



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

Departamento de Cirugía

Programa: 040F- Cirugía y sus Especialidades

**ESTRÉS OXIDATIVO Y SU VALOR PRONÓSTICO
EN OSTEONECROSIS IDIOPÁTICA
DE CABEZA FEMORAL**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

María Carmen Blasco Mollá

Dirigida por:

Prof. Dr. D. Francisco Gomar Sancho

Dr. D. Antonio Silvestre Muñoz

Dr. D. Francisco José Dasí Fernández

Valencia, Octubre 2015

D. **FRANCISCO GOMAR SANCHO**, Doctor en Medicina, Catedrático del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina de la Universitat de Valencia, Jefe de Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología del Hospital Clínico Universitario de Valencia.

D. **ANTONIO SILVESTRE MUÑOZ**, Doctor en Medicina, Profesor asociado del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina de la Universitat de Valencia, Jefe de sección de Cirugía Ortopédica del Hospital Clínico Universitario de Valencia.

D. **FRANCISCO JOSÉ DASÍ FERNÁNDEZ**, Doctor en Biología, Profesor asociado del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universitat de Valencia, Investigador Miguel Servet del Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Clínico Universitario de Valencia-INCLIVA.

CERTIFICAN:

Que la Licenciada en Medicina y Cirugía Dña. María Carmen Blasco Mollá ha realizado bajo nuestra dirección, en el Departamento de Cirugía de la Universitat de Valencia, el trabajo titulado:

“ESTRÉS OXIDATIVO Y SU VALOR PRONÓSTICO EN OSTEONECROSIS IDIOPÁTICA DE CABEZA FEMORAL” que se presenta en esta memoria para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Y para que conste, firmamos la presente en Valencia a 15 de octubre de 2015.

F. Gomar Sancho

A. Silvestre Muñoz

F. Dasí Fernández

*A Carmen, mi alegría.
A Juan, mi complemento.*

El desarrollo de este trabajo no hubiera sido posible sin el apoyo y colaboración de diversas personas e instituciones. Por ello, me gustaría expresar por escrito mi agradecimiento.

A mis Directores de tesis:

Al Profesor Dr. Don Francisco Gomar Sancho, a Don Paco, a mi jefe. Desde estudiante, luego residente y finalmente profesional médico y traumatólogo, ha sido decisivo en mi progresión profesional y personal. Mi más sincero agradecimiento.

Al Profesor Dr. Don Francisco Dasí Fernández, Paco, por dirigirme y guiarme en el camino de la investigación.

Al Profesor Dr. Don Antonio Silvestre, por formar parte de este proyecto.

A Mercedes Navarro y Sara Pastor, por su ayuda, su paciencia y valioso apoyo. Junto con Paco, han sido indispensables en la realización de esta tesis.

A los responsables del Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Clínico Universitario de Valencia-INCLIVA y de la Unidad Central de Investigación Médica-UCIM de la Facultad de Medicina y Odontología de Valencia por la cesión de las instalaciones para la realización de este trabajo.

Agradecimientos

Al personal del Departamento, del laboratorio, del hospital y a todos los compañeros del Servicio de COT, por estar siempre dispuestos a ayudarme y apoyarme. Me hacen sentir parte de “*un todo*”.

A Jaime Fernández, amigo y maestro, por guiarme en el mundo de la Medicina, por no dejarme perder el verdadero sentido de la relación médico-enfermo y por estar ahí “*siempre*”. Gracias Jaime.

A mi familia, sobre todo a mis padres, Paco y Carmen, son mi ejemplo de: Amor, Esfuerzo, Trabajo y Dedicación.

Abreviaturas

8-OHdG: 8 Hidroxi deoxi Guanosina

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ARCO: Association Research Circulation Osseus

ATC: Artroplastia Total de Cadera

CAT: Catalasa

Cols: Colaboradores

CORE: Center for Osteonecrosis Research and Education

DM: Diabetes Mellitus

EEUU: Estados Unidos de América

eONS: Óxido Nítrico Sintetasa endotelial

EO: Estrés oxidativo

EPOC: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica

FIS: Fractura por Insuficiencia Subcondral

GPx: Glutación Peroxidasa

GR: Glutación Reductasa

GSH: Glutación Reducido

GSSG: Glutación Oxidado

H₂O₂: Peróxido de Hidrógeno

iv: intravenoso

LES: Lupus Eritematoso Sistémico

LP(a): Lipoproteína a

mg: miligramo

ml: mililitro

mm: milímetros

NADPH: Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato

NO: Óxido Nítrico

NONF: The National Osteonecrosis Foundation

O₂: molécula de Oxígeno

O₂⁻: Anión Superóxido

OCl⁻: Ión Hipoclorito

OH⁻: Radicales hidroxilo

ON: OsteoNecrosis

ONF: OsteoNecrosis Idiopática de Cabeza Femoral

PAI-1: Inhibidor del Activador del Plasminógeno

PTC: Prótesis Total de Cadera

RM: Resonancia Magnética

RNS: Especies Reactivas del Nitrógeno

ROS: Especies Reactivas del Oxígeno

Rx: Radiografía convencional

SOD: SuperÓxido Dismutasa

TVP: Trombosis Venosa Profunda

XO: Xantina Oxidasa

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	3
1-1. EXPOSICIÓN DEL ESTADO ACTUAL.....	3
1-1-1. Definición.....	3
1-1-2. Importancia de la Patología.....	8
1-1-3. Factores de Riesgo. Etiología y Etiopatogenia.....	12
1-1-4. Anatomía Patología.....	25
1-1-5. Clínica.....	28
1-1-6. Diagnóstico.....	28
1-1-7. Diagnóstico Diferencial	38
1-1-8. Tratamiento.....	42
1-2. ESTRÉS OXIDATIVO. SU PAPEL EN LA ENFERMEDAD.....	70
1-2-1. Especies Reactivas. Estrés Oxidativo. Definición.....	70
1-2-2. Fuentes endógenas y exógenas de ROS.....	75
1-2-3. Daños por oxidación de biomoléculas.....	79
1-2-4. Mecanismos de defensa antioxidante.....	80
1-2-5. Funciones fisiológicas de las ROS.....	86
1-2-6. Métodos para la determinación de Estrés Oxidativo.....	88
1-2-7. Estrés Oxidativo en la Enfermedad.....	91
1-2-8. Estrés Oxidativo en la ONF.....	94
2. HIPÓTESIS.....	97
3. OBJETIVOS.....	101
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	105
4-1. Sujetos de estudio.....	106
4-2. Recogida de datos clínicos (ANAMNESIS) y radiográficos.....	107
4-3. Recogida y preparación de las muestras.....	108
4-4. Determinación del perfil de Estrés Oxidativo.....	109
Cuantificación de marcadores de daño por oxidación	109
Determinación del daño oxidativo en el ADN	109
Determinación del daño oxidativo en los lípidos	110
Determinación del daño oxidativo en las proteínas	111
Cuantificación de la actividad de las enzimas antioxidantes	111
Determinación de antioxidantes de pequeño peso molecular: GSSG/GSH	113
4-5. Correlación entre el Estrés Oxidativo y los parámetros predictores de la evolución de ONF.....	114
4-6. Correlación entre el estrés oxidativo y los parámetros clínicos de la ONF.....	115
4-7. Análisis estadístico	115
5. RESULTADOS	119
5-1. Datos demográficos de pacientes y controles	119
5-2. Antecedentes clínicos	121
5-3. Valoración radiológica	123
5-4. Parámetros de Estrés Oxidativo	125
5-5. Correlación entre Estrés Oxidativo y los parámetros clínicos de la ONF.....	127
5-6. Correlación entre Estrés Oxidativo y los parámetros predictivos de la evolución de la ONF.....	134
6. DISCUSIÓN	143
7. CONCLUSIONES	163
8. BIBLIOGRAFÍA	167
9. ANEXOS	203

1. Introducción

1. INTRODUCCIÓN

1-1. EXPOSICIÓN DEL ESTADO ACTUAL

1-1-1. Definición

Osteonecrosis (ON) significa muerte del hueso, de las células que lo forman, causada por un aporte inadecuado de sangre o por otras causas¹.

Durante gran parte del siglo XIX, se consideró que la osteonecrosis presentaba un origen de carácter séptico. La identificación de casos con estudios bacteriológicos negativos condujo a la utilización del término necrosis aséptica. Las posteriores observaciones indicaron que los focos óseos necróticos no sólo eran asépticos, sino que eran también avasculares; de ahí surgieron los términos necrosis isquémica y necrosis avascular².

Hay dos clases principales de osteonecrosis: las postraumáticas y las no traumáticas.

La osteonecrosis no traumática y aséptica de cabeza femoral es una patología que se desarrolla como consecuencia de la disminución de aporte sanguíneo a la cabeza femoral, cuya causa no está relacionada con un proceso traumático ni infeccioso³. Este estado patológico tiene varias posibles etiologías que causan una reducción en el aporte vascular al hueso subcondral de la cabeza femoral, resultando en una alteración de la microcirculación, el subsecuente colapso de la cabeza femoral y la rápida destrucción de la articulación de la cadera⁴.

Se le ha llamado también osteonecrosis idiopática de cabeza femoral, aunque a veces se encuentre tanta relación con algunos factores como los corticoides, que ha pasado a llamarse, en estos casos, ON de cabeza femoral secundaria a la toma de corticoides⁵. Como se desconoce el mecanismo etiopatogénico exacto que la produce, en muchas ocasiones se sigue denominando, en todos estos casos no traumáticos, osteonecrosis idiopática de cabeza femoral (ONF)⁶.

Anatomía Vascul

La vascularización de la cadera, ya en 1949, fue comparada por Chandler⁷, a la vascularización del miocardio; la ONF sería la “enfermedad coronaria de la cadera”, en donde las arterias de la epífisis femoral proximal son terminales y sin anastomosis, por lo que su alteración produciría isquemia y necrosis sin posibilidad de suplencia.

La vascularización de la cabeza del fémur proviene de la arteria femoral profunda y de dos de sus ramas terminales: la arteria femoral circunfleja lateral o anterior y la arteria femoral circunfleja medial (Fig. 1). La arteria circunfleja lateral se divide en ramas ascendente transversa y descendente; la ascendente sigue un trayecto por la línea intertrocantérica, formando un anillo vascular en la base del cuello femoral, uniéndose con ramas de la circunfleja medial en la zona de inserción de la cápsula articular.

La arteria femoral circunfleja medial o posterior termina en sus ramas transversa y ascendente que se anastomosa con la rama ascendente de la circunfleja lateral y forma el anillo vascular extracapsular; de este anillo surgen 4 ramas ascendentes o reticulares ascendentes formando el segundo anillo vascular intraarticular, que se aproxima al margen articular de la cabeza.

También contribuye, aunque en menor porcentaje, a la vascularización de la parte más medial de la cabeza, la arteria del ligamento redondo, que proviene de la arteria obturatriz o de la misma arteria circunfleja medial.

La vascularización intraósea de la cabeza femoral fue exhaustivamente descrita por Trueta⁸: muestra 4 arterias intraóseas en la cabeza femoral del adulto (arteria epifisaria lateral, arteria epifisaria medial y arterias metafisarias superiores e inferiores) y sus zonas de irrigación. La dirección de la vascularización epifisaria se dirige desde una rama que discurre por la zona del antiguo cartílago de crecimiento hacia la superficie articular,

abriéndose como las ramas de un árbol en sentido perpendicular. El autor describió perfectamente el sistema arterial, pero no así el venoso intraóseo. Esta disposición vascular puede predisponer el que los émbolos se detengan en la zona subcondral, causando isquemia y muerte celular.



Figura 1. 1: arteria femoral profunda, 2: arteria circumfleja lateral, 3: arteria circumfleja medial, 4: arteria retinacular superior (epifisaria lateral) 5: arteria retinacular inferior (metafisaria inferior) 6: arterias de la fovea (epifisarias mediales), 7: arteria glútea inferior, 8: arteria obturatriz.

También Atsumi y cols⁹. localizaron la detección del flujo arterial en la osteonecrosis idiopática con microangiografía selectiva de la arteria femoral circunfleja media en las arterias reticulares extraóseas superiores.

Esta disposición de la vascularización, sin anastomosis que pudieran revascularizar zonas isquémicas, podría ser una de las razones del desarrollo de osteonecrosis en la epífisis femoral proximal¹⁰.

Osteonecrosis postraumática de cabeza femoral

El origen traumático es una de las causas más frecuentes de osteonecrosis femoral. Las fracturas desplazadas del cuello femoral provocan un número importante de osteonecrosis, entre el 10% y el 64%, en función de una serie de factores asociados: edad, peso del paciente, desplazamiento de los fragmentos, tiempo pasado hasta que la fractura es estabilizada, punción-aspiración del hematoma intraarticular, tipo de procedimiento, facilidad en la reducción, fijación y técnica quirúrgica, tipo de material de osteosíntesis y su localización, carga precoz o tardía y presencia de falta de consolidación o no^{3,11-13}.

El factor más importante, en estos casos traumáticos, sería el grado de desplazamiento inicial de la fractura, pues guarda relación directa con el daño vascular provocado¹⁴. El hecho de que la vascularización de la cabeza del fémur esté compuesta por arterias terminales⁷, con ausencia de anastomosis entre ellas, facilita la aparición de cambios isquémicos en el tejido óseo dependiente de ella. El que aparezca osteonecrosis en estos casos está asociado a la lesión de los vasos del cuello femoral, especialmente a los superiores, o a la interrupción del flujo sanguíneo por aumento severo de la presión intracapsular^{10,13}.

Otras causas traumáticas de lesión vascular directa son las luxaciones de cadera³, sobre todo, las que se reducen pasadas las 12 horas de la luxación, (provocan necrosis en un 26% de los casos), y las epifisiolisis de los adolescentes que ocasionan de un 2% a un 15% de casos de osteonecrosis de cabeza femoral¹⁵⁻¹⁷.

Osteonecrosis idiopática de cabeza femoral

La osteonecrosis idiopática de cadera (ONF) fue descrita por primera vez por Alexander Munro en 1738. Otras referencias, son: un texto de James Rusell en 1794 y una descripción de Jean Cruvilhier, un conocido anatomista francés, a principios del siglo XIX, quien ya menciona la deformidad de la cabeza femoral debida a una interrupción del flujo sanguíneo. Posteriormente, entre 1886 y 1888, Kraglund y König dieron más datos sobre esta patología¹⁸. Pero fue Freund¹⁹, quien dio la primera descripción detallada de la necrosis bilateral de la cabeza femoral en 1926, que en 1936, pasó a llamarse idiopática.

En 1993, el comité de la ARCO (Association Research Circulation Osseus), consensuó la definición de osteonecrosis idiopática de la cabeza femoral: *“la enfermedad que produce una osteonecrosis sistémica de la cabeza femoral sin antecedente de traumatismo o infección, y que progresa hacia una osteoartritis secundaria tras el colapso de la cabeza femoral”*²⁰.

La ONF afecta a todos (**sistémica**) los tejidos situados en la cabeza del fémur, y no sólo al tejido óseo; también al tejido hematopoyético, a los vasos sanguíneos, al tejido adiposo y en las fases finales al cartílago articular, que por su nutrición a expensas del líquido sinovial pervive inicialmente, conservando su función, pero progresa, hasta la fase de destrucción articular²¹.

A la muerte de la porción celular del hueso, en zonas de carga, se puede producir un colapso de dicho segmento necrótico. Si esto se produce en hueso subcondral, desencadenará un colapso del cartílago articular y cambios estructurales en la morfología de la cabeza femoral, seguida de artrosis degenerativa de la articulación de la cadera^{4,22}.

1-1-2. Importancia de la Patología

Esta enfermedad afecta a una población relativamente joven, entre la tercera y quinta décadas de la vida⁴, provocando (debido a la destrucción articular progresiva) una grave incapacidad funcional, lo que repercute en la vida laboral y social de estos pacientes en una edad plenamente productiva, con un coste sociosanitario substancial y una afectación de la vida social y familiar. Se ha relacionado esta enfermedad con alteraciones psicológicas como ansiedad y depresión, teniendo mayor riesgo los pacientes con ONF bilateral²³.

En un porcentaje alto de casos la enfermedad es bilateral, hasta en un 75% según autores^{24,25}. La cadera contralateral se afectará en el 55% de los pacientes en el transcurso de 2 años^{26,27}.

El desenlace, en la mayoría de las ocasiones, va dirigido a la sustitución articular como único tratamiento definitivo posible²⁸⁻³⁰. El tratamiento quirúrgico mediante artroplastia de cadera en pacientes tan jóvenes suele provocar una limitación de la capacidad motora del paciente, y genera un porcentaje mayor de cirugías secundarias que en pacientes ancianos, con la morbilidad que ello conlleva.

El tratamiento conservador no modifica el curso natural de la enfermedad (progresiva), y dentro del tratamiento quirúrgico, las intervenciones dirigidas a conservar la cabeza femoral solo consiguen, en el mejor de los casos, una mejoría transitoria y suelen dificultar la cirugía posterior considerada como la otra alternativa y el hoy por hoy “gold standard”, la artroplastia total de cadera (ATC)^{30,31}.

Prueba de la importancia de esta patología, son las numerosas publicaciones existentes sobre todos y cada uno de sus aspectos: factores de riesgo, etiopatogenia y fisiopatología, historia natural de la patología sin tratamiento, diagnóstico, tratamiento y resultados a largo plazo de los diferentes tipos de tratamientos, tanto conservadores como quirúrgicos. A fecha de mayo de 2015, las referencias encontradas en el buscador de bibliografía médica PubMed con las palabras “*osteonecrosis femoral head*” son 6.786 y sólo en los últimos 5 años encontramos 1.146 referencias.

De igual manera, otro hecho que pone de manifiesto su importancia, es la existencia, en numerosos países, de asociaciones de pacientes con esta enfermedad, como en Estados Unidos (EEUU): “*The ON/AVN Support Group Int. Association, Inc.*”, que asesora y orienta a los pacientes. También en EEUU: “*The National Osteonecrosis Foundation*” (NONF) y el “*Center for Osteonecrosis Research and Education*” (CORE), que sirve como centro coordinador de los diferentes estudios en dicho país.

A nivel internacional, la principal asociación es la ARCO, cuyos objetivos son potenciar, coordinar y emprender la investigación básica y clínica en el campo de la circulación ósea y sus patologías, en particular la osteonecrosis, así como mantener un diálogo entre los expertos internacionales.

En Corea, el “*Skeletal Disease Genome Research Center*” del Hospital Nacional Universitario Kyungpook está realizando diversos estudios genómicos en pacientes con esta enfermedad³²⁻³⁵. El Ministerio de Sanidad de Japón incluyó a la ONF dentro del programa de “enfermedades intratables” en el año 1975, a la vez que se impulsó gubernamentalmente la investigación sobre esta patología. El principal motivo de estas acciones en Asia, es que la osteonecrosis de cadera es el diagnóstico más frecuente entre los pacientes a los que se les implanta una prótesis de cadera, con una frecuencia entre el 40-57%³⁶.

Se desconoce la incidencia y la prevalencia real de esta patología, pues el hecho de que la clínica no coincida con el inicio de la enfermedad, que en muchos casos curse asintómicamente y que en otros se diagnostique en fase tardía, dificulta distinguirla de otros tipos de artrosis²⁹. Tampoco existen registros nacionales de la incidencia real de la enfermedad, conociéndose los datos epidemiológicos aproximados a partir de los registros nacionales de artroplastias de cadera. Se calcula que en EEUU se diagnostican entre 20.000 y 30.000 casos anuales (CORE) que suponen entre el 5-18% de las artroplastias totales realizadas en este país (aproximadamente unas 500.000 al año), con un coste estimado de 1 billón de dólares (más de 912 mil millones de euros). Están documentadas 250.000 osteonecrosis de cadera hasta la fecha en EEUU. Morse y cols. han calculado la posibilidad de padecer una ONF, cifrándola en 0,0026 por 100 personas y año³⁷. La ONF no afecta a la esperanza de vida, razón por la que varios cientos de miles de pacientes están viviendo en EEUU con esta patología³⁸.

En un reciente estudio en Aichi, una región de Japón, se estima una incidencia anual ajustada por edad, de 138,5 pacientes, lo que extrapolado a la población de Japón (128 millones de habitantes) supondría un porcentaje de incidencia anual de 1,91/100.000³⁹.

Debido a la importancia en número, en afectación de la vida laboral y social de estos pacientes jóvenes y al desconocimiento exacto de su etiopatogenia y la no curación de esta enfermedad, existen distintas líneas de investigación activas en la actualidad, centradas en :

- Identificación de factores de riesgo.
- Estudios de incidencia con Resonancia Magnética (RM) en poblaciones de riesgo.
- Análisis genéticos en población susceptible.
- Métodos de diagnóstico precoz en fase silente.
- Desarrollo de ONF y su estudio, en modelos animales.
- Nuevos tratamientos en fase de precolapso.
- Resultados a largo plazo de tratamientos de preservación cabeza femoral.
- Resultados a largo plazo de distintos tipos de artroplastias de cadera.
- Relación del estrés oxidativo tisular y desarrollo de ONF en modelos animales y últimamente en humanos.

Los esfuerzos pues, deben ir dirigidos al conocimiento exacto de la patogénesis de la enfermedad, hoy en día desconocida, para poder prevenirla, a la sospecha diagnóstica y subsiguiente diagnóstico precoz, a la búsqueda de estrategias diagnósticas que sirvan de alarma para osteonecrosis de cabeza femoral y de estrategias terapéuticas que modifiquen el comportamiento de las células óseas y/o que restauren la vascularización ósea y que sirvan como coadyuvantes (modificadores de la fisiopatología) de los procedimientos quirúrgicos que conservan la cabeza femoral.

1-1-3. Factores de Riesgo. Etiología y Etiopatogenia

Se conocen diversos y múltiples factores etiológicos influyentes o relacionados con esta enfermedad: consumo de alcohol y/o tabaco, tratamiento con corticoides, alteraciones de la hemostasia y de la coagulación como las trombofilias y la coagulación intravascular diseminada, alteraciones en el metabolismo lipídico como la hiperlipidemia y el síndrome de embolismo graso, polimorfismos genéticos e incluso enfermedades sistémicas que alteran el colágeno como el lupus eritematoso sistémico (LES), trasplantes de órganos, hemoglobinopatías como anemia de células falciformes, disbarismos, enfermedad de Gaucher, reacciones de hipersensibilidad, tumores malignos, quimioterapia y/o radioterapia, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedades vasculares, enfermedades autoinmunes causantes de vasculitis e incluso la osteoporosis y la osteomalacia, que estarían asociadas a un incremento del riesgo de sufrir ONF^{6,30,37,40-42}. Los pacientes con ONF suelen presentar más de un factor de riesgo, sugiriendo una etiología multifactorial²¹.

Se ha postulado que el daño tisular en la cabeza del fémur estaría causado por una afectación de la microcirculación, una interrupción del flujo sanguíneo provocado por diversos fenómenos²⁵: la formación de trombos, hemorragia intramedular, embolia grasa por alteración en el metabolismo de los lípidos⁶ y aumento de la presión intraósea entre otros¹⁰.

Se han buscado últimamente sustancias que sirvan de alarma a la aparición de osteonecrosis, como la Interleukina-33, liberada específicamente por las células necróticas, no estando claro si su papel es beneficioso o no⁴³.

Así pues, el mecanismo exacto por el que se produce la ONF es aún desconocido⁴⁴. El concepto actual de su etiopatogenia es multifactorial, apoyando la teoría del estrés acumulativo celular de Kenzora⁴⁵.

Diversos estudios sugieren que en lugar de una patología isquémica, la ONF podría ser descrita como un problema de muerte celular producida por acción vascular, química y por factores mecánicos, lo cual lleva de nuevo, a la teoría del estrés celular acumulativo⁴⁵.

Las células diana serían las que se encuentran intracefálicas, pertenecientes al tejido óseo (osteoblasto, osteocito, osteoclasto) o al medular (hematopoyéticas, adipocitos, endotelio vascular)⁴⁶.

Corticoides

Desde mediados de siglo XX (Paterson, en 1964, publicó la primera serie de pacientes afectados de osteonecrosis de cadera tras la administración de corticoides⁴⁷), se conoce la relación existente entre la toma de corticoides y la aparición de osteonecrosis de cadera. Esta relación hace que algunos autores dejen de llamarla *idiopática* cuando entre los antecedentes se encuentre la administración de corticoides⁵.

La patogenia exacta causante de la osteonecrosis por corticoides es todavía desconocida, aunque se encuentran publicaciones que la relacionan con alteraciones de las enzimas del metabolismo corticoideo⁴⁸⁻⁵¹, con la aparición de émbolos lipídicos⁴⁸, con la alteración en la diferenciación de la serie osteoblástica⁴⁹, con la disminución de la producción de óxido nítrico endotelial⁵⁰ y con la alteración del metabolismo lipídico⁵¹ o de la coagulación⁵².

Entre un 8-10% de los pacientes en tratamiento con corticoides sufre ONF^{53,54}.

Es difícil separar los efectos de los esteroides de los de la propia enfermedad subyacente, pero es evidente que existe una relación entre el aumento de los corticoides en sangre y la incidencia de ONF.

Pacientes que necesitan tratamiento con corticoides durante periodos prolongados de tiempo, pueden desarrollar una ONF, asintomática o no, con una frecuencia que varía entre el 5% y el 52%. Hablaríamos entre otros, de los afectados de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), trasplantados de riñón, hígado, corazón o médula ósea, linfomas, leucemia, mieloma múltiple, tumores sólidos, esclerosis múltiple, enfermedad de Crohn, o enfermedades reumatológicas⁵⁵⁻⁶⁵.

En cuanto a cuándo se produce la aparición de ONF tras la toma de corticoides, se habla de alrededor de los 4 primeros meses tras el inicio del tratamiento, la mayoría de veces dentro del primer año de tratamiento. Koo⁵⁶ sugiere que la determinación del complejo inhibidor de la plasmina (indicador “*in vivo*” de la generación de trombina y plasmina que se encuentra elevado en los pacientes que sufrieron ONF tras los 20 días del inicio de la administración de corticoides, como él mismo demostró), podría utilizarse como método de cribado del riesgo de padecer la enfermedad en pacientes que toman corticoides. De la misma manera, otros autores⁵⁷ han observado imágenes de edema óseo en cabeza de fémur antes de las 12 semanas tras la administración de corticoides.

Aunque menos frecuente, también se han descrito casos de ONF en pacientes tratados con bolos de corticoides intravenosos (iv) a altas dosis^{54,58} como en casos de pacientes neuroquirúrgicos³⁶, en pacientes tratados con corticoides tópicos⁵⁹, intrarticulares⁶⁰ o incluso inhalados⁶¹. La dosis necesaria para provocar una ONF varía de paciente a paciente; la dosis no es constante ya sea administrada de forma crónica vía oral (se ha calculado que por cada aumento de 10 mg/día durante los primeros 6 meses de tratamiento corticoideo, aumenta la posibilidad de desarrollo de ONF en un 4,6%), ya sea en forma de bolo intravenoso⁵⁴. Dosis acumuladas de metilprednisolona mayores de 2.000 mg o un tratamiento de más de 18 días, se asocian a mayores posibilidades de desarrollar ONF en pacientes con Síndrome Respiratorio Severo Agudo^{62,63}.

Al no tratarse de dosis exactas hace presuponer que existe una predisposición genética para el desarrollo de esta enfermedad: factores tales como una disfunción en la enzima hepática P450 3A⁶⁴⁻⁶⁶ (que metaboliza los corticoides en el hígado), incluso con diferencias entre sexos en modelos animales⁶⁶ y varios polimorfismos genéticos como la cAMP-responsive element binding protein (CBP)⁶⁷ más frecuentes en pacientes con ONF que toman corticoides. En pacientes trasplantados de riñón sometidos a altas dosis de corticoides se ha visto que los polimorfismos ABCB1, C3435T y G2677T/A de la proteína transportadora (P-gp) disminuyen la incidencia de ONF⁶⁸⁻⁷⁰.

Distintos polimorfismos genéticos para proteínas del metabolismo lipídico, como la ApoB, C7623T y el CBP, predisponen a la ONF^{71,72}. Se han valorado todos estos polimorfismos, ya que, estudios sugieren que podrían anticipar la aparición de ONF tras tratamiento corticoideo⁷³. A pesar de todos estos estudios analizados, el mecanismo exacto de producción de la ONF por los corticoides no se conoce. Se ha demostrado, en estos pacientes, una alteración de la vascularización venosa intraósea⁷⁴, aumento del tamaño de los adipocitos en las cabezas femorales osteonecróticas^{75,76}, compresión extrínseca de los vasos epifisarios por adipocitos agrandados que causarían un aumento de presión en la cabeza femoral⁴⁸, disminución del flujo sanguíneo de la arteria femoral (en este caso se trata de un estudio en ratas⁷⁷) y también aumento de fibrinógeno en pacientes con LES⁷⁸.

Hay estudios que comprueban una apoptosis en osteocitos y osteoblastos inducida por corticoides⁷⁹, una disminución de células precursoras mesenquimales en la cabeza femoral⁴⁹, una disfunción en el endotelio de los vasos suprimiendo la producción de óxido nítrico, lo que disminuye la perfusión periférica^{50,80}.

Estudios en conejos demuestran una lesión oxidativa tras la toma de corticoides, previa a la aparición de la necrosis⁸¹, postulando la implicación de niveles altos de estrés oxidativo en la aparición de la osteonecrosis.

Alcohol

La asociación entre el consumo de alcohol y la ONF se conoce desde hace tiempo^{47,82}, recogiendo entre el 10% y el 74% de los casos, según las series^{83,84}. El alcohol altera los lípidos y ocasiona embolismo graso, desempeñando un papel importante su repercusión sobre el hígado. El alcohol induce un aumento de lípidos peroxidados en el suero, de los triglicéridos y el colesterol, así como una disminución de la enzima superóxido dismutasa. Histológicamente hay una infiltración grasa del hígado y un aumento de la adipogénesis de la médula ósea, hallando un aumento e hipertrofia de los adipocitos y una disminución de la hematopoyesis en el hueso subcondral de la cabeza femoral. Tras el hallazgo de depósitos lipídicos en osteocitos, se ha sugerido que estos producen picnocitosis y muerte celular, induciendo a la osteonecrosis^{85,86}.

De igual forma, se hipotetizó la asociación de ONF con embolismos grasos secundarios al alcohol, al encontrar un aumento de lípidos en cabeza femoral, también en hígado, en músculos y en arterias; el embolismo graso intraóseo sería el desencadenante de un proceso trombótico que iniciaría una coagulación intravascular focal, originaria de la isquemia ósea⁸⁵.

Asimismo, se asoció la ONF a la hiperlipoproteinemia secundaria al alcoholismo, por su posible evolución a arterioesclerosis y subsiguiente osteonecrosis, no encontrándose relación con alteraciones del ácido úrico o metabolismo glicídico⁸⁷.

Está comprobado que una cifra mayor de 160 mililitros (ml) de alcohol diario, produce daño hepático. Si bien, la dosis de alcohol diaria para el desarrollo de ONF es variable, se ha comprobado, en la población de Japón, que un bebedor de más de 400 ml de alcohol por semana, tiene 11 veces más posibilidades de desarrollarla que un no bebedor, y que este riesgo aumenta con el paso de los años. Además, si dicha ingesta es mayor de 1.000 ml de alcohol por semana el riesgo relativo es 17,9 veces mayor que el de un no bebedor⁸⁸. La variación en este riesgo con la cantidad de alcohol y el tiempo de consumo se entiende por su asociación con estadios avanzados de afectación hepática⁸⁹.

También se han realizado estudios sobre polimorfismos genéticos de las enzimas catabolizadoras del alcohol, en busca de la posible predisposición genética en el subgrupo de alcohólicos que han desarrollado una ONF, pero ni los polimorfismos de la enzima alcohol deshidrogenasa 2 (ADH2) ni las de la aldehído deshidrogenasa 2 (ALDH2), han demostrado resultados significativos en la población japonesa⁹⁰.

Tabaco

La influencia del hábito tabáquico sobre el inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1), el factor VIII de la coagulación y sobre el óxido nítrico, la encontramos suficientemente documentada en registros bibliográficos, relacionándolo con la génesis de la arteriosclerosis y las trombosis arteriales⁹¹. También ejerciendo efecto sobre la apoproteína B y las IDL (lipoproteínas de densidad intermedia)⁹² o aumentando el cortisol sanguíneo, lo que pondría en marcha el mecanismo corticoideo para el desarrollo de ONF^{93,94}.

Por esta interrelación de factores, (tabaco, corticoides, alcohol, enfermedades secundarias a estos hábitos, etc.) es complicado determinar la verdadera influencia que el tabaco, de manera aislada, tiene en la etiopatogenia de la ONF. Es evidente la dificultad de separar de forma significativa estadísticamente los distintos factores de riesgo como posible explicación del inicio de la patología.

En un trabajo⁹⁵, con 118 pacientes fumadores de 20 cigarros/día y sin antecedentes de toma de corticoides, se observó una clara asociación entre el hábito tabáquico y la aparición de la enfermedad, sin relación lineal con el tiempo de consumo, con lo que su factor acumulativo está por definir. Este estudio, sugiere la existencia de una predisposición por parte del paciente a desarrollar la enfermedad a partir de un número determinado de cigarrillos/día. Otro estudio sobre 112 pacientes, llegó a una conclusión similar, estimando un riesgo relativo de 3.9 respecto a controles sanos de padecer la enfermedad⁸⁸.

Sin embargo, diversos estudios no encuentran una asociación significativa entre el consumo de tabaco y la ONF, aunque en estos estudios, sí se observa un mayor número de pacientes fumadores. Existe controversia, todavía sin resolver, sobre el tabaco como factor de riesgo en el desarrollo de la ONF^{5,90}.

Alteraciones de la Coagulación

La hemostasia sanguínea se encuentra en equilibrio dinámico entre factores procoagulantes y anticoagulantes (inhibidores de la coagulación y fibrinolíticos). Cuando existe un predominio de los procoagulantes o una disminución de los anticoagulantes, surge un estado de hipercoagulabilidad o trombofilia que deteriora la vascularización hística de los segmentos afectados. La epífisis femoral proximal posee un tipo de vascularización terminal especial que puede llegar a favorecer los procesos de necrosis cuando se produce una trombosis.

Hay numerosos factores de riesgo de trombosis: congénitos, adquiridos o mixtos.

