml, respectivamente. Se ha demostrado que el pH en el LS es diferente en diversos estados inflamatorios incluyendo OA.

Conclusiones: Se ha demostrado diversas alteraciones o cambios fisiopatogénicos en la articulación de la rodilla con OA principalmente a nivel de la osmolaridad consecuencia de las alteraciones a nivel de la membrana sinovial, así también la presencia de fenestraciones endoteliales sinoviales, alteración en la permeabilidad de canales iónicos, aumento de la permeabilidad vascular y alteraciones de los componentes del líquido sinovial. Presencia de leucocitosis, generación de O_2 que facilitan la liberación de hierro en el LS en las articulaciones con OA, las alteraciones en el pH y la disminución de O_2 , la sobreexpresión de BMP-7 en el LS, el aumento de los niveles de citoquinas asociadas a OA (21 citoquinas en el LS asociadas a OA de rodilla, entre ellas

IL-2, IL-5, y MCP-1.), Durante el proceso de mecanotransducción normal de las articulaciones de carga, el estímulo mecánico se convierte en eventos bioquímicos, y a este respecto en OA, se han descrito alteraciones en los canales iónicos mecanosensibles con el consecuente incremento o disminución del flujo iónico en los condrocitos.

No existe literatura aun, en la que se hayan medido o analizado las concentraciones de electrolitos en pacientes con OA en LS sin embargo esta investigación sienta un precedente al desarrollo de proyectos de investigación futuros los cuales serán encaminados a indagar aspectos fundamentales en la patogenia y hallar mecanismos fisiopatologicos clave en la enfermedad, brindando una oportuna intervención y un área de acción para el estudio de nuevos tratamientos así como de nuevos métodos terapéuticos en la OA encaminados a restablecer la homeostasis en la cavidad articular y enlentecer la progresión de la enfermedad en nuestros pacientes.

2. MARCO TEORICO

La osteoartritis (OA) es un trastorno muy común relacionado con la edad, que se caracteriza por la pérdida progresiva de cartílago articular, engrosamiento del hueso subcondral, desgaste óseo en los márgenes articulares, e inflamación crónica de la membrana sinovial¹. Los sitios más comúnmente afectados en la rodilla son los compartimientos tibio-femorales mediales y laterales, y el patelo-femoral. Clínicamente la artrosis se manifiesta con dolor, rigidez de corta duración, fisuras e hinchazón de las articulaciones, y el rango de movimiento es limitado. El diagnóstico de la OA depende de la historia clínica y examen físico, conjuntamente con los hallazgos radiográficos que demuestran disminución en el espacio articular, formación de osteofitos, y esclerosis del hueso subcondral. Aunque la investigación clínica en OA es extensa, la fisiopatogenia de esta enfermedad sigue siendo en gran parte poco clara².

La rodilla es una articulación de carga y durante el proceso de mecanotransducción el estímulo mecánico se convierte en una secuencia de eventos bioquímicos³. En OA, se han descrito alteraciones en los canales iónicos mecanosensibles que incrementan o disminuyen el flujo iónico; estos cambios se han identificado en células como osteocitos, condrocitos, células endoteliales, miocitos y fibroblastos⁴.

El líquido sinovial (LS) es un reflejo de los cambios que ocurren en el cartílago articular, en diversos estudios se ha demostrado la liberación de proteínas relacionadas con OA al LS, como son la proteína morfogenética ósea (BMP-7), IL-2, IL-5, y proteínas enzimáticas de tipo metaloproteasas como la MMP-15. Desafortunadamente, en la mayoría de las ocasiones no se realiza una valoración adecuada, ni se brinda importancia al estudio del LS.

El LS o fluido articular es un dializado del plasma sanguíneo, modificado por las células del tipo B de la membrana sinovial, principalmente por la adición de ácido hialurónico y glucosamina, sintetizados por los sinoviocitos. El término “sinovia” (del griego: *syn*: junto y *ovum*: huevo) deriva del hecho de que el

movimiento articular ocurre entre dos partes que se juntan en un medio que se asemeja a la clara del huevo. Entre las funciones del LS se describe como medio de transporte de nutrientes al cartílago articular avascular, además de facilitar la función mecánica de las articulaciones a través de la lubricación; generalmente entra al cartílago por difusión y se dispersa por la compresión y la relajación del mismo durante el movimiento^{6,7}.

El promedio de la osmolaridad del LS de la rodilla en articulaciones en reposo se reporta alrededor de 404 ± 57.0 mmol por kilogramo y posterior a correr una milla de 301 ± 19.0 mmol por kilogramo. Recordando que la osmolaridad sanguínea es igual a $2\text{Na}^+ + \text{K}^+ + \text{glucemia (mg/dl)} / 18 + \text{BUN (mg/dl)} / 2.8$, y el LS es un ultrafiltrado del plasma, se pueden evaluar con esta fórmula los cambios que experimenta el LS en OA y otros padecimientos articulares⁸.

En el cuadro 1 se detalla la composición del líquido sinovial en condiciones normales.

Componentes	Promedio	Rango
Volumen en rodilla	1,1 ml	0,13- 3,5
Viscosidad a 25 °C	235,0	5,7- 1160,0
Globulina	0,05 g/100m	
Proteínas Totales	3 grs%	2,5-3,5 grs%
pH	7,4	7,2-7,4
Peso Específico	1,04	
Recuento de Blancos	150/ mm	30-750
Recuento Diferencial		
Granulocitos Neutrófilos	6,5 %	0-25
Linfocitos	24,6 %	0-78
Monocitos	47,9 %	0-71
Clasmaticitos	10,1 %	0-26
Cél. de Revestimiento	4,3 %	0-12
Sólidos Totales	3,41 g/100ml	2,4 - 4,83
Nitrógeno Total	0,88 g/100ml	0,71-1,16
Nitrógeno no Proteico	32,0 mg/100ml	22,0 - 43,0
Albúmina y Globulina	1,72 g/100ml	1,07-2,13
Mucina Nitrógeno	0,004 mg/ml	0,068-0,135
Mucina Glucosamina	0,074 g/100ml	0,012-0,132
Azúcar (Glucosa)	95.0 mg/100	68,0-132,0
Ácido Úrico	3,6 mg/100ml	3,3- 4,7
Ácido Láctico	21,0 mg/100ml	13,0-28,0
Cenizas	0,88 %	0,79-1,10
Cloruro de Sodio	554,0 mg/100ml	409,0-663,0
Calcio	9,7 mg/100ml	8,3-10,7
CO ₂ Total	57,0 vol. %	43,1-68,1
Ácido Hialurónico	300mg/% (79)	
Albúmina	1,02 g/100ml	

Cuadro 1. Valores normales de líquido sinovial en rodilla⁹

En estudios previos de LS y humor vítreo postmortem, se han descrito cambios en las concentraciones de electrolitos relacionadas con el tiempo de evolución de la muerte¹⁰. Estas modificaciones se mencionan en el cuadro 2 relacionadas con las horas de fallecimiento.

