



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA DIVISIÓN  
DE ESTUDIOS DE POSGRADO

---

---

SECRETARIA DE SALUD  
INSTITUTO NACIONAL DE  
REHABILITACIÓN  
“LUIS GUILLERMO IBARRA IBARRA”

ESPECIALIDAD  
EN:  
ORTOPEDIA

**“Espectroscopía de rompimiento inducido por láser  
(LIBS) como método diagnóstico en el Síndrome de Destrucción Vertebral”.**

**T E S I S**  
PARA OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICO  
ESPECIALISTA EN: ORTOPEDIA

P R E S E N T A:  
DR. RAFAEL GAMBA GALEAZZI

PROFESOR TITULAR: DR. JUAN ANTONIO MADINAVEITIA  
VILLANUEVA

DIRECTORA DE TESIS: DRA. CARLA GARCÍA RAMOS  
ASESOR DE TESIS : DR. ALEJANDRO ANTONIO REYES SÁNCHEZ



CIUDAD DE MÉXICO, NOVIEMBRE DEL 2021



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

---

**DRA. MATILDE L. ENRIQUEZ SANDOVAL**  
DIRECTORA DE EDUCACIÓN EN SALUD

---

**DR. HUMBERTO VARGAS FLORES**  
ENCARGADO DE LA SUBDIRECTORA DE EDUCACIÓN MÉDICA

---

**DR. ROGELIO SANDOVAL VEGA GIL**  
JEFE DEL SERVICIO DE EDUCACIÓN MÉDICA

---

**DR. JUAN ANTONIO MADINAVEITIA VILLANUEVA**  
PROFESOR TITULAR

---

**DRA. CARLA GARCÍA RAMOS**  
ASESOR METODOLÓGICO

---

**DR. ALEJANDRO ANTONIO REYES SÁNCHEZ**  
ASESOR METOLÓGICO

## ÍNDICE

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>7</b>
<b>3</b>	<b>JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>16</b>
<b>4</b>	<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>17</b>
<b>5</b>	<b>PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>17</b>
<b>6</b>	<b>HIPÓTESIS .....</b>	<b>18</b>
<b>7</b>	<b>OBJETIVO GENERAL .....</b>	<b>18</b>
<b>8</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>18</b>
<b>9</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>17</b>
<b>10</b>	<b>EVALUACION .....</b>	<b>20</b>
<b>11</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>23</b>
<b>12</b>	<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>25</b>
<b>13</b>	<b>CONCLUSIÓN.....</b>	<b>26</b>
<b>14</b>	<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>27</b>

## 1 INTRODUCCIÓN

El síndrome de destrucción vertebral (SDV) se caracteriza por alteraciones de la estructura y ultraestructura en el hueso de la columna vertebral, acompañado de dolor e incapacidad funcional por alteraciones mecánicas y neurológicas. La etiología de este síndrome es múltiple: infeccioso, neoplásico y metabólico. El abordaje diagnóstico de estos pacientes se realiza mediante un algoritmo sistematizado, que incluye 13 estudios de laboratorio y gabinete diferentes, además de toma de biopsia guiada por tomografía que es considerada como el estándar de oro diagnóstico.

El hueso es un tejido dinámico conformado por moléculas orgánicas e inorgánicas, su composición elemental es  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , también llamado bioapatita, que, bajo ciertas circunstancias patológicas puede ser modificada esta composición, y una vez que los elementos son incorporados en la estructura de hidroxapatita, una cantidad pequeña de estos es desechado lentamente, por lo que al realizar un análisis de la composición elemental del hueso, se obtiene una determinación confiable del estado en que se encuentra el hueso.

La espectroscopía de emisión elemental, es una técnica que permite analizar la composición elemental de cualquier objeto. Específicamente, la espectroscopía de rompimiento inducido por láser (LIBS), ha sido ampliamente utilizada en múltiples disciplinas como arqueología, geología, agricultura, química y en los últimos años en áreas biomédicas debido a las ventajas que ofrece frente a otras técnicas de análisis de muestras. Por ejemplo, LIBS no requiere de una preparación especial de la muestra previo a su análisis, la cantidad mínima necesaria de muestra para analizar es típicamente de nanogramos. Adicionalmente, puede realizarse un análisis *in-situ* debido a que el equipo

de LIBS es transportado con facilidad y es posible un análisis simultáneo de varios elementos con resultados rápidos.

El algoritmo diagnóstico empleado en el servicio de cirugía de columna tiene una efectividad diagnóstica de 90%, y en el 10% de los pacientes restantes en los que no se identifica la causa del SDV, se emplea tratamiento empírico. LIBS ha demostrado ser un método efectivo en la identificación de componentes óseos, diferentes microorganismos (bacterias, hongos, mohos y levaduras) y tumores en diversos tejidos humanos, por lo que el objetivo del presente estudio es demostrar que puede ser un método diagnóstico efectivo en la identificación de la etiología del SDV.

Se seleccionarán muestras que cumplan con los criterios de inclusión, y que serán obtenidas a partir de remanentes clínicos de procedimientos habituales realizados por el servicio de cirugía de columna, en pacientes jóvenes, sanos con diagnóstico de fracturas toracolumbares, a los que se les realice instrumentación lumbar.

Las muestras serán analizadas mediante LIBS para obtener una caracterización del espectro del hueso sano para posteriormente poder realizar una comparación con las diferentes etiologías del SDV.

De acuerdo con los resultados del proyecto, se pretende establecer a la LIBS como una línea de investigación del servicio de cirugía de columna.

## 2 MARCO TEÓRICO

### DEFINICIÓN

El síndrome de destrucción vertebral se define como una entidad de etiología múltiple, que se caracteriza por alteraciones de la estructura y ultraestructura en el hueso de la columna vertebral, con deformidad, aumento de volumen circunvecino en uno o más cuerpos vertebrales, acompañado de dolor e incapacidad funcional por alteraciones mecánicas y neurológicas. (1) (2).