Cuando se produce una osteonecrosis, se da una alteración de la coagulación en la microcirculación intraósea que puede progresar hasta desarrollar una trombosis venosa y a veces, una oclusión arterial retrógrada. La aparición de este estado de hipercoagulabilidad patológico es consecuencia de la activación anómala de la coagulación por muchos y diversos factores de riesgo, como hemos visto previamente.

Phemister⁹⁶ en 1934, Nilsson⁹⁷ y cols. en 1961, Boettcher⁹⁸ en 1970, Jones⁹⁹ en 1971, y otros^{84,100}, han descrito alteraciones en la hemostasia en pacientes con osteonecrosis.

Se han descrito pacientes con ONF con diferentes alteraciones: hiperfibrinólisis con aumento del inhibidor del plasminógeno e hipertrigliceridemia¹⁰¹, aumento del PAI-I de tipo familiar¹⁰², congénito¹⁰³, aumento de la Lipoproteína a (Lp(a))¹⁰⁴, disminución de proteína C y S¹⁰⁵.

En pacientes con enfermedades reumáticas que precisaron altas dosis de corticoides, se apreció un aumento del PAI-I significativo tras el inicio del tratamiento, en los pacientes que desarrollaron ONF con respecto a los que no la desarrollaron.

El polimorfismo homocigoto 4G/4G del gen del PAI-I, se asocia con un aumento de éste; este polimorfismo se ha relacionado con el 40% de los pacientes con ONF frente el 20% de los controles sanos¹⁰⁶.

En trasplantados renales también se ha constatado este hecho. En estos pacientes, tratados con altas dosis de corticoides, se ha encontrado el genotipo 4G/4G en el 60,3% de los pacientes que desarrollan la enfermedad, mientras que en los pacientes que no la desarrollaron, este genotipo apareció en el 17,3% de los pacientes¹⁰⁴.

Asimismo, la disminución de concentración plasmática de proteína S y C, está asociada a trombosis venosas recidivantes¹⁰⁶⁻¹⁰⁸. El déficit de proteína S es congénito o adquirido, pudiendo ser agravado por agentes externos como los estrógenos, que pueden alterar la cascada de la coagulación y provocar ONF en pacientes con cifras basales previas normales¹⁰⁹.

En los pacientes con ONF, también se ha detectado una presencia elevada de resistencia a la actividad anticoagulante de la proteína C activada^{110,111}. Un estudio sueco¹¹² de casos y controles, se relacionó clínicamente la ONF sin antecedentes de alcoholismo o tratamientos con corticoides, con alteraciones de la coagulación, con mutaciones de origen congénito.

En niños con enfermedad de Phertes (la ONF del niño según algunos autores), también se ha apreciado una disminución de la Proteína C y S o un aumento del PAI-I¹⁰⁵, confirmado este hecho al comparar niños sanos con niños afectados de esta enfermedad.

Otro factor protrombótico asociado a ONF, es el déficit hereditario de antitrombina¹¹³ y la hiperhomocisteinemia¹¹⁴.

El nivel de Lp(a) en sangre, es un factor asociado a hipofibrinólisis, trombofilia y ateromatosis y también se ha visto aumentado en pacientes con ONF¹⁰³. Se encontró esta asociación tanto en pacientes que tomaban corticoides o alcohol, como en los que no tenían estos antecedentes¹¹⁵. Como se ve en todos estos estudios, parece haber una fuerte relación entre las alteraciones de estos factores protrombóticos o hiperfibrinolíticos con la ONF, pero también hay trabajos bastante recientes¹¹⁶ que no encuentran relación estadística entre estas alteraciones y la ONF. Por ello, se refuerza la teoría de la etiopatogenia multifactorial y del estrés tisular iniciador de la patología.

Óxido Nítrico

La isoforma del óxido nítrico sintetasa predominante en el hueso humano, es la óxido nítrico sintetasa endotelial (eONS). En estudios en ratones se ha visto que su disminución atenúa la reactividad vascular, favorece la agregación plaquetaria, reduce la movilización de las células progenitoras endoteliales, dificulta la angiogénesis y disminuye la masa ósea y la formación de hueso¹¹⁷.

El nivel de eONS en sangre, puede estar alterado por diferentes polimorfismos genéticos, que se encuentran asociados a enfermedades vasculares como la enfermedad coronaria, el infarto de miocardio, la hipertensión arterial, el accidente cerebro vascular y distintas enfermedades renales. Tanto Koo y cols¹¹⁸. en 2006 como Glueck y cols¹¹⁹. en 2007 presentan estudios que relacionan los polimorfismos de esta enzima (polimorfismo T-786C) con el desarrollo de ONF. Se comprobó, en este último estudio, que el tabaquismo es un importante factor sinérgico para la aparición de ONF asociado al polimorfismo T-786C de la eONS.

Otros más recientes, presentan la aparición de estos polimorfismos tanto en ONF como en las osteonecrosis postraumáticas¹²⁰. El hábito tabáquico se asocia a reducciones del óxido nítrico^{121,122}.

Modificaciones Genéticas de Otras Moléculas con Acción Vascular

Un inductor de la angiogénesis, el factor de crecimiento vascular endotelial (FCVE), también se ha relacionado con la ONF en estudios coreanos^{33,35}.

Los polimorfismos del factor inductor de la hipoxia HIF1 alpha, también en población coreana, se han visto relacionados con la aparición de ONF no relacionada con alcohol o corticoides, sobre todo en varones³².

Una variación genética en el gen que codifica el colágeno tipo II, el COL2A1, se ha visto relacionado con la osteonecrosis familiar (3 familias con 32 miembros afectados de osteonecrosis)¹²³.

Los polimorfismos en el gen de la catalasa (CAT), una enzima antioxidante, han sido asociados con enfermedades como la hipertensión arterial (HTA)¹²⁴, o la diabetes mellitus (DM)¹²⁵ y también con la osteonecrosis de cadera, apoyando la idea de la influencia del estrés oxidativo en la etiopatogenia de la osteonecrosis de cadera¹²⁶.

Mutaciones en los telómeros (repeticiones de nucleótidos y complejo protéico al final de los cromosomas que son esenciales en el mantenimiento de la integridad cromosómica) podrían tener un papel en el fallo de la médula ósea que ocurriría en la osteonecrosis¹²⁷.

Estrés Oxidativo

Como hemos visto, existen múltiples factores genéticos, adquiridos, patologías, medicamentos, hábitos, etc que se ha comprobado están relacionados con la ONF de alguna manera, tanto de forma aislada como asociados entre ellos. Sigue sin conocerse la etiopatogenia exacta de la ONF.

Estudios recientes, en modelos animales, de ONF inducida por esteroides, sugieren que el estrés oxidativo podría estar involucrado en el desarrollo de la enfermedad, mostrando dichos estudios que la administración de factores o sustancias oxidantes aumentan el riesgo de padecer la enfermedad y que la administración de antioxidantes podrían prevenir el desarrollo de la misma¹²⁸⁻¹³⁵.

No obstante, este punto merece un capítulo aparte, ya que es clave en el desarrollo de esta tesis doctoral, por lo que lo trataremos con detalle más adelante.

1-1-4. Anatomía Patológica

La imagen de la necrosis avascular de la cabeza femoral más estudiada, corresponde a un estadio avanzado de la patología que ha sido ampliamente estudiado de las epífisis resecadas en la cirugía sustitutiva de cadera¹³⁶.

Las cargas mecánicas provocarán el colapso de la zona polar superior necrótica sobre el lecho de menor resistencia (Fig. 2) (microfracturas en la frontera de la revascularización por disminución de la resistencia mecánica al estar el recambio óseo incrementado)²².

El cartílago articular durante este periodo se mantiene, hasta que ocurre la invasión subcondral por un pannus de tejido conjuntivo vascular que provoca reabsorción focal, pero en fases muy tardías cuando ya existe deterioro articular (Figs. 3 y 4). La incongruencia articular conducirá hacia una destrucción articular que puede asemejarse a la fase final de una artrosis.

Es infrecuente examinar cabezas femorales humanas completas en estadios precoces de la enfermedad. Tenemos la información que nos proporcionan las biopsias obtenidas en la cirugía de “forage” que se realiza en el tratamiento de fases precoces de la enfermedad. Los cambios patológicos que se producen tras la isquemia en fases precoces se conocen a partir de los casos de fractura y de los modelos animales de experimentación¹³⁷.

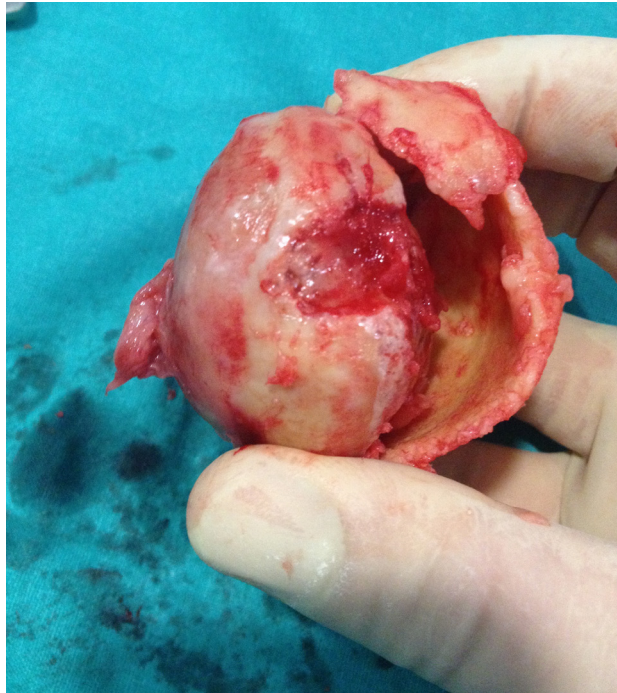


Figura 2. Imagen de ONF en una cabeza femoral reseçada en la cirugía de implante de prótesis: se observa en colapso del hueso subcondral en fase avanzada, con relativa integridad del cartílago articular.

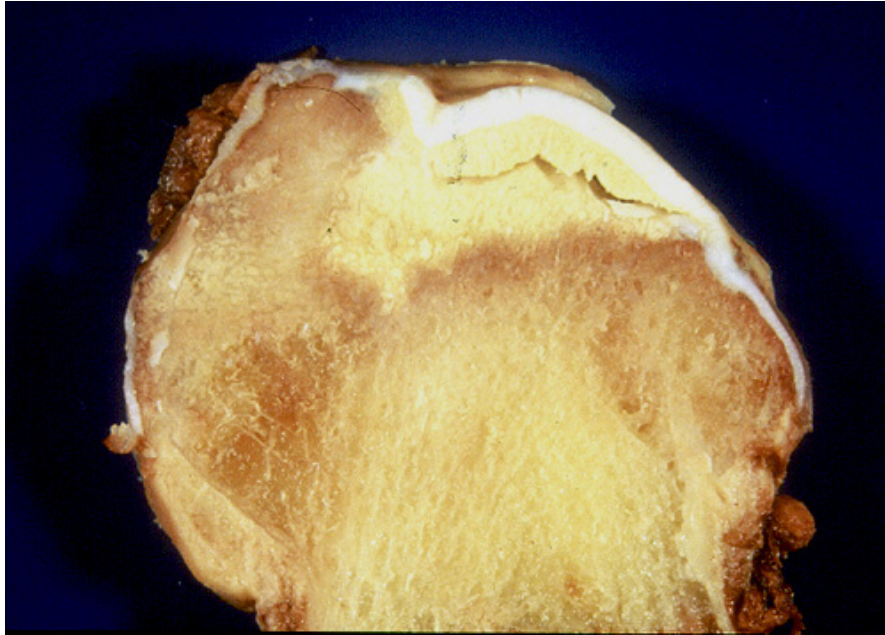


Figura 3. Imagen macroscópica de cabeza femoral con ONF en fase de fragmentación: se observan zona de necrosis, hueso reactivo y la fragmentación del hueso necrosado.

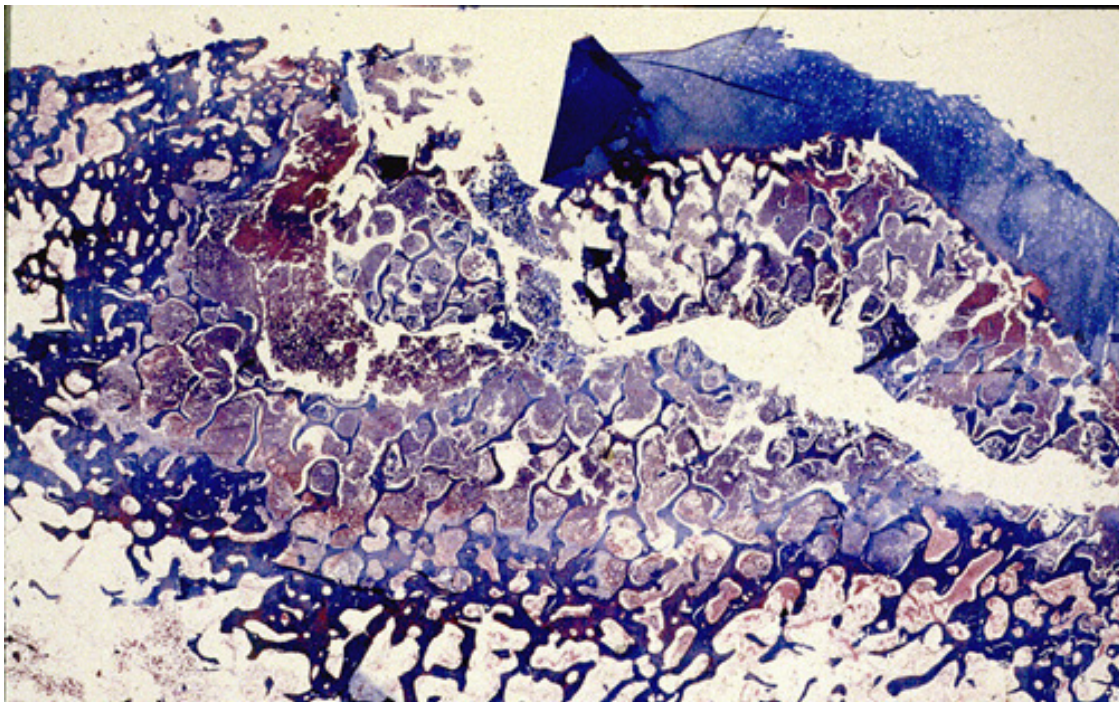


Figura 4. Microscopía Óptica a pequeño aumento (4x10) de la misma lesión teñida de tricrómico de Mason.

1-1-5. Clínica

Como hemos comentado previamente, muchos de los casos cursan asintomáticos durante mucho tiempo, no pudiéndose asegurar si todos ellos evolucionaran hacia el colapso.

El síntoma más precoz suele ser el dolor en la ingle con impotencia funcional de diferente grado y cojera que va progresando hasta limitar la movilidad. El dolor se ha relacionado con el derrame articular y sobre todo con la presencia de edema medular perinecrótico, que provoca hiperpresión ósea, como se observa en la RM^{138,139}.

La presencia de limitación de la movilidad y dolor a la exploración especialmente con la rotación interna de la cadera, son signos que deben hacer sospechar el colapso articular.

Un 75% de los pacientes con ONF padecen el mismo proceso en la otra cadera⁴¹.

1-1-6. Diagnóstico

El tratamiento de la ONF es obligado y puesto que el éxito del tratamiento depende en gran medida de que se emprenda cuanto antes, idealmente antes de que se produzca la fractura subcondral, es fundamental el diagnóstico precoz de la enfermedad.

En las necrosis postraumáticas de cabeza femoral, el diagnóstico trata de averiguar si la cabeza femoral está vascularizada o no tras el traumatismo, pues es una cuestión claramente de déficit vascular; en las necrosis no traumáticas, las ONF de las que nos ocupamos, lo primero es averiguar si hay necrosis o no y si la hubiere, en qué estadio se encuentra.

Clásicamente, la prueba utilizada era la radiografía convencional (Rx), que aunque no detecta la necrosis inicial y por lo tanto no tiene valor preventivo, sí es útil en las fases más tardías. Los hallazgos radiográficos más precoces, no aparecen hasta los 2-6 meses: esclerosis y cambios quísticos. Con la progresión de la enfermedad, va apareciendo una pérdida de esfericidad de la cabeza femoral (colapso femoral) y disminución del espacio articular (artrosis secundaria). Basada en la radiografía, Ficat¹⁴⁰ (Tabla I) establece 4 fases radiográficas y una fase 0 preclínica y prerradiográfica o de “*cadera en riesgo o silenciosa*” e incluso establece la alta probabilidad de necrosis bilateral en casos de ONF ya diagnosticados en un lado y asintomáticos en el otro. El punto de no retorno, se establecería en la fase III cuando aparece el signo de “*crescent line*” o de la “*cáscara de huevo*” que refleja la reabsorción ósea subcondral precursora de un colapso inevitable (Fig. 5).

Tabla I. Clasificación radiológica de Ficat y Arlet de la necrosis de la cabeza femoral.

CLASIFICACIÓN	HALLAZGOS RADIOLÓGICOS
Estadio 0	Cadera silenciosa, estado pre-radiológico y pre-clínico. Cadera contralateral afectada con sospecha de afectación bilateral.
Estadio I	Radiografía normal o mínimas alteraciones radiográficas, como osteólisis, pérdida de definición o borramiento del patrón trabecular en paciente sintomático.
Estadio II	Esclerosis difusa o en arco de concavidad superior. Descalcificación incluso con aparición de quistes a distancia de interlínea. Patrón mixto de lisis y esclerosis con imagen moteada. Contorno de cabeza y espacio articular normales.
Estadio III	Signo de la cáscara de huevo que refleja la reabsorción subcondral de hueso. Aplastamiento de cabeza femoral con pérdida de esfericidad. Interlínea articular preservada. Aparición de un sequestro óseo delimitado por rotura del contorno de la cabeza femoral. Colapso del sequestro sobre la cabeza.
Estadio IV	Pérdida del cartílago articular, desarrollo de osteofitos acetabulares. Aplastamiento cefálico, pinzamiento articular, colapso de la cabeza.



Figura 5. Radiografía anteroposterior de pelvis. ONF cadera derecha en estadio III de Ficat; cadera izquierda en estadio II de Ficat.

La **tomografía axial computerizada** (TAC), tampoco es diagnóstica en fases precoces, pero ayuda a delinear la cabeza femoral y la presencia de fractura subcondral en fases posteriores. Es útil para medir la extensión de la necrosis³.

La **gammagrafía** isotópica usando tecnecio-99 metaestable es la más difundida. Se utilizan técnicas **SPECT** (*Single Photon Emission Computed Tomography*) que mejoran la imagen de la gammagrafía planar. Las imágenes que ofrecen son de ausencia de captación en la zona necrótica de la cabeza femoral “imagen fría” cuando se produce la necrosis y aumento de captación “imagen caliente” cuando se produce la respuesta reparadora. Existe entre un 25% y un 45% de falsos negativos que dejan sin validez a esta exploración¹³⁷.

Actualmente, la **resonancia magnética** (RM) es la exploración de imagen de elección. Además de ser no invasiva, es la prueba más fiable para el diagnóstico de ONF, ya que su sensibilidad y especificidad llegan al 99%²⁸. Las secuencias ponderadas en T1 y T2 ofrecen imágenes de necrosis incipiente en forma de zonas de aumento de señal delimitadas por una línea de baja intensidad. El edema se detecta en T1 por imagen oscura que en T2 se convierte en brillante. En la fase de necrosis evolucionada es patognomónico el signo de la doble línea o doble halo en las secuencias T2, con un borde interno de alta densidad, detectando el tejido de granulación, y un borde externo de baja señal, detectando la esclerosis ósea reconstructiva. La RM permite medir exactamente la extensión del área afecta, su localización y porcentaje de cabeza afectada beneficiándose de sus cortes multiplanares (Fig. 6).

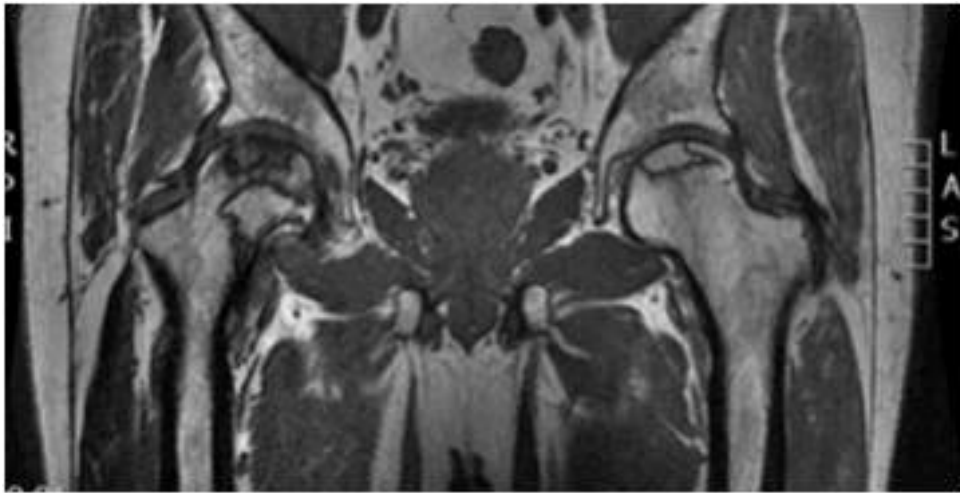


Figura 6. RM del mismo paciente de la figura 5. Corte coronal en T_1 mostrando la afectación de ambas caderas en diferentes estadios.

La RM puede ayudar a identificar pacientes de riesgo de sufrir colapso de la cabeza femoral, teniendo pues importancia pronóstica¹⁴¹. Las lesiones de pequeño tamaño y de localización más medial son consideradas de mejor pronóstico.

La RM dinámica podrá incluso servir para la predicción temprana de lesión vascular en la cabeza femoral^{137,142,143}.

Dada la precisión de esta prueba diagnóstica, otras pruebas invasivas han caído en desuso a nivel clínico, como la arteriografía supraselectiva, la venografía cefálica o trocanterica o la medición de la presión intraósea (PIO). Cuando medimos la PIO y se registra un aumento o una falta de normalización del nivel de presión tras 5 minutos de inyectar líquido en el interior del hueso (*test de estrés*) se interpreta como una necrosis.

En la misma prueba se puede realizar la venografía, la determinación de la PIO, la oximetría o contenido de oxígeno de la sangre y una termometría o medición de la temperatura. Estas pruebas, junto con la captación isotópica y la biopsia por forage y obtención de un cilindro óseo de la cabeza necrótica, constituyen la llamada por la escuela francesa exploración funcional ósea (EFO) de la cadera^{3,140}. La biopsia con estudio histológico es la prueba más fiable, pero es invasiva. También se puede asociar el marcado previo con tetraciclinas que induce fluorescencia en el tejido óseo vivo que las capta y ausencia de captación en el necrosado.

Basándose en estas pruebas, el comité de la ARCO, en el año 1993 definió los criterios diagnósticos para la osteonecrosis de cadera²⁰:

- Colapso de la cabeza femoral sin afectación del espacio articular o anomalía en el estudio radiográfico de la cabeza femoral (incluyendo el signo de *línea creciente*-“*media luna*”).
- Esclerosis marcada de la cabeza femoral sin reducción del espacio articular o anomalía acetabular en el estudio radiográfico.
- Área hipocaptante en zona de hipercaptación “*Frío en calor*” en escintilografía.
- Línea de baja intensidad en T1 “signo de la doble línea” o una doble línea en imágenes potenciadas en T2 con RM.
- Necrosis de trabéculas y médula ósea en el estudio histológico.

El diagnóstico definitivo requiere al menos 2 criterios positivos de los cinco señalados. Estos criterios aportan una sensibilidad del 91% y una especificidad del 99%. La Universidad de Pensilvania¹⁴⁴ ha elaborado una clasificación y estadificación a la que ha añadido los resultados de la RM. Establece tres grupos, según la afectación de la cabeza femoral: A (< 15%), B (15 a 30%), y C (> 30%). Clasificación de Steinberg (Tabla II).

El sistema de clasificación de la ARCO¹⁴⁵, en 2001, propone una nueva clasificación internacional que incorpora características de ambas: la clasificación de Ficat y Arlet y la clasificación la Universidad de Pensilvania o de Steinberg¹⁴⁴, que introduce la extensión de la afectación usando RM¹⁴⁵, así como el concepto de la localización de las lesiones introducido por el Comité de Investigación Japonés¹⁴⁶ (Tabla III).

Tabla II. Sistema de clasificación y estadio de la Universidad de Pensilvania o clasificación de Steinberg.

CLASIFICACIÓN	HALLAZGOS RADIOLÓGICOS
Estadio 0	Radiografía y gammagrafía y RMN normales.
Estadio I	Radiografía normal, gammagrafía o RMN alteradas.
IA IB IC	Leve (< 15% cabeza afectada) Moderada (16-30% cabeza afectada) Grave (> 30% cabeza afectada)
Estadio II	Esclerosis o quistes en la radiografía en la cabeza femoral.
IIA IIB IIC	Leve (< 15% cabeza afectada) Moderada (16-30% cabeza afectada) Grave (> 30% cabeza afectada)
Estadio III	Colapso subcondral, signo de la <i>cáscara de huevo</i> sin alteración del contorno cefálico.
IIIA IIIB IIIC	Leve (< 15% cabeza afectada) Moderada (16-30% cabeza afectada) Grave (> 30% cabeza afectada)
Estadio IV	Alteración del contorno cefálico.
IVA IVB IVC	Leve (< 15% cabeza afectada y < 2 mm depresión) Moderado (16-30% cabeza afectada o 2-4 mm depresión) Grave (> 30% cabeza afectada o > 4 mm depresión)
Estadio V	Afectación interlínea articular y/o alteraciones acetabulares.
VA VB VC	Leve Moderada Grave
Estadio VI	Alteraciones degenerativas avanzadas.

Tabla III. Clasificación internacional de la necrosis de la cabeza femoral (ARCO).

CLASIFICACIÓN	HALLAZGOS RADIOLÓGICOS, CLÍNICOS, GAMMAGRÁFICOS y RMN
Estadio 0	Ninguna prueba diagnóstica positiva. Biopsia acorde con necrosis ósea.
Estadio I	Gammagrafía o RMN positiva. Localización medial, central o lateral en la cabeza femoral.
IA IB IC	IA < 15% cabeza afectada en RMN IB 16-30% de afectación de la cabeza medido por RMN IC > 30% de afectación de la cabeza en RMN
Estadio II	Anomalías radiográficas (osteólisis, esclerosis, patrón mixto). RMN y gammagrafía positivas. Ausencia de colapso femoral en la radiografía o la TAC. Acetábulo intacto. Localización medial, central o lateral en la cabeza femoral.
IIA IIB IIC	IIA < 15% de afectación de la cabeza en RMN IIB 16-30% de afectación de la cabeza en RMN IIC > 30% de afectación de la cabeza en RMN
Estadio III	Signo de la <i>cáscara de huevo</i> o <i>crescent sign</i> . Lesión medial, central o lateral en la cabeza femoral.
IIIA IIIB IIIC	IIIA < 15% de afectación de la cabeza en RMN IIIB 16-30% de afectación de la cabeza en RMN IIIC > 30% de afectación de la cabeza en RMN
Estadio IV	Aplastamiento articular y pinzamiento de la interlínea radiográficos. Alteraciones acetabulares con esclerosis, quistes y osteofitos marginales.

1-1-7. Diagnóstico Diferencial

El diagnóstico diferencial más importante a considerar en pacientes con sospecha de osteonecrosis femoral es la osteoporosis transitoria de cadera, el Síndrome edematoso de la cabeza femoral¹⁴⁷⁻¹⁴⁹ y la fractura por insuficiencia subcondral (FIS)¹⁵⁰.

La osteoporosis transitoria de cadera es una patología autolimitada que generalmente se da en mujeres en el tercer trimestre del embarazo, y en hombres entre la quinta y la sexta décadas de la vida.

Las imágenes de RM de estos pacientes muestran edema en el cuello y la metáfisis femoral, lo cual no suele verse en los pacientes con osteonecrosis.

Sólo entre un 2 a 5% de pacientes que fueron diagnosticados de osteoporosis transitoria de cadera evolucionaron finalmente a osteonecrosis de cabeza femoral. Estos pacientes, generalmente, tienen dolor severo en la ingle y una marcha antiálgica. A estos pacientes se les indica descarga utilizando muletas hasta que el cuadro se resuelve, lo cual suele ocurrir en unos 6 meses¹⁵¹. Debemos ser pues cautos a la hora de instaurar tratamientos agresivos en este tipo de enfermos.

La FIS de la cabeza femoral es un concepto relativamente nuevo que precisa ser diferenciado de la ONF¹⁵⁰. Los cambios radiográficos no son demostrativos en fases iniciales y algunas evolucionan a fractura subcondral presentando el “*crescent sing*” (considerado patognomónico de ONF). En la FIS la banda radiográfica de la RM correspondiente a la línea de fractura es irregular, mal delimitada, convexa y paralela a la superficie cartilaginosa; en la ONF, esta banda corresponde a tejido de reparación formado alrededor del área necrótica, que suele ser suave, continua y de forma cóncava (Fig. 7).

Ikemura y Yamamoto¹⁵², dada la superposición de las características radiográficas de la FIS y la ONF, determinan las características clínicas útiles para diferenciar estas 2 patologías (Tabla IV). Los resultados de su estudio indican que ante una mujer osteoporótica y de edad avanzada (70 años o mayor) se debe pensar en FIS, sobre todo, si no aparece ninguna historia previa de toma de corticoides ni de alcohol.

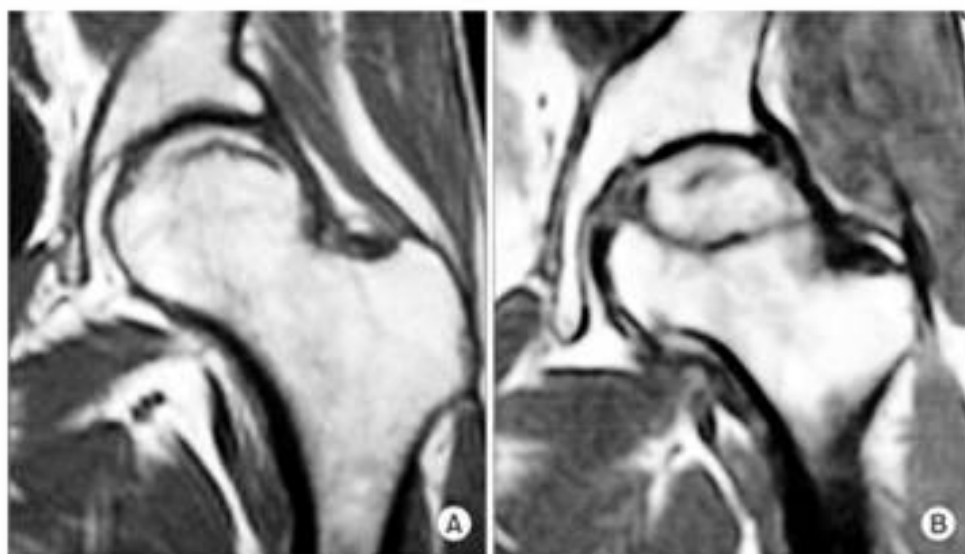


Figura 7. RMN corte coronal en T₁. **A:** Fractura por insuficiencia subcondral; **B:** Osteonecrosis de cabeza femoral¹⁵⁰.

Tabla IV. Diferencias radiológicas (RM) entre FIS y ONF.

	FIS	ONF
Edad/sexo	Ancianas/mujer	30-40 años
Etiología	Osteoporosis, obesidad.	Corticoides, alcohol
Bilateral	Raro	50-75%
Forma de la banda	Irregular, discontinua	Suave
Señal elevada en Gadolinio-RNM	+	-

1-1-8. Tratamiento

En la historia natural de la enfermedad la aparición de una fractura subcondral y el colapso subsiguiente de la cabeza femoral, se consideran hechos decisivos en el desarrollo de la coxartrosis secundaria. La enfermedad es progresiva sin tratamiento. Más del 80% de las caderas afectas de necrosis avascular de cadera, independientemente de su etiología, evolucionan hacia el colapso condral y la artrosis, 4 años después del diagnóstico, si no se aplica ningún tratamiento²⁷.

Esta progresión depende fundamentalmente del tamaño de la lesión y de su localización, ya que las ubicadas en la parte más medial de la cabeza femoral, reciben menos carga y evolucionan más lentamente. El factor predictivo más importante sería pues el tamaño de la lesión y su localización; las lesiones más grandes y localizadas más laterales son las que con mayor probabilidad se volverán sintomáticas²⁶. El tratamiento de las caderas asintomáticas es controvertido¹⁵³. Antes de la fractura subcondral, sobre todo en pacientes asintomáticos o sin evidencia radiográfica de enfermedad, la evolución puede ser más variable. Aunque se ha descrito que las lesiones asintomáticas que ocupan menos del 30% de la superficie articular, se mantienen asintomáticas a los 5 años en un 95% de los casos, y no requieren tratamiento¹⁵⁴. En un estudio a 11 años, se ha comprobado que el 88% de estas pequeñas lesiones se vuelven sintomáticas, colapsándose el 73% de ellas y precisando tratamiento quirúrgico¹⁵⁵.

1-1-8. A. Tratamiento Conservador

El mejor tratamiento será la prevención, si se conoce la causa. En la ONF, se desconoce la etiopatogenia exacta, con lo que sólo podremos actuar sobre los factores de riesgo conocidos. Esto no es posible en ocasiones, pues depende de la patología de base (no se pueden suprimir los corticoides y/ o los inmunosupresores en ciertas patologías). Para prevenir una enfermedad hemos de conocer su etiología; el conocer la causa de la ONF en los buzos, la ON por burbujas de nitrógeno, hace que actualmente no se produzcan (interés meramente histórico debido a las descompresiones reguladas). Los pacientes deben ser exhortados a abandonar el abuso del alcohol y dejar el hábito tabáquico, claramente relacionados con esta patología⁹⁵.

Dada la bilateralidad de la ONF, se debe centrar el interés en la cadera no sintomática para evitar su progresión si comienza la patología.

Como la mayoría de las caderas afectas son diagnosticadas cuando son sintomáticas, los tratamientos conservadores descritos hasta ahora, no son efectivos a largo plazo (caderas ya sintomáticas y por lo tanto con lesión anatómica evidenciable: progresión por colapso del hueso subcondral y subsiguiente compromiso biomecánico).