	0-6 hrs postmortem	Promedio	24-36 hrs postmortem	Promedio
Sodio (Na) mEq/L	121.7 - 369.2	162.4	126.1- 197.4	165.7
Potasio (K) mEq/L	4.23 -12.2	7.17	14.04 -15.94	15.01
Cloro (Cl) mEq/L	108.21- 188.7	132.47	121.1 -151.3	136.97
Calcio (Ca) mg/l	0.3 - 15.8	6.38	1.04-2.8	1.84
Creatinina mg/l	0.11 - 6.37	1.58	1.3-1.7	1.5
Glucosa mg/l	1.47 - 281	28.81	0.89-1.24	1.08
Urea mg/l	1.5 - 183.1	39.55	38.3-52.5	44.45

Cuadro 2. Electrolitos en líquido sinovial postmortem¹¹.

Es bien sabido que en OA, los condrocitos experimentan disminución en el potencial osmótico e incrementan el contenido de agua relacionado con la progresión de la enfermedad. Al parecer, estos cambios podrían ser una respuesta de la participación de diversos canales iónicos en el proceso de mecanotransducción; además de relacionar las alteraciones en la mecanotransducción con la degradación de la matriz extracelular (MEC).

Sin embargo, a pesar del conocimiento en este proceso y las hipótesis planteadas, las manifestaciones de estos cambios respecto a las concentraciones iónicas en OA y su asociación con la evolución del padecimiento se desconocen.

3. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La OA es actualmente un problema de salud pública, es considerada como la enfermedad articular más frecuente a nivel mundial y una de las principales causas de dolor articular y discapacidad de la población adulta. Es difícil estimar la incidencia y prevalencia con exactitud, sin embargo, se estima que más del 80% de los pacientes mayores de 60 años presentan alteraciones radiológicas de OA al menos en una articulación¹². Esta prevalencia incrementa con la edad, en el sexo femenino, además de relacionarse con la obesidad, el trauma, con factores genéticos y mecánicos¹³. En el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) constituye uno de los diez principales motivos de consulta al médico familiar.

El proceso degradativo del cartílago en OA es una consecuencia de la pérdida de la homeostasis, y ésta se ha relacionado con cambios en el potencial de membrana y osmótico¹⁴. Sin embargo, la secuencia de los eventos mecanobiológicos necesarios para el mantenimiento de la MEC y su asociación con la OA son poco entendidos.

El LS además de su contenido similar al plasma, presenta elementos provenientes de los tejidos articulares proximales incluyendo la membrana sinovial y el cartílago articular. Por lo tanto, su composición es un indicador esencial de la enfermedad articular y podría reflejar los mecanismos fisiopatogénicos que están siendo involucrados en la progresión de la artropatía.

Actualmente no hay reportes sobre los cambios bioquímicos (electrolíticos) que ocurren en el LS en OA y por lo tanto se desconoce su relación con la fisiopatogenia y la evolución de la enfermedad. En el presente proyecto se realizó una revisión integrativa de la literatura, respecto a las determinaciones de electrolitos del LS en asociación con OA degenerativa y plantear posibles hipótesis respecto a la participación iónica en la fisiopatogenia de la OA.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Existen alteraciones en los electrolitos del LS asociadas a OA?

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general.

Realizar una revisión integrativa de la literatura respecto a los cambios electrolíticos del LS en OA.

5.2 Objetivos específicos.

1. Determinar la variabilidad de las concentraciones de electrolitos (sodio, potasio, calcio, cloro, magnesio, fósforo y magnesio) del LS en OA.
2. Plantear posibles hipótesis respecto al papel que podrían desempeñar estos cambios iónicos en la fisiopatogenia de la OA.

6. HIPÓTESIS.

No requerida por el tipo de estudio.

7. MATERIAL Y METODOS

7.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Revisión integrativa de la literatura.

7.2 SITIO DEL ESTUDIO

División de Educación e Investigación en Salud, Hospital de Ortopedia “Dr. Victorio de la Fuente Narváez” Distrito Federal. Av. Colector 15 S/N (Eje Fortuna), casi Esq. Av. Instituto Politécnico Nacional, Col. Magdalena de las Salinas, Delegación Gustavo A. Madero, C.P. 07760, Ciudad de México, Distrito Federal.

7.3 PERIODO

La revisión integrativa de la literatura se realizó durante los meses de Junio y Julio del 2012.

7.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN DE ESTUDIOS:

Criterios de inclusión:

- Se incluyeron estudios experimentales y clínicos en los cuales se haya realizado la determinación de electrolitos e índice de osmolaridad en líquido sinovial en modelos de OA inducida y OA humana de origen primario, independientemente de la metodología empleada, de la especie y del tipo de análisis realizado.
- Se incluyeron todos los estudios experimentales y clínicos que incluían individuos con OA, independientemente del tipo de clasificación o escala utilizada para el diagnóstico y gradación de la enfermedad.
- Los estudios seleccionados incluyeron a todos los reportados en la literatura mundial, en idioma inglés y español, sin límite respecto a fecha de publicación.

Criterios de exclusión:

- Todos aquellos ensayos o estudios experimentales realizados en artropatías secundarias (origen inmunológico, infeccioso o de depósito).
- Estudios en los cuales se incluyeron tratamientos farmacológicos, viscosuplementación, u otras terapias intraarticulares previas que pudieran haber influido en la lectura de las concentraciones iónicas.

METODOLOGÍA

7.5 ESTRATEGIAS DE BÚSQUEDA

Palabras clave: Osteoarthritis; Synovial Fluid; Osmolality; Natrium; Potassium; Calcium; Chloride; Phosphorus; Magnesium, (términos Mesh).

Búsquedas electrónicas. La búsqueda de la información se realizó en las bases de datos electrónicas: Pub Med-NCBI, SciFinder, ScienceDirect,

Cochrane library, trip database, Current Contents y EBSCO. La identificación de los autores más destacados en el tema se obtuvo mediante el Science Citation Index.

7.6 EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LA INFORMACIÓN

Debido a la variedad de tipos de estudios que se incluyen en una revisión integrativa, la evaluación de la calidad de los mismos es compleja; sin embargo de acuerdo a lo reportado se evaluó la autenticidad de los estudios, la calidad metodológica correspondiente dependiendo del tipo de estudio, el valor de la información y la representatividad de las fuentes primarias¹⁵.