### ETIOLOGÍA

La etiología de este síndrome puede contemplarse dentro de tres grandes grupos, infeccioso, neoplásico y por enfermedades metabólicas. (1)

### ETIOLOGÍA INFECCIOSA

Las infecciones vertebrales son ocasionadas por 3 tipos de agentes: bacterias, hongos y parásitos. Dentro de las infecciones por bacterias piógenas, el agente causal más frecuente es *Staphylococcus aureus* con el 60% de los casos, seguido de otros como *E. coli*, *Enterobacter* y *Brucella spp* (3). El segundo tipo de infección más frecuente en la columna vertebral es la causada por *Mycobacterium tuberculosis*, que tiene dos formas de presentación, el Mal de Pott y la espondilitis, que a diferencia de la primera no afecta el disco intervertebral ni tejidos blandos. La columna torácica es el sitio más frecuente de presentación del Mal de Pott, con un curso crónico, mientras que la columna lumbar lo es de la infección piógena de curso agudo. (4)

### ETIOLOGÍA NEOPLÁSICA

Los tumores de la columna vertebral se dividen en tumores primarios y secundarios. Los tumores primarios se originan de la propia columna y de sus estructuras adyacentes, se clasifican en benignos y malignos, los primeros invaden solo tejido óseo y los segundos destruyen también tejidos adyacentes. Los tumores secundarios son metástasis de otros órganos, que se propagan por vía hematológica o linfática y que invaden la columna vertebral debido a sus características anatómicas e histológicas. (5)

Los tumores primarios benignos de columna vertebral son infrecuentes, representan menos del 10% de todas las neoplasias de la columna vertebral, se presentan con mayor frecuencia en personas menores de 30 años y normalmente su curso es asintomático. Algunos de los tumores de este tipo más frecuentes son el osteoma osteoide, el tumor de células gigantes, el osteoblastoma, el quiste óseo aneurismático y el hemangioma, principalmente, entre otros. (6)

Con respecto a los tumores metastásicos, aproximadamente el 75% de los pacientes con cáncer en estadios avanzados presentará metástasis al hueso vertebral, los principales tumores metastásicos ocurren en pacientes con cáncer de próstata y mama, seguido de otros como riñón, pulmón, tiroides y colon hasta en un 15-40% de los casos (7). Otro tipo de tumor considerado como metastásico, es el Mieloma múltiple y el plasmocitoma, que se originan a partir de células plasmáticas.

## **ETIOLOGÍA METABÓLICA**

### **Enfermedad de Paget**

Se caracteriza por un aumento en el recambio óseo con áreas de excesiva resorción e incremento en la formación desorganizada del hueso. Su causa es múltiple y afecta con mayor frecuencia a hombres de edad avanzada, en el esqueleto axial, y en columna, a nivel lumbar principalmente. (8)

## **Osteoporosis**

Es un desorden metabólico caracterizado por una baja masa ósea y una modificación en la microarquitectura del hueso, lo que lleva a la fragilidad ósea y a un aumento del riesgo de fracturas de columna vertebral, principalmente lumbar. Afecta con mayor frecuencia a mujeres postmenopáusicas. En México, el 17% de todas las mujeres han sido diagnosticadas con esta enfermedad, tras presentar una fractura, sin embargo, la disminución de la masa ósea cursa asintomática. (9)(10)

## **CUADRO CLÍNICO**

El síntoma principal del síndrome de destrucción vertebral es dolor, presente en el segmento de columna afectada, que, dependiendo de su tiempo de evolución, se acompaña de alteraciones neurológicas que van desde parestesias, paresias y hasta plejias, también puede presentarse pérdida en el control de esfínteres. (3)

Algunos otros síntomas relacionados con la etiología son, diaforesis nocturna, fiebre, malestar general y pérdida de peso, el dolor puede presentarse posterior a realizar algún movimiento o levantar objetos pesados, y en algunos padecimientos, tener relación con el horario. Sin embargo, este mismo cuadro clínico puede compartirse entre las diferentes etiologías.

## **DIAGNÓSTICO**

El abordaje diagnóstico de estos pacientes se realiza mediante un algoritmo sistematizado, para evitar diagnósticos erróneos, lo que significaría un retraso en el establecimiento del tratamiento correcto, debido a que las manifestaciones tanto clínicas como radiológicas pueden presentarse por igual entre las diferentes causas del síndrome de destrucción vertebral. (2)

Inicialmente se realiza un interrogatorio exhaustivo sobre los antecedentes del paciente, así como la sintomatología y factores de riesgo asociados, se solicitan radiografías simples

del segmento de columna afectado, en el que se puede observar pérdida de altura del cuerpo vertebral, imágenes de fractura, pérdida de la silueta de los pedículos o láminas vertebrales, en una o más vértebras. Adicionalmente se solicitan estudios de laboratorio y gabinete complementarios como, radiografías de cráneo, TAC, RM, G-grafía. Biometría Hemática, Química Sanguínea, Pruebas de coagulación, examen general de orina, proteína de Bence-Jones, PCR para M. tuberculosis, determinación de infección por Virus de la Inmunodeficiencia Humana y prueba cutánea de tuberculina. Finalmente, el diagnóstico definitivo se realiza mediante toma de biopsia guiada por Tomografía, donde la muestra obtenida se envía a estudio histopatológico y cultivo microbiológico. Este último se considera el estándar de oro diagnóstico, aunque hasta en el 10% de los pacientes, las muestras analizadas pueden no arrojar un diagnóstico definitivo, en cuyo caso los resultados de laboratorio obtenidos previamente, junto con los datos clínicos, se complementan entre sí, para tomar una decisión terapéutica. (11)

El algoritmo diagnóstico previamente descrito comprende una serie de estudios que evalúan etiologías del síndrome específicas, sin embargo, ninguno se relaciona directamente con sus tres posibles entidades.