Entre los tratamientos conservadores se ha intentado entre otros: restricción de peso, descarga de la cadera afecta¹⁵⁶, fármacos vasodilatadores¹⁵⁷, agentes hipolipemiantes en estudios con animales^{76,133,135,158} y con pacientes¹⁵⁹, análogos de la heparina en pacientes que presentaban alteraciones de la coagulación^{134,160}, bifosfonatos¹⁶¹⁻¹⁶⁵, pulsos electromagnéticos que activarían el proceso de remodelación ósea al menos teóricamente¹⁶⁶, ondas de choque¹⁶⁷⁻¹⁶⁹ y la cámara hiperbara de oxígeno¹⁷⁰ entre otros. Se ha intentado siempre la búsqueda de estrategias terapéuticas que modifiquen el comportamiento de las células óseas o que restauren la vascularización ósea y que sirvan como coadyuvantes a los procedimientos que salvan la cabeza femoral (modificadores de la fisiopatología: células madre mesenquimales autólogas)^{171,172}.

Encontramos artículos que informan de mejores resultados con terapias combinadas de tratamientos, comparadas con tratamientos simples, posiblemente debido a la naturaleza multifactorial de la enfermedad^{133,173}.

Una vez se ha colapsado la cabeza femoral, el tratamiento suele ser la artroplastia total de cadera.

En fase de precolapso, existen múltiples opciones de tratamiento que intentan evitar la sustitución articular, dada las características de estos pacientes, mucho más jóvenes que los pacientes afectados de osteoartritis primaria. Cuando nos referimos al tratamiento quirúrgico, la ONF será tratada de una manera u otra, en función del grado en que se encuentre la enfermedad en el momento del diagnóstico.

Diferenciaremos entre los tratamientos quirúrgicos que conservan la cabeza femoral y los que no la conservan.

1-1-8.B. Tratamiento Quirúrgico Conservador de la Cabeza Femoral

Perforaciones

Originariamente, fue una técnica utilizada por Ficat y Arlet para obtener muestras histológicas que confirmaran la osteonecrosis de cabeza femoral¹⁴⁰. Realizaban una venografía intraósea para confirmar el patrón anormal del flujo sanguíneo dentro de la cabeza femoral encontrando también presiones de médula ósea elevadas en estos pacientes. Al realizar las perforaciones, comprobaban la disminución de las presiones en esa zona. Empezaron pues a usar la descompresión de la cabeza femoral como tratamiento (llamada en la literatura anglosajona “*core decompression*”) y no sólo como método diagnóstico.

Se trata del procedimiento más frecuentemente utilizado en los estadios precoces de la osteonecrosis de cabeza femoral¹⁷⁴. Las perforaciones de la zona necrótica de la cabeza femoral tienen como finalidad descomprimir y con ello reducir la presión intraósea para intentar mejorar la vascularización de dicha zona, y así, aliviar el dolor y aumentar la neoformación ósea. Existen múltiples artículos que evalúan su eficacia en las últimas 4 décadas, pero no hay todavía consenso en las indicaciones ni en la técnica óptima que de mejores resultados. Además, el éxito del tratamiento depende de la etiología y de parámetros radiográficos como el tamaño de la lesión, la localización y de la existencia o no de colapso^{156,174,175}.

Aunque se emplean diferentes técnicas quirúrgicas para realizar las perforaciones (hay cirujanos que prefieren una perforación central aislada (Fig. 8) y otros que prefieren múltiples perforaciones)¹⁷⁶, suele haber consenso en realizar las perforaciones guiadas por radioescopia en 2 planos en mesa ortopédica, siempre alcanzando la zona necrótica y comenzando las perforaciones justo proximal al nivel del trocánter menor para evitar fracturas patológicas a dicho nivel. Se deben obtener muestras para que el estudio patológico confirme el diagnóstico y mantener descarga como mínimo 6 semanas tras la cirugía¹⁷⁷.



Figura 8. Imagen intrapreoperatoria de perforación de la zona necrótica, para descomprimir y vascularizar la zona patológica.

Pero, ¿Realmente, la descompresión de la zona necrótica cambia la evolución natural de la enfermedad?, ¿Estaría indicado realizar perforaciones, aisladas o no, si se mantuviera un factor de riesgo de osteonecrosis elevado?.

Estas cuestiones son difíciles de responder actualmente, ya que, la historia natural de la enfermedad no se conoce con exactitud y los diferentes estudios difieren en sistemas de clasificación, en métodos diagnósticos, en método quirúrgico, en manejo postoperatorio e incluso en valoración de resultados. El porcentaje de éxitos, definido como la necesidad de cirugía posterior, ha variado entre 40-80% a lo largo de múltiples estudios con 2-7 años de seguimiento^{10,156,174,175,178,179}. Además, las perforaciones óseas, generalmente, van acompañadas de procedimientos añadidos como injertos óseos no vascularizados, injertos óseos vascularizados, de cresta iliaca o de peroné, con o sin estimulación eléctrica o campos electromagnéticos, relleno de cemento, relleno de metal trabecular, etc.^{148,155,171 180-182}.

Stulberg¹⁸³ realizó un estudio prospectivo aleatorizado de 55 caderas comparando las perforaciones aisladas con el tratamiento conservador en caderas estadio I, II y III de Ficat, llegando a la conclusión que la descompresión era más efectiva que el tratamiento conservador en estadios iniciales. En cambio, otro estudio aleatorizado realizado por Koo¹⁸⁴ comparando también las perforaciones con el tratamiento conservador, concluyó que no existían diferencias entre la progresión de las caderas tratadas con perforaciones o no, tanto un 72% de las tratadas acabaron en prótesis total de cadera (PTC) y un 69% de las no tratadas también lo hicieron.

Ha habido numerosas revisiones valorando los resultados de la descompresión: Smith y cols¹⁸⁵. revisando 12 artículos publicados entre 1979 y 1991 que incluían unas 702 caderas, informaron un éxito de un 78% en casos de caderas en estadio I de Ficat y un 41% en casos de estadio III; Mont y cols¹⁵⁶. valoraron 42 estudios, 1.206 caderas en las que se realizó descompresión y 819 en las que se había realizado diferentes tratamientos conservadores, con mejores resultados en aquellas caderas tratadas con perforaciones, pero siempre antes del colapso de la zona necrótica. El pronóstico es mejor cuando la cadera es tratada antes del colapso, cuando se trata de una lesión pequeña, cuando la lesión es medial, cuando los síntomas son de corta duración y cuando se encuentra un borde esclerótico en las pruebas de imagen. Es de destacar que los pacientes que deben seguir tomando corticoides por su patología de base tienen peor pronóstico¹⁸⁶. *¿Estaría presente aquí un estrés oxidativo elevado?; ¿Nos serviría como factor pronóstico?*

Desde hace unos años, las perforaciones óseas en la zona necrótica van acompañadas de diferentes técnicas en un intento de mejorar la vascularización de la dicha zona y evitar el colapso y la progresión hacia la artrosis articular.

Injertos Óseos No Vascularizados

El injerto óseo no vascularizado cuenta con numerosas ventajas teóricas en el tratamiento de la osteonecrosis precolapso y postcolapso precoz de la cabeza femoral, cuando el cartílago articular está relativamente bien conservado. El procedimiento consigue una descompresión de la lesión osteonecrótica, la extirpación del hueso necrótico y proporciona un soporte estructural y andamiaje para la reparación y remodelación del hueso subcondral. Se pueden emplear tres técnicas para introducir injerto óseo en la cabeza femoral; el bloque de hueso cortical puede introducirse a través de un túnel hasta la cabeza, es decir, a través de las perforaciones y también mediante una ventana en el cuello femoral (procedimiento de la “*bombilla de luz*”), o a través de una trampilla practicada en el cartílago articular de la cabeza¹⁸⁷. Las indicaciones de este tipo de injertos son para casos con depresiones de menos de 2 mm de la cabeza o cuando fracasa la descompresión, pero sin afectación del acetábulo.

Se han aplicado agentes osteogénicos u osteoinductivos junto a tejido óseo en los túneles labrados por las perforaciones¹⁸⁸. Las células mesenquimales indiferenciadas y las proteínas morfogenéticas promoverían la formación de hueso viable en esa zona necrótica como así parece apoyarlo un estudio de 2002 usando hueso autólogo¹⁸⁹; con una supervivencia de un 82% de dichas caderas a 7 años vista.

Hernigou y cols¹⁸², en 1993, usaron la inyección de cemento acrílico en 10 pacientes (16 caderas) con enfermedad de células falciformes pues en esta patología la PTC tendría entonces mal pronóstico por mayor riesgo de infección, mayor sangrado y una mayor tasa de aflojamientos. Su técnica consistió en elevar el área necrótica y el cartílago que la recubre mediante la inyección de cemento, con el fin de restaurar la esfericidad de la cabeza femoral, basándose en la conservación del cartílago articular que se sigue nutriendo del líquido sinovial. A los 5 años de seguimiento medio, 14 de esas 16 caderas seguían funcionando, aunque con algo de dolor. En la misma línea, pero más recientemente, otros autores¹⁹⁰⁻¹⁹² introducen cilindros de metal trabecular (tantalio) tras las perforaciones y siempre antes del colapso subcondral. Este material, altamente poroso (más del 80% de su volumen) y muy resistente, proporcionaría soporte estructural al hueso subcondral. Evitaría así el riesgo de complicaciones infecciosas y la morbilidad del sitio donante, permitiendo un crecimiento óseo rápido y seguro. Se trata de un material de estructura tridimensional con unas propiedades físicas y mecánicas muy similares a las del hueso esponjoso, incluyendo resistencia a la compresión y baja rigidez. Serían unas técnicas compradoras de tiempo.

A las perforaciones óseas y en un intento de mejorar al máximo la vascularización de la zona, se le añadió no solo hueso como soporte estructural, sino hueso vivo para mejorar la viabilidad. La utilización de injertos óseos convencionales, y de pedículo muscular ha sido reemplazada en la actualidad por el uso de injertos óseos vascularizados. Se han descrito técnicas que usan como hueso vivo injerto vascularizado de peroné y otras técnicas que utilizan injerto óseo vascularizado de cresta ilíaca.

Injerto de Peroné Vascularizado

El injerto de peroné vascularizado es un tratamiento que intenta preservar la cabeza femoral, mediante el aporte de tejido óseo vascularizado procedente del peroné proximal. Está recomendado en estadios precoces (Ficat I a III), siendo el resultado peor en lesiones grandes con afectación de más del 50% de la cabeza femoral y con un colapso mayor de 2 milímetros (mm). Pacientes con historia de tabaquismo, alcoholismo, enfermedad vascular periférica u otros factores de riesgo no deben ser considerados para esta técnica¹⁹³⁻¹⁹⁵.

La base lógica para el tratamiento de la osteonecrosis de la cabeza femoral con un injerto de peroné libre vascularizado se fundamenta en cinco principios:

- 1- descompresión de la cabeza femoral,
- 2- resección del hueso necrótico,
- 3- sustitución con hueso esponjoso fresco,
- 4- soporte del hueso subcondral con un injerto óseo fuerte y viable,
- 5- revascularización de la cabeza femoral y capacidad osteogénica.

Los detalles más importantes de la técnica son: con el paciente en decúbito lateral, dos equipos quirúrgicos intervienen de forma simultánea; uno realiza la exposición de la cadera mientras el otro obtiene el peroné ipsilateral. El fémur proximal se expone a través de un intervalo entre el glúteo medio y el tensor de la fascia lata. Con el empleo del fluoroscopia, se realiza un canal (de 16 a 19 mm) justo distal a la cresta del vasto lateral dirigiéndolo con precisión hacia el área necrótica de la cabeza femoral. Se extirpa la mayor

parte del hueso necrótico sustituyéndolo con injerto autólogo fresco procedente del trocánter mayor. Mediante contraste hidrosoluble y fluoroscopia se valora si se ha rellenado suficientemente la cavidad con el hueso esponjoso. El peroné con su arteria peronea y dos venas se inserta en el canal hasta una distancia de entre 3 y 5 mm de la zona subcondral y se estabiliza con una aguja de Kirschner de 0,62 mm. Utilizando técnicas de cirugía microvascular, las ramas ascendentes de la arteria circunfleja femoral lateral y sus venas se anastomosan a los vasos peroneos. Al terminar la anastomosis, debe visualizarse un flujo retrógrado en el endostio peroneal¹⁸⁷.

Urbaniak revisó los resultados en 1.523 caderas con osteonecrosis tratadas con un injerto de peroné vascularizado entre 1979 y el 1 de octubre de 2000 (datos no publicados)¹⁹⁶. Una vez más, los mejores resultados se obtuvieron en pacientes sin colapso del hueso subcondral ni del cartílago articular. Desafortunadamente, 1.021 (67%) de las caderas tenían un estrechamiento del espacio articular o cambios degenerativos avanzados. Entre las caderas que no tenían colapso subcondral o articular preoperatorio, el 91% obtuvieron un buen resultado (no nuevas cirugías) después de seis meses a veintidós años de seguimiento. Sin embargo, si ya existía colapso, la tasa de éxitos era del 85% y si además había pinzamiento articular, del 73%. Por supuesto, es de prever que las tasas de fracaso aumenten con el transcurso del tiempo¹⁸⁷.

En dos estudios se han comparado los resultados de la descompresión cefálica con los de los injertos de peroné libre vascularizado. Kane y cols.¹⁹⁷ publicaron un estudio prospectivo de treinta y nueve caderas tratadas mediante descompresión cefálica o un injerto de peroné vascularizado seguidas entre dos y cinco años. La descompresión cefálica tuvo

éxito (no cirugía subsiguiente) en ocho (42%) de diecinueve caderas, mientras que el tratamiento con injerto de peroné libre vascularizado fue eficaz en dieciséis (80%) de veinte caderas. Scully y cols.¹⁹⁸ publicaron un estudio retrospectivo comparando dos grupos similares de pacientes tratados con un injerto de peroné vascularizado o con descompresión. En el caso de los pacientes con osteonecrosis en estadio III de Ficat (colapso articular), hallaron una tasa de supervivencia de la cabeza femoral del 81% a los cincuenta meses (405 de 500 caderas) en el grupo tratado con el injerto de peroné en comparación con una tasa del 21% (diez de cuarenta y siete caderas) en el grupo de la descompresión. Los resultados varían en función del estadio evolutivo, pero también de la patología subyacente.

Lamentablemente, no existen ensayos randomizados y controlados de gran tamaño que comparen la eficacia de estas modalidades de tratamiento.

Aunque los injertos de peroné vascularizados han demostrado su éxito, existen algunas desventajas potenciales de esta compleja técnica quirúrgica. En primer lugar, las complicaciones asociadas con la obtención del peroné. En una revisión de 198 pacientes (247 injertos de peroné libre vascularizado), Vail y Urbaniak¹⁹⁹ publicaron una tasa de complicaciones del 19%, incluyendo debilidad motora, molestias subjetivas en el tobillo y otros lugares de la extremidad y anomalías sensitivas en el miembro inferior. La prevalencia de dolor en el tobillo y en la extremidad se incrementó con el tiempo y era de un 11.5% a los cinco años de la intervención. Además, la tasa de fracturas del fémur proximal después de utilizar un injerto de peroné fue de un 2.5% (18 de 707) en una gran serie²⁰⁰. Los investigadores recomendaron que el paciente permanezca en descarga con bastones durante el periodo postoperatorio temprano. En segundo lugar, la colocación del injerto vasculari-

zado altera el stock óseo en el cuello femoral y en la región del calcar y puede dificultar una artroplastia total de cadera. No se ha establecido si este procedimiento tiene un efecto negativo sobre la longevidad de una prótesis total, aunque hay estudios que publican un peor pronóstico de las prótesis implantadas tras los fallos de esta técnica²⁰¹.

La indicación de la técnica es para pacientes sintomáticos, menores de 50 años sin colapso de la cabeza¹⁹⁶.

Injerto de Cresta Iliaca Vascularizado

El injerto vascularizado de cresta iliaca, perfundido por la arteria circunfleja iliaca profunda, rama de la arteria iliaca externa tiene unas ventajas con respecto al peroné vascularizado y con unos resultados similares²⁰², no precisa la realización de técnicas microquirúrgicas, aporta hueso autólogo corticoesponjoso de excelente calidad, evita las complicaciones derivadas de la zona dadora del peroné y una vez superada la curva de aprendizaje, requiere de menos tiempo quirúrgico. Cano y cols²⁰³ trataron 25 caderas (22 pacientes) entre junio 1993 y septiembre 2002. Los pacientes se encontraban en estadios II y III de Ficat con la modificación de ARCO. Siguieron la técnica original de Leung y cols²⁰⁴ y consiguieron un 90% de buenos y excelentes resultados y un 0% de malos resultados en un seguimiento de 4 años, pero se transformaron en un 64,29% de excelentes y buenos resultados y un 28,57% de malos resultados en un seguimiento a más de 4 años. *¿Cómo afectaría esto a la realización de una artroplastia posterior?*

Como en el caso del peroné vascularizado, no existen estudios suficientes para contestar a esta pregunta.

En 2012, encontramos una revisión de los artículos publicados entre 1998 y 2010 referidos a intervención quirúrgica conservadora de la cadera con osteonecrosis con un nivel de evidencia de I a IV. Los autores incluyeron 54 artículos que cumplían esas características²⁰⁵.

No encontraron que ningún procedimiento fuera superior a otro. Hubo menos porcentajes de fallos cuando la lesión era menor del 15% de la cabeza femoral o tenía un ángulo necrótico de menos de 200° y cuando la lesión afectaba sólo al tercio medial de la superficie de carga. Llegaron a la conclusión de que el tratamiento mejor para las lesiones precolapso era difícil de determinar debido a las limitaciones de la literatura existente. Los datos sugieren que la operación quirúrgica previene el colapso de las pequeñas lesiones de la cabeza femoral y de las caderas que tienen poca superficie de carga afectada. Los pacientes con colapso de la cabeza femoral tienen un alto porcentaje de progresión tras un procedimiento quirúrgico que conserve la cabeza femoral.

Osteotomías Trocantéricas

En la bibliografía del siglo pasado, se recogen varios tipos de osteotomías para el tratamiento de la osteonecrosis de cabeza femoral²⁰⁶⁻²⁰⁹. Las razones que llevan a realizar una osteotomía están basadas en el efecto biomecánico esperado al retirar el segmento necrótico o colapsado de la zona articular de la cabeza femoral de la zona de soporte de peso. Esta zona osteonecrótica es reemplazada por una zona de cartílago articular soportado por hueso sano y viable. A este efecto se le añade el de reducir la presión venosa y la presión intraósea²¹⁰.

Se han utilizado dos tipos de osteotomías, las osteotomías transtrocantericas rotacionales y las osteotomías intertrocantericas para provocar varo o valgo, asociándose o no a flexoextensión. Las osteotomías rotacionales transtrocantericas fueron descritas por primera vez por Wagner y Zeiler²¹¹ en los años 60, los autores realizaban una doble osteotomía con un máximo de 180° de rotación de la cabeza sobre el eje del cuello (rotaban así el segmento necrótico, retirándolo de la zona de carga). Se ha relacionado el éxito de la técnica con la extensión del área afecta sumando los ángulos que abarcan la necrosis en la radiografía frontal y axial. Se trata del ángulo de Kerboul: valora el tamaño del segmento necrótico (Fig. 9). El pronóstico sería bueno cuando la suma de estos 2 ángulos fuera menor de 150°, intermedio hasta 200° y malo por encima de 200°²¹². Los mejores resultados de este tipo de osteotomía se han descrito en Japón en manos de Sugioka^{207,208} (Fig. 10) que presentó un 78% de caderas, 229 de 295, con un buen resultado en un mínimo de seguimiento de 11 años de media (rango de 3 a 17 años); otros cirujanos japoneses han presentado buenos, aunque no tanto, resultados 69%, 56%; datos favorables que no se han repetido en Estados Unidos ni en Europa^{209,213-215}.

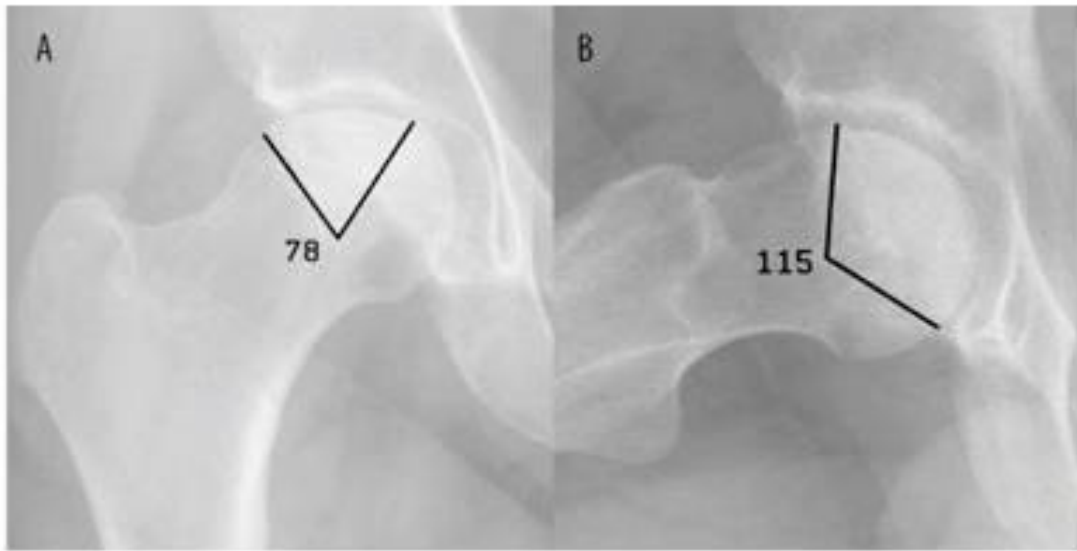


Figura 9. Ángulo de Kerboul. **A:** Rx proyección AnteroPosterior; **B:** Rx proyección axial.



Figura 10. Osteotomía de Sugioka.

Las *osteotomías intertrocantéricas*, menos demandantes técnicamente, han sido más utilizadas en Europa con diferente tasa de éxitos. Este tipo de osteotomías obvia la osteotomía trocantérica y no pone en peligro la vascularización de la cabeza femoral^{136,212,216}. La osteotomía valguizante flexora ha sido indicada en las lesiones anterolaterales de pacientes jóvenes y activos; la osteotomía varizante extensora se suele indicar en lesiones centrales postraumáticas. Según los resultados obtenidos en las distintas series se podrían establecer criterios para su realización: edad de menos de 45 años con cadera dolorosa, fase de precolapso o postcolapso precoz sin pinzamiento articular ni afectación de acetábulo, lesión pequeña o mediana (menos de 200° de ángulo de Kerboul) y no corticoterapia a dosis elevada, es decir, no tener un factor de riesgo de necrosis mantenido en el tiempo.

Las osteotomías femorales no han sido ampliamente aceptadas como método de tratamiento de la ONF ya que sus resultados han sido variables y difícilmente comparables por las diversas técnicas y la poca homogeneidad de los casos seleccionados. Tampoco facilita su difusión las posibles secuelas potenciales (como el acortamiento de la pierna en las osteotomías varizantes con un posible Trendelenburg por la insuficiencia glútea secundaria, el exceso de presión en la cabeza femoral en las osteotomías valguizantes y las anomalías del eje de carga de la extremidad afecta, que puede corregirse con desplazamientos mediales o laterales de la diáfisis femoral en la osteotomía) ni porque por esas secuelas, resulta más complicada la conversión de los casos fallidos a artroplastia total de cadera (problemas con la presencia de material de osteosíntesis y problemas con su retirada, dificultad en el fresado de la diáfisis femoral, posibilidad de fractura de la diáfisis, del trocánter mayor o del calcar), aumentando las complicaciones en estos casos²¹⁷.

Actualmente, no suele indicarse como primera opción en el tratamiento de la osteonecrosis de cabeza femoral.

Alrededor de 110 estudios aparecen en el buscador Pubmed utilizando “osteotomía, osteonecrosis de cabeza femoral y tratamiento”, en los últimos 5 años; de ellas sólo 19 están relacionadas con la osteonecrosis idiopática de cabeza femoral. El resto están relacionados con el tratamiento de diferentes patologías de la cadera en la infancia.

1-1-8. C. Tratamientos Quirúrgicos que No Conservan la Cabeza Femoral

Hemiartroplastia (Sustitución de la Cabeza Femoral)

La sustitución aislada de la cabeza femoral ha proporcionado resultados poco aceptables en estos pacientes con osteonecrosis de la cabeza femoral a causa del deterioro del cartílago acetabular, del desarrollo de protrusión acetabular y del aflojamiento femoral²¹⁸. Debido a estos malos resultados evolucionó la hemiartroplastia unipolar a la bipolar, buscando minimizar la degeneración y la erosión cartilaginosa. Teóricamente este diseño dual tiene la ventaja de que el movimiento y posición de la copa acetabular disminuyen el estrés sobre la cadera con el soporte de peso y además el centro de rotación interno se localiza más medial que el externo para prevenir la luxación²¹⁹. Estudios de seguimiento dan resultados favorables a corto plazo²²⁰, pero no ocurre lo mismo con los estudios a largo plazo²²¹⁻²²³. Los resultados son inferiores a los obtenidos con una prótesis total de cadera. Se descartó como opción terapéutica, considerando el bajo porcentaje de supervivencia y el alto

porcentaje de desarrollo de osteolisis, dolor y movilización. Se han encontrado sólo unos pocos artículos en los 5 últimos años referidos a este tipo de tratamiento^{218,224-226}. Además, muchas de estas ONF tienen entre sus factores etiopatogénicos el tratamiento crónico con corticoides y uno de los efectos a largo plazo de los corticoides es la osteoporosis secundaria; la osteoporosis de estos pacientes debilita el hueso acetabular, lo que causará migración de la cabeza femoral, especialmente cuando no hay una barrera cartilaginosa. En 2012, una revisión²²⁵ recomienda la hemiartroplastia bipolar para estadios III de ARCO o menores, apoyándose en artículos publicados entre el año 2000 y 2005^{227,228}, e indicándolas en pacientes con cartílago acetabular intacto y en menores de 45 años; seleccionan la PTC para estadios ARCO IV y para pacientes mayores de 40 años.

Artroplastia de Resuperficialización de la Cabeza Femoral

La artroplastia de recubrimiento femoral es una opción viable para pacientes jóvenes en periodo precolapso o postcolapso precoz sin afectación acetabular. Presenta varias ventajas: elimina el cartílago femoral dañado, preserva el tejido óseo de la cabeza y cuello femorales facilitando, por tanto, la más que probable reconversión a prótesis total de cadera en un futuro. Se trataría pues, de ganar tiempo en estos pacientes tan jóvenes, demorando la implantación de una prótesis total de cadera. Cuando hay una afectación de moderada a severa de la cabeza femoral, se optaría directamente por una PTC.

Los primeros artículos que nombran este tipo de prótesis de recubrimiento datan de 1948²²⁹, las primeras artroplastias de resuperficialización eran colocadas a presión (*press-fit*) sobre el fresado de la cabeza femoral. Presentaron resultados aceptables (85% de supervivencia) en un periodo de seguimiento de 6,5 años; pero dejaron de utilizarse por el mejor resultado y sobre todo, longevidad de las PTC. Hungerford y cols.²³⁰ siguieron la evolución de 33 caderas y obtubieron excelentes y buenos resultados en un 91% a los 5 años, que se convertían en un 61% a los 10 años. Cifras similares son presentadas por otros autores^{231,232}.

Mont y cols.²³³, en 2001, presentaron un trabajo con 30 pacientes consecutivos afectos de ONF a los que implantaron una artroplastia de recubrimiento femoral y otros 30 a los que implantaron una artroplastia total. Ambos grupos presentaban estadios III o IV sin afectación acetabular en las radiografías o a la inspección en el momento de la cirugía. Realizaron un seguimiento de 7 y 8 años respectivamente, alcanzando una supervivencia del 90% y del 93% para el periodo estudiado. Beulé y cols.²³² concluyen que la duración de los síntomas preoperatorios estaba asociada a una mayor afectación degenerativa acetabular, siendo estos pacientes los que antes requerirían una PTC. Esto se explicaría por el hallazgo de que el cartílago articular del acetábulo de muchos pacientes con osteonecrosis de la cabeza femoral es histológicamente anormal, incluso antes de que los cambios radiográficos demuestren pérdida del cartílago articular^{234,235}.

En varios artículos^{230,236} se ha estudiado la dificultad de reconversión de la hemiartróplastia de recubrimiento a PTC, no encontrando un aumento considerable de las complicaciones.

Aunque las indicaciones específicas no están totalmente definidas, recogiendo todos estos datos, se llega a la conclusión de que este tipo de tratamiento estaría indicado en pacientes menores de 50 años, sin degeneración acetabular, afectación de la cabeza femoral de menos de un 50% y/o con un ángulo combinado necrótico de más de 200° de ángulo de Kerboul, pero sin colapso de la cabeza femoral.

Artroplastia de Resuperficialización Total de la Articulación de la Cadera

Se ha intentado también una artroplastia de recubrimiento total, femoral y acetabular, como la diseñada por Townley²³⁷ en 1982 (TARA) con el componente femoral metálico y el acetabular de polietileno y cementado. Hubo un porcentaje no aceptable de fallos acetabulares y una mayor dificultad a la hora de reconvertirla a artroplastia total por la osteolisis causada por las partículas de desgaste generadas por el componente acetabular de polietileno^{238,239}; estos problemas no se daban con la hemiartróplastia de recubrimiento.

Pero en los últimos años, ha habido una nueva tendencia al recubrimiento, “*resurfacing*” de los anglosajones, con nuevos e innovadores diseños, incluso realizados a medida, que aportan resultados muy esperanzadores²⁴⁰.

Una artroplastia total de recubrimiento con un par fricción metal-metal, un acetábulo con un recubrimiento poroso y un componente femoral cementado o no, mejora los resultados a 5 años de la hemiarthroplastia de recubrimiento^{241,242}. Se reabre así el interés por este tipo de procedimientos, ya que no estaría justificada la artroplastia total de cadera en pacientes jóvenes con posibilidades de mantener la cabeza femoral en los estadios I y II de Ficat o I, II y IIIA de ARCO de estadificación de la necrosis.

Pero, estaría indicada en una selección muy estricta de pacientes y precisaría una óptima técnica quirúrgica, que es compleja. A pesar de ello, se han descrito complicaciones importantes debido a la respuesta tisular por la eliminación de partículas de metal derivadas del desgaste de los componentes, que se transportan a los ganglios linfáticos, hígado, bazo y médula ósea y aparecen aumentados en sangre y en orina, por donde se eliminan (de hecho la insuficiencia renal es una contraindicación absoluta para este tipo de implantes). También existe la posibilidad de reacciones alérgicas o de hipersensibilidad (otra de las contraindicaciones absolutas junto con la infección activa y la falta de hueso adecuada en fémur proximal). También está más aumentado el riesgo de fractura del cuello femoral y es imposible corregir la diferencia de longitud de miembros inferiores por su falta de modularidad²⁴³⁻²⁴⁵.

Artroplastia Total de Cadera

En la ONF, dependiendo de la cantidad de cabeza femoral afectada, va a ocurrir un colapso de la superficie articular, y conforme avanza la enfermedad, aparece dolor intenso y progresivo. La PTC es el tratamiento que consigue los mejores resultados de modo uniforme. No existe ninguna duda en la indicación de este tratamiento en pacientes con lesiones degenerativas severas con asociación de destrucción de cabeza femoral y del cartílago acetabular en pacientes mayores con baja demanda. Pero la ONF ocurre en pacientes más jóvenes que la osteoartrosis primaria, pero también, con estas características de destrucción articular, en los que la PTC es la única indicación posible (Fig. 11).

Más de mil artículos se encuentran en la literatura referidos a PTC y osteonecrosis, y más de trescientos referidos a PTC y a la osteonecrosis de cabeza femoral, en los últimos 5 años.

La PTC en osteonecrosis estaría contraindicada en pacientes jóvenes en los que se puede preservar la cabeza femoral por el estadio en el que se encuentran, y en aquellos con un riesgo excesivo de complicaciones.



Figura 11. Rx anteroposterior de pelvis en varón de 40 años. Cadera derecha con ATC impactada; cadera izquierda con ONF en estadio IIIC.

Las complicaciones que clásicamente se han relacionado con las PTC en osteonecrosis son: la infección en pacientes inmunosuprimidos (terapias prolongadas de corticoterapia o en regímenes postransplantes) y la luxación postquirúrgica, sobre todo, en pacientes alcohólicos por caídas reiteradas o por falta de hipertrofia capsular postquirúrgica. Datos a tener en cuenta a la hora de planificar abordajes y pautas de medicación perioperatorias.

En un número elevado de estos pacientes (mediana edad, estadio III de ARCO, colapso femoral con afectación del cartílago acetabular) estaría indicada la PTC como única opción de tratamiento. A lo largo de los años la PTC ofrece mejores y más definitivos resultados en cuanto al control, durabilidad y mejoría del dolor que otros tipos de tratamientos (hemiartroplastia, artroplastia recubrimiento)^{221,222}.

Se pensaba que la PTC en estos pacientes tenía un peor resultado que en aquellos con osteoartrosis primaria. Actualmente, con la introducción de nuevas cerámicas y nuevos polietilenos altamente entrecruzados, así como las interfaces de fijación más porosas, los resultados han mejorado y la PTC sigue siendo la única opción real en el tratamiento de las últimas fases de la artrosis de cadera secundaria a necrosis de cabeza femoral.

La supervivencia de las PTC en la osteonecrosis es un tema que ha suscitado siempre controversia, pues en los pacientes menores de 50 años, tratados con corticoides²⁴⁶, en los alcohólicos, en los trasplantados de órganos, en los que padecen lupus eritematoso sistémico y en los que sufren anemia de células falciformes, parece haber una supervivencia menor^{182,247}. También es motivo de controversia la supervivencia en relación con la que presenta en pacientes afectados de osteoartrosis primaria. Encontramos artículos de los

años 90 que concluyen que las PTC duran menos en pacientes con osteonecrosis. Actualmente, con las nuevas técnicas quirúrgicas, mejores cuidados médicos y nuevos materiales, múltiples estudios demuestran porcentajes de supervivencia comparables a PTC realizadas por otros motivos²⁴⁸⁻²⁵¹.