7.7 ANÁLISIS DE LOS DATOS.

El análisis de los datos de los estudios evaluados, se ordenó, codificó, categorizó y resumió integrando una conclusión acerca de la problemática planteada¹⁶. Los pasos seguidos incluyeron reducción de datos, muestreo de los mismos, comparación, conclusión y/o modelos conceptuales y verificación¹⁷,¹⁸.

De acuerdo a esta metodología el análisis constó de las siguientes fases:

- La primera evaluación incluyó la clasificación preliminar de los documentos sobre la base de su contenido y criterios organizativos.
- Posteriormente se llevó a cabo la selección y extracción de la información más relevante o sobresaliente, con la finalidad de eliminar toda la que no fue necesaria, y así reducir el volumen de los materiales que se manipularon.
- Verificación de los conceptos o datos en extractos individuales (segunda evaluación).

7.8 SÍNTESIS DE LA INFORMACIÓN.

La síntesis constó de las siguientes etapas:

- Ordenamiento y combinación de la información extractada dentro de cada epígrafe o subepígrafe propuesto.
- Evaluación comparativa de los diferentes extractos o datos (tercera evaluación).
- Resolución de los conflictos que pudieron presentarse entre los diferentes resúmenes.
- Condensación de la información en una estructura y forma más asequible y de acuerdo con los objetivos y fuentes trabajadas.

7.9 REDACCIÓN DEL ESCRITO DE REVISIÓN.

Secciones:

- Introducción (incluidos objetivos del trabajo).
- Métodos (recolección de información, materiales, etc.).
- Análisis e integración de la información (resultados y discusión).
- Conclusiones

7.10 RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD

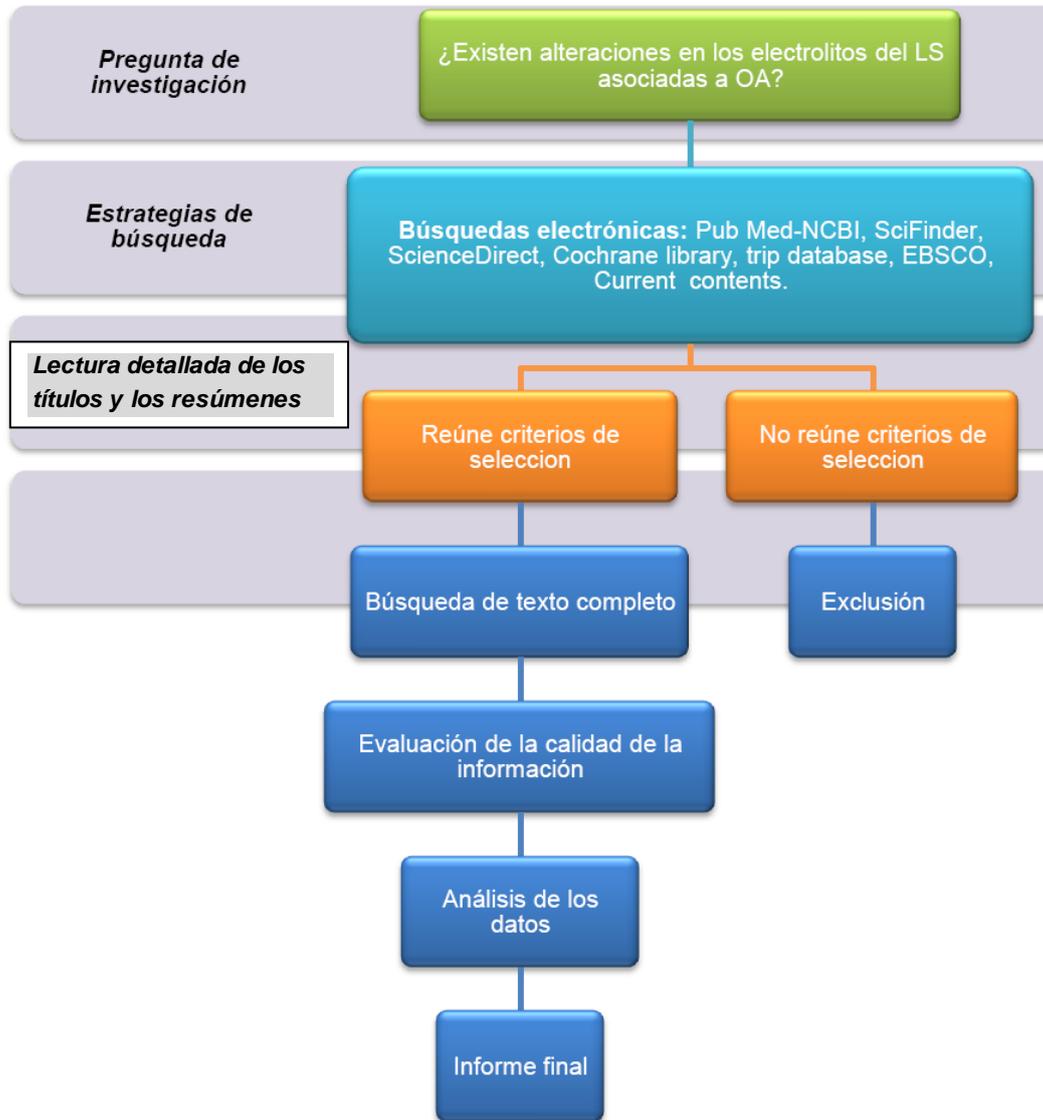
Dra. Elizabeth Pérez Hernández. Doctora en Ciencias, Especialidad en Patología Experimental, Médico Anatomopatólogo.

Dr. Mario Alfonso Parada Carreño, Médico Residente en periodo de Adiestramiento de Especialidad en Ortopedia.

Materiales: Equipo de computo con acceso a internet. Acceso a Bases de datos: Pub Med-NCBI, SciFinder, ScienceDirect, Cochrane library, trip database, Current Contents y EBSCO.

Factible y financiamiento no requerido.