## **FISIOPATOLOGÍA**

El hueso es un tejido dinámico conformado por células y matriz extracelular que contiene moléculas orgánicas e inorgánicas. La materia inorgánica es principalmente un carbonato que contiene un análogo de hidroxapatita (HAP) con una composición aproximada de  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , también llamado bioapatita (12). Los cristales de HAP tienen forma de placa con dimensiones aproximadas de 35 nm x 5 nm y 2-3 nm de espesor. Los tres tipos principales de células óseas son los osteocitos, los osteoclastos y los osteoblastos, el metabolismo y la interacción entre estas células da lugar a un proceso fisiológico cíclico constante llamado remodelación ósea, cuya finalidad es reparar sitios de hueso dañados y preservar la fuerza de este. Esta remodelación forma parte del metabolismo óseo, en el

que a su vez influyen otras moléculas sistémicas, como hormonas paratiroideas, vitamina D, calcio, prostaglandinas e interleucinas entre las más importantes (13) .

Bajo ciertas circunstancias patológicas, el delicado equilibrio de la regulación de la remodelación ósea puede perderse, ocasionando alteraciones en este proceso, aumentando la actividad osteoclástica y sobrepasando la capacidad regenerativa de los osteoblastos; esto puede dar origen a una reducción en la resistencia del hueso, predisponiendo e incrementando el riesgo de fracturas. (9)

El rastreo de elementos minerales es muy importante en materiales biológicamente activos porque las variaciones mínimas en las cantidades de estos pueden afectar negativamente el metabolismo de cualquier ser vivo. Hablando particularmente del hueso, una vez que los elementos son incorporados en la estructura de hidroxapatita, una cantidad pequeña de dichos elementos es desechado lentamente, lo que significa un análisis confiable del estado en que se encuentra el hueso. (12)

Para determinar rápidamente la composición elemental de cualquier tipo de muestra, se han desarrollado técnicas por medio de espectroscopía que ofrecen grandes ventajas sobre otras técnicas de análisis. Las señales de la espectroscopía de rompimiento inducido por láser (LIBS) se generan al producir un plasma con material evaporado de la muestra a estudiar. Cuando la fluencia del láser excede el umbral para producir la ruptura de los enlaces moleculares de una muestra en particular. En hueso, este umbral es de  $1 \text{ J} / \text{cm}^2$  utilizando pulsos de láseres con duración de femtosegundos (14). Inmediatamente después de la ruptura molecular, se produce una ionización en cascada de electrones que quedan libres formando un plasma, constituido a partir de los elementos vaporizados de la muestra. A partir de las líneas características de emisión producida por los átomos, iones y moléculas, es posible determinar los elementos de la muestra ablacionada y mediante una calibración, determinar la composición de la muestra. El material expulsado

o evaporado conduce a la formación de cráteres diminutos, típicamente del micrómetros de diámetro, sobre la superficie de la muestra. (14) (15)

## **ANTECEDENTES**

LIBS es básicamente una espectroscopía de emisión atómica de plasma producido a partir de un láser pulsado de alta potencia que se enfoca en la superficie de cualquier tipo de material que sea el objetivo y que se encuentre en cualquier fase de la materia. Debido a su simplicidad y versatilidad, ha sido empleado en diferentes disciplinas, como arqueología, geología, biología, química, agricultura, ciencias forenses y ciencias biomédicas; se ha puesto especial interés en esta última debido a sus ventajas, extendiendo las aplicaciones de LIBS en diversos tejidos analizados (hueso, dientes, uñas, cabello, litos renales y biliares, cerebro, bazo, músculo esquelético, sangre y fluidos corporales). (16)

Particularmente hablando del tejido óseo, en el campo de la arqueología y antropología ha sido de gran interés su análisis, para investigar la relación entre los nutrientes y las enfermedades; para estimar los efectos en la salud por deficiencias o excesos de elementos analizados en el tejido óseo; para identificar hábitos alimenticios, conocer el nivel de los elementos presentes en el ambiente, suelo y agua; y, finalmente, se ha empleado LIBS para realizar análisis de la exposición a contaminantes tóxicos de ciertas comunidades antiguas (12). Mehari et al. en 2014 demostró que LIBS es una técnica adecuada y confiable para identificar específicamente tejido óseo al examinar y comparar los elementos obtenidos de muestras de cartílago y hueso cortical de cerdos. (17)

Las técnicas clásicas de análisis de muestras humanas para la identificación de microorganismos incluyen el estudio fenotípico, inmunológico y genotípico, sin embargo, todas las técnicas requieren de una preparación especial de la muestra dependiendo del análisis a efectuar, y en el caso del análisis inmunológico, la selectividad de los anticuerpos empleados no permite la identificación de una infección polimicrobiana. (16)

La identificación de microorganismos mediante LIBS ha sido ampliamente utilizado en las industrias que procesan alimentos, agricultura y ciencias del medio ambiente, para garantizar la calidad del procesamiento de alimentos, identificar alimentos contaminados y verificar la calidad del suelo de siembra. Actualmente LIBS permite identificar varios microorganismos, como bacterias, mohos, levaduras, esporas y virus; esta diferenciación se realiza con base en la intensidad de las líneas atómicas observadas de los elementos constituyentes presentes en cada organismo. (18)(19)(20)

En el estudio realizado por Manzoor et al. en 2016, utilizó LIBS para identificar diferentes especies de *Candida* presentes en medios de cultivo; se obtuvo una emisión de elementos característica de cada cepa analizada (*C. parapsilosis*, *C. dubliniensis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis* y *C. albicans*) que se corroboró mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y fluorescencia de rayos X por energía dispersiva (EDS), logrando una correlación en el espectro del 100%. (21)

Rehse et al. en 2007, fueron capaces de identificar entre *Pseudomonas aeruginosa* y dos cepas de *E. coli* (ambiental no patógena y la patógena enterohemorrágica) en tres diferentes medios de cultivo que simulaban infección hematológica (Agar sangre), esputo (Agar tripticosa de soya (TSA)) y un medio de cultivo para investigar la posible alteración de la integridad de la membrana por el sustrato (Agar MacConkey adicionado con lactosa y sales biliares). (22)