Lo que sí que parece tener impacto en la durabilidad de la prótesis es los factores que subyacen, la enfermedad de base desencadenante de la ONF. Además del mayor riesgo de infección y posibilidad de luxación en algunos de estos pacientes, el hueso acetabular de los pacientes con osteonecrosis no es tan duro ni tan escleroso como en los pacientes con osteoartritis primaria²⁵², teniendo más riesgo de aflojamiento aséptico²⁵³. Al implantar una prótesis impactada (la indicada actualmente en estos pacientes jóvenes²⁵⁴⁻²⁵⁶) el hueso acetabular, que es más débil, se encuentra con mayor riesgo de fractura. Además, habrá que tener en cuenta si el paciente ha recibido algún tipo de cirugía previa (osteotomías, injertos, perforaciones,...) que altere o debilite la anatomía subyacente.

La osteonecrosis de la cabeza femoral está asociada a un heterogeneo grupo de pacientes con diagnósticos y antecedentes muy variados y con muy diferentes niveles de actividad y de calidad ósea. Se debe pues individualizar el tratamiento de la enfermedad de base previo a la cirugía, la técnica quirúrgica y el implante seleccionado para optimizar los resultados y disminuir las complicaciones de la artroplastia total de cadera en estos enfermos.

1-2-ESTRÉS OXIDATIVO. SU PAPEL EN LA ENFERMEDAD

1-2-1. Especies Reactivas. Estrés Oxidativo. Definición

Reacciones Redox: Oxidantes-Reductores

La oxidación es un proceso bioquímico caracterizado por una pérdida de electrones, captación de oxígeno o una cesión de hidrógeno, mientras que la reducción es el proceso en el cual se captan electrones o se pierden oxígenos.

Todo proceso de oxidación va siempre acompañado de otro de reducción por lo que se dice que son reacciones redox entre pares conjugados²⁵⁷.

Cuando un agente oxidante acepta electrones de otra sustancia, provoca la pérdida de electrones de esa sustancia causando su oxidación. De manera similar cuando un agente reductor cede electrones, estos son aceptados por otra sustancia provocando su reducción²⁵⁸. Estas reacciones redox, son la base de numerosas rutas bioquímicas de la célula, de la biosíntesis y la regulación celular.

En términos químicos, hablaríamos de agentes oxidantes y agentes reductores; en términos biológicos y más concretamente en este trabajo, hablamos de agentes pro-oxidantes y agentes antioxidantes.

En este capítulo vamos a centrarnos por una parte en el estudio de las sustancias pro-oxidantes derivadas del oxígeno, las cuales son capaces de oxidar a las biomoléculas como el ácido desoxirribonucleico (ADN), los lípidos y las proteínas dañando su estructura e interfiriendo en su correcto funcionamiento y por otro en el estudio de los sistemas

antioxidantes que los seres vivos han desarrollado para proteger a la célula del daño por oxidación causado por las moléculas pro-oxidantes.

Radicales Libres y No Radicales

Las especies moleculares más estables, tienen los electrones en su orbital más externo ordenados en parejas²⁵⁹.

Los radicales libres son moléculas que poseen un electrón impar, un electrón desapareado en su orbital más externo, lo que les confiere una gran reactividad con otras moléculas para obtener (o ceder) el electrón que les hace falta para mantener su estabilidad electroquímica. Actuarían como agentes oxidantes en caso de capturar electrones (lo más frecuente en el entorno celular) y como agentes reductores en caso de cederlos. De esta forma, el radical libre es capaz de reaccionar con el ADN, lípidos y proteínas, para obtener electrones, lo que conduce a su oxidación y generalmente, a la pérdida de actividad de estas biomoléculas²⁶⁰.

Las especies reactivas del oxígeno (ROS; del inglés *Reactive Oxygen Species*) (o en términos biológicos pro-oxidantes derivados del oxígeno) y las especies reactivas del nitrógeno (RNS; del inglés *Reactive Nitrogen Species*) son como un sub-producto del metabolismo aerobio celular. Las ROS, en general, pueden ser clasificadas en 2 grupos, radicales libres y no radicales. En el grupo de los radicales libres se encuentran, entre otros, los radicales hidroxilo (OH^\cdot), el anión superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), el óxido nítrico (NO^\cdot), la molécula de oxígeno (O_2), mientras que al grupo de los no radicales pertenecen una gran variedad de sustancias tales como el ión hipoclorito (OCl^-) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) todos ellos altamente reactivos. En la tabla V se muestran estos metabolitos del oxígeno^{258,261}.

Tabla V. Metabolitos del oxígeno radicales libres y no radicales.

	NOMBRE	SÍMBOLO
RADICALES DE OXÍGENO	Oxígeno (bi-radical) Ión superóxido Ión hidroxilo Ión peroxilo Ión alcóxido Óxido nítrico	$O_2^{\cdot\cdot}$ $O_2^{\cdot-}$ OH^{\cdot} ROO^{\cdot} RO^{\cdot} NO^{\cdot}
DERIVADOS DE OXÍGENO NO RADICALES	Peróxido de hidrógeno Peróxidos orgánicos Ácido hipocloroso Ozono Aldehidos Oxígeno singlete Peroxinitritos	H_2O_2 $ROOH$ $HOCl$ O_3 $HCOR$ 1O_2 $ONOOH$

Estrés Oxidativo

Las ROS juegan un papel muy importante en la homeostasis celular pudiendo actuar en numerosos procesos de señalización celular, en un proceso denominado en su conjunto señalización redox²⁵⁷. Así, para mantener la homeostasis celular, debe lograrse un equilibrio entre la producción de oxígeno reactivo y su consumo. En condiciones fisiológicas, existe un equilibrio entre la producción y degradación de ROS. Cuando el balance entre los mecanismos pro-oxidantes y antioxidantes se desplaza a favor de los primeros, se produce una situación conocida como estrés oxidativo (EO). El EO es por tanto una situación causada por un desequilibrio entre la producción de ROS y la capacidad de un sistema biológico de detoxificar rápidamente los metabolitos intermedios o reparar el daño resultante²⁶² (Fig. 12). Todas las formas de vida mantienen un entorno reductor dentro de sus células. Este entorno reductor, es preservado por las enzimas que mantienen un estado reducido a través de un constante aporte de energía metabólica. Este balance está regulado estrechamente y es extremadamente importante para mantener las funciones bioquímicas y vitales de las células. Desequilibrios en este estado normal redox pueden causar efectos tóxicos a través de la producción de peróxidos y radicales libres que dañan a todos los componentes de la célula, incluyendo las proteínas, los lípidos y el ADN²⁶³.

Los efectos del EO dependen de la magnitud de estos cambios, de si la célula es capaz de superar las pequeñas perturbaciones y recuperar su estado original. El EO severo puede causar la muerte celular: una oxidación moderada, puede desencadenar la apoptosis, mientras que si es muy intensa puede provocar la necrosis.

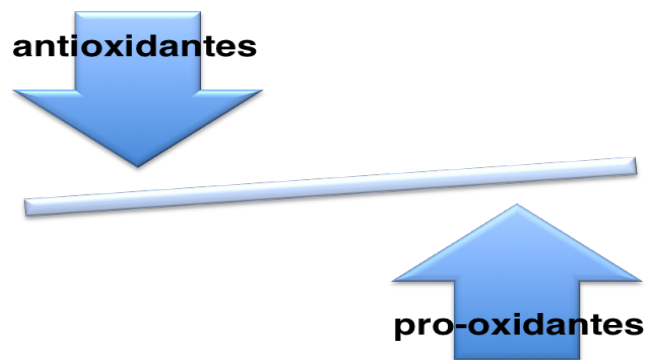


Figura 12. Estrés oxidativo. Cuando existe un exceso en la producción de moléculas reactivas que supera la capacidad de los sistemas anti-oxidantes se produce una situación conocida como estrés oxidativo. Este desequilibrio, implicado en numerosas enfermedades, como luego veremos, ha dado lugar a la teoría de la enfermedad causada por EO.

1-2-2. Fuentes endógenas y exógenas de ROS

Las ROS pueden generarse a través de una gran diversidad de procesos tanto endógenos como exógenos. Las ROS de origen endógeno se generan como productos intermedios de reacciones oxidativas de las células, mientras que las de origen exógeno se producen por exposición a factores medioambientales tales como alimentos, fármacos y radiaciones ionizantes (Tabla VI). La cadena de transporte electrónico mitocondrial es la principal fuente de ROS intracelular. Durante el proceso de fosforilación oxidativa el 95% del oxígeno es utilizado por las mitocondrias para generar energía en forma de adenosín trifosfato (ATP). Sin embargo, el 5% del oxígeno restante da lugar (como consecuencia de la reducción de la molécula de oxígeno, a ROS) tales como el $O_2^{\cdot-}$, el H_2O_2 y el OH^- que son responsables de la toxicidad de oxígeno.

Otras fuentes intracelulares de generación de ROS son, entre otros, los lisosomas, los peroxisomas y el retículo endoplasmático²⁶⁴.

Tabla VI. Ejemplos de fuentes endógenas y exógenas de ROS.

FUENTES EXÓGENAS	FUENTES ENDÓGENAS
Radiación γ Radiación UV Ultrasonidos Alimentos Fármacos Polución Xenobióticos Toxinas	Células: Fagocitos; Enzimas productoras de ROS de manera indirecta: XO; Enzimas productoras de ROS de manera directa: Óxido nítrico sintasa; Metabolismo: Mitocondrias; Enfermedades: procesos isquémicos, neoplasias, etc.

También son fuentes de ROS, una gran variedad de sistemas enzimáticos²⁶², tales como el sistema hipoxantina/xantina oxidasa (XO), algunas enzimas citosólicas solubles como la aldehído oxidasa y la óxido nítrico sintasa y enzimas localizados en la membrana plasmática como la ciclooxigenasa y la lipooxigenasa .

Asimismo, los monocitos, neutrófilos y macrófagos son capaces de generar ROS a través de la enzima NADPH oxidasa. Estas células generan gran cantidad de O_2^- y H_2O_2 como mecanismo para combatir a los microorganismos. Además, son capaces de generar gran cantidad de NO, el cual al combinarse con el O_2^- da lugar a la formación de peroxinitritos que poseen una gran capacidad oxidante (Fig. 13).

Por otra parte, las ROS también son generadas por factores externos tales como la exposición a radiaciones ionizantes, la contaminación ambiental, el tabaco, algunos medicamentos como los corticoides y xenobióticos como pesticidas, herbicidas y fungicidas²⁶⁶.

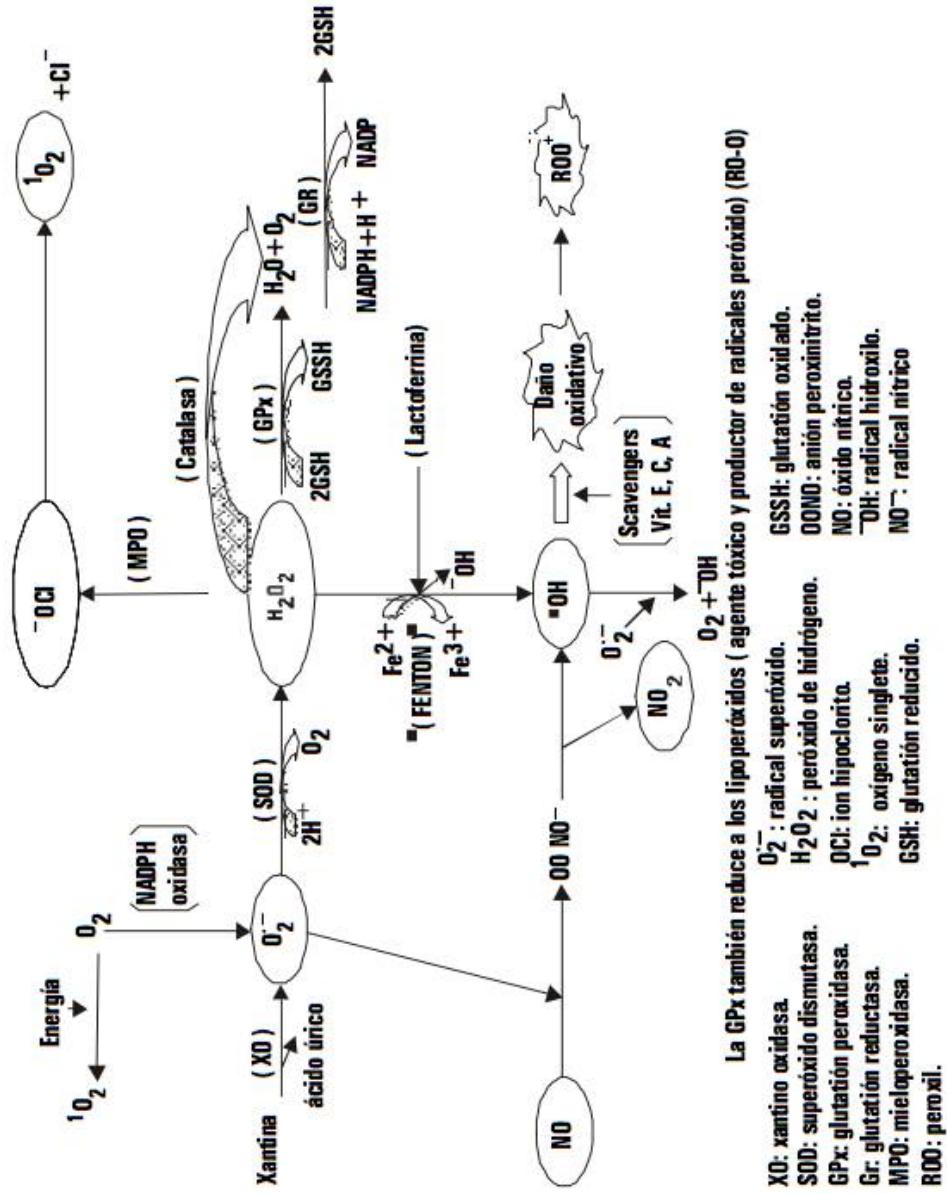


Figura 13. Representación metabólica de las especies reactivas del oxígeno²⁶⁵.

1-2-3. Daños por oxidación de biomoléculas

El continuo flujo de ROS desde las fuentes, tanto endógenas como exógenas, resulta en un daño oxidativo a las células continuo y acumulativo; altera así múltiples funciones celulares. Entre los blancos biológicos más vulnerables al daño oxidativo están: enzimas proteicas, membranas lipídicas y el ADN.

Daño oxidativo a las proteínas

Las ROS pueden oxidar de manera reversible e irreversible a todos los aminoácidos que componen las proteínas. Dicha oxidación provoca cambios conformacionales en su estructura lo que en la mayoría de los casos se traduce en una pérdida de función²⁵⁸.

Daño oxidativo a los lípidos

Todas las membranas celulares son especialmente vulnerables a la oxidación debido a sus altas concentraciones de ácidos grasos insaturados. Este daño, llamado peroxidación lipídica ocurre en tres estadios: en ellos el oxígeno reactivo le quita átomo de hidrógeno al grupo metileno del lípido y comienza una cadena de oxidaciones, que pueden ser detenidas por antioxidantes²⁵⁸, como veremos más adelante.

Daño oxidativo al ADN

Aunque el ADN es una molécula relativamente estable y bien protegida tanto por la membrana nuclear como por las numerosas proteínas a él asociadas, las ROS pueden interactuar con ella, causando varios tipos de daños por oxidación: modificación de las bases de ADN, pérdida de purinas, daño a las proteínas de unión y daño al sistema de reparación de ADN, entre otros. Particularmente, importante es la oxidación de la guanina

en su posición C-8 por parte de los iones OH^- , para dar el producto oxidado, 8-hidroxi-deoxiguanosina (8-OHdG). Esta base ha sido ampliamente utilizada como marcador de daño oxidativo en el ADN en numerosos estudios²⁶⁷.

1-2-4. Mecanismos de defensa antioxidante

Tal y como hemos comentado anteriormente, las células eucariotas han desarrollado diversos mecanismos de defensa antioxidantes con el fin de protegerse del daño oxidativo causado por las ROS. Estos mecanismos pueden ser indirectos y directos²⁵⁸.

Los mecanismos indirectos controlan la producción endógena de ROS como por ejemplo alterando la actividad de enzimas que indirectamente producen metabolitos de oxígeno que posteriormente serán reducidos por el resto de enzimas antioxidantes. Un ejemplo es la xantina oxidasa (XO), la cual, aunque es una enzima que genera O_2^- , en este trabajo la hemos considerado como una enzima antioxidante.

Los mecanismos directos se refieren al complejo sistema de enzimas antioxidantes: directamente eliminan las sustancias pro-oxidantes. Este sistema se puede clasificar en dos grandes grupos: los sistemas antioxidantes enzimáticos y los no enzimáticos.

Enzimas Antioxidantes

Sistemas enzimáticos tales como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPx), la glutatión reductasa (GR) y la xantina oxidasa (XO), han evolucionado para reducir los niveles de ROS y mantener la homeostasis fisiológica^{126,262}.

La **SOD** es una enzima muy importante en la homeostasis del perfil redox celular, su función es catalizar la dismutación del O_2^- en oxígeno molecular y H_2O_2 . Es el único enzima conocido en la eliminación de radicales O_2^- . En realidad existen tres isoenzimas diferentes²⁶⁸ dependiendo del metal presente en su centro activo (Mn-SOD, Fe-SOD o Cu-Zn SOD). El producto final de esta reacción de dismutación (H_2O_2) puede ser eliminada por la actividad de la enzima catalasa y por miembros de la familia peroxidasa (Fig 14).

La **CAT** es una enzima antioxidante que protege a las células frente al daño provocado por las ROS, convirtiendo el H_2O_2 en H_2O y oxígeno molecular, previendo así el daño celular²⁶⁹ (Fig. 15).

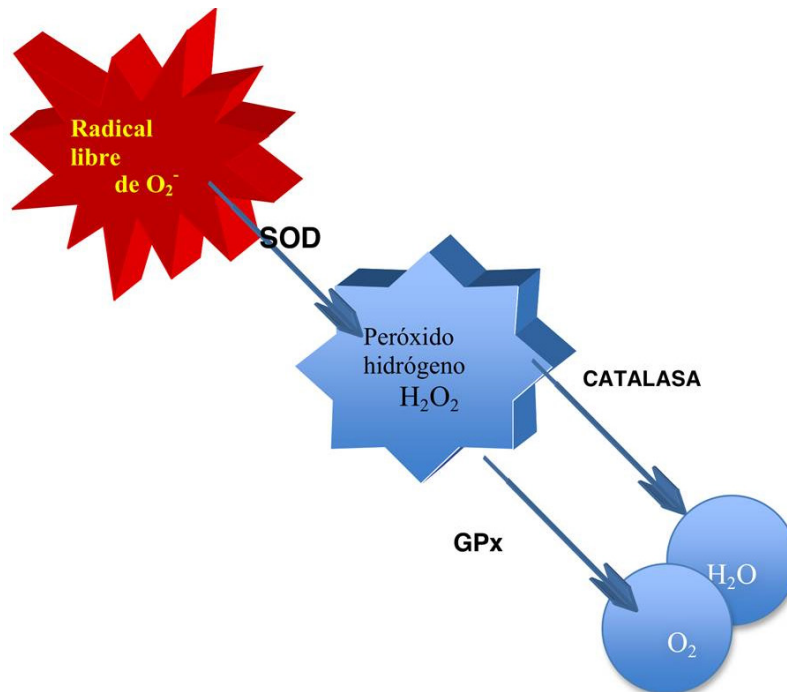


Figura 14. Enzimas antioxidantes SOD, CAT y GPx. Acción de las enzimas antioxidantes dismutación del anión superóxido.



Figura 15. Acción de la enzima CAT.

La enzima **GPx** cataliza la reducción de los hidroperóxidos utilizando el glutatión reducido como reductor. Su función principal es proteger a la célula del daño causado por estrés oxidativo.

La enzima **GR** regenera glutatión reducido (GSH), principal antioxidante de las células, que será utilizado por la GPx para la reducción del peróxido y lipoperóxido.

Dada su participación en el ciclo del glutatión, la función de la GPx y GR se describe con mayor detalle en el apartado siguiente.

Con respecto a la **XO**, en condiciones de normoxia, la xantina deshidrogenasa oxida la hipoxantina a xantina y ésta a ácido úrico. En esta reacción no se generan ROS, ya que el NAD⁺ actúa como aceptor de electrones. Sin embargo, en condiciones de hipoxia la xantina deshidrogenasa sufre una conversión a xantina oxidasa que cataliza la misma reacción, pero en este caso el oxígeno actúa como aceptor de electrones lo que conduce a la formación de O₂⁻ en primer lugar que posteriormente será reducido a H₂O₂ por acción de la SOD.

Sistemas Antioxidantes No Enzimáticos

Fuentes endógenas

Se trata de un sistema de reparación consistente en sistemas no enzimáticos y moléculas pequeñas de bajo peso molecular que pueden penetrar a través de las membranas celulares y localizarse muy cercanas a los sitios de producción de las ROS, donde reaccionan directamente con ellas²⁵⁸.

El principal antioxidante celular es el **glutati6n** (γ -glutamilcisteinilglicina), un tripéptido no proteínico constituido por 3 aminoácidos la cisteína, el glutamato y la glicina. Se encuentra en las células principalmente en su forma reducida (GSH) y debe gran parte de sus propiedades antioxidantes a la presencia de un grupo tiol (-SH) en la cisteína, que le confiere una gran capacidad para participar en reacciones redox, ya que le permite actuar como donante de electrones. De esta forma, actúa como cofactor de la glutati6n peroxidasa (GPx) para catalizar la eliminaci6n de H_2O_2 y de los per6xidos orgánicos. En este proceso, el glutati6n se convierte en su forma oxidada denominada disulfuro de glutati6n (GSSG), el cual, en un proceso dependiente de NADPH, es rÁpidamente reducido a GSH por acci6n de la glutati6n reductasa (GR), una enzima constitutivamente activa e inducible en situaciones de EO (Fig. 16). Este proceso denominado ciclo del glutati6n permite explicar porqu6 en el interior celular el glutati6n se encuentra fundamentalmente en su forma reducida y que el cociente GSSG/GSH se utilice como indicador del estado de oxidaci6n celular.

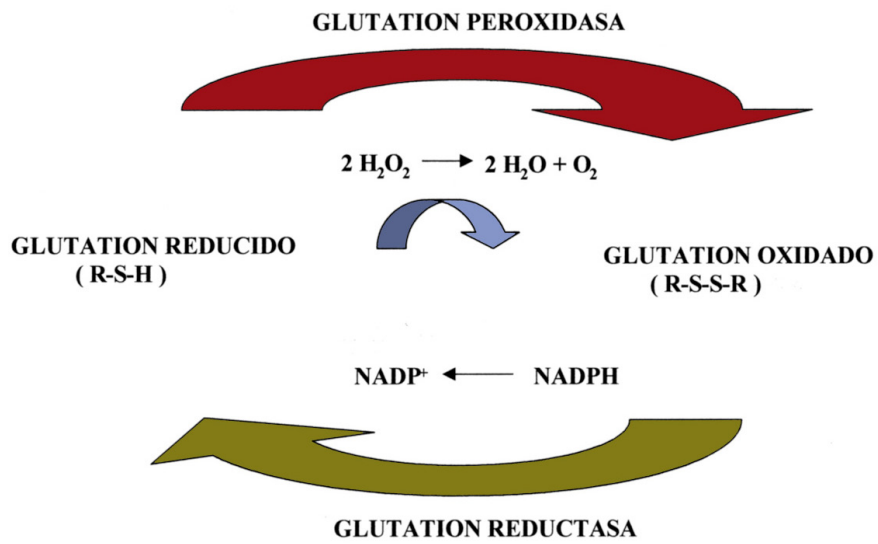


Figura 16. Ciclo de óxido-reducción del glutatión y la acción de las enzimas GPx y GR.

Fuentes exógenas

Aunque se han descrito numerosas sustancias exógenas con capacidad antioxidante (la mayoría de las cuales provienen de la dieta), las vitaminas (fundamentalmente la C y la E) constituyen los mecanismos de defensa antioxidante más sencillos²⁷⁰. Las vitaminas sufren ellas mismas un proceso de oxidación, protegiendo de este modo a las biomoléculas²⁷¹.

1-2-5. Funciones fisiológicas de las ROS

Tal y como hemos comentado anteriormente, las ROS desempeñan un papel fundamental en la homeostasis celular, e incluso en ausencia de estrés oxidativo, existen en las células niveles basales de ROS, que actúan como moléculas reguladoras y de señalización en lo que se conoce en términos generales como regulación REDOX²⁷².

Se ha demostrado que las ROS juegan un papel crucial en funciones tan diversas e importantes como²⁷²:

- activación y regulación de la estabilidad génica,
- crecimiento celular,
- modulación de reacciones químicas en la célula,
- monitorización de la tensión de oxígeno: este aspecto es particularmente crítico, ya que permite a la célula iniciar respuestas adaptativas que incrementarán la probabilidad de supervivencia anticipando la escasez de oxígeno. Bajo condiciones de hipoxia, las mitocondrias producen un exceso de ROS que iniciaran las adaptaciones necesarias,

- papel en la fisiología del músculo esquelético²⁷³: la producción muscular de ROS se estimula tanto por la contracción muscular, como por la hipoxia, pero se ha sugerido que el ejercicio ayuda a mantener la homeostasis redox incrementando los mecanismos de defensa antioxidantes, por lo que, debido a esto, los deportistas de largo tiempo, son más resistentes al daño oxidativo²⁷⁴,
- defensa contra bacterias y virus mediado: proporcionan un enlace a la adaptación del sistema inmune a través del reclutamiento de neutrófilos. El sistema inmunitario también usa los efectos tóxicos de las ROS haciendo de ellos una parte central de su mecanismo para combatir a los agentes patógenos,
- participan en el control de la tensión arterial y el tono vascular²⁷⁵:
- las plaquetas liberan ROS para reclutar más plaquetas en los sitios de lesión,
- median en la biosíntesis de otras moléculas como las prostaglandinas,
- tienen funciones en el desarrollo embrionario.

Vemos pues que las ROS participan en la regulación y el mantenimiento de los procesos fisiológicos de los organismos vivos. Los antioxidantes son igualmente esenciales, y su expresión génica está regulada por las ROS, de tal forma su administración de forma no controlada o masiva, podría alterar rutas metabólicas importantes para la homeostasis celular y ser contraproducentes. Así pues, queda claro que los organismos vivos, para mantener la homeostasis, han de hacer un esfuerzo para mantener a estas moléculas ROS, altamente reactivas, bajo estrecho control con la ayuda de un intrincado sistema de antioxidantes.

1-2-6. Métodos para la determinación de Estrés Oxidativo

MÉTODOS DIRECTOS

Estos métodos se basan en la determinación de la concentración de los agentes oxidantes. Esto resulta difícil en muchos casos por la corta vida media de estos pro-oxidantes²⁶⁵, por ejemplo, el radical OH^\cdot tiene una vida de 10^{-10} segundos. La espectrometría de resonancia de rotación de electrones es la única técnica analítica que mide directamente las ROS, pero su aplicación en el ser humano no está generalizada pues los equipos tienen un coste elevado. También se ha desarrollado un equipo fotométrico para determinar los niveles de radicales libres de oxígeno: está basado en el hecho de que los metales de transición, una vez liberados de su forma quelante, tienen la capacidad de catalizar reacciones de tipo redox, cuyos productos son atrapados por derivados fenólicos que resultan en la formación de una solución coloreada que puede ser medida espectrofotométricamente.

MÉTODOS INDIRECTOS

Debido a su alta reactividad y a su corta vida media de los radicales libres, estos son difíciles de detectar. Por este motivo se han desarrollado métodos indirectos que permiten inferir su presencia por los cambios característicos que producen en otras moléculas de su entorno próximo. Como resultado de las distintas oxidaciones moleculares se producen y liberan al medio distintos productos, cuya determinación es utilizada para la valoración del EO.

Cuantificación de Marcadores de Daño por Oxidación

Daño oxidativo a los lípidos

Los isoprostanos y el malondialdehído (MDA) son algunos de indicadores de peroxidación lipídica más utilizados. Las ROS dañan a los lípidos alterando las membranas plasmáticas celulares, y por lo tanto la función celular. Aunque existen métodos para determinar el proceso de oxidación a lo largo de sus diferentes fases, uno de los más utilizados ha sido la determinación en el estadio final de la peroxidación lipídica. En esta fase los peróxidos son descompuestos a aldehídos como el MDA, el cual reacciona con el ácido tiobarbitúrico²⁷⁶ formándose un color susceptible de ser medido directamente mediante espectrofotometría. En los últimos años, este método ha sido sustituido por la determinación de los isoprostanos, que son productos derivados de la oxidación no enzimática del ácido araquidónico presente en los lípidos de las membranas celulares. Se considera un buen método para medir el EO, ya que son químicamente estables (más estables que el MDA) y están presentes en cantidades detectables en tejidos normales y fluidos biológicos, por lo que es posible establecer un rango de normalidad. La técnica utilizada para cuantificarlos es mediante ELISA²⁷⁷.

Daño oxidativo a las proteínas

La determinación de los grupos carbonilo se ha utilizado tradicionalmente como reflejo de la modificación oxidativa de proteínas. Existen numerosos métodos para evaluar estos carbonilos, incluyendo una estimación general de la grupos carbonilos totales utilizando técnicas de electroforesis en gel, las detección de peróxidos, pérdida de grupos -SH , cloración y nitración de proteínas, y la hidroxilación de aminoácidos. Estos métodos que son complejos y muy laboriosos, se han visto simplificados recientemente mediante el desarrollo de métodos ELISA que permite para medir los grupos carbonilo tras la reacción con 2-4 dinitrofenilhidrazina (2,4- DNFH)²⁶⁵.

Daño oxidativo al ADN

Uno de los métodos más utilizados para determinar el daño oxidativo al ADN es la determinación de la base modificada 8-OHdG. Existen varios métodos para su determinación que incluye la cromatografía líquida de alta presión (HPLC) o la espectrometría de masas (GC-MS) tras de la hidrólisis enzimática del ADN. Como en los casos anteriores, recientemente se ha desarrollado un método ELISA para la determinación de la 8-OHdG que ha facilitado enormemente su determinación^{258,265}.

Cuantificación de los Mecanismos de Defensa Antioxidante

Enzimas antioxidantes

Analizar las enzimas antioxidantes nos indicará una exposición previa de la célula a estrés oxidativo: **SOD, CAT, GPx, GR**. Los niveles de antioxidantes pueden disminuir o aumentar por diferentes enfermedades, por lo que al monitorizarlos, pueden ser utilizados como marcadores de enfermedades y para el seguimiento terapéutico.

Antioxidantes de bajo peso molecular: “scavengers” o eliminadores

Otros metabolitos que complementan la batería de indicadores de oxidación resulta de la medición de los antioxidantes de bajo peso molecular entre los que destacan el cociente GSSG/ GSH cuyas concentraciones en sangre, orina, células circulantes o tejidos pueden ser cuantificados mediante procedimientos y técnicas analíticas específicas (ELISA, HPLC, entre otras)^{258,278}.

1-2-7. Estrés Oxidativo en la Enfermedad

Tal y como hemos comentado anteriormente, se ha relacionado el EO con múltiples enfermedades a través de una producción incontrolada de ROS que dañan a las macromoléculas (lípidos, proteínas y ácidos nucleicos) y alteran los procesos celulares (funcionalidad de las membranas, producción de enzimas, respiración celular, inducción génica, etc.)¹⁴⁷. A continuación se enumeran diversos procesos y diferentes enfermedades con las que se ha relacionado al EO (Fig. 17).

El EO Se ha relacionado con el envejecimiento; este se explicaría por alteración de los mecanismos antioxidantes, los cuales deben impedir la producción de radicales libres que dañan la estructura celular produciendo la disfunción y/o muerte celular²⁷⁹⁻²⁸¹.



Figura 17. Estrés Oxidativo relacionado con la patología de los diversos órganos del cuerpo.

De manera similar, se ha relacionado un aumento en el EO y alteraciones genómicas (cambios en la longitud de los telómeros) características de múltiples enfermedades como la disqueratosis congénita, la anemia aplásica, la mielodisplasia, etc¹²⁷.

Se ha descrito al EO como causa subyacente de enfermedad crítica en pacientes traumáticos ingresados en unidades de cuidados intensivos, y se ha llegado a plantear el uso de antioxidantes y suplementación farmacológica en forma de micronutrientes como parte del tratamiento de estos pacientes²⁸².

El EO se ha relacionado con enfermedades mentales como la esquizofrenia. Un estudio de 2013 sugiere que determinados marcadores de EO (CAT, los nitritos en plasma y la SOD), podría servir como potencial biomarcador en la etiopatofisiología y el curso clínico de la esquizofrenia²⁸³. En un meta-análisis reciente, se relaciona a la depresión con EO elevado y con niveles bajos de antioxidantes. En dicho estudio los autores relacionan la depresión y el escaso éxito del tratamiento con un EO elevado²⁸⁴.

Se ha confirmado la relación entre EO y enfermedad cardiovascular y hay fuerte evidencia del papel causal del oxígeno reactivo y de las RNS. Un estudio de 2014 muestra las diversas vías de interacción de las RNS mitocondriales con otras fuentes de EO como las NADPH oxidasas, las XO y la oxido nítrico sintetasa²⁸⁵. Igualmente, se ha relacionado el EO con lesiones vasculares y apoptosis²⁸⁶, arterioesclerosis²⁸⁷, hipertensión, diabetes¹²⁵, dislipemia²⁸⁸ y enfermedad neurodegenerativa como el Alzheimer²⁸⁹.

Se ha relacionado el EO con procesos tumorales y se baraja la posibilidad de usar marcadores de daño en el ADN como la 8-OHdG como marcador tumoral de diagnóstico y pronóstico de la enfermedad^{127,280,290}.

También se ha relacionado el EO con la enfermedad de Perthes²⁹¹, con el daño cartilaginoso^{180,279}, con enfermedades articulares, en los que se ha observado niveles elevados de parámetros de EO (8-OHdG) y disminución de enzimas antioxidantes como la GPx.

1-2-8. Estrés Oxidativo en la ONF

Como estamos viendo, la mayoría de ROS, se producen en cantidades controladas en condiciones normales de metabolismo aerobio y el daño que causan a las células es reparado constantemente. Sin embargo, bajo los grandes niveles de ROS que causa la necrosis, se produciría un agotamiento de estos mecanismos de reparación, que impedirían la muerte celular por apoptosis, evitando la liberación al medio ambiente celular de numerosos compuestos citotóxicos. Este punto, se ha visto apoyado por estudios “*in vitro*” y en modelos animales^{81,129}, algunos de los cuales sugieren que el EO disminuye la formación de hueso modulando la diferenciación y la supervivencia de los osteoblastos²⁹².