7.11 FLUJOGRAMA

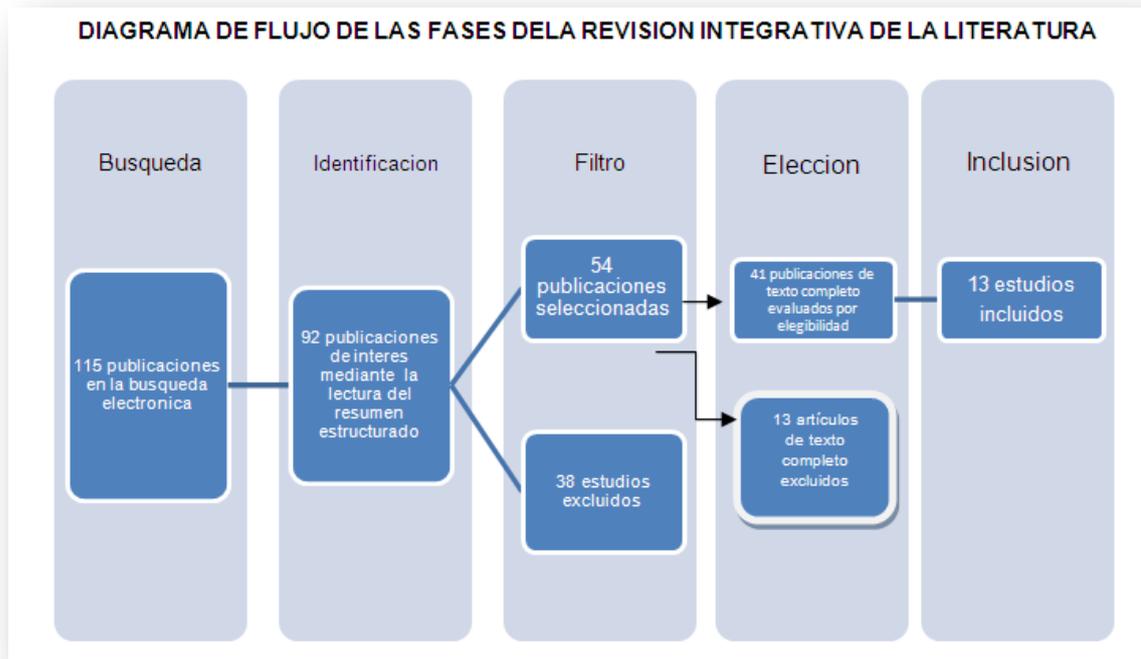


8. CONSIDERACIONES ÉTICAS

- El presente estudio cumple con las Recomendaciones Éticas Nacionales e Internacionales vigentes en Materia de Salud.
- Se apega a los principios éticos básicos de beneficencia, no maleficencia, justicia y libre determinación.
- Consentimiento informado NO requerido.

9. RESULTADOS

La selección de los estudios se llevó a cabo de acuerdo al siguiente Flujograma:



9.1. RESULTADOS DE LA BÚSQUEDA

La estrategia de búsqueda recuperó 115 estudios. De acuerdo a los criterios de selección se eligieron 41 publicaciones de texto completo, y finalmente se incluyeron 13 estudios experimentales y clínicos relacionados en los cuales se realizó la determinación de electrolitos e índice de osmolaridad en LS en modelos de OA inducida y OA humana de origen primario, independientemente de la metodología empleada, de la especie y del tipo de análisis realizado.

9.2 REDACCION DE LA REVISION

OSTEOARTRITIS

La osteoartritis (OA) es un trastorno muy común relacionado con la edad que se define como una pérdida gradual de cartílago articular, combinado con un engrosamiento del hueso subcondral, afectando también los márgenes de las articulaciones, y una inflamación crónica leve inespecífica de la sinovial (Sittisak, 2009)¹¹.

Se cree que la OA será la cuarta causa de discapacidad en el año 2020, y su carga social se estima que aumenta junto con el envejecimiento y la obesidad. La degradación del cartílago articular, la senescencia de condrocitos, y una mala cicatrización después de una lesión del cartílago causado por una carga en exceso contribuyen a su patogénesis. La alteración de los mecanismos homeostáticos genera cambios de la MEC, con la consecuente pérdida de los componentes que estabilizan el cartílago. La naturaleza multigénica de la progresión de la OA conlleva a fisuras de la superficie, la formación de agrupaciones de condrocitos (clones), y lesiones de las fibras, que dan lugar a defectos del cartílago de espesor parcial o total y la destrucción de la unión osteocondral en la articulación de la rodilla OA (Sebastian, 2010).

Los sitios anatómicos más comúnmente afectados en la rodilla son la tibiofemoral medial y compartimento patelofemoral lateral. Las características clínicas de la OA incluyen dolor, la rigidez de corta duración, crepitación de las articulaciones, hinchazón de las mismas, y el rango de movimiento limitado. El diagnóstico de la OA depende de la historia y examen físico conjuntamente con las radiografías que demuestran el estrechamiento del espacio articular, la formación de osteofitos, y la esclerosis del hueso subcondral. Aunque la investigación clínica sobre la OA es amplia, la causa exacta de esta enfermedad no está clara (Sittisak, 2009).

El origen de la OA es multifactorial, al respecto se han descrito patrones de expresión génica variables entre poblaciones y sexos, así como receptores de hormonas sexuales en el cartílago de animales y seres humanos. Asimismo,

se ha reportado la expresión de estrógenos y testosterona en el líquido sinovial (LS) de OA, así como receptores de estrógeno (RE) para las células progenitoras condrogénicas (CPC), ER β , y del receptor de andrógenos. Ambas hormonas influyen en la expresión de todos los genes del receptor, así como el potencial condrogénico de CPC mediante la regulación de la expresión génica de Sox9, Runx2, colágeno de tipo II, y colágeno de tipo I. Se han descrito efectos sobre los reguladores de colágeno a través de Sox9 y Runx2, además de efectos reguladores independientes de estos factores de transcripción. Estos resultados han sido relacionados al sexo en base a las concentraciones de hormonas (Sebastian, 2010).

Las concentraciones fisiológicas de testosterona en los hombres y las concentraciones pre-menopáusicas de estrógeno en las mujeres tienen un efecto positivo sobre el potencial de la CPC in vitro. Por lo tanto, las estrategias de reemplazo de la hormona en el LS de las mujeres y los hombres podrían tener efectos beneficiosos sobre el potencial de regeneración del cartílago artrítico en las últimas etapas de la OA humana (Sebastian, 2010).

MEMBRANA Y LÍQUIDO SINOVIOL

El estudio de la membrana sinovial (MS) es fundamental para la comprensión de la patogénesis de la OA y otras enfermedades de las articulaciones. La MS es una capa delgada, débil de tejido conectivo fibroso, sólo con algunas células en su espesor, que cubre la cavidad de la articulación. La MS controla el medio ambiente dentro de la articulación actuando como una membrana selectivamente permeable que filtra la entrada y salida de nutrientes y otras moléculas. Se compone de tres tipos de células sinoviales: A) las células sinoviales macrófagos like, B) células sinoviales fibroblastos like y C) células dendríticas, cada tipo de célula tiene una morfología diferente y expresa varios antígenos de superficie (Vangsness, 2011).