Por otra parte, Diedrich et al. en 2007, demostraron que las diferencias nutricionales en el medio de cultivo en el que se desarrollan y reproducen las bacterias, no afecta la identificación de estas a través de LIBS. (23)

LIBS también ha sido empleado con éxito en la identificación de tumores de diferentes tejidos. Kumar et al. en 2004 fue capaz de distinguir las diferencias entre tumor de tejido blando y tejido blando normal tras analizar muestras de hemangiosarcomas extraídas de hígado de perros. (24) Hussein et al. en 2010, identificaron con éxito tumores colorrectales y de mama en muestras de tejido humano. (25) Gill et al. en 2015 analizó mediante LIBS muestras de tejido óseo con tumores primarios y tumores metastásicos

obtenidas de pacientes y fueron analizadas en comparación con una muestra emparejada de tejido óseo sano del mismo paciente. Los resultados arrojaron que no hubo diferencias significativas entre los elementos obtenidos de las muestras con tumores metastásicos comparadas con sus pares de tejido óseo normal, sin embargo, esta técnica fue capaz de identificar entre muestras de tejido óseo con tumor primario y su control sano, por lo que concluyeron que LIBS podría ser una herramienta útil en la detección de tejido tumoral y actuar como un sistema de retroalimentación en tiempo real durante cirugías de ablación tumoral. (26)

El conocimiento de la preresencia de elementos nutricionales o tóxicos es esencial para valorar los requerimientos de mineralización de los huesos y dientes y para determinar si existen elementos tóxicos.

Los elementos más abundantes en el hueso son aquellos que se encuentran en su fase mineral (calcio, fósforo) y orgánica (carbono, nitrógeno, hidrógeno), el nivel de nitrógeno a su vez refleja el contenido proteico del hueso, los resultados de la espectroscopia al analizar hueso se reporta en partes por millón de hueso seco o de cenizas de hueso, los límites de detección de LIBS para muestras sólidas son del orden de unas pocas partes por millón (27)

Essential trace elements	Normal level (ppm of bone ash)	Nonessential/Toxic elements	Normal level (ppm of bone ash)
Copper (Cu)	25	Aluminum (Al)	1–10
Iodine (I)	<1	Arsenic (As)	0–5
Iron (Fe)	500	Barium (Ba)	10–20
Manganese (Mn)	10	Lead (Pb)	<70
Zinc (Zn)	200	Mercury (Hg)	<1
		Strontium (Sr)	100–200

### Imagen 1

En la imagen 1 se observa las cantidades de trazas de elementos que se encuentran en cenizas de hueso humano.

En cuanto a las limitaciones del LIBS existen tres principales: la primera es que al analizar un material biológico, ya sea duro o tejidos blandos, los cuales son naturalmente menos fuertes que los metales, el proceso de ablación con láser los destruye, lo cual lleva a una pobre reproducibilidad y malos resultados estadísticos, en segundo lugar las muestras pueden ser heterogéneas, lo que una vez más hace que la selectividad estadística y reproducibilidad disminuyan, por último, las especies moleculares son de vital importancia y están fuera de la capacidad de análisis del LIBS (27)

Los componentes principales del hueso son: hidroxiapatita (50-60%) agua (15-20%), fosfatos (5%), carbonatos (1%), colágeno (20%), proteínas (1%), los cambios en la alimentación entre especies hace posible la distinción entre huesos de herbívoros y omnívoros por los niveles de estroncio (Sr) (28), sin embargo existen pocos artículos donde se reporten los valores normales de los elementos del hueso (27), y hasta el momento ninguno que reporte los valores elementales normales de los cuerpos vertebrales en humanos, es importante especificar que los valores de algunos elementos pueden variar entre distintos huesos incluso si son adyacentes y que incluso factores

como la cercanía con la arterias nutricias pueden dar resultados de la composición de los huesos de un mismo individuo. (29)

Por otro lado Marin Roldan et.al determinaron en huesos frescos de fémur y tibia de venados las concentraciones normales de calcio, magnesio y estroncio entre otros. (Tabla 1), encontrando porcentajes de calcio semejantes entre los distintos especimenes, sin embargo los valores intraindividuo son mas semejantes que los valores interindividuo (30), lo cual hace posible distinguir huesos de un mismo individuo de los de otros individuos sin importar si son de la misma especie.

Element (%)	1T	1F	2T	2F	3T	3F	4T	4F
Ca	81 ± 8	81 ± 8	81 ± 8	80 ± 8	80 ± 8	83 ± 9	81 ± 8	81 ± 8
Mg	19 ± 9	19 ± 9	19 ± 9	20 ± 9	20 ± 9	17 ± 8	19 ± 9	19 ± 9
Sr	0.11 ± 0.07	0.09 ± 0.05	0.12 ± 0.07	0.10 ± 0.06	0.08 ± 0.05	0.13 ± 0.07	0.17 ± 0.10	0.14 ± 0.08
Ba	0.027 ± 0.007	0.024 ± 0.007	0.031 ± 0.009	0.033 ± 0.009	0.015 ± 0.004	0.027 ± 0.008	0.016 ± 0.004	0.015 ± 0.004
Elemental ratio								
Sr/Ba	4.2 ± 0.9	3.8 ± 0.9	3.8 ± 0.9	3.0 ± 0.9	5.6 ± 0.9	4.7 ± 0.9	11.0 ± 0.9	10.0 ± 0.9

Tabla 1

### 3 JUSTIFICACIÓN

El SDV tiene una incidencia anual promedio de 30% del total de pacientes atendidos por el servicio de cirugía de columna. Es una enfermedad que afecta a población

económicamente activa, que lleva a quienes lo padecen a suspender sus actividades laborales debido a incapacidad funcional de la columna vertebral. En los últimos años, el uso de la espectroscopía de rompimiento inducido por láser ha surgido como una técnica prometedora para el análisis y caracterización de una amplia variedad de objetos por las ventajas que ofrece, como su simplicidad para aplicar la técnica, la cantidad de muestra necesaria para analizar es muy pequeña (nanogramos), no se requiere de una elaborada preparación previa de la muestra, la habilidad para realizar un análisis simultáneo de varios elementos en la misma muestra, el análisis es rápido, y el equipo utilizado es fácilmente transportado, por lo que se tiene la capacidad de realizar análisis in-situ.