Estudios “*in vivo*” han puesto de manifiesto el papel que juega el EO en la patogénesis de la ONF. En su artículo, los autores demuestran que el alcohol y la administración de corticoides incrementan al volumen de grasa en la médula ósea, lo que produce hipertensión intraósea y oclusión al flujo sanguíneo en la cabeza femoral, produciéndose una hipoxia que resulta en la generación de ROS y en una situación de EO¹²⁶.

Por el contrario, no existen en la bibliografía artículos que relacionen parámetros variados de estrés oxidativo en humanos y desarrollo de ONF.

2. Hipótesis

2. HIPÓTESIS

Aunque se ha descrito que la ONF está asociada a múltiples factores de riesgo, la etiología y la fisiopatología de la enfermedad siguen siendo desconocidos en su mayor parte. En este sentido, estudios recientes en modelos animales, han demostrado una clara asociación entre el EO y el desarrollo de ONF.

No existen, sin embargo, estudios en seres humanos que hayan evaluado la posible correlación entre EO y el desarrollo de ONF.

Basándonos en estas observaciones previas, en esta tesis planteamos la hipótesis de que en individuos humanos, el EO subyace en la lesión vascular asociada con el desarrollo de ONF, lo que disminuiría el flujo sanguíneo a la cabeza femoral y contribuiría al desarrollo de la enfermedad. De esta manera una situación de EO sistémico elevado podría establecerse como un factor de riesgo de desarrollar ONF. En caso de confirmarse esta primera parte de la hipótesis, planteamos la posibilidad de utilizar los marcadores de EO como biomarcadores pronósticos de la enfermedad, de tal manera que la presencia de un EO elevado en ciertos pacientes, pondría de manifiesto un factor de riesgo mayor en la progresión de la necrosis en la cabeza del fémur, por lo que no cabría esperar buenos resultados de un cirugía paliativa en fases precoces; se evitarían así cirugías paliativas innecesarias pasando directamente a la artroplastia total de cadera.

3. Objetivos

3. OBJETIVOS

Apoyándonos en la hipótesis de trabajo propuesta nos planteamos los siguientes objetivos:

1- Estudiar el papel del estrés oxidativo en los procesos de ONF.

Con el fin de determinar la importancia del EO en la patogénesis de la ONF en humanos, planteamos:

a) Determinar el perfil de EO (determinado por el cociente GSSG/GSH, por la actividad de las principales enzimas antioxidantes y por marcadores de daño oxidativo en ADN, lípidos y proteínas en sangre periférica) en pacientes con ONF y compararlo con el obtenido en voluntarios sanos.

b) Valorar el impacto de los factores de riesgo clásicos de desarrollo de ONF sobre el EO.

2- Estudiar el valor de los parámetros de EO como biomarcadores pronósticos de la ONF.

a) Valorar la asociación entre el estado de estrés oxidativo y la lateralidad.

b) Valorar la asociación entre el estado de estrés oxidativo y los parámetros clínicos predictivos de evolución de la enfermedad.

4. Material y Métodos

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se ha realizado mediante un estudio observacional transversal de casos y controles.

Este estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Clínico Universitario de Valencia (HCUV) (Anexo 1).

La financiación para la realización del estudio se ha obtenido mediante la concesión del proyecto de investigación sanitaria de la convocatoria de Fondos Sanitarios de Investigación PI10/2600 del Instituto de Salud Carlos III en la que concurrió como Investigador principal el Catedrático Francisco Gomar Sancho.

El proyecto se ajusta a la legislación vigente en cuanto a lo que se refiere a la confidencialidad de las muestras y de las bases de datos.

Las muestras recogidas en el presente estudio forman parte de la colección inscrita en el Registro Nacional de Biobancos del Instituto de Salud Carlos III. Referencia: C.0000666. (Anexo 2). Todos los pacientes y todos los voluntarios del grupo control fueron informados de los objetivos del proyecto (Anexo 3) y dieron su consentimiento por escrito, antes de ser incluidos en el estudio (Anexo 4).

4-1. SUJETOS DE ESTUDIO

Como grupo estudio se tomaron 52 pacientes con osteonecrosis no traumática de cadera, remitidos a las consultas externas de Cirugía Ortopédica del HCUV y fueron intervenidos de prótesis total de cadera. El periodo de reclutamiento fue desde marzo de 2010 hasta junio de 2013. Como grupo control se analizó un grupo de 52 voluntarios sanos sin historia clínica previa de ONF, ajustados por edades y sexos.

Criterios de Inclusión de los Pacientes

- Diagnóstico de ONF según los criterios de la ARCO.

Se incluyeron 52 pacientes diagnosticados de ONF idiopática en el HCUV que iban a ser intervenidos quirúrgicamente de ONF diagnosticada según definición de la ARCO. Se eliminaron 5 de ellos del estudio, por no cumplir estrictamente los criterios: se trataba de pacientes con diagnóstico de ONF en fase IV, con una destrucción articular tal que se asemejaba a la fase final de la artrosis, no pudiendo descartarse ésta con certeza.

El diagnóstico se realizó mediante análisis de imagen (Radiografía y RM) y mediante la hoja operatoria, tras confirmar lesión osteonecrótica de cabeza femoral.

Criterios de Exclusión de Pacientes y Controles

- Pacientes con artritis reumatoide, lupus eritematoso, enfermedad inflamatoria intestinal, proceso febril activo; también el haber sufrido una intervención quirúrgica reciente (3 meses antes de la cirugía), el haber realizado ejercicio físico intenso reciente (48 horas previas a la cirugía) o estar bajo tratamiento con antioxidantes. Todos estos criterios de exclusión lo son por estar relacionados con alteraciones en el estrés oxidativo que pudieran enmascarar los resultados del estudio.

- Pacientes con neoplasias activas y con enfermedad renal o hepática grave.
- Pacientes menores de 18 años.

4-2. Recogida de datos clínicos (ANAMNESIS) y radiográficos

Valoración Clínica

Se valoraron, en todos los pacientes y controles, los antecedentes clínicos de relevancia: edad (años), sexo, DM, HTA, asma, alergias, enfermedades reumatológicas, neoplasia, hernias discales, cardiopatías, toma de corticoides, dislipemia (cifras elevadas de colesterol y/o triglicéridos), abuso de alcohol, abuso de tabaco, obesidad y afectación unilateral o bilateral (esto último en el caso de los pacientes). Se realizó una primera entrevista en la que los datos clínicos manifestados por el paciente permitieron la inclusión o exclusión del paciente como participante del estudio (Anexo 5). Los antecedentes clínicos se verificaron a través de la historia clínica del paciente.

En el caso de abuso de alcohol, consideramos positivo una ingesta semanal de más de 400 ml de forma habitual y crónica y se consideró hábito tabáquico más de 10 cigarrillos por día.

Para valorar la obesidad se utilizó la medición del índice de masa corporal.

Para homogeneizar la muestra los sujetos control fueron ajustados por edad y sexo.

Valoración Radiográfica

La valoración de imagen, fue tomada a partir de la Rx preoperatoria (en proyección anteroposterior y axial) y de la RM preoperatoria.

Se dividieron las caderas en diferentes fases siguiendo las clasificación de Ficat, subdividiendo pues a las caderas en Estadio o Fase I, II, III y IV.

Se valoraron las RM de los pacientes para estudio de la extensión, según la afectación de la circunferencia de la cabeza femoral, siguiendo a Steinberg y la clasificación de la ARCO; se subdividieron en afectación leve (< 15%), moderada (entre el 16-30%) y grave (>30%).

Mediante ambas exploraciones complementarias se confirmó la afectación unilateral o bilateral de las caderas.

4-3. Recogida y preparación de las muestras

Se extrajo una muestra de sangre venosa periférica y la primera orina de la mañana, tras al menos 8 horas de ayuno, de cada sujeto control y de cada paciente, en este último caso justo antes de la cirugía protésica.

La sangre se recogió en tubos separadores de suero de 7 mililitros (ml) (Vacutainer SST Gel Separator Tube; Cat #367975; Beckton Dickinson), y se dejó coagular durante 30 minutos a temperatura ambiente. La separación del suero se realizó por centrifugación a 2.000 x g durante 15 min. a 4°C. La capa superior de suero (unos 2.5 ml) se alicuotó en 5 tubos Eppendorf de 500 µl, los cuales se almacenaron a -80°C hasta que se realizaron las determinaciones.

La orina se alicuotó en 3 tubos Eppendorf de 2 ml, los cuales se almacenaron a -80°C hasta que se realizaron las determinaciones.

Todas las determinaciones llevadas a cabo en este trabajo, se realizaron como máximo 3 meses tras la recogida inicial de las muestras de sangre y de orina.

Dado que los niveles de orina son dependientes de la hidratación, para normalizar los resultados obtenidos, se determinaron los niveles de creatinina en orina. Esta determinación se realizó en el laboratorio de análisis clínicos del HCUV siguiendo el protocolo normalizado que se utiliza en la clínica (método de Jaffé).

4-4. Determinación del perfil de Estrés Oxidativo

Para determinar el estado de estrés oxidativo de los pacientes y controles del estudio, se evaluaron varios marcadores del daño oxidativo celular. Diferenciamos entre marcadores de daño por oxidación y la determinación del sistema antioxidante.

Cuantificación de Marcadores de Daño por Oxidación

Determinación de Daño Oxidativo en el ADN

Como marcador de daño oxidativo en el ADN se midió la 8-OHdG en orina mediante el kit comercial ELISA NWLSS Urinary 8-OHdG ELISA (NWK-8OHdG01; Northwest) siguiendo las instrucciones recomendadas por el fabricante. Se añadió 50 µl de orina centrifugada durante 15 min a 3000 x g o estándares de 8-OHdG a una placa de 96 pocillos que contiene 8-OHdG/BSA preabsorbido. Tras 10 min de incubación en agitación a temperatura ambiente, se añadió un anticuerpo monoclonal anti 8-OHdG a cada pocillo y se incubó a temperatura ambiente durante una hora en agitación, seguido por una incubación con un anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa de rábano (HRP) una hora a temperatura ambiente en agitación. A continuación, se añadieron 100 µl de sustrato

(3,3',5,5' tetrametilbenzidina; TMB) a cada pocillo y se incubó durante 30 min en agitación a temperatura ambiente. La reacción se detuvo mediante la adición de 100 µl de ácido fosfórico 1M y la absorbancia de cada pocillo se leyó a 450 nm. El contenido de 8-OHdG de las muestras de orina se determinó por comparación con la curva estándar de 8-OHdG y se normalizó con las concentraciones de creatinina en orina obtenidas de cada paciente o individuo control.

Determinación de Daño Oxidativo en los Lípidos

Como marcador de daño oxidativo en los lípidos se determinó en orina los niveles de 15-iso- prostano F2t, utilizando para ello el kit comercial NWLSS urinary isoprostane ELISA (Ref: NWK-IS002, Northwest).

Para ello, se añadieron a una placa de 96 pocillos, 100 µl de cada estándar o muestra de orina (centrifugada como en el caso anterior y diluida 1:6 con tampón de dilución) y 100 µl del conjugado-HRP y se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente. Tras esto, se añaden 200 µl del sustrato TMB y se incuba durante 30 min. Posteriormente, se detiene la reacción añadiendo H₂SO₄ 3M y se mide la absorbancia a 450nm. El contenido de 15-iso- prostano F2t de las muestras de orina se determinó por comparación con la curva estándar obtenida con los estándares de 15-isoprostano F2t y se normalizó con las concentraciones de creatinina en orina obtenidas de cada sujeto de estudio.

Determinación del Daño Oxidativo en las Proteínas

La determinación de daño oxidativo en las proteínas, se realizó en el suero utilizando para ello un kit comercial ELISA contra proteínas carboniladas (OxiSelect Protein Carbonyl ELISA kit; Cell Biolabs). Este método permite medir carbonilos cuantitativamente. Se mezclaron 5 μ l de suero con dinitrofenilhidrazina (DNP) durante 45 min a temperatura ambiente. Los complejos de proteínas-DNP formados, se diluyeron con 200 μ l de tampón ensayo y se incubaron en una placa de 96 pocillos durante toda la noche a 4°C. La proteína DNP absorbida se incubó con un anticuerpo anti-DNP conjugado con biotina (200 μ l) durante una hora a 37°C. Después del lavado, se añadió estreptavidina HRP (200 μ l) y se incubó durante una hora a temperatura ambiente. Seguidamente, se añadió la solución de sustrato (200 μ l) a cada pocillo y se incubó a temperatura ambiente hasta que el nivel más alto llegó a 0.7 unidades de absorbancia a 650 nm. La reacción se detuvo mediante la adición de solución ácida (100 μ l) y la absorbancia de cada pocillo se leyó a 450 nm. El contenido de DNP en las muestras de suero se determinó por comparación con la curva estándar.

Cuantificación la Actividad de Enzimas Antioxidantes

Otra manera de evaluar el perfil de estrés oxidativo es a través de la actividad de las enzimas antioxidantes, pues a mayor estrés oxidativo debería haber un aumento de su actividad enzimática para disminuir la cantidad de ROS y así evitar un mayor daño oxidativo. En este estudio se han medido 5 de las principales enzimas antioxidantes: la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), la glutatión peroxidasa (GPx) y la Glutathion reductasa (GRd) y también la xantina oxidasa (XO).

SOD

Se determinó su actividad utilizando el Superoxide Dismutase Assay Kit (Cayman Chemical Company; Cat. No. 706002), siguiendo las instrucciones del fabricante. En una placa de 96 pocillos, se mezclaron 10 μ l de suero (diluido 1:5 con tampón de muestra) o SOD estándar con 190 μ l de sal de tetrazolio, para la detección de los radicales superóxido generados tras la adición de 20 μ l de xantina oxidasa. Se incubó la placa 20 minutos a temperatura ambiente y se leyó la absorbancia a 440-460 en un lector de microplacas. La actividad de la SOD en unidades/ ml se calculó a partir de la curva estándar.

CAT

Se determinó su actividad usando el Catalase Assay Company (Cayman Chemical Company; Cat. No. 707002), siguiendo las instrucciones del fabricante. Se pusieron 20 μ l de suero o CAT estándar en los 96 pocillos de la placa. La reacción se inició con la adición de 20 μ l de H_2O_2 .

Tras 20 minutos de incubación a temperatura ambiente, se leyó la absorbancia a 450 nm en un lector de microplacas y se calculó la actividad de la CAT (nmol/min/ml) a partir de la curva estándar.

GPx

Su actividad se determinó con el GPx Assay Kit (Cayman Chemical Company; Cat. No. 703102) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se mezclaron en una placa de 96 pocillos, 20 μ l de suero o GPx estándar con una mezcla de co-sustrato que contenía NADPH, Glutathion y Glutathion reductasa. La reacción se inició con la adición de 20 μ l de

hidroperóxido de cumeno y la absorbancia se midió inmediatamente a 340 nm en un lector de microplacas, realizándose mediciones una vez por minuto hasta obtener 5 puntos. La actividad de la GPx (nmol/min/ml) se calculó de nuevo a partir de la curva estándar.

GR

La actividad de la enzima GR se determinó con el GR Assay kit (*Cayman Chemical Company*; Cat. No. 703202) siguiendo las instrucciones del fabricante. En una placa de 96 pocillos, se mezclaron 20 µl de suero o GR estándar con una mezcla de sustrato de GSSG. Se inició la reacción con la adición de NADPH a los pocillos y la absorbancia se leyó cada minuto a 340 nm usando un lector de microplacas hasta obtener 5 puntos. La actividad de la GR (nmol/min/ml) se calculó de nuevo a partir de la curva estándar.

XO

La actividad de la enzima XO se determinó con el XO Assay Kit (Abcam ab102522) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se mezclaron 50 µl de suero o XO estándar en 96 pocillos de una microplaca. Se diluyó con H₂O₂ para realizar la curva estándar. La actividad de la XO en nmol/min/ml, se calculó de nuevo a partir de la curva estándar.

Determinación De Antioxidantes De Pequeño Peso Molecular

El Sistema Glutacion Oxidado/Glutacion Reducido (GSSG/GSH)

La determinación de glutacion oxidado (GSSG) y glutación reducido (GSH) se llevó a cabo por cromatografía líquida de alto rendimiento con detección ultravioleta-visible utilizando NEM (N-etilmaleimida) para evitar la oxidación de GSH, según el método descrito por Asensi y cols²⁹³.

Para la determinación del cociente GSSG/GSH las muestras de sangre se recogieron en tubos de 3 ml con heparina de litio (Vacutainer Cat. No. 02-675-28; BD). La sangre heparinizada (500 µl) se trató a 4°C bien con 500 µl de ácido perclórico al 12% (PCA) suplementado con ácido bathophenanthrolinedisulfónico 2% (BPDS) o con 500 µl de PCA suplementado con 40 mM de NEM y 2 mM de BPDS. Las muestras se centrifugaron a 15.000 x g durante 30 min. a 4°C y el sobrenadante ácido derivatizado se incubó con 1-fluoro-2-4-dinitrobenceno (FDNTB) durante 45 min a 4°C. Tras esto, las muestras se desecaron al vacío (Speed Vac) y se almacenaron en oscuridad a -20°C hasta su análisis. El glutatión total se calculó de la suma de GSSG más GSH.

4-5. Correlación entre el estrés oxidativo y los parámetros predictores de la evolución de osteonecrosis idiopática de cadera

Como factores pronóstico de la ONF se han descrito, entre otros: unilateralidad-bilateralidad, fase de desarrollo de la ONF y extensión de la necrosis.

Existe peor pronóstico si la ONF presenta un estadio avanzado en el momento del diagnóstico, si la lesión es extensa (más del 50% de la cabeza femoral) y si es bilateral.

Se ha estudiado la asociación entre los parámetros de estrés oxidativo obtenidos en pacientes con ONF y los factores pronósticos de la ONF, para evaluar el posible factor pronóstico de los diferentes marcadores de estrés oxidativo.

4-6. Correlación entre el estrés oxidativo y los parámetros clínicos de la osteonecrosis idiopática de cadera

Asimismo, se ha estudiado la asociación de los parámetros clínicos de riesgo de enfermedad encontrados en nuestros sujetos de estudio, tanto casos como controles, y se evalúa su posible relación con los factores marcadores de estrés oxidativo.

4-7. Análisis estadístico

Los resultados de los datos demográficos se expresan como media +/- desviación estándar (DE). Todos los resultados de los parámetros de estrés oxidativo se expresan como mediana (Q1-Q3: rango intercuartílico).

Para verificar si el género influye en los parámetros de estrés oxidativo, realizamos un ANOVA multivariante en cada uno de estos parámetros incluyendo la variable género. Al constatar que en ningún caso el sexo influía en los parámetros de estrés oxidativo, determinamos realizar las comparaciones univariantes ya que en nuestro caso son más fiables debido a nuestro bajo tamaño muestral.

Se utilizó el test t-Student para la comparación entre grupos en aquellos casos en los que la variable se ajustaba a una distribución normal y se utilizó el test de Mann-Whitney si la variable seguía una distribución distinta de la normal; la normalidad se comprueba con el test de Shapiro-Wilk.

En las distribuciones normales se comprobó la igualdad de varianzas mediante el test de Levene; a igual varianzas usamos la t-Student mientras que a distinta varianzas usamos este test con la corrección de Welch.

Para comprobar si los parámetros clínicos o antecedentes recogidos son factores de riesgo para el desarrollo de ONF y si estos mismos parámetros son factores de riesgo para padecer la enfermedad en las 2 caderas (bilateralidad) y al ser estas tablas 2×2, hemos utilizado el test Chi cuadrado, excepto en los casos en que algún grupo tenía una n menor de 5 en el cual se aplica la prueba exacta de Fisher. Además para cada uno de los antecedentes también calculamos el Odds Ratio (OR) y su intervalo de confianza (IC) al 95% para calcular o en un intento de calcular el incremento de riesgo de desarrollo de enfermedad y de bilateralidad que produce cada uno de estos antecedentes.

Para el estudio de la extensión de la enfermedad, al ser ésta una medida continua, y compararlos con los parámetros de estrés oxidativo (también continuos), utilizamos la correlación de Pearson.

Todas las diferencias se consideran estadísticamente significativas cuando $p < 0,05$.

Se utilizó el software GraphPad Prism (versión 5) para el análisis estadístico de los datos de estrés oxidativo y el software IBM SPSS (*Statistical Package for Social Sciences* versión 22) para el análisis estadístico de los parámetros clínicos y sus correlaciones con los resultados de estrés oxidativo obtenidos.

5. Resultados

5. RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio 47 pacientes con ONF y 52 individuos sanos, ajustados por edad y sexo. Las edades y sexos de los pacientes con ONF y de los sujetos control incluidos en el estudio se muestran en la Tabla VII.

Tabla VII. Datos demográficos de los sujetos incluidos en el estudio. Los datos se expresan como media +/- desviación estándar (DE).

	CONTROL			ONF			p valor
	Media	DE	n	Media	DE	n	
Hombre	54,41	11,84	39	55,81	8,14	37	0,548
Mujer	59,08	5,48	13	61,00	11,55	10	0,636
Total	55,58	10,76	52	56,91	9,09	47	0,508

5-1. DATOS DEMOGRÁFICOS DE PACIENTES Y CONTROLES

Los 47 pacientes diagnosticados de ONF tenían una edad media de 56,91 años (DE 9,09); de los que 37 eran hombres con una media de edad de 55,81 años (8,14 DE) y 10 eran mujeres con una media de 61,00 años (11,55 DE). Estos números representan un 78,72% de hombres y un 21,27% de mujeres, lo que supone una relación hombre:mujer de 3,7:1.

Los 52 individuos control presentaron una edad media de 55,58 años (DE 10,76); de los que 39 eran hombres con una media de 54,41 años (DE 11,84) y 13 eran mujeres con una media de 59,08 años (DE 5,48).

Ya que los pacientes y controles estaban ajustados por edades y sexo no se encontraron diferencias significativas en la edad y sexo entre pacientes y controles (TablaVII).

Tabla VIII. Distribución de los antecedentes clínicos de los pacientes y los controles en número y porcentaje. Relación de estos parámetros en pacientes y controles y su valoración como factor de riesgo.

	Controles n=52 n (%)	Pacientes n=47 n (%)	p-valor	Test estadístico	OR (95% IC)
Obesidad	7 (13,4%)	32 (68,0%)	<0,001	Corrección de continuidad	12,400 (3,643-42,208)
Alcohol	15 (28,8%)	30 (63,8%)	0,008	Corrección de continuidad	4,265 (1,545-11,771)
Tabaco	20 (38,5%)	28 (59,5%)	0,167	Corrección de continuidad	-
Dislipemia	9 (17,3%)	29 (61,7%)	<0,001	Prueba exacta de Fisher	7,156 (2,302-22,240)
Glucocorticoides	7 (13,4%)	27 (57,4%)	0,001	Corrección de continuidad	7,800 (2,330-26,116)
Hipertensión arterial	4 (7,6%)	24 (51,1%)	<0,001	Corrección de continuidad	14,182 (3,009-66,831)
Diabetes Mellitus	4 (7,6%)	11 (23,4%)	0,113	Prueba exacta de Fisher	-
Asma	0 (0,0%)	17 (36,2%)	0,001	Corrección de continuidad	1,966 (1,523-2,537)
Alergias	4 (7,6%)	17 (36,2%)	0,010	Corrección de continuidad	7,621 (1,605-36,188)
Reuma	0 (0,0%)	12 (25,5%)	0,002	Prueba exacta de Fisher	1,824 (1,455-2,286)
Neoplasia	2 (3,8%)	15 (31,9%)	0,008	Corrección de continuidad	13,065 (1,618- 105,516)
Hernia discal	2 (3,8%)	5 (10,6%)	0,399	Prueba exacta de Fisher	-
Enfermedad cardiovascular	0 (0,0%)	12 (25,5%)	0,002	Prueba exacta de Fisher	1,824 (1,455-2,286)

5-2. ANTECEDENTES CLÍNICOS

Las características clínicas de los pacientes y los controles, se reflejan en la Tabla VIII. Con respecto a los antecedentes clínicos de los pacientes, entre los más abundantes encontramos: 32 pacientes con obesidad (68%), 30 (63,8%) con hábito alcohólico, 28 (59,5%) con hábito tabáquico, 29 (61,7%) con dislipemia, 27 (57,4%) con antecedentes de toma de corticoides y 24 (51,1%) hipertensos. Además encontramos, aunque en menor número, 11 pacientes con DM (23,4%), 17 con asma y/o insuficiencia respiratoria (36,2%), 17 de ellos presentaban algún tipo de alergia (36,2%), 12 (25,5%) presentaban algún tipo de antecedente reumático (entre los que encontramos 5 casos de crisis gotosas, 6 de artralgias y un caso de artritis sin filiar), 15 (un 31,9%) casos con antecedentes de haber padecido, en el pasado, neoplasia (2 aplasias medulares, 2 miomas uterinos, 2 neoplasias de pulmón, 1 neoplasia de laringe, 2 meningiomas, 2 adenoma suprarrenal, 4 adenomas de próstata), 5 pacientes tenía hernias discales (10,6%) y 12 (25,5%) algún tipo de enfermedad cardiovascular (aneurisma de aorta abdominal, insuficiencia venosa periférica, cardiopatía isquémica, infarto agudo de miocardio).

Entre los controles, encontramos un número menor de antecedentes: no observándose ningún caso de antecedentes asmáticos, ni reuma, ni enfermedad cardiovascular.

Sí que encontramos 7 (13,4%) obesos, 15 (28,8%) bebedores habituales, 20 (38,5 %) fumadores, 9 (17,3%) controles con dislipemia, 7 (13,4%) con antecedentes de haber tomado corticoides, 4 hipertensos (7,6%), 4 (7,6%) con DM, 4 (7,6%) con algún tipo de alergia, 2 (3,8%) con antecedentes de neoplasia y 2 (3,8%) con hernias discales.

Por otra parte, hemos comprobado cada antecedente en pacientes y controles y los hemos relacionado entre sí para valorar si se consideraban como factor de riesgo de padecer la enfermedad. Se estimaron, mediante un análisis multivariable, la Odds ratio (OR) con un intervalo de confianza (IC) del 95% con el fin de evaluar las posibles asociaciones entre los antecedentes clínicos y el desarrollo de ONF (Tabla VIII).

Nuestros resultados indican que existen diferencias estadísticamente significativas entre pacientes y controles en la presencia de obesidad (32 ONF vs 7 controles; $p < 0,001$), el abuso de alcohol (30 ONF vs 15 controles; $p = 0,008$), la presencia de dislipemia (29 ONF vs 9 controles; $p < 0,001$), el uso de corticoides (27 ONF vs 7 controles; $p = 0,001$) y la HTA (24 ONF vs 4 controles; $p < 0,001$). Presentan menor grado de significación el padecer asma (17 ONF vs 0 controles; $p = 0,001$), la presencia de algún tipo de alergias (17 ONF vs 4 controles; $p = 0,01$), el haber padecido algún proceso reumático (12 ONF vs 0 controles; $p = 0,002$), el haber padecido neoplasias (15 ONF vs 2 controles; $p = 0,008$) y el padecer enfermedad cardiovascular de algún tipo (12 ONF vs 0 controles; $p = 0,002$).

No se observan diferencias significativas entre pacientes y controles en el hábito tabáquico (28 ONF vs 20 controles; $p = 0,167$), en la presencia de DM (11 ONF vs 4 controles; $p = 0,113$), ni en el tener hernia discal (5 ONF vs 2 controles; $p = 0,399$).

Por otra parte, con el fin de evaluar las posibles asociaciones entre los antecedentes clínicos y el riesgo de desarrollar ONF, se estimaron mediante un análisis multivariante, las OR y los IC del 95%.

Nuestro resultados indican que la presencia de obesidad (OR de 12,4 e IC: 3,643-42,208), el abuso de alcohol (OR de 4,265 e IC: 1,545-11,771), la dislipemia (OR de 7,156 e IC:

2,302- 22,240), la toma de corticoides (OR de 7,800 e IC:2,330-26,116), la HTA (OR de 14,182 e IC; 3,009-66,831) y el haber tenido neoplasia (OR de 13,065 e IC: 1,618-105,516) aumentan en gran manera el riesgo de desarrollar ONF.

5-2-1. Presencia de Factores Clínicos de Riesgo en pacientes con ONF e individuos sanos

Tras determinar los parámetros clínicos que aumentan de manera significativa el riesgo de desarrollar ONF, estudiamos el número de estos parámetros en los pacientes con ONF y en los individuos control. Nuestros resultados muestran que el número de factores de riesgo es significativamente mayor en los pacientes con ONF que en los individuos control ($4,609 \pm 2,113$ vs $0.928 \pm 1,245$; $p < 0,0001$).

5-3. VALORACIÓN RADIOLÓGICA

Valorando las radiografías de los pacientes y siguiendo la clasificación de Ficat, encontramos que un porcentaje muy elevado de los pacientes presentaban un estadio avanzado. Tres de los pacientes se encontraban en estadio II (6,3%). En estadio III encontramos 13 pacientes (27,6%) y en estadio IV encontramos 31 pacientes (65,9%); suponen 44 pacientes entre estadio III y estadio IV (un 93% de las caderas estudiadas).

Según la extensión de la cabeza afectada (siguiendo a Steinberg y ARCO), no encontramos ningún paciente con una afectación leve; 9 pacientes (19,1%) presentaban una afectación moderada (4 casos con un 20% de afectación y 5 casos con un 30% de afectación) y la mayoría de ellas presentaban una afectación grave: 38 casos (80,8%) (en 24 de los casos con una afectación mayor del 50%).

Encontramos 13 pacientes (27,65%) con afectación de una de las caderas y 34 de los pacientes con afectación de ambas caderas (72,34%) (Tabla IX).

Tabla IX. Valoración radiológica según Estadio (clasificación de Ficat), según Extensión (Clasificación de Pensilvania-ARCO) y según afectación unilateral o bilateral. Los resultados se expresan como número y porcentaje.

	Pacientes n=47 n / %	
ESTADIO I	0	-
ESTADIO II	3	6,3%
ESTADIO III	13	27,6%
ESTADIO IV	31	65,9%
EXTENSIÓN Leve < 15%	0	-
EXRTENSIÓN Moderada 16-30%	9	19,1%
EXTENSIÓN Severa >30%	38	80,8%
UNI/BILATERALIDAD Unilaterales	13	27,65%
UNI/BILATERALIDAD Bilaterales	34	72,34%

5-4. PARÁMETROS DE ESTRÉS OXIDATIVO

Al estudiar los parámetros de estrés oxidativo, primero se realizaron pruebas de efectos inter-sujetos (ANOVA multivariante) con el fin de comprobar si el sexo era un factor de confusión. Estudiando cada factor de riesgo por separado con la distinción hombre-mujer, en ninguno de los casos aparece como significativo, por lo que decidimos valorar todos los parámetros de estrés oxidativo con todos los pacientes en conjunto sin hacer distinción por sexo. (Tabla X).

Tabla X. Resultados expresados en p-valores de ANOVA multivariante de cada parámetro analizado con respecto al sexo. Ausencia de significación de los parámetros de EO respecto a sexo.

Parámetros	p-valor
GSSG/GSH (%)	0,560
8-OHdG (ng/ml/ μ mol creatinina)	0,123
15-Isoprostano F2t (ng/ml/ μ mol creatinina)	0,202
Prot. Carboniladas (nmol/mg)	0,151
Actividad SOD (nmol/min/ml)	0,656
Actividad CAT (nmol/min/ml)	0,117
Actividad GPx (nmol/min/ml)	0,637
Actividad GR (nmol/min/ml)	0,517
Actividad XO (nmol/min/ml)	0,805

Los resultados de los parámetros de EO en los pacientes con ONF y en los individuos control, se muestran en la Tabla XI.

Nuestros resultados indican que existe, en los pacientes con respecto a los controles, un aumento significativo del cociente GSSG/GSH (2,239 vs 1,556), y de los marcadores de daño por oxidación: 8OHdG (1,007 vs 0,760), 15-isoprostanos F2t (0,104 vs 0,090) y proteínas carboniladas (8,852 vs 5,220).

Tabla XI. Parámetros pro-oxidantes y anti-oxidantes en controles y pacientes con ONFH. Los resultados se expresan como mediana y rango intercuartil (Q1-Q3).

Parámetros	Controles n=52	Pacientes ONF n=47	p-valor	Test estadístico
GSSG/GSH (%)	1,556 (1,110-1,665)	2,239 (2,207-2,829)	< 0,0001	Mann Whitney
8-OHdG (ng/ml/ μ mol creatinina)	0,760 (0,547-1,050)	1,007 (0,597-1,451)	0,021	Mann Whitney
15-Isoprostano F2t (ng/ml/ μ mol creatinina)	0,090 (0,050-0,155)	0,104 (0,104-0,192)	< 0,0001	Mann Whitney
Prot. Carboniladas (nmol/mg)	5,220 (4,688-10,13)	8,852 (5,078-13,86)	0,039	Mann Whitney
Actividad SOD (nmol/min/ml)	4,856 (4,063-5,273)	5,372 (4,783-6,263)	0,003	t-Student
Actividad CAT (nmol/min/ml)	43,83 (26,23-71,68)	36,53 (21,86-71,52)	0,686	Mann Whitney
Actividad GPx (nmol/min/ml)	64,69 (56,48-73,41)	57,43 (41,01-72,52)	0,006	Welch
Actividad GR (nmol/min/ml)	5,603 (3,184-7,386)	6,877 (4,584-10,95)	0,026	Mann Whitney
Actividad XO (nmol/min/ml)	0,486 (0,377-0,670)	0,530 (0,223-0,757)	0,787	Welch

La determinación de las actividades de los enzimas antioxidantes, mostró un incremento significativo de la actividad de la SOD (5,372 vs 4,856), GPx (64,69 vs 57,43) y GR (6,877 vs 5,603) en los pacientes con respecto a los controles.

No se observan diferencias significativas en la actividad de la CAT (36,53 vs 43,83). Asimismo determinamos la actividad de la XO como posible fuente de EO, no observándose diferencias significativas entre pacientes y el grupo control (0,530 vs 0,486).