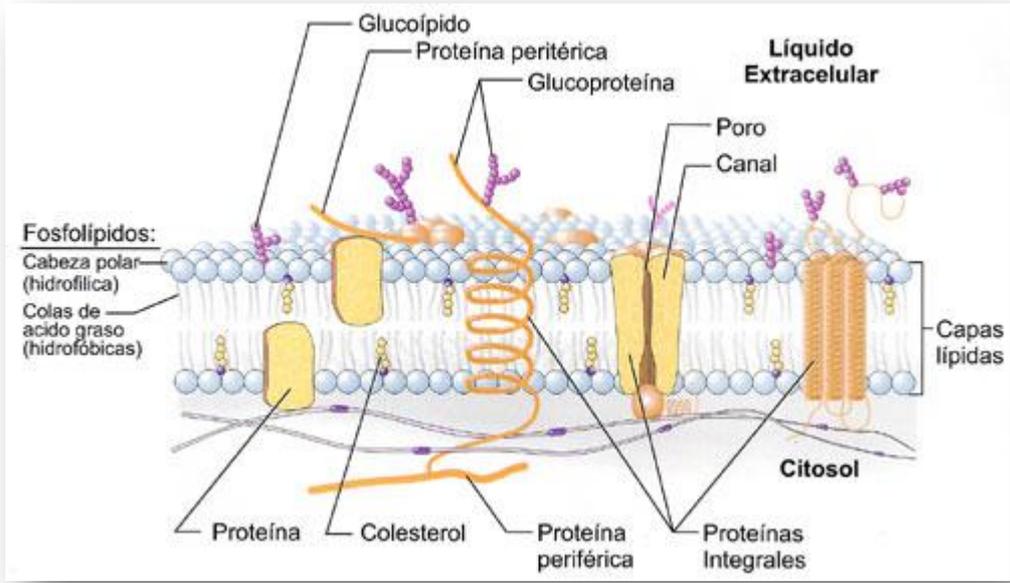


Figura 1. Estructura de la membrana celular

Una de las funciones del LS es como medio de transporte para las sustancias y la nutrición del cartílago articular avascular, además que ayuda en la función mecánica de las articulaciones y la lubricación de las superficies articulares. Entra en el cartílago por difusión y además se dispersa por la compresión y la relajación del cartílago durante el movimiento. El LS se origina por ultrafiltración de la rica red vascular del tejido sinovial, y las células tipo B secretan ácido hialurónico en la mezcla para formar LS. Los cambios físicos y químicos que ocurren en este fluido durante la enfermedad de base reflejan procesos patológicos que se producen en la articulación, como en la OA.

Los cambios artrósicos progresivos se confirman por artroscopía y en los estudios radiográficos, molecularmente, se ha demostrado el aumento de los niveles de citoquinas asociadas a OA, que correlacionan con el aumento y la evidencia de inflamación del tejido sinovial que se evidencia en las biopsias (Vangness, 2011).

Aproximadamente, se han reportado 21 citoquinas en el LS asociadas a OA de rodilla, entre ellas IL-2, IL-5, y MCP-1. Estos resultados no son sólo de interés científico, sino también se suman a los estudios clínicos comparativos

observacionales, asociando los niveles de citoquinas inflamatorias con la evaluación radiológica y artroscópica de la OA. Las investigaciones futuras que contemplen un mayor número de sujetos de estudio mejorará el poder estadístico y permitirá demostrar una relación concluyente (Vangness, 2011)

Es importante destacar que la proteína morfogenética ósea (BMP-7) se ha implicado en la estimulación de la reparación de cartílago y el mantenimiento de la integridad del mismo. El papel de BMP-7 en el proceso patológico de la degeneración del cartílago podría relacionarse con la patogénesis de la OA de la rodilla. En particular, BMP-7 (ó OP-1) es el factor osteoinductivo más potente que se ha demostrado, con un potencial prometedor como un factor anabólico de cartílago, debido a su capacidad para inducir la síntesis de la matriz y promover la reparación del cartílago. Estudios recientes han demostrado que BMP-7 se expresa de forma endógena en el cartílago con funciones anabólicas en los condrocitos. Además, BMP-7 se ha localizado en el LS, la MS, los ligamentos, los tendones, y el menisco. La concentración media de BMP-7 en plasma de pacientes con OA de rodilla fue significativamente mayor en comparación con la de los controles sanos. La sobreexpresión de BMP-7 en el plasma y el LS se relaciona con daños progresivos en la articulación en OA de rodilla. Estos hallazgos sugieren que la BMP-7 podría servir como un parámetro bioquímico para determinar la gravedad de la enfermedad en la artrosis primaria de rodilla y podría desempeñar un papel en la protección y reparación del cartílago de la OA. (Sittisak, 2009)

OSMOLARIDAD Y OA

En 1988, se planteaba la hipótesis de que la disminución de la osmolaridad de una articulación patológica podía reflejar una alteración en una bomba osmótica activa, comparativamente con el mantenimiento de la hiperosmolaridad del líquido en las articulaciones normales; los cambios conformacionales del ácido hialurónico también podrían ser una causa del aumento de agua y por lo tanto de la disminución de la osmolalidad en el LS patológico. La diferencia observada en la OA puede explicarse por el aumento

conocido en la proteína total y por la presencia de las enzimas líticas y restos celulares (Anreldm, 1988).

El análisis de las muestras de los pacientes con OA justo antes de la artroplastia total de rodilla (ATR) reveló que la concentración de proteína total era doblemente mayor para las pruebas de simulador de desgaste. Las fracciones constituyentes de proteínas del suero de ternera (albúmina, α 1-globulina, α 2-globulina, β -globulina, y γ -globulina) fueron diferentes de las fracciones constituyentes de proteínas en LS (Brandt, 2009).

Se ha descrito que la osmolaridad del LS disminuye en pacientes con OA y estos cambios en la osmolaridad se han vinculado a los cambios en la regulación de genes de los condrocitos. La osmolaridad del LS puede cambiar dramáticamente con la aparición de la enfermedad de las articulaciones, desde 404 ± 57 mOsm en las articulaciones normales a $297 \pm 16,9$ mOsm en las articulaciones con OA. El efecto de los cambios en la osmolaridad ha sido estudiado en las poblaciones celulares de condrocitos presentes en el cartílago articular, y en base a estos resultados, parece ser que la osmolaridad puede accionar y regular la expresión génica (Sox9 en particular). Los efectos de la osmolaridad en condrocitos y la síntesis de MEC han sido investigados con resultados variados. Se ha demostrado que la síntesis de MEC de los condrocitos se puede disminuir, ya sea con la aplicación de condiciones hiper o hipo-osmóticas; recientemente se reportó que al aplicar tensiones hipo-osmóticas se daba como resultado el aumento de la expresión génica de la MEC del cartílago (Beltrán, 2012).