#### **4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Se cuenta con un algoritmo diagnóstico sistematizado en el servicio de cirugía de columna que incluye 13 diferentes estudios con los cuales se alcanza una efectividad diagnóstica del 90% en el esclarecimiento de la etiología del SDV, sin embargo, aún cuenta con barreras en el establecimiento definitivo de la etiología; en el 10% de los pacientes restantes se implementa tratamiento empírico por falta de conocimiento en la causa de la destrucción vertebral.

El algoritmo diagnóstico propuesto incluye pruebas que evalúan las diferentes etiologías por separado y hasta el momento no se cuenta con una prueba que contemple el diagnóstico de las tres grandes causas del SDV; por otra parte, el tiempo promedio para llevarlo a cabo es de 7 días, con un intervalo entre 5 y hasta 21 días

#### **5 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuáles son los valores elementales normales en el hueso vertebral en los pacientes sanos atendidos por fracturas de columna toracolumbar en el servicio de cirugía de columna del INR LGII?

## **6 HIPÓTESIS**

Correlacionar las líneas de emisión obtenidas en el hueso de cada una de las etiologías obtenida mediante la espectroscopía LIBS con el diagnóstico obtenido mediante el protocolo diagnóstico de Síndrome de Destrucción Vertebral.

## **7 OBJETIVO GENERAL**

Correlacionar las líneas de emisión obtenidas en el hueso de cada una de las etiologías obtenida mediante la espectroscopía LIBS con el diagnóstico obtenido mediante el protocolo diagnóstico de Síndrome de Destrucción Vertebral.

## **8 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar la normalidad de la longitud de onda en el hueso vertebral sano

Determinar las longitudes de onda de cada una de las etiologías del Síndrome de Destrucción Vertebral.

Analizar y caracterizar los elementos específicos obtenidos de cada etiología.

## **9 MATERIAL Y MÉTODOS**

**Tipo de estudio**

- Prospectivo
- Transversal
- Observacional y analítico.

### **Población de estudio**

Pacientes de ambos sexos, de entre 18 y 40 años, que se presenten en el Instituto Nacional de Rehabilitación, en el servicio de cirugía de columna en un periodo comprendido de octubre del 2020 a junio de 2021 y que cumplan con los criterios de selección

### **Criterios de inclusión**

- a) Pacientes de sexo masculino o femenino de entre 18 y 40 años de edad
- b) Pacientes que acepten y firmen el consentimiento informado
- c) Pacientes con expediente clínico radiológico completo
- d) Pacientes de los cuales se obtenga una muestra macroscópicamente homogénea

### **Criterios de eliminación**

- a) Pacientes que no deseen continuar en el estudio
- b) Pacientes con más de 1 diagnóstico definitivo por histopatología

### **Criterios de exclusión**

- a) Pacientes con enfermedades concomitantes que afecten el metabolismo óseo (alteraciones metabólicas de calcio y fósforo, alteraciones en paratiroides, enfermedad renal crónica)
- b) Pacientes con consumo de medicamentos que afecten directamente el metabolismo óseo, medicamentos modificadores de hueso (bifosfonatos, denosumab, calcio, vitamina D, vitamina K)
- c) Pacientes con gota o amiloidosis como comorbilidades
- d) Pacientes con antecedente de intoxicación por plomo o metales pesados (plomo arsenico,mercurio o cadmio)
- e) Pacientes con diagnostico de osteoporosis
- f) Pacientes postrados o que no demabulen (osteopenicos)
- g) Pacientes con implantes ortopedicos de cualquier tipo (metalosis)

## **10 EVALUACIÓN**

Se analizará la información en el paquete estadístico SPSS versión 25. Se realizará estadística descriptiva, confiabilidad test-retest con coeficiente de correlación intraclase.

Validez concurrente con coeficiente de correlación de Pearson, coeficiente de kappa entre pulsos y se tomará un valor de  $p < 0.05$  como estadísticamente significativo.

Selección de las fuentes, métodos, técnicas y procedimientos de recolección de la información.

Los datos obtenidos de los pacientes serán recolectados en una base de datos universal electrónica, que contenga variables sociodemográficas, resultados de estudios de laboratorio e imagen, resultados de análisis histopatológico y microbiológico y resultados de las

mediciones de los biomarcadores óseos, obtenidos de la biopsia ósea. Se realizará búsqueda de artículos en PubMed, OVID.

## **Descripción de los procedimientos**

### **Obtención de consentimiento informado**

Cuando se identifica un paciente con diagnóstico de Síndrome de Destrucción Vertebral en protocolo de estudio y es ingresado para biopsia diagnóstica en el Servicio de Cirugía de Columna de INR LGII. Si cumple con los criterios de inclusión, se abordará un día antes de la cirugía al momento de llenar consentimientos de cirugía y se informará en que consiste la investigación, se le invitará a formar parte y se le proporcionará el consentimiento informado para que pueda leerlo con calma y conscientemente. Se aclarará cualquier duda del paciente con respecto al protocolo y se solicitará firmar el consentimiento informado donde acepta ser incluido en el estudio y donar una muestra de tejido de 3x3 mm al ser obtenida su muestra para histología.

### **Preparación de muestras para el análisis mediante LIBS**

La muestra de pacientes con SDV será obtenida mediante los protocolos ya establecidos de biopsia en el Servicio de Cirugía de columna por parte del médico tratante.