5-5. CORRELACIÓN ENTRE ESTRÉS OXIDATIVO Y LOS PARÁMETROS CLÍNICOS DE LA OSTEONECROSIS IDIOPÁTICA DE CABEZA FEMORAL

Con el fin de evaluar si existía algún tipo de asociación entre los factores clínicos que aumentaban el riesgo de desarrollar ONF y los parámetros de EO, dividimos los factores de riesgo más significativos de los pacientes en presentes/no presentes y los relacionamos con los resultados de EO obtenidos en nuestra serie.

Al estudiar la asociación entre la obesidad y los parámetros de EO, se observa que existe un incremento estadísticamente significativo en la actividad GR en los pacientes (ONF vs control; $10,12 \pm 4,98$ vs $7,83 \pm 5,34$; $p= 0,04$), no observándose diferencias significativas con el resto de parámetros estudiados (Tabla XII).

Tabla XII. Comparativa entre pacientes con obesidad y pacientes sin obesidad y su relación con los marcadores de estrés oxidativo. Los parámetros se expresan como media +/- DE.

Parámetros	Pacientes ONF	Pacientes ONF	p-valor	Test estadístico
	CON Obesidad n=15	SIN Obesidad n=32		
GSSG/GSH (%)	2,42 ± 0,36	2,39 ± 0,34	0,89	Welch
8-OHdG (ng/ml/μmol creatinina)	1,03 ± 0,55	1,09 ± 0,68	0,79	t-Student
15-Isoprostano F2t (ng/ml/μmol creatinina)	0,13 ± 0,07	0,18 ± 0,11	0,11	U Mann Whitney
Prot. Carboniladas (nmol/mg)	10,56 ± 5,54	9,90 ± 6,80	0,70	U Mann Whitney
Actividad SOD (nmol/min/ml)	5,22 ± 0,76	5,81 ± 2,14	0,25	U Mann Whitney
Actividad CAT (nmol/min/ml)	47,13 ± 34,44	54,82 ± 51,42	0,85	U Mann Whitney
Actividad GPx (nmol/min/ml)	59,43 ± 21,82	52,66 ± 19,68	0,33	Welch
Actividad GR (nmol/min/ml)	10,12 ± 4,98	7,83 ± 5,34	0,04	U Mann Whitney
Actividad XO (nmol/min/ml)	0,35 ± 0,25	0,58 ± 0,32	0,07	U Mann Whitney

En cuanto a la toma o no de corticoides y los parámetros de EO, no se observan diferencias significativas (Tabla XIII).

Tabla XIII. Parámetros de EO y la toma o no de corticoides. Los parámetros se expresan como media +/- DE.

Parámetros	Pacientes ONF	Pacientes ONF	p-valor	Test estadístico
	NO Corticoides n=21	SÍ Corticoides n=26		
GSSG/GSH (%)	2,34 ± 0,37	2,44 ± 0,33	0,65	t-Student
8-OHdG (ng/ml/μmol creatinina)	0,98 ± 0,58	1,14 ± 0,68	0,45	t-Student
15-Isoprostano F2t (ng/ml/μmol creatinina)	0,19 ± 0,14	0,16 ± 0,07	0,38	U Mann Whitney
Prot. Carboniladas (nmol/mg)	8,69 ± 6,23	11,29 ± 6.39	0,17	Welch
Actividad SOD (nmol/min/ml)	6,07 ± 2,32	5,27 ± 1,26	0,29	U Mann Whihtney
Actividad CAT (nmol/min/ml)	59,02 ± 59,61	46,99 ± 32,44	0,94	U Mann Whihtney
Actividad GPx (nmol/min/ml)	54,95 ± 21,36	54,53 ± 19,92	0,95	t-Student
Actividad GR (nmol/min/ml)	9,89 ± 6,22	7,38 ± 4,14	0,12	Welch
Actividad XO (nmol/min/ml)	0,50 ± 0,30	0,49 ± 0,33	0,92	t-Student

Entre el abuso o no de alcohol y entre el haber tenido o no proceso neoplásico. (Tablas XIV y XV), encontramos únicamente significativa la actividad de la Catalasa con una p-valor de 0,04. (No alcohol vs Sí alcohol; $58,77 \pm 13,05$ vs $52,12 \pm 23,78$; $p=0,04$) y (No neoplasia vs Sí neoplasia; $59,14 \pm 50,09$ vs $37,24 \pm 34,57$; $p=0,04$) (Tablas XIV y XV).

Tabla XIV. Parámetros de estrés oxidativo y el hábito o no de beber alcohol. Los parámetros se expresan como media +/- DE.

Parámetros	Pacientes ONF	Pacientes ONF	p-valor	Test estadístico
	NO ALCOHOL n=18	SÍ ALCOHOL n=29		
GSSG/GSH (%)	$2,46 \pm 0,31$	$2,31 \pm 0,40$	0,57	U Mann Whitney
8-OHdG (ng/ml/ μ mol creatinina)	$1,07 \pm 0,48$	$1,07 \pm 0,74$	0,99	t-Student
15-Isoprostano F2t (ng/ml/ μ mol creatinina)	$0,17 \pm 0,01$	$0,16 \pm 0,11$	0,89	U Mann Whitney
Prot. Carboniladas (nmol/mg)	$11,02 \pm 6,06$	$9,5 \pm 6,63$	0,37	U Mann Whitney
Actividad SOD (nmol/min/ml)	$5,44 \pm 0,80$	$5,75 \pm 2,28$	0,58	t-Student
Actividad CAT (nmol/min/ml)	$58,77 \pm 13,05$	$52,12 \pm 23,78$	0,04	U Mann Whitney
Actividad GPx (nmol/min/ml)	$58,78 \pm 13,05$	$52,12 \pm 23,78$	0,28	Welch
Actividad GR (nmol/min/ml)	$7,06 \pm 3,95$	$9,48 \pm 5,86$	0,26	U Mann Whitney
Actividad XO (nmol/min/ml)	$0,58 \pm 0,33$	$0,30 \pm 0,30$	0,26	t-Student

Tabla XV. Parámetros de estrés oxidativo entre los pacientes con y sin antecedente clínico de neoplasia. Los parámetros se expresan como media +/- DE.

Parámetros	Pacientes ONF	Pacientes ONF	p-valor	Test estadístico
	NO NEOPLASIA n=32	SÍ NEOPLASIA n=15		
GSSG/GSH (%)	2,46 ± 0,31	2,31 ± 0,40	0,45	U Mann Whitney
8-OHdG (ng/ml/μmol creatinina)	1,05 ± 0,56	1,10 ± 0,79	0,81	t-Student
15-Isoprostano F2t (ng/ml/μmol creatinina)	0,16 ± 0,09	0,18 ± 0,13	0,91	U Mann Whitney
Prot. Carboniladas (nmol/mg)	10,45 ± 6,20	9,30 ± 6,96	0,58	t-Student
Actividad SOD (nmol/min/ml)	5,82 ± 1,95	5,21 ± 1,53	0,48	U Mann Whitney
Actividad CAT (nmol/min/ml)	59,14 ± 50,09	37,24 ± 34,57	0,04	U Mann Whitney
Actividad GPx (nmol/min/ml)	57,38 ± 19,30	48,64 ± 22,10	0,18	t-Student
Actividad GR (nmol/min/ml)	8,24 ± 5,51	9,21 ± 4,86	0,38	U Mann Whitney
Actividad XO (nmol/min/ml)	0,47 ± 0,32	0,53 ± 0,31	0,65	t-Student

Al estudiar la relación entre la HTA y los parámetros de EO encontramos una disminución significativa de la actividad CAT en los pacientes hipertensos (No HTA vs Si HTA; $58,86 \pm 33,16$ vs $47,12 \pm 55,68$; $p=0,03$). No se observan diferencias significativas en el resto de parámetros estudiados aunque el cociente GSSG/GSH se encuentra aumentado en pacientes hipertensos, aunque sin llegar a alcanzar la significación estadística (no HTA vs si HTA; $2,18 \pm 0,08$ vs $2,59 \pm 0,36$; $p=0,07$) (Tabla XVI).

Tabla XVI. Parámetros de estrés oxidativo, en cuanto a la presencia o no presencia de Hipertensión Arterial-HTA. Los parámetros se expresan como media +/- DE.

Parámetros	Pacientes ONF	Pacientes ONF	p-valor	Test estadístico
	NO HTA n=22	SÍ HTA n=25		
GSSG/GSH (%)	$2,18 \pm 0,08$	$2,59 \pm 0,36$	0,07	U Mann Whitney
8-OHdG (ng/ml/ μ mol creatinina)	$0,96 \pm 0,55$	$1,17 \pm 0,70$	0,29	t-Student
15-Isoprostano F2t (ng/ml/ μ mol creatinina)	$0,14 \pm 0,07$	$0,19 \pm 0,12$	0,27	U Mann Whitney
Prot. Carboniladas (nmol/mg)	$9,71 \pm 5,59$	$10,42 \pm 7,08$	0,99	U Mann Whitney
Actividad SOD (nmol/min/ml)	$5,43 \pm 1,20$	$5,80 \pm 2,25$	0,88	U Mann Whitney
Actividad CAT (nmol/min/ml)	$58,86 \pm 33,16$	$47,12 \pm 55,68$	0,03	U Mann Whitney
Actividad GPx (nmol/min/ml)	$59,72 \pm 19,75$	$52,99 \pm 21,09$	0,53	t-Student
Actividad GR (nmol/min/ml)	$9,40 \pm 5,91$	$7,80 \pm 4,69$	0,27	U Mann Whitney
Actividad XO (nmol/min/ml)	$0,49 \pm 0,31$	$0,49 \pm 0,32$	0,97	t-Student

Al estudiar la relación entre la dislipemia y los parámetros de EO, encontramos un aumento significativo del cociente GSSG/GSH en los pacientes dislipémicos (No DL vs Si DL; $2,17 \pm 0,09$ vs $2,54 \pm 0,35$; $p=0,04$). Se observa una disminución no significativa de la actividad CAT en los pacientes dislipémicos (No DL vs Si DL; $57,64 \pm 31,66$ vs $49,16 \pm 54,48$; $p=0,07$). No se observan diferencias significativas en el resto de parámetros estudiados (Tabla XVII).

Tabla XVII. Parámetros de EO entre los pacientes dislipémicos y los no dislipémicos. Los parámetros se expresan como media +/- DE.

Parámetros	Pacientes ONF	Pacientes ONF	p-valor	Test estadístico
	NO DLP n=18	SÍ DLP n=29		
GSSG/GSH (%)	$2,17 \pm 0,09$	$2,54 \pm 0,35$	0,04	Welch
8-OHdG (ng/ml/ μ mol creatinina)	$1,03 \pm 0,61$	$1,10 \pm 0,67$	0,75	t-Student
15-Isoprostano F2t (ng/ml/ μ mol creatinina)	$0,15 \pm 0,07$	$0,18 \pm 0,12$	0,87	U Mann Whitney
Prot. Carboniladas (nmol/mg)	$10,22 \pm 6,13$	$10,02 \pm 6,66$	0,92	t-Student
Actividad SOD (nmol/min/ml)	$5,15 \pm 1,15$	$5,95 \pm 2,13$	0,07	U Mann Whitney
Actividad CAT (nmol/min/ml)	$57,64 \pm 31,66$	$49,16 \pm 54,48$	0,15	U Mann Whitney
Actividad GPx (nmol/min/ml)	$54,66 \pm 21,10$	$54,76 \pm 20,26$	0,98	Welch
Actividad GR (nmol/min/ml)	$9,73 \pm 5,99$	$7,75 \pm 4,73$	0,25	U Mann Whitney
Actividad XO (nmol/min/ml)	$0,42 \pm 0,33$	$0,53 \pm 0,30$	0,36	t-Student

5-6. CORRELACIÓN ENTRE ESTRÉS OXIDATIVO Y LOS PARÁMETROS PREDICTIVOS DE LA EVOLUCIÓN DE LA OSTEONECROSIS DE CABEZA FEMORAL

Como factores pronóstico de la ONF se han descrito, entre otros: unilateralidad-bilateralidad, estadio o fase de desarrollo de la ONF y extensión de la necrosis. Existe peor pronóstico si la ONF presenta un estadio avanzado en el momento del diagnóstico, si la lesión es extensa (más del 50% de la cabeza femoral) y si es bilateral.

El estudio de la asociación entre los parámetros de EO obtenidos en nuestra serie con la unilateralidad/bilateralidad no mostró diferencias estadísticamente significativas. Únicamente se observa una tendencia no significativa en el cociente GSSG/GSH (Unilateral vs Bilateral; $2,29 \pm 0,26$ vs $2,55 \pm 0,38$; $p=0,273$), en los isoprostanos (Unilateral vs Bilateral; $0,20 \pm 0,12$ vs $0,15 \pm 0,10$; $p=0,264$) y en las proteínas carboniladas (Unilateral vs Bilateral; $11,87 \pm 7,65$ vs $9,40 \pm 5,8$; $p=0,240$). Se muestran los resultados en la Tabla XVIII.

Tal y como se describe en apartados anteriores, el número de pacientes con ONF en estadio II eran únicamente 3, al tratarse de pacientes con indicación de sustitución articular. Dado este número tan bajo, y ya que, los resultados no tendrían valor estadístico, decidimos excluirlos a la hora de relacionarlos con los parámetros de EO. Al estudiar los parámetros pro-oxidantes y anti-oxidantes en pacientes ONF en estadio III y IV, encontramos que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los distintos parámetros y los pacientes con ONF en estos avanzados estadios de la ONF. Únicamente se observa un aumento del cociente GSSG/GSH en los pacientes en estadio IV (Estadio III vs Estadio IV; $2,192$ vs $2,712$; $p=0,087$) que no llega a alcanzar significación estadística (Tabla XIX).

Tabla XVIII. Parámetros pro-oxidantes y antioxidantes en pacientes ONF unilaterales y bilaterales. Los parámetros se expresan como media +/- DE.

Parámetros	Pacientes ONF	Pacientes ONF	p-valor	Test estadístico
	UNILATERAL n=13	UNILSTERAL n=34		
GSSG/GSH (%)	2,29 ± 0,26	2,55 ± 0,38	0,273	U Mann Whitney
8-OHdG (ng/ml/μmol creatinina)	1,01 ± 0,43	1,10 ± 0,71	0,692	t-Student
15-Isoprostano F2t (ng/ml/μmol creatinina)	0,20 ± 0,12	0,15 ± 0,10	0,264	U Mann Whitney
Prot. Carboniladas (nmol/mg)	11,87 ± 7,65	9,40 ± 5,8	0,240	t-Student
Actividad SOD (nmol/min/ml)	6,10 ± 2,92	5,45 ± 1,20	0,798	U Mann Whitney
Actividad CAT (nmol/min/ml)	61,87 ± 72,71	48,78 ± 32,08	0,720	U Mann Whitney
Actividad GPx (nmol/min/ml)	54,07 ± 17,98	54,98 ± 21,48	0,893	t-Student
Actividad GR (nmol/min/ml)	8,75 ± 3,85	8,44 ± 5,80	0,471	U Mann Whitney
Actividad XO (nmol/min/ml)	0,40 ± 0,21	0,52 ± 0,33	0,400	t-Student

Tabla XIX. Parámetros pro-oxidantes y anti-oxidantes en pacientes ONF en Estadío III y IV. Los resultados se expresan como mediana y rango intercuartil (Q1-Q3).

Parámetros	Pacientes ONF	Pacientes ONF	p-valor	Test estadístico
	ESTADIO III n=13	ESTADIO IV n=31		
GSSG/GSH (%)	2,192 (2,056 – 2,235)	2,712 (2,227 – 2,857)	0,087	U Mann Whitney
8-OHdG (ng/ml/ μ mol creatinina)	1,445 (0,857 – 1,688)	0,996 (0,399 – 1,416)	0,131	Welch
15-Isoprostano F2t (ng/ml/ μ mol creatinina)	0,160 (0,108-0,219)	0,148 (0,104-0,190)	0,264	U Mann Whitney
Prot. Carboniladas (nmol/mg)	6,280 (4,470 – 13,494)	10,041 (5,427 – 15,794)	0,441	t-Student
Actividad SOD (nmol/min/ml)	5,171 (4,748 – 6,809)	5,471 (4,732 – 6,335)	0,724	U Mann Whitney
Actividad CAT (nmol/min/ml)	66,866 (25,926 – 87,975)	34,224 (22,934 – 34,224)	0,212	U Mann Whitney
Actividad GPx (nmol/min/ml)	46,099 (28,652- 64,182)	54,886 (41,005- 72,523)	0,323	t-Student
Actividad GR (nmol/min/ml)	7,640 (4,584 – 13,371)	6,494 (4,075 – 10,824)	0,686	U Mann Whitney
Actividad XO (nmol/min/ml)	0,365 (0,107 – 0,564)	0,583 (0,350 – 0,784)	0,170	t-Student

El estudio de asociación entre parámetros de EO y la extensión de la enfermedad en los pacientes con ONF no mostró diferencias estadísticamente significativas (Tabla XX). Únicamente se observa una tendencia en el cociente GSSG/GSH que no llega a ser significativa ($p=0,097$). Al relacionar los diferentes parámetros clínicos estudiados con la presencia de afectación de una o de ambas caderas, sólo se encontraron que aumentan significativamente el riesgo de padecer ONF en ambas caderas, la presencia de DM (Unilateral vs Bilateral; 0% vs 32,4%; $p=0,021$; OR=1,478 1,175-1,865 95% IC) y el género masculino (Unilateral vs Bilateral; 46,2% vs 88,2%; $p=0,005$; OR=8,750 1,935-39,574) tal y como se observa en la Tabla XXI.

Tras determinar los parámetros clínicos que aumentan de manera significativa el riesgo de bilateralidad, estudiamos el número de estos parámetros en los pacientes con ONF unilateral y en los pacientes con ONF bilateral. Nuestros resultados muestran que estos factores de riesgo son significativamente mayores en los pacientes con afectación de ambas caderas (Unilateral vs Bilateral; $0,461 \pm 0,518$ vs $1,176 \pm 0,575$; $p<0,0001$).

Tabla XX. Parámetros de EO y extensión en los pacientes de ONF. Los resultados se expresan como correlaciones al ser una medida lineal.

Parámetros	CORRELACIÓN DE PEARSON (EXTENSIÓN)	p-valor
GSSG/GSH (%)	0,525	0,097
8-OHdG (ng/ml/ μ mol creatinina)	0,068	0,675
15-Isoprostano F2t (ng/ml/ μ mol creatinina)	-0,191	0,232
Prot. Carboniladas (nmol/mg)	0,009	0,953
Actividad SOD (nmol/min/ml)	-0,164	0,278
Actividad CAT (nmol/min/ml)	0,033	0,828
Actividad GPx (nmol/min/ml)	-0,117	0,437
Actividad GR (nmol/min/ml)	0,011	0,941
Actividad XO (nmol/min/ml)	0,120	0,514

Tabla XXI. Distribución de los antecedentes clínicos de los pacientes y los controles en número y porcentaje. Relación de estos parámetros en pacientes y controles y su valoración como factor de riesgo.

ANTECEDENTE	Bilateralidad %	Unilateralidad %	p-valor	Test estadístico	OR (95% IC)
Obesidad	76,9	64,7	0,503	Prueba exacta de Fisher	-
Alcohol	46,2	67,6	0,199	Prueba exacta de Fisher	-
Tabaco	46,2	61,8	0,523	Corrección de continuidad	-
Dislipemia	61,5	61,5	1,000	Corrección de continuidad	-
Glucocorticoides	53,8	55,9	1,000	Corrección de continuidad	-
Hipertensión arterial	61,5	50,0	0,702	Corrección de continuidad	-
Diabetes Mellitus	0,0	32,4	0,021	Prueba exacta de Fisher	1,478 (1,175 -1,865)
Asma	30,8	38,2	0,743	Prueba exacta de Fisher	-
Alergias	30,8	38,2	0,743	Prueba exacta de Fisher	-
Reuma	30,8	23,5	0,713	Prueba exacta de Fisher	-
Neoplasia	15,4	38,0	0,175	Prueba exacta de Fisher	-
Hernia discal	15,4	8,8	0,607	Prueba exacta de Fisher	-
Enfermedad cardiovascular	38,5	23,5	0,467	Prueba exacta de Fisher	-
Sexo (hombre)	46,2	88,2	0,005	Prueba exacta de Fisher	8,750 (1,94– 39,57)

6. Discusión

6. DISCUSIÓN

La osteonecrosis de cadera, como mencionamos en la introducción¹, significa muerte de las células óseas de la cadera, ya sea por causa vascular o por otras causas²⁹⁴.

La escasa entidad de las manifestaciones clínicas en algunos enfermos es la causa de diagnósticos tardíos en fase ya avanzada, lo que en muchos casos impide un tratamiento conservador que preserve la cabeza femoral y la articulación de la cadera³⁰.

Mientras que la necrosis postraumática de cabeza femoral suele verse en pacientes de edad avanzada, la osteonecrosis idiopática se da principalmente en adultos relativamente jóvenes en edad laboral y con muchos años de vida potencial por delante⁴. Todo ello supone un coste socio-sanitario importante y una afectación de la vida laboral, social y familiar²⁹⁵. Además, se ha de tener en cuenta, que en el 75-80% de los casos de ONF no tratadas se produce un colapso condral con las consiguientes repercusiones articulares²⁷. Como se describe en la introducción, esta patología supone una de las principales causas de implantación de prótesis total de cadera en todo el mundo, hasta un 18% según autores³⁷; la causa más frecuente en Asia³⁶, entre un 40 y un 57%. Prueba del interés que, tanto en los pacientes, como en los médicos e investigadores, despierta esta patología, es la cantidad de asociaciones activas en este momento (NONF, CORE, ARCO, etc.), lo que obliga a los gobiernos a impulsar programas de investigación³²⁻³⁵.

Como en toda patología, se debe intentar prevenir su aparición, su progresión si aparece y facilitar el mejor tratamiento disponible. Esto sólo es posible si conocemos la causa primaria que provoca la patología y la historia natural de la enfermedad no tratada.

En las necrosis traumáticas de cabeza femoral, el problema es claramente vascular^{3,14-16}. Se trata de averiguar si la cabeza femoral está vascularizada o no tras el traumatismo (fractura intracapsular o luxación de cadera), pues la causa de la necrosis en estos casos, es una interrupción del aporte sanguíneo a la cabeza femoral. En unos casos el déficit vascular estará causado por interrupción arterial aguda y en otros por obliteración de los vasos debido al aumento de presión intracapsular²⁹⁶. La probabilidad de necrosis aumenta en las fracturas según su desplazamiento sobre todo¹⁴, pero también influyen las técnicas quirúrgicas agresivas y el material de osteosíntesis. En las luxaciones la probabilidad de necrosis aumenta cuando se asocia a fracturas y la reducción se difiere y/o se realiza de forma cruenta²⁹⁷. Sobre todos estos factores conocidos se podrá actuar en las necrosis postraumáticas.

En cambio, el mecanismo exacto por el que se produce la ONF se desconoce. Según la definición de la ARCO²⁰ aceptada internacionalmente, se trata de: “*la enfermedad que produce una osteonecrosis sistémica de la cabeza femoral sin antecedente de traumatismo o infección, y que progresa hacia una osteoartritis secundaria tras el colapso de la cabeza femoral*”. No se menciona, ni en esta ni en ninguna otra definición, la causa de esta patología.

Según Steinberg: “*La necrosis idiopática de cabeza femoral no es una entidad nosológica específica, sino el resultado final común de varios trastornos conducentes a un daño de la irrigación de la cabeza femoral*”¹⁸. Ya en los años 80 surgió Kenzora con esta misma idea: proponía una causa desconocida pero multifactorial y no debida a un evento simple o momentáneo^{45,298}.

La cabeza femoral tiene una peculiaridad anatómica^{8,18} circulación terminal que penetra por la base del cuello junto al repliegue cápsulo-sinovial de la cadera⁷ y un arco de movilidad en los tres planos del espacio. Esto facilitaría la actuación de los diversos factores sobre esta vascularización terminal provocando en último término la necrosis^{9,10}.

Pero *¿cómo empieza, cuándo, en qué momento exacto comienza la muerte celular en las células de la cabeza femoral?* Aunque existen múltiples teorías etiopatogénicas, los mecanismos fisiopatológicos que conducen al desarrollo de la ONF son poco conocidos, así como los factores desencadenantes del inicio de la osteonecrosis, lo que imposibilita el uso de medidas profilácticas.

Recientemente, se ha puesto de manifiesto en modelos animales¹²⁸⁻¹³² la posible implicación del EO en el desarrollo de la enfermedad. En esta tesis doctoral propusimos estudiar la posible relación existente entre el EO y el desarrollo de la ONF, y planteamos la hipótesis de que en caso de confirmarse esta relación, nos permitiría identificar a los sujetos con riesgo de sufrir la enfermedad y abriría nuevas vías de prevención y/o diagnóstico

precoz, permitiendo un tratamiento médico o quirúrgico en los primeros estadios de la enfermedad, evitando así la necesidad de colocar un implante protésico en la cadera de pacientes jóvenes.

En este estudio, se incluyeron pacientes en los cuales encontramos antecedentes como alcoholismo, administración de corticoides, quimioterapia por neoplasias previas y DM, que habían sido excluidas en otros estudios similares. La razón fue que la etiopatogenia exacta no es conocida, por lo que consideramos que podrían estar, en su conjunto, implicados como causa inicial de la necrosis y podrían aportar información adicional al factor EO (Tabla VIII). Se excluyeron los pacientes con cualquier sospecha de fractura previa, pues aunque no estuviera documentada, al ser en muchas de las ocasiones caderas con artrosis avanzada (en fase IV), sobre todo en los pacientes de mayor edad, no podíamos asegurar que no tuvieran antecedentes traumáticos y por tanto, el cumplimiento de criterios. Cualquier antecedente posible de traumatismo nos hizo prescindir de ellas. Igualmente se excluyeron los pacientes con neoplasia activa, infección activa y en situación de insuficiencia renal terminal por la posibilidad de alteraciones en los parámetros analíticos.

La incidencia de la enfermedad no es conocida. En nuestro estudio hemos incluido 47 pacientes diagnosticados de ONF en el Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología del HCUV, a lo largo de un periodo de 3 años (desde marzo de 2010 hasta junio de 2013), lo que supone una media de aproximadamente 16 pacientes por año. Los pacientes en conjunto, tenían una edad media de 57 años. Cuando los separamos por sexos, la edad media de hombres y mujeres fue de 56 y 61 años respectivamente. La ONF fue 4 veces

más frecuente en los hombres que en las mujeres (3,7:1). Estas edades son significativamente superiores a las descritas por otros autores. Así, por ejemplo, en un estudio epidemiológico realizado en Japón³⁹, la edad media de los pacientes fue de 50 años, con una relación hombres:mujeres de 2,1:1. En otro estudio, la edad media fue igualmente de 50 años²⁷. Hernigou y cols.¹⁷¹ presentan 342 pacientes en estadios I y II, con una media de edad de 39 años. El hecho de que todos los pacientes incluidos en este estudio se encuentren en fases o estadios muy avanzados (Tabla XIX) de la enfermedad, podría explicar la diferencias de edad observadas en los pacientes de nuestro estudio.

Tal y como se ha comentado a lo largo de la presente tesis doctoral, la etiopatogenia de la enfermedad no es totalmente conocida, por lo que uno de los objetivos que nos planteamos fue analizar la asociación entre los antecedentes clínicos y el desarrollo de la ONF, con el fin de evaluar si existía algún parámetro clínico no descrito hasta ahora y que podrían ser de utilidad en la práctica clínica diaria. Al revisar la bibliografía observamos que se han descrito varias causas asociadas al desarrollo de la ONF, tales como el tratamiento con glucocorticoides^{52,53}, el excesivo consumo alcohólico⁸⁸, alteraciones vasculares⁹⁶, problemas de coagulación¹⁰⁶, embolización grasa e hipertrofia de los adipocitos⁹⁹, entre otros. Tal y como ya se ha comentado en repetidas ocasiones a lo largo de este trabajo, el papel de estos factores en el desarrollo de la ONF no está del todo claro y continúa siendo objeto de debate.

En lo que se refiere al tratamiento con glucocorticoides, se ha descrito que la alteración del metabolismo lipídico asociado a este tratamiento favorecería el desarrollo de émbolos grasos y el aumento de grasa en la médula ósea⁴⁸, lo que provocaría una insuficiencia vascular por compresión y el desarrollo de la ONF. Nuestros resultados avalan el papel de los glucocorticoides en el desarrollo de la enfermedad, ya que un 57.4% de los pacientes tratados con glucocorticoides desarrolló ONF (frente al 13.4% de los controles), incrementando 7.8 veces el riesgo de desarrollo de la enfermedad (Tabla VIII). Nuestros resultados confirman los publicados por otros autores, que han descrito que entre un 5 y 10%⁵³ de los pacientes tratados con glucocorticoides desarrollan ONF, y desde el 5% hasta el 53% en aquellos que necesitan tratamientos prolongados como los enfermos de EPOC y los pacientes transplantados^{57,62}. Este rango tan amplio se explica porque el riesgo de desarrollar ONF es función de la naturaleza del glucocorticoide utilizado, así como de la dosis y duración del tratamiento, de tal forma que dosis elevadas durante periodos prolongados, como se ha comentado, incrementan significativamente el riesgo^{53,54,56,58}.

Otro de los factores descrito como factor de riesgo de desarrollar ONF es el consumo excesivo de alcohol. Aunque el proceso por el que se produce esta complicación en estos pacientes no está aclarado, se han propuesto varios mecanismos para explicar el papel del alcohol en el desarrollo de la ONF. Así, se ha demostrado que la presencia de depósitos lipídicos en osteocitos, el aumento de adipogénesis de la médula ósea y desarrollo de embolismo graso intraóseo, desencadenaría una coagulación intravascular local que provocaría isquemia ósea y en último término muerte celular^{85,89}. El porcentaje de ONF aso-

ciada al consumo excesivo de alcohol varía según los estudios entre 20-40%⁸³. Nuestros resultados avalan el papel del alcohol en el desarrollo de la enfermedad, ya que un 63.8% de los pacientes con un consumo excesivo de alcohol desarrolló ONF frente al 28.8% de los controles, incrementando 4.2 veces el riesgo de desarrollar la enfermedad.

Otro de los factores de riesgo en el desarrollo de la ONF es la dislipemia. Un estudio realizado en conejos demostró que un cociente LDL/HDL elevado se asociaba con un mayor riesgo de desarrollo de ONF, no observándose diferencias significativas entre los animales con ONF y los controles en las concentraciones de colesterol o triglicéridos²⁹⁹. Sin embargo, un segundo estudio realizado igualmente en conejos mostró que las concentraciones de colesterol total y de triglicéridos eran significativamente mayores en los animales con ONF que en los controles³⁰⁰. En seres humanos, diversos autores han descrito que los pacientes con ONF tienen concentraciones plasmáticas más bajas de adiponectina y más elevadas de colesterol y triglicéridos que los controles sanos³⁰¹. En nuestro estudio un 61.7% de los pacientes mostraban algún tipo de dislipemia frente al 9% de los controles, incrementando 7.1 veces el riesgo de desarrollar ONF. Por tanto, nuestros resultados avalan la dislipemia como un factor de riesgo de ONF y confirman los obtenidos por otros autores^{299,302}.

Menos clara es la asociación entre el hábito tabáquico y la ONF propuesta por algunos autores^{67,88,90}. En nuestro estudio, el consumo de tabaco no se comporta como factor de riesgo de desarrollar ONF, aunque sí que se observa una tendencia que no llega a alcanzar la significatividad estadística ($p=0.167$).

Otro de los factores que hemos estudiado en relación con el desarrollo de ONF es la presencia o no de obesidad, aunque no es uno de los factores de riesgo “clásicos” encontrados en la bibliografía. En nuestro estudio la obesidad es un factor de riesgo importante en el desarrollo de la ONF, de tal forma que un 68% de los pacientes presentaban obesidad frente a un 13% de los controles. El estudio del riesgo relativo indicó que el hecho de ser obeso aumenta el riesgo de padecer ONF 12.4 veces.

Otro de los factores, que tampoco está incluido en los factores de riesgo “clásicos” es la HTA. En nuestro estudio la HTA es un factor de riesgo importante en el desarrollo de la ONF, de tal forma que un 51% de los pacientes presentaban HTA frente a un 8% de los controles. El estudio del riesgo relativo indicó que el hecho de ser hipertenso aumenta el riesgo de padecer ONF 14.2 veces. Jiang y cols., en 2001 describieron un polimorfismo en el gen de la CAT asociado a la HTA¹²⁴ y en nuestro estudio encontramos una diferencia significativa en la actividad de la CAT en pacientes hipertensos frente a los no hipertensos.

De manera similar, los procesos neoplásicos y alérgicos previos confieren a los pacientes un mayor riesgo de ONF (OR: 13,0 y 7,6; respectivamente).

Otros factores como el asma, el reuma y las enfermedades cardiovasculares^{6,40} también se encuentran significativamente asociados con el desarrollo de la ONF, sin embargo ninguno de los controles presentaron estas patologías por lo que en estos casos el análisis estadístico no es informativo.

No se observaron diferencias significativas y por tanto según nuestros resultados no son factores de riesgo el padecer DM ni hernia discal.

Por otra parte, al considerar el número total de antecedentes de riesgo que sufrían pacientes y controles, observamos que en los pacientes aparecen 259 antecedentes patológicos de riesgo, lo que supone una media de 5 antecedentes patológicos por paciente, mientras que en los controles aparecen 74 antecedentes patológicos, lo que supone una media de 1 antecedente patológico por individuo control.

En conjunto nuestros resultados refuerzan el postulado de la etiopatogenia multifactorial y del estrés tisular iniciador de la patología. La teoría del estrés celular acumulativo propuesta por Kenzora^{45,298}, daría una explicación a esta variedad de causas interrelacionadas en ocasiones entre ellas. Según este autor, la mayoría de ONF estarían causadas por múltiples factores y no sólo por un fenómeno aislado. Planteaba que las células de los tejidos óseos enfermaban progresivamente y por ello, se “*estresaban*”. La enfermedad de la célula se intensificaba conforme progresaba la patología subyacente o conforme otros factores se añadían y descompensaban a esas células, hasta el punto de no poder mantener el equilibrio celular. En muchas enfermedades, el estrés final que hace claudicar a la célula, se da en el transcurso de una terapia con corticoides, la cual puede causar necrosis por varios mecanismos como hemos visto: aumentando las reservas grasas, mediante émbolos grasos, por hipertensión intraósea e incluso por efecto tóxico directo a la célula. Kenzora decía que las razones de por qué las células óseas de ciertos lugares (cabeza femoral, cóndilos femorales, cabeza humeral) son especialmente susceptibles, no están del todo claras. Lo que sí es cierto es que el aporte sanguíneo de estas localizaciones, llega

sólo por un camino y la isquemia relativa hace difícil el poner en marcha las habilidades reparativas de las células. Estos diferentes factores etiológicos descritos, producirían efectos biológicos y disfunción en las células, creando una célula susceptible de ser afectada por un nuevo insulto como los corticoides masivos que se requerirían en muchos de los episodios de recrudescimiento de estas enfermedades de base.