La osmolaridad del LS de las articulaciones con OA se ha descrito que oscila entre 249-277 mOsm. Se ha propuesto que los cambios físicos del ambiente del LS pueden regular el potencial de los factores MPCs condrogénicos. Es bien conocida la variación en la tensión de oxígeno, la capacidad de lubricación y la viscosidad del fluido sinovial de las articulaciones en pacientes artríticos. Recientemente, se ha demostrado que los condrocitos responden a cambios en la osmolaridad de la regulación de la expresión génica de factores condrogénicos de transcripción (Sox9) y / o constituyentes de la

MEC (COL2A1). La mayoría de estos estudios sugieren que el aumento o la disminución de la osmolaridad del fluido resulta en una disminución de la expresión génica condrogénica, sin embargo, recientemente se sugiere que los condrocitos pueden aumentar la expresión génica de los genes relacionados con MEC en respuesta a soluciones hipo-osmóticas. (Karri L. Beltrán, 2012).

Se sugiere que las células progenitoras mesenquimales (sfMPCs) tienen un papel en el control iónico intracelular y pueden equilibrar rigurosamente el flujo de agua y iones a través de la membrana plasmática con variabilidad en la osmolaridad. Poco se sabe en realidad acerca de los canales iónicos presentes en sinoviocitos en general, y no se han publicado estudios que describan estos canales iónicos en las poblaciones progenitoras en el LS, sin embargo, resulta interesante determinar qué canales son responsables de esta homeostasis bajo una amplia gama de osmolaridad. Parece ser que la osmolaridad del LS regula el potencial condrogénico de las sfMPCs, sin embargo, se requiere dilucidar el mecanismo por el cual los cambios en la osmolaridad son detectados por las células y regulan la expresión génica condrogénica (Karri L. Beltrán, 2012).

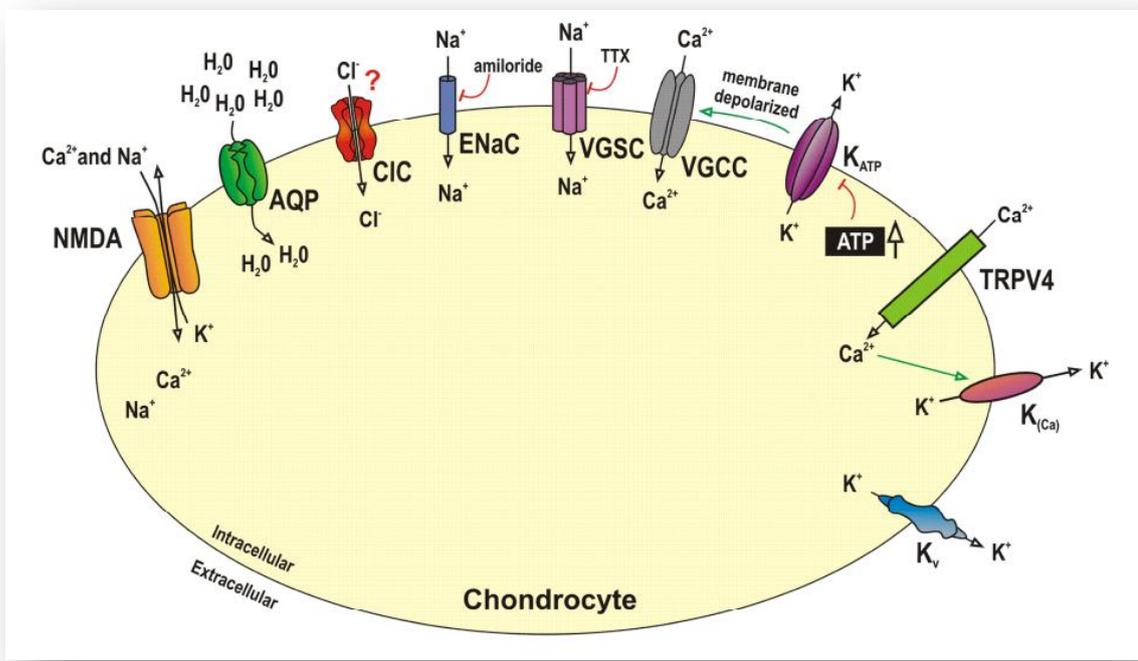


Fig. 2. Esquema de los canales iónicos y acuaporinas en la membrana sinovial del condrocito. (Tomado del artículo The emerging chondrocyte channelome de Richard Barrett-Jolley 2010)

La hiperosmolaridad en los condrocitos articulares induce mayores niveles de RNAm de SOX9 y también aumenta la vida media de SOX9, ambos son dependientes de la señalización de p38 MAPK. Se ha observado también la duplicación de los niveles de RNAm de SOX9, cuando los condrocitos se cultivan bajo condiciones hiperosmóticas. La pérdida de la MEC durante las enfermedades degenerativas de las articulaciones, como en OA, y la disminución de la osmolaridad en el microambiente de los condrocitos contribuyen a la disminución de los niveles de RNAm de SOX9 observada en los condrocitos en la artrosis del cartílago (Simon R. 2008).

Se demostró que las condiciones hiperosmóticas afectan a la producción de condrocitos articulares y la MEC, controlan los niveles de RNAm de SOX9 humana primaria y en condrocitos articulares, a través de un p38 postranscripcional, MAPK dependiente de proceso. Esto puede formar parte de los procesos de señalización a través del cual los condrocitos detectan las cargas mecánicas y mantienen la homeostasis del tejido. Los hallazgos sugieren que las condiciones osmóticas óptimas para la activación de la producción de colágeno tipo II por los condrocitos se logra mediante el control de la regulación de la transactivación por factores tales como SOX9 combinada con el control potente postranscripcional de la expresión génica (Simon, R 2008).

POTENCIAL DE HIDROGENO (pH) Y OA

El valor del pH del LS de las articulaciones con OA. La media de valores del pH en el LS de las articulaciones con OA fue de 7.9. La concentración de ácido hialurónico, albúmina, y globulina-G en el LS normal varió de 3.0 a 3.5, 7 a 18, y de 0.5 a 2.9 mg / ml, respectivamente. Se ha demostrado que el pH en el LS es diferente en diversos estados inflamatorios incluyendo OA. En años anteriores, en muestras de LS aspirado, se determinó que el pH de normal fue de 7.3 y 7.43 (T. Kitano, 1998).