Las muestras de pacientes con diagnóstico de enfermedad degenerativa discal (intervenidos para fijación transpedicular), serán obtenidos por el médico tratante mediante pinzas Kerrison.

De esta manera, en ambos casos extraeremos de las muestras un fragmento de 3x3 mm inmediatamente después de ser extraídos del paciente.

Esta muestra será rotulada con un número de serie consecutivo y transportada en una hielera por la Dra. Casco o el Dr. Gamba desde el quirófano a hasta su procesamiento en el

laboratorio de espectroscopia en la UNAM el mismo día de la toma de muestra. Los datos del donador (nombre, edad, sexo, vertebra afectada) serán registrados en una base de datos en Excel por los doctores Gamba y Casco.

#### Estudio Histopatológico y Microbiológico

El resto del fragmento óseo obtenido mediante biopsia continuará su proceso en el protocolo ya establecido de diagnóstico, por lo cual serán enviados al servicio de patología e infectología del Instituto Nacional de Rehabilitación LGII, donde nos reportarán el origen etiológico de la Destrucción Vertebral.

#### **Análisis de muestras mediante LIBS**

El fragmento óseo de 3x3mm llegará en un lapso de 20 minutos al laboratorio de la UNAM, las muestras se recibirían en el ICAT, ya sea por el Dr. Sobral o Dra. Sánchez, rotuladas con el número asignado previamente y sin conocer información del paciente, las procesará el mismo día dentro de las 3 horas siguientes con la intención de evitar cambios en la composición y temperatura, el trabajo lo realizará en el dispositivo experimental usado para analizar las muestras mediante LIBS, se trata de un láser pulsado, que utiliza un sistema de lentes, en la superficie de la muestra a analizar, vaporizando una pequeña cantidad de la misma. Al mismo tiempo, el pulso del láser reduce la muestra a sus componentes atómicos, generando un plasma. La luz emitida por átomos excitados, iones y moléculas simples, en el plasma, es colectada y dirigida a un espectrómetro mediante una fibra óptica. El espectrómetro dispersa la luz y un detector registra las señales emitidas en forma de espectros de cuentas de intensidad en función de la longitud de onda.

La calidad de un espectro se mide a partir de la relación señal a ruido. La relación señal a ruido depende de diversos parámetros experimentales, así como de la naturaleza de la muestra.

Láser: El láser empleado en este trabajo será un Nd:YAG (Quantel, Brilliant EaZy) que cuenta con un ancho de pulso de 4-6 ns con una longitud de onda de 1064 nm y la frecuencia de 1 Hz.

Todos los experimentos se realizarán en aire a presión atmosférica, a temperatura ambiente. Posteriormente el Dr Huffman recabara la base de datos obtenida del procesamiento de las muestras, misma que se trabajara con el resto del equipo para su análisis y preparación de la publicación.