Siguiendo esta línea, pensamos que en los pacientes con ONF existe una condición de base (un estado más oxidado) que provocaría una disminución del aporte de oxígeno a la cabeza femoral (hipoxia) provocando una situación de EO que pondría en marcha la enfermedad.

Pero, ... ¿tienen los pacientes con ONF un estado más oxidado que los individuos sanos?, es decir, ¿se puede demostrar en ellos un mayor EO?.

Tal y como hemos comentado anteriormente, estudios recientes en modelos animales indican que el EO juega un papel importante en el desarrollo de la ONF¹²⁸⁻¹³⁵. En dichos estudios, el EO ha sido identificado como un mecanismo importante que contribuye a la lesión endotelial durante la ocurrencia de osteonecrosis asociada a esteroides, y se ha descrito la posibilidad de evitar la enfermedad mediante el empleo de sustancias antioxidantes. Los resultados de uno de los estudios¹²⁸ muestran que los esteroides suministrados incrementaban significativamente los niveles de EO (determinado por la disminución de los niveles de GSH, y por un incremento en los niveles de peróxidos lipídicos y modificaciones oxidativas de las proteínas). Entre 3-5 días tras la administración de esteroides se produce un aumento en los niveles de GSH y una disminución de peróxidos lipídicos, además la extensión de la zona osteonecrótica tendía a disminuir con el paso del tiempo.

Los productos finales de oxidación proteica no se detectaron ni en los conejos control, ni a los 3 días de la administración, pero sí a los 5 y 14 días después de la administración de corticosteroides, lo que sugiere que estos provocan un aumento del EO en tan solo 3-5 días. Estos datos fueron contrastados con la administración de un antioxidante (GSH) a los conejos, con el fin de comprobar si el estrés oxidativo es la causa de ONF, y estudiar si la administración de antioxidantes puede evitar el desarrollo de la enfermedad. La tasa de desarrollo de la ONF, que fue de un 70% en conejos después de 14 días de la administración de esteroides, disminuyó al 0% con la administración de GSH, lo que sugiere que es posible prevenir la enfermedad con la administración de sustancias antioxidantes; de la misma manera lo sugiere otro estudio³⁰³ en conejos, en el que disminuía la incidencia de ONF tras la administración del antioxidante Edaravone. Otro estudio³⁰⁴, también en conejos, sugiere que las hembras podrían ser más vulnerables al desarrollo de ONF inducida por esteroides, ya que se obtuvieron las mismas tasas de osteonecrosis (70%) en conejos macho con una sola administración de metilprednisolona (MP) de 20mg/kg que en conejos hembra con una sola administración de MP de 4 mg/kg. Otro estudio realizado en un modelo de ratas con HTA y accidente cardiovascular¹³⁰ se observó distinta evolución de la ONF según la exposición o no a esteroides. El tratamiento con esteroides provocó un aumento de expresión de PAI-1 por los adipocitos, así como la formación de oclusiones microvasculares. El análisis histológico de los fémures mostró la aparición de necrosis de nueva formación en los casos expuestos a corticoides.

Estudios en ratas han demostrado que el EO es por sí solo suficiente para provocar el desarrollo de ONF, incluso en ausencia de anomalías lipídicas, lo que apoya su papel en la patología. En un estudio realizado en ratas¹²⁹, estas fueron tratadas con butionina

sulfoximida (BSO), una sustancia pro-oxidante que inhibe la síntesis de glutatión, durante 14 días. Como grupo control se utilizaron animales tratados con suero fisiológico. El análisis histológico de los fémures reveló el desarrollo de ONF en el grupo de ratas tratadas con BSO, observándose una disminución significativa de los niveles de GSH con respecto al grupo control, sugiriendo que el EO por sí mismo puede ser suficiente para desarrollar ONF. Estudios posteriores realizados por el mismo grupo de investigación confirmaron la relación entre EO y desarrollo de ONF. En este estudio³⁰⁵, las ratas fueron tratadas con una única dosis de BSO y los animales fueron sacrificados 1, 2, 3, 4, 5, 7 y 14 días tras la administración de BSO. Los niveles de GSH disminuyeron notablemente confirmando el desarrollo de EO, mientras que el análisis histológico realizado en los fémures de las ratas mostró el desarrollo de ONF en el 10% de las ratas sacrificadas a los 5 días, en un 35% en las sacrificadas a los 7 días y en un 40% de los animales sacrificados a los 14 días.

En resumen, estos estudios indican que el EO desempeña un papel importante en el desarrollo de la ONF y sugieren que estaría implicado en las etapas iniciales del desarrollo de la ONF “*sensibilizando*” a las células óseas; la posterior presencia de otros factores (glucocorticoides, alcohol, ...) desencadenaría la muerte celular por necrosis y el desarrollo de ONF. Por otra parte, el hecho de que se observen resultados similares en distintas especies animales (conejos y ratas), induce a pensar que se trata de un fenómeno generalizable. Esta observación nos llevó a plantear la presente tesis doctoral. Tras realizar una búsqueda en las principales bases de datos bibliográficas, este es el primer estudio en el que se ha evaluado la relación entre el EO y el desarrollo de ONF en seres humanos.

Nuestros resultados apoyan el papel del EO en el desarrollo de la ONF humana. En pacientes con ONF se observa un aumento del cociente GSSG/GSH, lo que es indicativo de un estado celular oxidado, al igual que demostraron Ichiseki y cols. en varios de sus trabajos realizados en ratas y conejos (a los que inducían la enfermedad a través de sustancias pro-oxidantes)³⁰⁵. Además, hemos medido marcadores del daño oxidativo en los lípidos (15-isoprostano F2t), en las proteínas (proteínas oxidadas) y el ADN (8-OHdG). Los niveles de 15-isoprostano F2t se encuentran aumentados significativamente en pacientes respecto a los controles, lo que está en consonancia con los trabajos del grupo de Ichiseki en conejos. De manera similar, estudios previos realizados en conejos muestran un aumento de la 8-OHdG entre ONF. Estos resultados coinciden con los obtenidos en nuestro estudio, en el que se observa un incremento significativo de 8-OHdG en los pacientes con ONF. No existen estudios en modelos animales en los que se haya determinado los niveles de proteínas oxidadas, en nuestro trabajo se observa un aumento significativo entre pacientes con ONF con respecto a los controles. En conclusión, nuestros resultados demuestran que en los pacientes con ONF existe un aumento del EO a nivel sistémico, lo que abre una vía de posible utilización de estos parámetros como biomarcadores pronósticos de la patología.

Además de los marcadores de daño oxidativo producidos por las ROS, hemos determinado la actividad de las principales enzimas antioxidantes. Esto también nos da una idea del perfil oxidativo del sujeto ya que al aumentar las ROS se debería (al menos teóricamente) incrementar la actividad de estas enzimas para eliminar el exceso de sustancias oxidantes. Nuestros resultados muestran un incremento significativo de la SOD, esta enzima es la encargada de la dismutación del O_2^- en oxígeno molecular y H_2O_2 , en

los pacientes respecto a los controles. El H_2O_2 resultante es sustrato de dos enzimas diferentes la CAT y la GPx; la CAT reduce el H_2O_2 a agua y oxígeno molecular, mientras que la GPx reduce el H_2O_2 mediante oxidación del glutatión. El aumento de la actividad SOD debería producir un incremento de H_2O_2 y en consecuencia un incremento de la actividad de la CAT y/o de la GPx.

Nuestros resultados no muestran diferencias en la actividad CAT entre pacientes y controles. Por otro lado, se observa una disminución de la GPx en los pacientes con ONF con respecto a los controles, lo que podría implicar que los pacientes con ONF tienen una concentración de peróxido de hidrógeno más elevada, hecho este último que no hemos estudiado en esta tesis. Sí que se observa un incremento significativo de la actividad GR en los pacientes con ONF, lo que (junto con una disminución de la actividad GPx) podría interpretarse como un intento de la célula por eliminar el EO aumentando los niveles de GSH a partir de GSSG. No observamos diferencias significativas en la actividad XO entre pacientes y controles lo que indica que un incremento de la actividad de esta enzima no es la causa (a través de la generación de O_2^-) del aumento de la actividad SOD observada, por lo que habría que estudiar los otros sistemas (tanto endógenos como exógenos) generadores de O_2^- descritos en el apartado de introducción para explicar esta observación.

ESTRÉS OXIDATIVO Y PARÁMETROS CLÍNICOS

Hemos estudiado asimismo una posible asociación entre los parámetros de EO y los factores clínicos de riesgo de desarrollo de ONF. En nuestro estudio observamos que, de entre todos los factores de riesgo estudiados, los corticoides, la toma de alcohol, la obesidad, la dislipemia y la hipertensión incrementan de manera significativa el riesgo de desarrollar ONF. Todos estos parámetros, son capaces por ellos mismos de provocar EO y, por tanto nos planteamos si podrían tener un valor clínico, de tal manera que un paciente que acuda a la consulta con molestias en la cadera y tenga parámetros de EO hagan sospechar de un diagnóstico de ONF.

En general, no parece existir, en los pacientes con ONF, ninguna asociación significativa entre los parámetros de EO y los factores de riesgo clásicos. Ya que hemos demostrado el papel del EO en el desarrollo de la ONF, estos resultados, podrían indicar que ambos tipos de determinaciones (EO y antecedentes clínicos) podrían utilizarse conjuntamente como sospecha diagnóstica de ONF.

ESTRÉS OXIDATIVO Y MARCADORES DE PREDICCIÓN DE EVOLUCIÓN

Se ha intentado siempre la búsqueda de estrategias terapéuticas que modifiquen el comportamiento de las células óseas o que restauren la vascularización ósea y que sirvan como coadyuvantes a los procedimientos que preserven la cabeza femoral (modificadores de la fisiopatología: células madre mesenquimales autólogas^{171,172}). El riesgo de colapso depende principalmente del tamaño y localización del segmento necrótico que puede ser determinado exactamente con RM^{306,307}. Aún así existe un porcentaje no despreciable de

estos casos tratados, que fracasa y precisa ser reconvertido a artroplastia total de cadera, por lo que sería de muchísima utilidad poder disponer de alguna medición³⁰⁸ que sirviera de factor pronóstico que aumentase la confianza en el buen desenlace del tratamiento preservador de la cabeza femoral.

De acuerdo con nuestra hipótesis en aquellos pacientes con un EO elevado, se recurriría directamente a la sustitución articular evitando cirugías innecesarias y disminuyendo el número de complicaciones, por lo que uno de los objetivos que nos planteamos al realizar esta tesis doctoral fue estudiar si los marcadores de EO tienen valor pronóstico en la enfermedad.

Tal y como hemos indicado en la introducción el 70% de las ONF son bilaterales pero con diferente cronología. Uno de los problemas, que como médicos, nos encontramos en la clínica al tratar esta patología, es que no tenemos herramientas que nos permitan predecir qué pacientes van a desarrollar bilateralidad. Evidentemente, una exposición continua a los factores de riesgo aumentará la probabilidad de desarrollar ONF en la otra cadera, pero incluso en estos casos, se ha descrito la existencia de pacientes que no desarrollan bilateralidad, y al contrario, pacientes que dejan de estar expuestos a los factores de riesgo y que desarrollan necrosis en la otra cadera. Es, por tanto, necesario desarrollar biomarcadores pronósticos de la enfermedad. Planteamos, por tanto, la hipótesis de que los pacientes que padecían una necrosis bilateral deberían tener un EO más elevado y evaluamos si existía alguna asociación entre el EO con la bilateralidad. Nuestros resultados no apoyan esta hipótesis, ya que no se observan diferencias significativas entre los parámetros de EO y la lateralidad (Tabla XVIII).

De manera similar, no se observan diferencias significativas entre las fases o la extensión de la necrosis y los niveles de EO (Tablas XIX y XX). Una observación importante es que el cociente GSSG/GSH se encuentra elevado (aunque sin alcanzar significación estadística) en los pacientes con bilateralidad ($p=0.273$), con ONF en fase IV ($p=0.087$) y con la extensión ($p=0.097$), por lo que cabe la posibilidad de que al aumentar el número de pacientes esta diferencia sea significativa, con lo que su determinación podría tener un valor pronóstico aplicable a la práctica clínica diaria.

Asimismo, estudiamos la posibilidad de que algunos de los factores de riesgo tuvieran un valor predictivo de evolución de la patología. Únicamente el ser hombre y la presencia de DM mostraron un aumento significativo de riesgo de bilateralidad (Tabla XXI).

En resumen, nuestros resultados indican que los parámetros de EO determinados en este estudio no parecen ser biomarcadores pronósticos de la enfermedad. Sin embargo, estos resultados deben ser tratados con cautela, ya que una de las limitaciones del estudio es el avanzado estadio evolutivo de nuestros pacientes, ya que la mayoría de ellos se encontraba en fases muy avanzadas que requerían PTC. Sería interesante, por tanto, estudiar el valor pronóstico de los marcadores de EO en pacientes menos evolucionados.

Con todo esto podemos concluir que de manera similar a lo que ocurre en modelos animales, en humanos existe una asociación entre el aumento del EO y el desarrollo de la ONF. La siguiente pregunta que nos planteamos es saber si es posible modular la ONF en los seres humanos mediante tratamiento con sustancias con capacidad antioxidante,

tal y como se ha demostrado en modelos animales^{129,303}. Sin embargo, a pesar de la teoría unificadora de la base molecular del EO y los datos de apoyo epidemiológicos y de modelos animales, las terapia antioxidantes no han demostrado un claro beneficio en entornos clínicos. Además, la visión del EO se complica, ya que las ROS están implicadas en la regulación de importantes rutas de señalización intracelular. Por lo tanto, la idea general de que los antioxidantes mejoran la salud de los individuos podría no ser cierta y ser contraproducente, ya que los antioxidantes podrían alterar rutas metabólicas importantes para la homeostasis celular. Por lo tanto, los próximos estudios deberían ir dirigidos a clarificar los detalles moleculares de las fuentes de ROS, su naturaleza y regulación en la ONF. Esto permitirá la identificación o síntesis de moléculas provistas de la reactividad y selectividad para inhibir la fuente de ROS en ONF y ayudará a diseñar mejores sustancias antioxidantes que deberán ser probadas en ensayos clínicos.

7. Conclusiones

7. CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos formulados inicialmente, los resultados más destacados de este trabajo permiten establecer las siguientes conclusiones:

- 1) La osteonecrosis idiopática de cabeza femoral se asocia a numerosas alteraciones patológicas sistémicas, que por distintos mecanismos, pueden alterar la viabilidad tisular del hueso. La toma de corticoides, el alcoholismo, la dislipemia, la obesidad y la hipertensión arterial son las asociaciones más frecuentes en los casos estudiados y deberían ser tenidos en cuenta en la práctica clínica.
- 2) Los pacientes afectos de osteonecrosis idiopática de cabeza femoral muestran un aumento muy significativo de los parámetros de daño por estrés oxidativo y del cociente GSSG/GSH.
- 3) No se observa ninguna asociación entre los parámetros de estrés oxidativo y el grado evolutivo de la osteonecrosis idiopática de cabeza femoral.
- 4) La incidencia del aumento del estrés oxidativo en estos pacientes, apunta a que su evaluación pueda ser un factor determinante para la decisión de tratamiento quirúrgico conservador de la cabeza femoral.
- 5) La fuerte asociación de la osteonecrosis idiopática de cabeza femoral con el estrés oxidativo abre una puerta a un posible tratamiento en las fases precoces.

6) Para poder determinar el papel del estudio del estrés oxidativo en el tratamiento y la prevención de la necrosis de cabeza femoral, se hacen necesarios estudios en fases más iniciales para poder evaluar el distinto pronóstico de las cirugías conservadoras en función del nivel de estrés oxidativo, así como, valorar el resultado de un tratamiento antioxidante.

8. Bibliografía

8. BIBLIOGRAFÍA

1. **López Prats, F. Gutierrez Carbonell P.** Osteonecrosis y osteocondrosis. En: Sociedad Española de Cirugía Ortopédica, editor. Manual de Cirugía Ortopédica y Traumatología. 2º ed. Madrid: Panamericana; 2009. p. 369-76.
2. **Resnick D, Sweet D, Madewell J.** Osteonecrosis: patogenia, técnicas diagnósticas, situaciones específicas y complicaciones. En: Resnick D, Kransdorf MJ, editores. Huesos y articulaciones en imágenes radiológicas. 3ª ed. Madrid: Elsevier; 2006. p.1067-88.
3. **Bachiller FG-C, Caballer AP, Portal LF.** Avascular necrosis of the femoral head after femoral neck fracture. Clin Orthop Relat Res 2002; 399:87-109.
4. **Kaushik AP, Das A, Cui Q.** Osteonecrosis of the femoral head: An update in year 2012. World J Orthop 2012; 3:49-57.
5. **Shibata A, Fukuda K, Inoue A, y cols.** Flushing pattern and idiopathic avascular necrosis of the femoral head. J Epidemiol 1996; 6:37-43.
6. **Jones JP.** Epidemiological risk factors for non-traumatic osteonecrosis. Orthopaed 2000; 29:370-9.
7. **Chandler FA.** Coronary disease of the hip. Clin Orthop Relat Res 2001; 386:7-10.
8. **Trueta J.** The normal vascular anatomy of the human femoral head during growth. J Bone Joint Surg Br 1957; 39:358-94.
9. **Atsumi T, Kuroki Y.** Role of impairment of blood supply of the femoral head in the pathogenesis of idiopathic osteonecrosis. Clin Orthop Relat Res 1992; 277:22-30.
10. **Hungerford DS, Lennox DW.** The importance of increased intraosseous pressure in the development of osteonecrosis of the femoral head: implications for treatment. Orthop Clin North Am 1985; 16:635-54.

11. **Bartoníček J, Fric V, Skála-Rosenbaum J, Dousa P.** Avascular necrosis of the femoral head in pertrochanteric fractures: a report of 8 cases and a review of the literature. *J Orthop Trauma* 2007; 21:229-36.
12. **Vicario C, Marco F, Ortega L, Alcobendas M, Dominguez I, López-Durán L.** Necrosis of the femoral head after fixation of trochanteric fractures with Gamma Locking Nail. A cause of late mechanical failure. *Injury* 2003; 34:129-34.
13. **Strömqvist B, Nilsson LT, Egund N, Thorngren KG, Wingstrand H.** Intra-capsular pressures in undisplaced fractures of the femoral neck. *J Bone Joint Surg Br* 1988; 70:192-4.
14. **Nikolopoulos KE, Papadakis SA, Kateros KT, y cols.** Long-term outcome of patients with avascular necrosis, after internal fixation of femoral neck fractures. *Injury* 2003; 34:525-8.
15. **Moon ES, Mehlman CT.** Risk factors for avascular necrosis after femoral neck fractures in children: 25 Cincinnati cases and meta-analysis of 360 cases. *J Orthop Trauma* 2006; 20:323-9.
16. **Boardman MJ, Herman MJ, Buck B, Pizzutillo PD.** Hip fractures in children. *J Am Acad Orthop Surg* 2009; 17:162-73.
17. **Bali K, Sudesh P, Patel S, Kumar V, Saini U, Dhillon MS.** Pediatric femoral neck fractures: our 10 years of experience. *Clin Orthop Surg* 2011; 3:302-8.
18. **Steinberg ME, Steinberg DR.** Necrosis avascular de la cadera femoral. En: Steinberg, Day, Hensinger, Nelson Oden Welch, editores. *La cadera. Diagnóstico y tratamiento de su patología.* Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana S.A; 1993. p. 680-705.
19. **Freund E.** Bilateral aseptic necrosis of the femoral head: problems arising in a compensation case. *Ann Surg* 1936; 104:100-6.

20. **Gardeniers JWM G.** The ARCO prespective for reaching one uniform satging system of osteonecrosis. En: Schoutens A, Arlet J, Gardeniers JWM, editores. Bone circulation and vascularization in normal pathological conditions. Nueva York: Plenum Press; 1993. p. 375-80.
21. **Renovell P, Silvestre A, Escriba I.** Etiopatogenia de la osteonecrosis idiopática de cadera. Situación actual. Rev Esp Cir Osteoart 2009; 238:58-64.
22. **Wang C, Wang X, Xu X, y cols.** Bone microstructure and regional distribution of osteoblast and osteoclast activity in the osteonecrotic femoral head. PLoS One 2014; 9:e96361.
23. **Chen S-B, Hu H, Gao Y-S, He H-Y, Jin D-X, Zhang C-Q.** Prevalence of clinical anxiety, clinical depression and associated risk factors in chinese young and middle-aged patients with osteonecrosis of the femoral head. PLoS One 2015; 10:e0120234.
24. **Malizos KN, Karantanas AH, Varitimidis SE, Dailiana ZH, Bargiotas K, Maris T.** Osteonecrosis of the femoral head: etiology, imaging and treatment. Eur J Radiol 2007; 63:16-28.
25. **Mankin HJ.** Nontraumatic necrosis of bone (osteonecrosis). N Engl J Med 1992; 326:1473-9.
26. **Kang JS, Moon KH, Kwon DG, Shin BK, Woo MS.** The natural history of asymptomatic osteonecrosis of the femoral head. Int Orthop 2013; 37(3):379-384.
27. **Mont MA, Zywiell MG, Marker DR, McGrath MS, Delanois RE.** The natural history of untreated asymptomatic osteonecrosis of the femoral head: a systematic literature review. J Bone Joint Surg Am 2010; 92:2165-70.
28. **Etienne G, Mont MA, Ragland PS.** The diagnosis and treatment of nontraumatic osteonecrosis of the femoral head. Instr Course Lect 2004; 53:67-85.

29. **Johnson AJ, Mont MA, Tsao AK, Jones LC.** Treatment of femoral head osteonecrosis in the United States: 16-year analysis of the Nationwide Inpatient Sample. *Clin Orthop Relat Res* 2014; 472:617-23.
30. **Mont MA, Hungerford DS.** Non-traumatic avascular necrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 1995; 77:459-74.
31. **Zalavras CG, Lieberman JR.** Osteonecrosis of the Femoral Head: Evaluation and Treatment. *J Am Acad Orthop Surg* 2014; 22:455-64.
32. **Hong JM, Kim T-H, Chae S-C, y cols.** Association study of hypoxia inducible factor 1alpha (HIF1alpha) with osteonecrosis of femoral head in a Korean population. *Osteoarthritis Cartilage* 2007; 15:688-94.
33. **Kim T-H, Hong JM, Lee J-Y, y cols.** Promoter polymorphisms of the vascular endothelial growth factor gene is associated with an osteonecrosis of the femoral head in the Korean population. *Osteoarthritis Cartilage* 2008; 16:287-91.
34. **Kim T-H, Hong JM, Park EK, Kim S-Y.** Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma gene polymorphisms are not associated with osteonecrosis of the femoral head in the Korean population. *Mol Cells* 2007; 24:388-93.
35. **Hong JM, Kim TH, Kim HJ, Park EK, Yang EK, Kim SY.** Genetic association of angiogenesis and hypoxiarelated gene polymorphisms with osteonecrosis of the femoral head. *Exp Mol Med* 2010; 42:376-85.
36. **Wong GKC, Poon WS, Chiu KH.** Steroid-induced avascular necrosis of the hip in neurosurgical patients: epidemiological study. *ANZ J Surg* 2005; 75:409-10.
37. **Morse CG, Mican JM, Jones EC, y cols.** The incidence and natural history of osteonecrosis in HIV-infected adults. *Clin Infect Dis* 2007; 44:739-48.
38. **The Center for Osteonecrosis Research and Education.** NONF Brochure 2013. Consultado: 15 de mayo de 2015. Disponible en: <http://nonf.org/nofbrochure/nonf-brochure.htm>.

39. **Ikeuchi K, Hasegawa Y, Seki T, Takegami Y, Amano T, Ishiguro N.** Epidemiology of nontraumatic osteonecrosis of the femoral head in Japan. *Mod Rheumatol* 2015; 25:278-81.
40. **Abu-Shakra M, Buskila D, Shoenfeld Y.** Osteonecrosis in patients with SLE. *Clin Rev Allergy Immunol* 2003; 25:13-24.
41. **Malizos KN, Karantanas AH, Varitimidis SE, Dailiana ZH, Bargiotas K, Maris T.** Osteonecrosis of the femoral head: Etiology, imaging and treatment. *Eur J Radiol* 2007; 63:16-28.
42. **Mont MA, Jones LC, Hungerford DS.** Nontraumatic osteonecrosis of the femoral head: ten years later. *J Bone Joint Surg Am* 2006; 88:1117-32.
43. **Saidi S, Magne D.** Interleukin-33: a novel player in osteonecrosis of the femoral head? *Joint Bone Spine* 2011; 78:550-4.
44. **Lafforgue P.** Pathophysiology and natural history of avascular necrosis of bone. *Joint Bone Spine* 2006; 73:500-7.
45. **Kenzora JE, Glimcher MJ.** Accumulative cell stress: the multifactorial etiology of idiopathic osteonecrosis. *Orthop Clin North Am* 1985; 16:669-79.
46. **Khanna AJ, Yoon TR, Mont MA, Hungerford DS, Bluemke DA.** Femoral head osteonecrosis: detection and grading by using a rapid MR imaging protocol. *Radiology* 2000; 217:188-92.
47. **Patterson RJ, Bickel WH, Dahlin DC.** Idiopathic avascular necrosis of the head of the femur. A study of fifty-two cases. *J Bone Joint Surg Am* 1964; 46:267-82.
48. **Wang GJ, Moga DB, Richemer WG, Sweet DE, Reger SI, Thompson RC.** Cortisone induced bone changes and its response to lipid clearing agents. *Clin Orthop Relat Res* 1978; 130:81-5.

- 49. Hernigou P, Beaujean F, Lambotte JC.** Decrease in the mesenchymal stem-cell pool in the proximal femur in corticosteroid-induced osteonecrosis. *J Bone Joint Surg Br* 1999; 81:349-55.
- 50. Rogers KM, Bonar CA, Estrella JL, Yang S.** Inhibitory effect of glucocorticoid on coronary artery endothelial function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283:1922-8.
- 51. Jones JP.** Fat embolism, intravascular coagulation, and osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res* 1993; 292:294-308.
- 52. Oinuma K, Harada Y, Nawata Y, y cols.** Sustained hemostatic abnormality in patients with steroid-induced osteonecrosis in the early period after high-dose corticosteroid therapy. *J Orthop Sci* 2000; 5:374-9.
- 53. Aaron RK, Voisinet A, Racine J, Ali Y, Feller ER.** Corticosteroid-associated avascular necrosis: dose relationships and early diagnosis. *Ann N Y Acad Sci* 2011; 1240:38-46.
- 54. Felson DT, Anderson JJ.** Across study evaluation of association between steroid dose and bolus steroids and avascular necrosis of bone. *Lancet* 1987; 1:902-6.
- 55. Prosnitz LR, Lawson JP, Friedlaender GE, Farber LR, Pezzimenti JF.** Avascular necrosis of bone in Hodgkin's disease patients treated with combined modality therapy. *Cancer* 1981; 47:2793-7.
- 56. Koo K-H, Kim R, Kim Y-S, y cols.** Risk period for developing osteonecrosis of the femoral head in patients on steroid treatment. *Clin Rheumatol* 2002; 21:299-303.
- 57. Saito M, Ueshima K, Fujioka M, y cols.** Corticosteroid administration within 2 weeks after renal transplantation affects the incidence of femoral head osteonecrosis. *Acta Orthop* 2014; 85:266-70.

- 58. Drescher W, Weigert KP, Bünger MH, Ingerslev J, Bünger C, Hansen ES.** Femoral head blood flow reduction and hypercoagulability under 24 h megadose steroid treatment in pigs. *J Orthop Res* 2004; 22:501-8.
- 59. Kubo T, Kojima A, Yamazoe S, Ueshima K, Yamamoto T, Hirasawa Y.** Osteonecrosis of the femoral head that developed after long-term topical steroid application. *J Orthop Sci* 2001; 6:92-4.
- 60. Yamamoto T, Schneider R, Iwamoto Y, Bullough PG.** Rapid destruction of the femoral head after a single intraarticular injection of corticosteroid into the hip joint. *J Rheumatol* 2006; 33:1701-4.
- 61. Karkoulias K, Charokopos N, Kaparianos A, Sampsonas F, Tsiamita M, Spiropoulos K.** Aseptic femoral head necrosis in a patient receiving long term courses of inhaled and intranasal corticosteroids. *Tuberk Toraks* 2007; 55:182-5.
- 62. Chan MHM, Chan PKS, Griffith JF, y cols.** Steroid-induced osteonecrosis in severe acute respiratory syndrome: a retrospective analysis of biochemical markers of bone metabolism and corticosteroid therapy. *Pathology* 2006; 38:229-35.
- 63. Zhang N-F, Li ZR, Wei H-Y, Liu Z-H, Hernigou P.** Steroid-induced osteonecrosis: the number of lesions is related to the dosage. *J Bone Joint Surg Br* 2008; 90:1239-43.
- 64. Kaneshiro Y, Oda Y, Iwakiri K, y cols.** Low hepatic cytochrome P450 3A activity is a risk for corticosteroid-induced osteonecrosis. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 80:396-402.
- 65. Masada T, Iwakiri K, Oda Y, y cols.** Increased hepatic cytochrome P4503A activity decreases the risk of developing steroid-induced osteonecrosis in a rabbit model. *J Orthop Res* 2008; 26:91-5.
- 66. Ikemura S, Yamamoto T, Motomura G, y cols.** Cytochrome P4503A activity affects the gender difference in the development of steroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Int J Exp Pathol* 2014; 95:147-52.

- 67. Tamura K, Nakajima S, Hirota Y, y cols.** Genetic association of a polymorphism of the cAMP-responsive element binding protein-binding protein with steroid-induced osteonecrosis after kidney transplantation. *J Bone Miner Metab* 2007; 25:320-5.
- 68. Asano T, Takahashi KA, Fujioka M, y cols.** ABCB1 C3435T and G2677T/A polymorphism decreased the risk for steroid-induced osteonecrosis of the femoral head after kidney transplantation. *Pharmacogenetics* 2003; 13:675-82.
- 69. Li Z, Zhao D, Wang B.** ABCB1 gene polymorphisms and glucocorticoid-induced avascular necrosis of the femoral head susceptibility: a meta-analysis. *Med Sci Monit* 2014; 20:2811-6.
- 70. Zhou Z, Zheng L, Liu J, y cols.** Association of ABCB1 polymorphisms in patients with glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head: Evidence for a meta-analysis. *Gene* 2015; 569:34-40.
- 71. Hirata T, Fujioka M, Takahashi KA, y cols.** ApoB C7623T polymorphism predicts risk for steroid-induced osteonecrosis of the femoral head after renal transplantation. *J Orthop Sci* 2007; 12:199-206.
- 72. Cui Y, Kaisaierjiang A, Cao P, Wu Z-Y, Lv Q.** Association of apolipoprotein A5 genetic polymorphisms with steroid-induced osteonecrosis of femoral head in a Chinese Han population. *Diagn Pathol* 2014; 9:229.
- 73. Hirata T, Fujioka M, Takahashi KA, y cols.** Low molecular weight phenotype of Apo(a) is a risk factor of corticosteroid-induced osteonecrosis of the femoral head after renal transplant. *J Rheumatol* 2007; 34:516-22.
- 74. Kerachian MA, Séguin C, Harvey EJ.** Glucocorticoids in osteonecrosis of the femoral head: a new understanding of the mechanisms of action. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2009; 114:121-8.

75. **Kitajima M, Shigematsu M, Ogawa K, Sugihara H, Hotokebuchi T.** Effects of glucocorticoid on adipocyte size in human bone marrow. *Med Mol Morphol* 2007; 40:150-6.
76. **Nishida K, Yamamoto T, Motomura G, Jingushi S, Iwamoto Y.** Pitavastatin may reduce risk of steroid-induced osteonecrosis in rabbits: a preliminary histological study. *Clin Orthop Relat Res* 2008; 466:1054-8.
77. **Drescher W, Varoga D, Liebs TR, y cols.** Femoral artery constriction by norepinephrine is enhanced by methylprednisolone in a rat model. *J Bone Joint Surg Am* 2006; 88 supl 3:162-6.
78. **Bluemke DA, Petri M, Zerhouni EA.** Femoral head perfusion and composition: MR imaging and spectroscopic evaluation of patients with systemic lupus erythematosus and at risk for avascular necrosis. *Radiology* 1995; 197:433-8.
79. **Weinstein RS, Nicholas RW, Manolagas SC.** Apoptosis of osteocytes in glucocorticoid-induced osteonecrosis of the hip. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:2907-12.
80. **Akaike M, Matsumoto T.** Glucocorticoid-induced reduction in NO bioavailability and vascular endothelial dysfunction. *Clin Calcium* 2007; 17:864-70.
81. **Ichiseki T, Kaneuji A, Katsuda S, Ueda Y, Sugimori T, Matsumoto T.** DNA oxidation injury in bone early after steroid administration is involved in the pathogenesis of steroid-induced osteonecrosis. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44:456-60.
82. **Jeremy R.** Non-traumatic aseptic necrosis of the femoral head. *Med J Aust* 1967; 1:323-26.
83. **Hungerford DS, Zizic TM.** Alcoholism associated ischemic necrosis of the femoral head. Early diagnosis and treatment. *Clin Orthop Relat Res* 1978; 130:144-53.