El condrocito se caracteriza por la capacidad de sintetizar los componentes principales de la MEC, tales como el colágeno tipo II y los proteoglicanos, y responde a las señales externas tales como carga mecánica

y cambios osmóticos, mediante el control de su producción. Estos estímulos y la carga anormal de cartílago, ya sea por desuso o el uso excesivo es perjudicial para el tejido in vivo debido a que las fuerzas mecánicas actúan sobre los condrocitos, los cuales a su vez actúan sobre el tejido y adaptan su MEC en consecuencia. Se ha demostrado que la síntesis de proteoglicanos por los condrocitos se puede disminuir mediante la aplicación de condiciones de hiper o hipo-osmóticas. Este último estudio reportó que la proteína quinasa p38 activada por mitógenos (MAPK), es una vía de transducción que se regula por la osmolaridad en muchos organismos (T. Kitano, 1998).

En humanos con alteraciones del líquido sinovial que acompaña a la inflamación articular, no se ha podido establecer la correlación directa del recuento de glóbulos blancos y el pH en el LS (Thomas t 1977). Mediante análisis de proteínas no unidas a hierro se detectó un pH alterado en el LS. En este trabajo también se demostró que la generación de O_2 facilita la liberación de hierro en el LS. Se sugiere que en una articulación inflamada, con un pH aumentado y disminución de O_2 , el hierro puede liberarse en el LS y desempeña un papel importante en el daño oxidativo. Se demostró que O_2 facilita la liberación de hierro de la ferritina. Esto está de acuerdo con otros estudios que utilizan la medición espectrofotométrica con batofenantrolina disulfonato como un hierro quelante. Se propone entonces que el hierro fue liberado a partir de la ferritina en el LS en presencia de O_2 y la fuente de hierro detectada en un pH alterado puede derivarse de la transferrina (Kawasaki, 1993).

No hay estudios en la actualidad en los que se hayan medido los niveles de electrolitos en pacientes con OA en LS, sin embargo hay reportes en medicina forense sobre la estimación del intervalo post-mortem de acuerdo a la evolución temporal de la actividad de los iones de potasio en el LS de cadáver. Existe una positiva y significativa correlación de iones de potasio en relación con el tiempo de la muerte y la ecuación definida podría ser desarrollada para el cálculo del intervalo post mortem (Nishat. 2007).

El estudio realizado por Simkin en 2011 sienta un precedente sobre la definición funcional de fenestraciones endoteliales sinoviales, las cuales revelan que el "aumento de la permeabilidad vascular" de la inflamación no se limita a las lagunas interendoteliales, presentando evidencia que sugiere que el daño al glicocalix y la sobrerregulación puede afectar a la permeabilidad de las acuaporinas en la MS de OA, y definir una metodología sencilla para la interpretación de las concentraciones de los biomarcadores en el LS de OA. (Simkin, 2011).

Otros estudios en OA refieren que el ion Mn está directamente asociado con la severidad y el tipo de enfermedad inflamatoria. Un gran reto sigue siendo desarrollar agentes paramagnéticos con menor toxicidad que el ion Mn pero con propiedades similares que puedan servir entonces como una herramienta para determinar las concentraciones de proteína y/o composiciones a través de imágenes y de ese modo apoyar en el diagnóstico de artritis inflamatorias y la evaluación de regímenes terapéuticos (S. Noordin. 2010).

Cabe mencionar que no existe literatura mundial en la cual se evalué o se haya estudiado los niveles o concentraciones de electrolitos en LS en OA de rodilla, solamente el antecedente de la medición de electrolitos en LS postmortem, principalmente mediciones de potasio, sin embargo no se refirió el antecedente de OA o de patologías inflamatorias concomitantes, así como de patologías sistémicas que influyan en la concentración y composición del mismo antes de la muerte.

10. CONCLUSIONES

La investigación en OA y principalmente relacionado con la patogenia de la enfermedad es limitada, sin embargo, el impacto social y laboral relacionado con discapacidad en nuestra población mexicana, estima que será la 4ta causa de discapacidad en el 2020.

Se ha demostrado diversas alteraciones o cambios fisiopatogénicos en la articulación de la rodilla con OA principalmente a nivel de la osmolaridad consecuencia de las alteraciones a nivel de la membrana sinovial, así también la presencia de fenestraciones endoteliales sinoviales, alteración en la permeabilidad de canales iónicos, aumento de la permeabilidad vascular y alteraciones de los componentes del líquido sinovial. Presencia de leucocitosis, generación de O_2 que facilitan la liberación de hierro en el LS en las articulaciones con OA, las alteraciones en el pH y la disminución de O_2 , la sobreexpresión de BMP-7 en el LS, el aumento de los niveles de citoquinas asociadas a OA (21 citoquinas en el LS asociadas a OA de rodilla, entre ellas IL-2, IL-5, y MCP-1.), Durante el proceso de mecanotransducción normal de las articulaciones de carga, el estímulo mecánico se convierte en eventos bioquímicos, y a este respecto en OA, se han descrito alteraciones en los canales iónicos mecanosensibles con el consecuente incremento o disminución del flujo iónico en los condrocitos.

No existe literatura aun, en la que se hayan medido o analizado las concentraciones de electrolitos en pacientes con OA en LS sin embargo esta investigación sienta un precedente al desarrollo de proyectos de investigación futuros los cuales serán encaminados a indagar aspectos fundamentales en la patogenia y hallar mecanismos fisiopatológicos clave en la enfermedad, brindando una oportuna intervención y un área de acción para el estudio de nuevos tratamientos así como de nuevos métodos terapéuticos en la OA encaminados a restablecer la homeostasis en la cavidad articular y enlentecer la progresión de la enfermedad en nuestros pacientes.