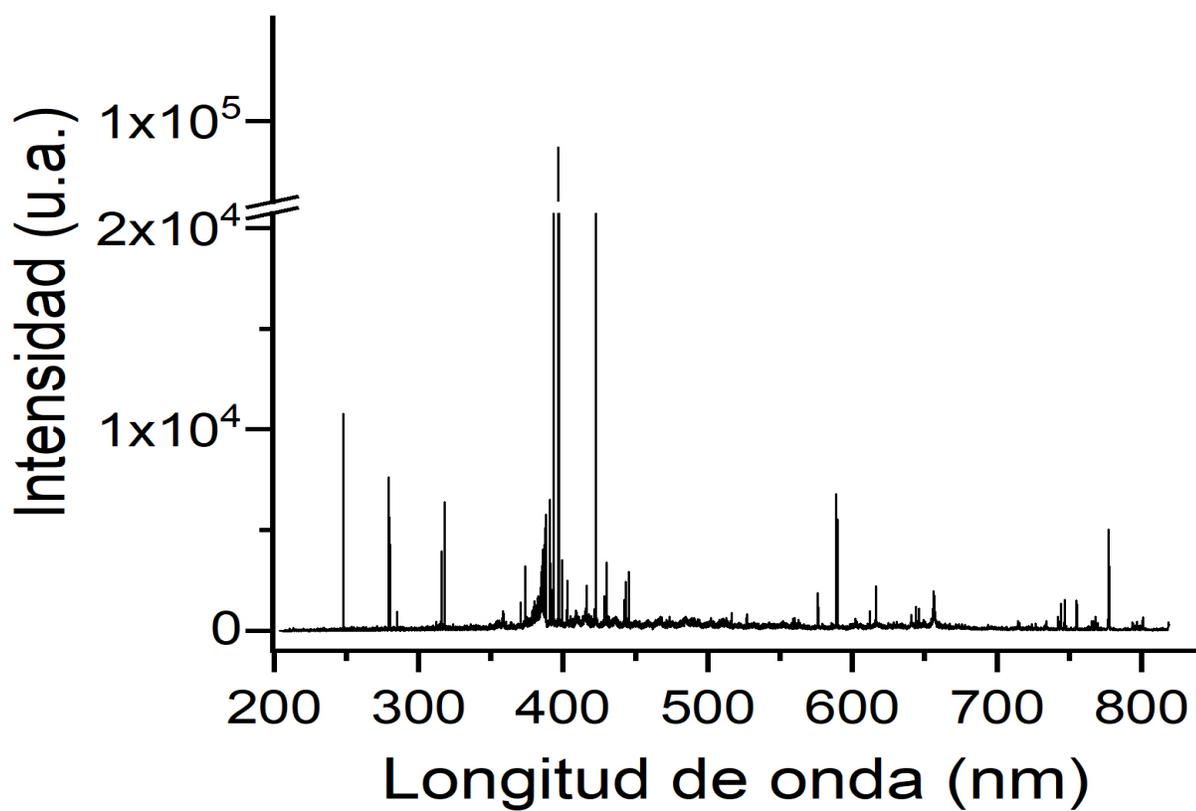
## 11 RESULTADOS

Elemento	$\lambda_{exp}$ (nm)	$\lambda_{teorica}$ (nm)
C I	247.86	247.86
Mg II	279.55	279.55
Mg II	280.26	280.27
Mg I	285.2	285.21
Ca II	315.88	315.886
Ca II	317.94	317.933
Ca I	364.42	364.41
Ca II ?	368.48	369.41
Ca II	370.6	370.6
Ca II	373.68	373.69
Ca II	393.35	393.366
Al I	394.36	394.4
Al I	396.14	396.15
Ca II	396.84	396.847
Ca I	422.64	422.673
Ca I	428.28	428.3
Ca I	428.92	428.93
Ca I	429.9	429.89
Ca I	430.24	430.253
Ca I	430.78	430.774
Ca I	431.86	431.86
Ca I	442.53	442.54

Ca I	443.49	443.496
Ca I	443.56	443.56
Ca I	445.48	445.47
Ca I	445.588	445.589
Ca I	526.177	--
Ca I	526.53	--
Ca I	527.02	--
Na I	588.97	588.99
Na I	589.56	589.59
N I	742.39	742.36
N I	744.23	744.22
N I	746.87	748.83
K I	766.46	766.48
K I	769.82	769.89

**Tabla 3**

En la tabla 3 podemos observar los diversos elementos que constituyen las vertebras de la columna toracodorsal, encontrando el calcio como el principal elemento en el hueso esponjoso de las vertebras sanas, de igual manera podemos encontrar carbono, magnesio, aluminio, sodio y potasio.



Las longitudes de onda en las que se encontró la mayor intensidad se localizaron entre 360 y 450 nm que corresponden a la longitud de onda del calcio el cual es el principal componente de los huesos y por lo tanto de las vertebrae, otros elementos tales como el carbono alcanzaron una intensidad que superó  $1 \times 10^4$  u.a, elementos a tomar en cuenta por la intensidad que alcanzaron, aun que sin llegar a acercarse a la intensidad de las longitudes de onda del calcio fueron el sodio, potasio, magnesio y aluminio.

## 12 DISCUSIÓN

Este estudio cuenta con dos fases la primera consistirá en evaluar los niveles de elementos básicos en las vertebrae de pacientes sanos, tomando bajo consentimiento

informado muestras del hueso esponjoso de los cuerpos vertebrales que resultan de la colocación de tornillos transpediculares durante los procedimientos de instrumentación lumbar en pacientes jóvenes con fracturas de columna toracolumbar, sin ninguna de las condiciones mencionadas en los criterios de exclusión, se obtendrán por medio de LIBS los valores normales de los elementos principales del hueso y los índices que existen entre algunos de ellos, determinando de esta manera los rangos normales de cada elemento para cada vertebra en función de la edad del paciente.

Hasta el momento en la literatura revisada no existe el reporte de valores de referencia de los elementos presentes en las vertebras

Existiendo discrepancia entre los diversos autores respecto a la diferencia en la composición elemental entre huesos de un mismo individuo, en la cual algunos apoyan la hipótesis de que los porcentajes de calcio, magnesio, estroncio y otros elementos de hueso son similares entre diferentes huesos largos .

Por tal motivo es importante realizar un estudio inicial donde se determinen los rangos normales de los elementos que se hallan en las vertebras para poder realizar la segunda parte del mismo que será la comparación y poder determinar las diferencias de los elementos principales hallados en las vertebras afectadas por un síndrome de destrucción vertebral.

### **13 CONCLUSIÓN**

La espectroscopia podría ser un método valido para realizar el diagnostico etiológico del síndrome de destrucción vertebral, sin embargo debido a la gran cantidad de espectros

que analiza y al alto numero de variables que toma en cuenta es necesario hacer un amplio muestreo de huesos de pacientes sanos para tener un punto de referencia, posterior a lo cual se podrán comparar los valores promedio obtenidos durante la espectroscopia y determinar las diferencias en las proporciones elementales con las etiologías del síndrome de destrucción vertebral.

## 1. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alpízar-Aguirre A, Elías-Escobedo A, Rosales-Olivares LM, Miramontes-Martínez V, Reyes-Sánchez A. Síndrome de destrucción vertebral. Sistemas de evaluación en su diagnóstico [Internet]. Vol. 76, Cirugia y Cirujanos. México D.F.; 2008 [cited 2018 Jul 28]. Available from: [www.medigraphic.com](http://www.medigraphic.com)
2. Jimenez Avila JM. Vertebral Destruction Syndrome: From Knowledge to Practice. *J Spine*. 2015;04(04).
3. Jiménez Ávila JM, Del Toro Aguayo JM, Victoria Buitimea CJ, Guerrero Ortiz Marcelo. ¿Qué es el síndrome de destrucción vertebral? [Internet]. Vol. 9. México; 2013 [cited 2018 Jul 28]. Available from: [www.medigraphic.org.mx](http://www.medigraphic.org.mx)
4. Yoon YK, Jo YM, Kwon HH, Yoon HJ, Lee EJ, Park SY, et al. Differential diagnosis between tuberculous spondylodiscitis and pyogenic spontaneous spondylodiscitis: A multicenter descriptive and comparative study. *Spine J*. 2015;15(8):1764–71.
5. Ciftdemir M, Kaya M, Selcuk E, Yalniz E. Tumors of the spine. *World J Orthop* [Internet]. 2016 Feb 18 [cited 2018 Nov 20];7(2):109–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26925382>
6. Cañete AN, Bloem HL, Kroon HM. Tumores primarios de columna. 2016 [cited 2018

- Nov 6];58(S1):68–80. Available from: [www.elsevier.es/rxARTÍCULOESPECIAL](http://www.elsevier.es/rxARTÍCULOESPECIAL)
7. Theoleyre S, Wittrant Y, Tat SK, Fortun Y, Redini F, Heymann D. The molecular triad OPG/RANK/RANKL: Involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2004;15(6):457–75.
  8. Mossetti G, Rendina D, De Filippo G, Viceconti R, Di Domenico G, Cioffi M, et al. Interleukin-6 and osteoprotegerin systems in Paget's disease of bone: Relationship to risedronate treatment. *Bone.* 2005;36(3):549–54.
  9. González J, Olmos JM. Fisiopatología de la osteoporosis y mecanismo de acción de la PTH. *Rev Osteoporos y Metab Miner.* 2010;2(Supl 2):5–17.
  10. Esparza-Guerrero Y, Nava-Valdivia CA, Saldaña-Cruz AM, Vásquez-Jiménez JC, Farias-Cuevas KP, Enriquez-Luna A, et al. El sistema RANK/RANKL/OPG y sus implicaciones clínicas en la osteoporosis. *El Resid.* 2016;11(3):99–104.
  11. Aguirre AA, Olivares LMR, Bringas GS, Kalfopulos BZ, García JGE, Sánchez AR. Evaluación de una nueva sistematización de estudios para el diagnóstico del síndrome de destrucción vertebral. *Coluna/Columna [Internet].* 2012;11(2):151–5. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1808-18512012000200013&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-18512012000200013&lng=es&tlng=es)
  12. Kasem MA, Gonzalez JJ, Russo RE, Harith MA. LIBS analysis of artificial calcified tissues matrices. *Talanta [Internet].* 2013;108:53–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2013.02.062>
  13. Kohli S, Kohli V. Role of RANKL-RANK/osteoprotegerin molecular complex in bone remodeling and its immunopathologic implications. *Indian J Endocrinol Metab.* 2011;15(3):175.
  14. Gill RK, Knorr F, Smith ZJ, Kahraman M, Madsen D, Larsen DS, et al. Characterization of femtosecond laser-induced breakdown spectroscopy (fsLIBS) and applications for biological samples. *Appl Spectrosc.* 2015;68(9):949–54.
  15. Rehse SJ, Salimnia H, Miziolek AW. Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS): An overview of recent progress and future potential for biomedical applications. *J*

- Med Eng Technol. 2012;36(2):77–89.
16. Singh VK, Sharma J, Pathak AK, Ghany CT, Gondal MA. Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS): a novel technology for identifying microbes causing infectious diseases. *Biophys Rev.* 2018;10(5):1221–39.
  17. Mehari F, Rohde M, Knipfer C, Kanawade R, Klämpfl F, Adler W, et al. Laser induced breakdown spectroscopy for bone and cartilage differentiation - ex vivo study as a prospect for a laser surgery feedback mechanism. *Biomed Opt Express.* 2014;5(11):4013.
  18. Hybl JD, Lithgow GA, Buckley SG. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy Detection and Classification of Biological Aerosols. *Appl Spectrosc.* 2003;57(10):1207–15.
  19. Baudalet M, Guyon L, Yu J, Wolf JP, Amodeo T, Frájafon E, et al. Femtosecond time-resolved laser-induced breakdown spectroscopy for detection and identification of bacteria: A comparison to the nanosecond regime. *J Appl Phys.* 2006;99(8).
  20. Snyder EG, Munson CA, Jennifer LG, De Lucia FC, Gullett B, Miziolek A. Laser-induced breakdown spectroscopy for the classification of unknown powders. *Appl Opt.* 2008;47(31).
  21. Manzoor S, Ugena L, Tornero-López J, Martín H, Molina M, Camacho JJ, et al. Laser induced breakdown spectroscopy for the discrimination of *Candida* strains. *Talanta* [Internet]. 2016;155:101–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2016.04.030>
  22. Rehse SJ, Diedrich J, Palchaudhuri S. Identification and discrimination of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria grown in blood and bile by laser-induced breakdown spectroscopy. *Spectrochim Acta - Part B At Spectrosc.* 2007;62(10):1169–76.
  23. Diedrich J, Rehse SJ, Palchaudhuri S. Pathogenic *Escherichia coli* strain discrimination using laser-induced breakdown spectroscopy. *J Appl Phys.* 2007;102(1).
  24. Kumar A, Yueh FY, Singh JP, Burgess S. Characterization of malignant tissue cells by

- laser-induced breakdown spectroscopy. *Appl Opt.* 2004;43(28):5399–403.
25. El-Hussein A, Kassem AK, Ismail H, Harith MA. Exploiting LIBS as a spectrochemical analytical technique in diagnosis of some types of human malignancies. *Talanta.* 2010;82(2):495–501.
  26. Gill RK, Smith ZJ, Panchal RR, Bishop JW, Gandour-Edwards R, Wachsmann-Hogiu S. Preliminary fsLIBS study on bone tumors. *Biomed Opt Express.* 2015;6(12):4850.
  27. Vivek K. Singh & Vinay Kumar & Jitendra Sharma .Importance of laser-induced breakdown spectroscopy for hard tissues (bone, teeth) and other calcified tissue materials *Lasers Med Sci* 2015: 30:1763–1778
  28. Sighinolfi GP, Sartono S, Artoli YG (1993) Chemical and mineralogical studies on hominid remains from Sangiran, Central Java (Indonesia). *J Hum Evol* 24:57–68
  29. Vandeweert E, Bastiaansen J, Philipsen V et al. The detection of Sr sputtered from metallic and biological matrices by double-resonant photoionization mass spectrometry. In *RIS 2000: Laser ionization and applications incorporating RIS* (ed. J. E. Parks and J. P. Young ), AIP Conf. Proc. 584 (2001), 301-304
  - 30 Alicia Marín Roldán, Vishal Dwivedi, José Yravedra Sainz de los Terreros Pavel Veis. Laser-Induced breakdown spectroscopy (LIBS) for the analyses of faunal bones: Assembling of individuals and elemental quantification. *Optik - International Journal for Light and Electron Optics* 218 (2020) 164992