11. REFERENCIAS

1. Felson DT, Zhang Y, Hannan MT, Naimark A, Weissman BN, Aliabadi P (1995) The incidence and natural history of knee osteoarthritis in the elderly. *Arthritis Rheum* 38:1500–1505.
2. Baker-LePain JC, Lane NE. (2010). Relationship between joint shape and the development of osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 22: 538–543.
3. Huang H, Kamm RD, Lee RT. (2004). Cell mechanics and mechanotransduction: pathways, probes, and physiology. *Am J Physiol Cell Physiol*. 287: C1-11.
4. Bush PG, Hodkinson PD, Hamilton GL, Hall AC. (2005). Viability and volume of in situ bovine articular chondrocytes--changes following a single impact and effects of medium osmolarity. *Osteoarthritis Cartilage* 13: 54-65.
5. Honsawek S, Chayanupatkul M, Tanavalee A, Sakdinakiattikoon M, Deepaisarnsakul B, Yuktanandana P, Ngarmukos (2009) Relationship of plasma and synovial fluid BMP-7 with disease severity in knee osteoarthritis patients: a pilot study. *Int Orthop*. 33:1171-1175.
6. Ghosh P. (1994) The role of hyaluronic acid (hyaluronan) in health and disease: interactions with cells, cartilage and components of synovial fluid. *Clin Exp Rheumatol*. 12:75-82.
7. Balazs E A, Watson D, Duff I F, Roseman (1967). Hyaluronic acid in synovial fluid. Molecular parameters of hyaluronic acid in normal and arthritic fluids. *Arthritis Rheum*. 10: 357.
8. Shanfield S, Campbell P, Baumgarten M, Bloebaum R, Sarmiento A (1988). Synovial fluid osmolality in osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Clin Orthop Relat Res*. 235:289-295.

9. Lasta GE (1998). Revisión bibliográfica de líquido sinovial. Nuevos aspectos relacionados a los proteoglicanos y glicosaminoglicanos. *Analecta Veterinaria* 18: 83-98.
10. Tumram NK, Bardale RV, Dongre AP (2011). Postmortem analysis of synovial fluid and vitreous humour for determination of death interval: A comparative study. *Forensic Sci Int.* 204:186-190.
11. Madea B, Kreuser C, Banaschak S (2001). Postmortem biochemical examination of synovial fluid--a preliminary study. *Forensic Sci Int.* 118:29-35.
12. Lawrence RC, Felson DT, Helmick CG, Arnold LM, Choi H, Deyo RA, Gabriel S, Hirsch R, Hochberg MC, Hunder GG, Jordan JM, Katz JN, Kremers HM, Wolfe F. (2008). Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II. *Arthritis Rheum.* 58: 26-35.
13. Felson DT, Zhang Y, Hannan MT, Naimark A, Weissman BN, Aliabadi P (1995). The incidence and natural history of knee osteoarthritis in the elderly. *Arthritis Rheum* 38: 1500–1505.
14. Bush PG, Hall AC (2003). The volume and morphology of chondrocytes within nondegenerate and degenerate human articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 11: 242-251.
15. Kirkevold M. (1997) Integrative nursing research – an important strategy to further the development of nursing science and nursing practice. *Journal of Advanced Nursing* 25, 977–984.
16. Cooper H. (1998) *Synthesizing Research: A Guide for Literature Reviews*, 3rd ed. Sage Publications, Thousand Oaks, CA.
17. Whittemore R. (2005a) Combining the evidence in nursing research: methods and implications. *Nursing Research* 54, 56–62.

18. Whittemore R. (2005b) Analysis of integration in nursing science and practice. *Journal of Nursing Scholarship* 37, 261–267.

19. Sebastian Koelling, Nicolai M. (2010). Sex differences of chondrogenic progenitor cells in late stages of osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatism* Vol. 62, Issue 4, pages 1077–1087.

20. C. Thomas Vangsness, Jr., M.D., Wendy S. Burke, P.T., D.P.T., M.S., O.C.S., Steven J. Narvy, M.D., Robert D. MacPhee, Ph.D., and Alexander N. Fedenko, M.D., Ph.D. (2011). Human Knee Synovial Fluid Cytokines Correlated with Grade of Knee Osteoarthritis. A Pilot Study. *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases* 69(2):122-7.

21. Stewarsth Anreldm. D., Patricicaa Mpbelbl. S., Morrisb A., .D., Roy B. H.D., And Augustos A., M.D. (1988) Synovial Fluid Osmolality In Osteoarthritis And Rheumatoid Arthritis. *Basic Science And Pathology*.

22. J.-M. Brandt, L. K. Brie` re, J. Marr, S. J. MacDonald, R. B. Bourne, J. B. Medley. (2009) Biochemical comparisons of osteoarthritic human synovial fluid with calf sera used in knee simulator wear testing. *J Biomed Mater Res A*. 1;94(3):961-71.

23. K.L. Bertram, R.J. Krawetz, (2012), Osmolarity regulates chondrogenic differentiation potential of synovial fluid derived mesenchymal progenitor cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.05.015>.

24. Simon R. Tew, Mandy J. Peffers,¹ Tristan R. McKay, Emma T. Lowe, Wasim S. Khan, Timothy E. Hardingham, and Peter D. Clegg. (2008) Hyperosmolarity regulates SOX9 mRNA posttranscriptionally in human articular chondrocytes m *J Physiol Cell Physiol* 297: C898–C906.

25. T. Kitano, H. Ohashi, Y. Kadoya, A. Kobayashi, Y. Yutani, Y. Yamano (1988) Measurements of z potentials of particulate biomaterials in protein-rich

hyaluronan solution with changes in pH and protein constituents. Department of Orthopaedic Surgery, Osaka City University (23) 304 – 320.

26. Thomas T. Ward, M.D. Roy T. Steigbigel. M.D. (1977). Acidosis of Synovial Fluid Correlates with Synovial Fluid Leukocytosis. The American Journal of Medicine Volume 64 .933 936.

27. Nana Kawasaki ^{*a}, Tsuyoshi Tanimoto ^a, Akira Tanaka ^a, Takao Hayakawa ^a, Nobuyuki Miyasaka ^b (1994) Determination of non-protein-bound iron in human synovial fluid by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Tokyo Medical and Dental University, 1-5-45, vol. 63, 113- 124.*

28. Nishat A. Sheikh. (2007) Estimation of postmortem interval according to time course of potassium ion activity in cadaveric synovial fluid . Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology. Vol. 1, No. 1 (2007-07 - 2007-12).

29. Simkin PA, Bassett JE. (2011). Pathways of microvascular permeability in the synovium of normal and diseased human knees. *J Rheumatol. Dec;38(12):2635-42.*

30. S. Noordin Ya,(2010). Factors affecting paramagnetic contrast enhancement in synovial fluid: effects of electrolytes, protein concentrations, and temperature on water proton relativities from Mn ions and Gd chelated contrast agents *Osteoarthritis and Cartilage 18 (2010) 964 e 970.*

31. Richard Barrett-Jolley, (2010). The emerging chondrocyte channelome, *frontiers in physiology*, www.frontiersin.org. October 2010, Vol. 1, Article 135. 1-11

12. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

	Marzo 2012	Abril 2012	Mayo 2012	Junio 2012	Julio 2012	Agosto 2012
Estado del arte	X	X				
Diseño del protocolo		X	X			
Comité local			X	X		
Recolección de datos				X		
Análisis de resultados				X	X	
Redacción de escrito final					X	X