84. **Jones JP.** Intravascular coagulation and osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res* 1992; 277:41-53.
85. **Cui Q, Wang Y, Saleh KJ, Wang G-J, Balian G.** Alcohol-induced adipogenesis in a cloned bone-marrow stem cell. *J Bone Joint Surg Am* 2006; 88 suppl 3:148-54.
86. **Wang Y, Li Y, Mao K, Li J, Cui Q, Wang G-J.** Alcohol-induced adipogenesis in bone and marrow: a possible mechanism for osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res* 2003; 410:213-24.
87. **Puhl W, Niethard FU, Hamacher P, Augustin J, Greten H.** Metabolic diseases and idiopathic ischemic necrosis of the femoral head in adults (author's transl). *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 1978; 116:81-92.
88. **Matsuo K, Hirohata T, Sugioka Y, Ikeda M, Fukuda A.** Influence of alcohol intake, cigarette smoking, and occupational status on idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *Clin Orthop Relat Res* 1988; 234:115-23.
89. **Kuga Y.** Factors associated with osteonecrosis in the femoral head in chronic alcoholism. *Kurume Med J* 2000; 47:147-9.
90. **Sakata R.** A case-control study of association between life-style, alcohol dehydrogenase 2 and aldehyde dehydrogenase 2 genotype and idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *Kurume Med J* 2003; 50:121-30.
91. **Ambrose JA, Barua RS.** The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43:1731-7.
92. **Steiner G, Schwartz L, Shumak S, Poapst M.** The association of increased levels of intermediate-density lipoproteins with smoking and with coronary artery disease. *Circulation* 1987; 75:124-30.
93. **Cryer PE, Haymond MW, Santiago J V, Shah SD.** Norepinephrine and epinephrine release and adrenergic mediation of smoking-associated hemodynamic and metabolic events. *N Engl J Med* 1976; 295:573-7.

- 94. Winternitz WW, Quillen D.** Acute hormonal response to cigarette smoking. *J Clin Pharmacol* 1977; 17:389-97.
- 95. Hirota Y, Hirohata T, Fukuda K, y cols.** Association of alcohol intake, cigarette smoking, and occupational status with the risk of idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *Am J Epidemiol* 1993; 137:530-8.
- 96. Phemister DB.** Fractures of the neck of the femur, dislocations of hip and obscure vascular disturbances producing aseptic necrosis of the head of the femur. *Surg Gynec Obs* 1934; 59:415-40.
- 97. Nilsson IM, Krook H, Sternby NH, Soderberg E, Soderstrom N.** Severe thrombotic disease in a young man with bone marrow and skeletal changes and with a high content of an inhibitor in the fibrinolytic system. *Acta Med Scand* 1961; 169:323-37.
- 98. Boettcher WG, Bonfiglio M, Hamilton HH, Sheets RF, Smith K.** Non-traumatic necrosis of the femoral head. I. Relation of altered hemostasis to etiology. *J Bone Joint Surg Am* 1970; 52:312-21.
- 99. Jones JP.** Alcoholism, hypercortisonism, fat embolism and osseous avascular necrosis. 1971. *Clin Orthop Relat Res* 2001; 393:4-12.
- 100. Egan RM, Munn RK.** Catastrophic antiphospholipid antibody syndrome presenting with multiple thromboses and sites of avascular necrosis. *J Rheumatol* 1994; 21:2376- 29.
- 101. Van Veldhuizen PJ, Neff J, Murphey MD, Bodensteiner D, Skikne BS.** Decreased fibrinolytic potential in patients with idiopathic avascular necrosis and transient osteoporosis of the hip. *Am J Hematol* 1993; 44:243-8.
- 102. Glueck CJ, Glueck HI, Mieczkowski L, Tracy T, Speirs J, Stroop D.** Familial high plasminogen activator inhibitor with hypofibrinolysis, a new pathophysiologic cause of osteonecrosis? *Thromb Haemost* 1993; 69:460-5.

103. **Glueck CJ, Glueck HI, Welch M, y cols.** Familial idiopathic osteonecrosis mediated by familial hypofibrinolysis with high levels of plasminogen activator inhibitor. *Thromb Haemost* 1994; 71:195-8.
104. **Glueck CJ, Freiberg R, Glueck HI, y cols.** Hypofibrinolysis: a common, major cause of osteonecrosis. *Am J Hematol* 1994; 45:156-66.
105. **Glueck CJ, Glueck HI, Greenfield D, y cols.** Protein C and S deficiency, thrombophilia, and hypofibrinolysis: pathophysiologic causes of Legg-Perthes disease. *Pediatr Res* 1994; 35:383-8.
106. **Glueck CJ, Freiberg RA, Fontaine RN, Tracy T, Wang P.** Hypofibrinolysis, thrombophilia, osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res* 2001; 386:19-33.
107. **Comp PC, Nixon RR, Cooper MR, Esmon CT.** Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. *J Clin Invest* 1984; 74:2082-8.
108. **Korompilias A V, Ortel TL, Urbaniak JR.** Coagulation abnormalities in patients with hip osteonecrosis. *Orthop Clin North Am* 2004; 35:265-71.
109. **Glueck CJ, Phillips HG, Cameron D, Wang P.** Estrogen replacement in a protein S deficient patient leads to diarrhea, hyperglucagonemia, and osteonecrosis. *JOP* 2001; 2:323-9.
110. **Dahlbäck B, Carlsson M, Svensson PJ.** Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993; 90:1004-8.
111. **Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, y cols.** Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994; 369:64-7.
112. **Björkman A, Svensson PJ, Hillarp A, Burtscher IM, Rünow A, Benoni G.** Factor V leiden and prothrombin gene mutation: risk factors for osteonecrosis of the femoral head in adults. *Clin Orthop Relat Res* 2004; 425:168-72.

- 113. Kubo T, Tsuji H, Yamamoto T, Nakahara H, Nakagawa M, Hirasawa Y.** Antithrombin III deficiency in a patient with multifocal osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res* 2000; 378:306-11.
- 114. Buchel O, Roskams T, Van Damme B, Nevens F, Pirenne J, Fevery J.** Nodular regenerative hyperplasia, portal vein thrombosis, and avascular hip necrosis due to hyperhomocysteinaemia. *Gut* 2005; 54:1021-3.
- 115. Zalavras CG, Vartholomatos G, Dokou E, Malizos KN.** Genetic background of osteonecrosis: associated with thrombophilic mutations? *Clin Orthop Relat Res* 2004; 422:251-5.
- 116. Chang J-D, Hur M, Lee S-S, Yoo J-H, Lee KM.** Genetic background of nontraumatic osteonecrosis of the femoral head in the Korean population. *Clin Orthop Relat Res* 2008; 466:1041-6.
- 117. Albrecht EWJA, Stegeman CA, Heeringa P, Henning RH, van Goor H.** Protective role of endothelial nitric oxide synthase. *J Pathol* 2003; 199:8-17.
- 118. Koo K-H, Lee JS, Lee YJ, Kim K-J, Yoo JJ, Kim HJ.** Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in patients with nontraumatic femoral head osteonecrosis. *J Orthop Res* 2006; 24:1722-8.
- 119. Glueck CJ, Freiberg RA, Oghene J, Fontaine RN, Wang P.** Association between the T-786C eNOS polymorphism and idiopathic osteonecrosis of the head of the femur. *J Bone Joint Surg Am* 2007; 89:2460-8.
- 120. Gagala J, Buraczynska M, Mazurkiewicz T, Ksiazek A.** Endothelial nitric oxide synthase gene intron 4 polymorphism in non-traumatic osteonecrosis of the femoral head. *Int Orthop* 2013; 37:1381-5.
- 121. Su Y, Han W, Giraldo C, De Li Y, Block ER.** Effect of cigarette smoke extract on nitric oxide synthase in pulmonary artery endothelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998; 19:819-25.

122. **Barua RS, Ambrose JA, Eales-Reynolds LJ, DeVoe MC, Zervas JG, Saha DC.** Dysfunctional endothelial nitric oxide biosynthesis in healthy smokers with impaired endothelium-dependent vasodilatation. *Circulation* 2001; 104:1905-10.
123. **Liu Y-F, Chen W-M, Lin Y-F, y cols.** Type II collagen gene variants and inherited osteonecrosis of the femoral head. *N Engl J Med* 2005; 352:2294-301.
124. **Jiang Z, Akey JM, Shi J, y cols.** A polymorphism in the promoter region of catalase is associated with blood pressure levels. *Hum Genet* 2001; 109:95-8.
125. **Góth L, Eaton JW.** Hereditary catalase deficiencies and increased risk of diabetes. *Lancet* 2000; 356:1820-1.
126. **Kim T-H, Hong JM, Oh B, y cols.** Genetic association study of polymorphisms in the catalase gene with the risk of osteonecrosis of the femoral head in the Korean population. *Osteoarthritis Cartilage* 2008; 16:1060-6.
127. **Savage SA, Alter BP.** The role of telomere biology in bone marrow failure and other disorders. *Mech Ageing Dev* 2007; 129:35-47.
128. **Ichiseki T, Matsumoto T, Nishino M, Kaneuji A, Katsuda S.** Oxidative stress and vascular permeability in steroid-induced osteonecrosis model. *J Orthop Sci* 2004; 9:509-15.
129. **Ichiseki T, Ueda Y, Katsuda S, Kitamura K, Kaneuji A, Matsumoto T.** Oxidative stress by glutathione depletion induces osteonecrosis in rats. *Rheumatology* 2006; 45:287-90.
130. **Suzuki M, Kumagai K, Osaki M, y cols.** Osteonecrosis of femoral head in the stroke-prone spontaneously hypertensive rats, especially old rats. *Clin Exp Hypertens* 2008; 30:689-97.
131. **Murata M, Kumagai K, Miyata N, Osaki M, Shindo H.** Osteonecrosis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats: effect of glucocorticoid. *J Orthop Sci* 2007; 12:289-95.

- 132. Yamamoto T, Miyanishi K, Motomura G, Nishida K, Iwamoto Y, Sueishi K.** Animal models for steroid-induced osteonecrosis. *Clin Calcium* 2007; 17:879-86.
- 133. Motomura G, Yamamoto T, Miyanishi K, Jingushi S, Iwamoto Y.** Combined effects of an anticoagulant and a lipid-lowering agent on the prevention of steroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Arthritis Rheum* 2004; 50:3387-91.
- 134. Miyata N, Kumagai K, Osaki M, y cols.** Pentosan reduces osteonecrosis of femoral head in SHRSP. *Clin Exp Hypertens* 2010; 32:511-6.
- 135. Nozaki Y, Kumagai K, Miyata N, Niwa M.** Pravastatin reduces steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in SHRSP rats. *Acta Orthop* 2012; 83:87-92.
- 136. Merledaubigne R.** Idiopathic necrosis of the femoral head in adults. *Ann R Coll Surg Engl* 1964; 34:143-60.
- 137. Mitchell DG, Rao VM, Dalinka MK, y cols.** Femoral head avascular necrosis: correlation of MR imaging, radiographic staging, radionuclide imaging, and clinical findings. *Radiology* 1987; 162:709-15.
- 138. Koo KH, Ahn IO, Kim R, y cols.** Bone marrow edema and associated pain in early stage osteonecrosis of the femoral head: prospective study with serial MR images. *Radiology* 1999; 213:715-22.
- 139. Ito H, Matsuno T, Minami A.** Relationship between bone marrow edema and development of symptoms in patients with osteonecrosis of the femoral head. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 186:1761-70.
- 140. Ficat RP.** Idiopathic bone necrosis of the femoral head. Early diagnosis and treatment. *J Bone Joint Surg Br* 1985; 67:3-9.
- 141. Kamata N, Oshitani N, Sogawa M, y cols.** Usefulness of magnetic resonance imaging for detection of asymptomatic osteonecrosis of the femoral head in patients with inflammatory bowel disease on long-term corticosteroid treatment. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43:308-13.

142. **Fordyce MJ, Solomon L.** Early detection of avascular necrosis of the femoral head by MRI. *J Bone Joint Surg Br* 1993; 75:365-7.
143. **Hirata T, Konishiike T, Kawai A, Sato T, Inoue H.** Dynamic magnetic resonance imaging of femoral head perfusion in femoral neck fracture. *Clin Orthop Relat Res* 2001; 393:294-301.
144. **Steinberg ME, Hayken GD, Steinberg DR.** A quantitative system for staging avascular necrosis. *J Bone Joint Surg Br* 1995; 77:34-41.
145. **Sugano N, Atsumi T, Ohzono K, Kubo T, Hotokebuchi T, Takaoka K.** The 2001 revised criteria for diagnosis, classification, and staging of idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *J Orthop Sci* 2002; 7:601-5.
146. **Ohzono K, Saito M, Sugano N, Takaoka K, Ono K.** The fate of nontraumatic avascular necrosis of the femoral head. A radiologic classification to formulate prognosis. *Clin Orthop Relat Res* 1992; 277:73-8.
147. **Elejalde Guerra JI.** Oxidative stress, diseases and antioxidant treatment. *An Med Interna* 2001; 18:326-35.
148. **Lieberman JR, Berry DJ, Mont MA, y cols.** Osteonecrosis of the hip: management in the 21st century. *Instr Course Lect* 2003; 52:337-55.
149. **Jackson SM, Major NM.** Pathologic conditions mimicking osteonecrosis. *Orthop Clin North Am* 2004; 35:315-20.
150. **Yamamoto T.** Subchondral insufficiency fractures of the femoral head. *Clin Orthop Surg* 2012; 4:173-80.
151. **Bramlett KW, Killian JT, Nasca RJ, Daniel WW.** Transient osteoporosis. *Clin Orthop Relat Res* 1987; 222:197-202.
152. **Ikemura S, Yamamoto T, Motomura G, Nakashima Y, Mawatari T, Iwamoto Y.** The utility of clinical features for distinguishing subchondral insufficiency fracture from osteonecrosis of the femoral head. *Arch Orthop Trauma Surg* 2013; 133:1623-7.

- 153. Hungerford DS, Jones LC.** Asymptomatic osteonecrosis: should it be treated? Clin Orthop Relat Res 2004; 429:124-30.
- 154. Nam KW, Kim YL, Yoo JJ, Koo K-H, Yoon KS, Kim HJ.** Fate of untreated asymptomatic osteonecrosis of the femoral head. J Bone Joint Surg Am 2008; 90:477-84.
- 155. Hernigou P, Poignard A, Nogier A, Manicom O.** Fate of very small asymptomatic stage-I osteonecrotic lesions of the hip. J Bone Joint Surg Am 2004; 86:2589-93.
- 156. Mont MA, Carbone JJ, Fairbank AC.** Core decompression versus nonoperative management for osteonecrosis of the hip. Clin Orthop Relat Res 1996; 324:169-78.
- 157. Meizer R, Radda C, Stolz G, y cols.** MRI-controlled analysis of 104 patients with painful bone marrow edema in different joint localizations treated with the prostacyclin analogue iloprost. Wien Klin Wochenschr 2005; 117:278-86.
- 158. Cui Q, Wang GJ, Su CC, Balian G.** The Otto Aufranc Award. Lovastatin prevents steroid induced adipogenesis and osteonecrosis. Clin Orthop Relat Res 1997; 344:8-19.
- 159. Pritchett JW.** Statin therapy decreases the risk of osteonecrosis in patients receiving steroids. Clin Orthop Relat Res 2001; 386:173-8.
- 160. Glueck CJ, Freiberg RA, Sieve L, Wang P.** Enoxaparin prevents progression of stages I and II osteonecrosis of the hip. Clin Orthop Relat Res 2005; 435:164-70.
- 161. Tägil M, Astrand J, Westman L, Aspenberg P.** Alendronate prevents collapse in mechanically loaded osteochondral grafts: a bone chamber study in rats. Acta Orthop Scand 2004; 75:756-61.

- 162. Lai K-A, Shen W-J, Yang C-Y, Shao C-J, Hsu J-T, Lin R-M.** The use of alendronate to prevent early collapse of the femoral head in patients with non-traumatic osteonecrosis. A randomized clinical study. *J Bone Joint Surg Am* 2005; 87:2155-9.
- 163. Astrand J, Harding AK, Aspenberg P, Tägil M.** Systemic zoledronate treatment both prevents resorption of allograft bone and increases the retention of new formed bone during revascularization and remodelling. A bone chamber study in rats. *BMC Musculoskelet Disord* 2006; 7:63.
- 164. Agarwala S, Shah S, Joshi VR.** The use of alendronate in the treatment of avascular necrosis of the femoral head: follow-up to eight years. *J Bone Joint Surg Br* 2009; 91:1013-8.
- 165. Luo R-B, Lin T, Zhong H-M, Yan S-G, Wang J-A.** Evidence for using alendronate to treat adult avascular necrosis of the femoral head: a systematic review. *Med Sci Monit* 2014; 20:2439-47.
- 166. Massari L, Fini M, Cadossi R, Setti S, Traina GC.** Biophysical stimulation with pulsed electromagnetic fields in osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 2006; 88 suppl 3: 56-60.
- 167. Ludwig J, Lauber S, Lauber HJ, Dreisilker U, Raedel R, Hotzinger H.** High-energy shock wave treatment of femoral head necrosis in adults. *Clin Orthop Relat Res* 2001; 387:119-26.
- 168. Alves EM, Angrisani AT, Santiago MB.** The use of extracorporeal shock waves in the treatment of osteonecrosis of the femoral head: a systematic review. *Clin Rheumatol* 2009; 28(11):1247-51.
- 169. Mont MA, Jones LC, Seyler TM, Marulanda GA, Saleh KJ, Delanois RE.** New treatment approaches for osteonecrosis of the femoral head: an overview. *Instr Course Lect* 2007; 56:197-212.

- 170. Reis ND, Schwartz O, Militianu D, y cols.** Hyperbaric oxygen therapy as a treatment for stage-I avascular necrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br* 2003; 85:371-5.
- 171. Hernigou P, Poignard A, Zilber S, Rouard H.** Cell therapy of hip osteonecrosis with autologous bone marrow grafting. *Indian J Orthop* 2009; 43:40-5.
- 172. Lebouvier A, Poignard A, Cavet M, y cols.** Development of a simple procedure for the treatment of femoral head osteonecrosis with intra-osseous injection of bone marrow mesenchymal stromal cells: study of their biodistribution in the early time points after injection. *Stem Cell Res Ther* 2015; 6:68.
- 173. Kang P, Gao H, Pei F, Shen B, Yang J, Zhou Z.** Effects of an anticoagulant and a lipid-lowering agent on the prevention of steroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Int J Exp Pathol* 2010; 91:235-43.
- 174. SooHoo NF, Vyas S, Manunga J, Sharifi H, Kominski G, Lieberman JR.** Cost-effectiveness Analysis of Core Decompression. *J Arthroplasty* 2006; 21:670-81.
- 175. Ficat RP.** Treatment of avascular necrosis of the femoral head. *Hip* 1983;:279-95.
- 176. Al Omran A.** Multiple drilling compared with standard core decompression for avascular necrosis of the femoral head in sickle cell disease patients. *Arch Orthop Trauma Surg* 2013; 133:609-13.
- 177. Tripathy SK, Goyal T, Sen RK.** Management of femoral head osteonecrosis: Current concepts. *Indian J Orthop.* 2015; 49:28-45.
- 178. Feng B, Qian W, Weng X, Wang W, Zhao L, Jiang C.** Outcome of the treatment of osteonecrosis of femoral head using the core decompression with bone impaction grafting. *Acta Acad Med Sin* 2015; 37:133-9.

- 179. Lee YJ, Lee JS, Kang EH, y cols.** Vascular endothelial growth factor polymorphisms in patients with steroid-induced femoral head osteonecrosis. *J Orthop Res* 2012; 30:217.
- 180. Yang L, Wu Z, Yin G, y cols.** Stem cell factor (SCF) protects osteoblasts from oxidative stress through activating c-Kit-Akt signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 455:256-61.
- 181. Liu Y, Liu S, Zhou S, y cols.** A modified porous tantalum implant technology for osteonecrosis of the femoral head: survival and prognostic evaluations of conversion into total hip arthroplasty. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8:1918-30.
- 182. Hernigou P, Bachir D, Galacteros F.** Avascular necrosis of the femoral head in sickle-cell disease. Treatment of collapse by the injection of acrylic cement. *J Bone Joint Surg Br* 1993; 75:875-80.
- 183. Stulberg BN, Davis AW, Bauer TW, Levine M, Easley K.** Osteonecrosis of the femoral head. A prospective randomized treatment protocol. *Clin Orthop Relat Res* 1991; 268:140-51.
- 184. Koo KH, Kim R, Ko GH, Song HR, Jeong ST, Cho SH.** Preventing collapse in early osteonecrosis of the femoral head. A randomised clinical trial of core decompression. *J Bone Joint Surg Br* 1995; 77:870-4.
- 185. Smith SW, Fehring TK, Griffin WL, Beaver WB.** Core decompression of the osteonecrotic femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 1995; 77:674-80.
- 186. Bozic KJ, Zurakowski D, Thornhill TS.** Survivorship analysis of hips treated with core decompression for nontraumatic osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 1999; 81:200-9.
- 187. Lieberman JR, Berry DJ, Mont MA, y cols.** Osteonecrosis of the Hip: Management in the Twenty-first Century. *J Bone Joint Surg Am* 2002; 84:834-53.

- 188. Lieberman JR, Conduah A, Urist MR.** Treatment of osteonecrosis of the femoral head with core decompression and human bone morphogenetic protein. *Clin Orthop Relat Res* 2004; 429:139-45.
- 189. Hernigou P, Beaujean F.** Treatment of osteonecrosis with autologous bone marrow grafting. *Clin Orthop Relat Res* 2002; 405:14-23.
- 190. Shuler MS, Rooks MD, Roberson JR.** Porous tantalum implant in early osteonecrosis of the hip: preliminary report on operative, survival, and outcomes results. *J Arthroplasty* 2007; 22:26-31.
- 191. Veillette CJH, Mehdian H, Schemitsch EH, McKee MD.** Survivorship analysis and radiographic outcome following tantalum rod insertion for osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 2006; 88 supl 3:48-55.
- 192. Tsao AK, Roberson JR, Christie MJ, y cols.** Biomechanical and clinical evaluations of a porous tantalum implant for the treatment of early-stage osteonecrosis. *J Bone Joint Surg Am* 2005; 87 supl 2:22-7.
- 193. Zhang C, Zeng B, Xu Z, y cols.** Treatment of femoral head necrosis with free vascularized fibula grafting: a preliminary report. *Microsurgery* 2005; 25:305-9.
- 194. Marciniak D.** Osteonecrosis of the Femoral Head. A study of 101 Hips treated with vascularized fibular grafting. *J Bone Jt Surg* 2005; 87:742.
- 195. Yoo M-C, Kim K-I, Hahn C-S, Parvizi J.** Long-term followup of vascularized fibular grafting for femoral head necrosis. *Clin Orthop Relat Res* 2008; 466:1133-40.
- 196. Eward WC, Rineer CA, Urbaniak JR, Richard MJ, Ruch DS.** The vascularized fibular graft in precollapse osteonecrosis: is long-term hip preservation possible? *Clin Orthop Relat Res* 2012; 470:2819-26.
- 197. Kane SM, Ward WA, Jordan LC, Guilford WB, Hanley EN.** Vascularized fibular grafting compared with core decompression in the treatment of femoral head osteonecrosis. *Orthopedics* 1996; 19:869-72.

198. **Scully SP, Aaron RK, Urbaniak JR.** Survival analysis of hips treated with core decompression or vascularized fibular grafting because of avascular necrosis. *J Bone Joint Surg Am* 1998; 80:1270-5.
199. **Vail TP, Urbaniak JR.** Donorsite morbidity with use of vascularized autogenous fibular grafts. *J Bone Joint Surg Am* 1996; 78:204-11.
200. **Aluisio F V, Urbaniak JR.** Proximal femur fractures after free vascularized fibular grafting to the hip. *Clin Orthop Relat Res* 1998; 356:192-201.
201. **Davis ET, McKee MD, Waddell JP, Hupel T, Schemitsch EH.** Total hip arthroplasty following failure of free vascularized fibular graft. *J Bone Joint Surg Am* 2006; 88 supl 3:110- 5.
202. **Eisenschenk A, Lautenbach M, Schwetlick G, Weber U.** Treatment of femoral head necrosis with vascularized iliac crest transplants. *Clin Orthop Relat Res* 2001; 386:100-5.
203. **Cano-Luis P, Rincón-Recarey FJ, Fuentes-Díaz A.** L-TA. El injerto vascularizado de cresta iliaca en el tratamiento de la necrosis aséptica de la cabeza femoral. *Rev Esp Cir Osteoart* 2007; 51:136-43.
204. **Leung PC, Gu YD, Ikuta Y, Narakas A, Landl A WA.** Microsurgery for the hip region. En: Leung PC, Gu YD, Ikuta Y, Narakas A, editores. *Orthopedic Practice*. Singapur: Worl Scientific Publishing: 1995. p. 69-96.
205. **Lieberman JR, Engstrom SM, Meneghini RM, SooHoo NF.** Which factors influence preservation of the osteonecrotic femoral head?. *Clin Orthop Relat Res* 2012; 470:525-34.
206. **Gottschalk F.** Indications and results of intertrochanteric osteotomy in osteonecrosis of the femoral head. *Clin Orthop Relat Res* 1989; 249:219-22.
207. **Sugioka Y, Hotokebuchi T, Tsutsui H.** Transtrochanteric anterior rotational osteotomy for idiopathic and steroid-induced necrosis of the femoral head. Indications and long-term results. *Clin Orthop Relat Res* 1992; 277:111-20.

- 208. Inao S, Ando M, Gotoh E, Matsuno T.** Minimum 10-year results of Sugioka's osteotomy for femoral head osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res* 1999; 368:141-8.
- 209. Belal MA, Reichelt A.** Clinical results of rotational osteotomy for treatment of avascular necrosis of the femoral head. *Arch Orthop Trauma Surg* 1996; 115:80-4.
- 210. Arnoldi CC, Lemperg R, Linderholm H.** Immediate effect of osteotomy on the intramedullary pressure in the femoral head and neck in patients with degenerative osteoarthritis. *Acta Orthop Scand* 1971; 42:454-5.
- 211. Wagner H, Zeiler G.** Idiopathic avascular necrosis of the femoral head. Results of intertrochanteric osteotomy and resurfacing. *Orthopade* 1980; 9:290-310.
- 212. Kerboul M, Thomine J, Postel M, Merle d'Aubigné R.** The conservative surgical treatment of idiopathic aseptic necrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br* 1974; 56:291-6.
- 213. Masuda T, Matsuno T, Hasegawa I, Kanno T, Ichioka Y, Kaneda K.** Results of transtrochanteric rotational osteotomy for nontraumatic osteonecrosis of the femoral head. *Clin Orthop Relat Res* 1988; 228:69-74.
- 214. Sugano N, Takaoka K, Ohzono K, Matsui M, Saito M, Saito S.** Rotational osteotomy for non-traumatic avascular necrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br* 1992; 74:734-9.
- 215. Dean MT, Cabanela ME.** Transtrochanteric anterior rotational osteotomy for avascular necrosis of the femoral head. Long-term results. *J Bone Joint Surg Br* 1993; 75:597-601.
- 216. Mont MA, Fairbank AC, Krackow KA, Hungerford DS.** Corrective osteotomy for osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 1996; 78:1032-8.
- 217. Benke GJ, Baker AS, Dounis E.** Total hip replacement after upper femoral osteotomy. A clinical review. *J Bone Joint Surg Br* 1982; 64:570-1.

- 218. Gómez-Castresana F.** Tratamiento de la necrosis isquémica de la cabeza femoral. En: Nolla Solé JM, Rodríguez Merchán EC, editores. La Cadera Tomo II Monografías Médico-Quirúrgicas del Aparato Locomotor. Madrid: Masson, SA; 2001. p. 37-53.
- 219. Kim Y-S, Kim Y-H, Hwang K-T, Choi I-Y.** The cartilage degeneration and joint motion of bipolar hemiarthroplasty. *Int Orthop* 2012; 36:2015-20.
- 220. Orwin JF, Fisher RC, Wiedel JD.** Use of the uncemented bipolar endoprosthesis for the treatment of steroid-induced osteonecrosis of the hip in renal transplantation patients. *J Arthroplasty* 1991;6:1-9.
- 221. Cabanela ME.** Bipolar versus total hip arthroplasty for avascular necrosis of the femoral head. A comparison. *Clin Orthop Relat Res* 1990; 261:59-62.
- 222. Ito H, Matsuno T, Kaneda K.** Bipolar hemiarthroplasty for osteonecrosis of the femoral head. A 7- to 18-year followup. *Clin Orthop Relat Res* 2000; 374:201-11.
- 223. Muraki M, Sudo A, Hasegawa M, Fukuda A, Uchida A.** Long-term results of bipolar hemiarthroplasty for osteoarthritis of the hip and idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *J Orthop Sci* 2008; 13:313-7.
- 224. Hwang K-T, Kim Y-H, Kim Y-S, Choi I-Y.** Is bipolar hemiarthroplasty a reliable option for Ficat stage III osteonecrosis of the femoral head? 15- to 24-year follow-up study. *Arch Orthop Trauma Surg* 2012; 132:1789-96.
- 225. Moriya M, Uchiyama K, Takahira N, y cols.** Evaluation of bipolar hemiarthroplasty for the treatment of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head. *Int Orthop* 2012; 36:2041-7.
- 226. Van Egmond PW, Taminiau AHM, van der Heide HJL.** Hemiarthroplasties in young patients with osteonecrosis or a tumour of the proximal femur; an observational cohort study. *BMC Musculoskelet Disord* 2013;14:31.

227. **Chan YS, Shih CH.** Bipolar versus total hip arthroplasty for hip osteonecrosis in the same patient. *Clin Orthop Relat Res* 2000; 379:169-77.
228. **Tsumura H, Torisu T, Kaku N, Higashi T.** Five- to Fifteen-Year Clinical Results and the Radiographic Evaluation of Acetabular Changes After Bipolar Hip Arthroplasty for Femoral Head Osteonecrosis. *J Arthroplasty* 2005; 20:892-7.
229. **Smith-Petersen MN.** The classic: Evolution of mould arthroplasty of the hip joint by M. N. Smith-Petersen, *J. Bone Joint Surg.* 30B:L:59, 1948. *Clin Orthop Relat Res* 1978; 134:5-11.
230. **Hungerford MW, Mont MA, Scott R, Fiore C, Hungerford DS, Krackow KA.** Surface replacement hemiarthroplasty for the treatment of osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 1998; 80(11):1656-64.
231. **Nelson CL, Walz BH, Gruenwald JM.** Resurfacing of only the femoral head for osteonecrosis. Long-term follow-up study. *J Arthroplasty* 1997; 12:736-40.
232. **Beaulé PE, Schmalzried TP, Campbell P, Dorey F, Amstutz HC.** Duration of symptoms and outcome of hemiresurfacing for hip osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res* 2001; 385:104-7.
233. **Mont MA, Rajadhyaksha AD, Hungerford DS.** Outcomes of limited femoral resurfacing arthroplasty compared with total hip arthroplasty for osteonecrosis of the femoral head. *J Arthroplasty* 2001; 16 suppl 1:134-9.
234. **Steinberg ME, Corces A, Fallon M.** Acetabular involvement in osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 1999; 81:60-5.
235. **Kim Y-H, Kim J-S.** Histologic analysis of acetabular and proximal femoral bone in patients with osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 2004; 86:2471-4.
236. **Ash SA, Callaghan JJ, Johnston RC.** Revision total hip arthroplasty with cement after cup arthroplasty. Long-term follow-up. *J Bone Joint Surg Am* 1996; 78:87-93.

- 237. Townley CO.** Hemi and total articular replacement arthroplasty of the hip with the fixed femoral cup. *Orthop Clin North Am* 1982;13:869-94.
- 238. Head WC.** Total articular resurfacing arthroplasty. Analysis of component failure in sixty-seven hips. *J Bone Joint Surg Am* 1984; 66:28-34.
- 239. Kim WC, Grogan T, Amstutz HC, Dorey F.** Survivorship comparison of THARIES and conventional hip arthroplasty in patients younger than 40 years old. *Clin Orthop Relat Res* 1987; 214:269-77.
- 240. Akbar M, Mont MA, Heisel C, Marker DR, Ulrich SD, Seyler TM.** Resurfacing for osteonecrosis of the femoral head. *Orthopade* 2008; 37:672-8.
- 241. Mont MA, Seyler TM, Marker DR, Marulanda GA, Delanois RE.** Use of metal-on-metal total hip resurfacing for the treatment of osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 2006; 88 supl 3:90-7.
- 242. Pyda M, Koczy B, Widuchowski W, y cols.** Hip resurfacing arthroplasty in treatment of avascular necrosis of the femoral head. *Med Sci Monit* 2015; 21:304-9.
- 243. Itayem R, Arndt A, Daniel J, McMinn DJW, Lundberg A.** A two-year radiostereometric follow-up of the first generation Birmingham mid head resection arthroplasty. *Hip In* 2014; 24:355-62.
- 244. Chang EY, McAnally JL, Van Horne JR, y cols.** Relationship of plasma metal ions and clinical and imaging findings in patients with ASR XL metal-on-metal total hip replacements. *J Bone Joint Surg Am* 2013; 95:2015-20.
- 245. Lohmann CH, Meyer H, Nuechtern J V, y cols.** Periprosthetic tissue metal content but not serum metal content predicts the type of tissue response in failed small-diameter metal-on-metal total hip arthroplasties. *J Bone Joint Surg Am* 2013; 95:1561-8.

246. **Rahman WA, Garbuz DS, Masri BA.** Total hip arthroplasty in steroid-induced osteonecrosis: early functional and radiological outcomes. *Can J Surg* 2013; 56:41-6.
247. **Bergh C, Fenstad AM, Furnes O, y cols.** Increased risk of revision in patients with non-traumatic femoral head necrosis. *Acta Orthop* 2014; 85:11-7.
248. **Issa K, Johnson AJ, Naziri Q, Khanuja HS, Delanois RE, Mont MA.** Hip osteonecrosis: does prior hip surgery alter outcomes compared to an initial primary total hip arthroplasty?. *J Arthroplasty* 2014; 29:162-6.
249. **Banerjee S, Issa K, Pivec R, Kapadia BH, Khanuja HS, Mont MA.** Osteonecrosis of the hip: treatment options and outcomes. *Orthop Clin North Am* 2013; 44:463-76.
250. **Issa K, Pivec R, Kapadia BH, Banerjee S, Mont MA.** Osteonecrosis of the femoral head: the total hip replacement solution. *Bone Joint J* 2013; 95:46-50.
251. **Chang J-S, Han DJ, Park S-K, Sung J-H, Ha Y-C.** Cementless total hip arthroplasty in patients with osteonecrosis after kidney transplantation. *J Arthroplasty* 2013; 28:824-7.
252. **Chiu KH, Shen WY, Ko CK, Chan KM.** Osteonecrosis of the femoral head treated with cementless total hip arthroplasty. A comparison with other diagnoses. *J Arthroplasty* 1997;12(6):683-8.
253. **Kim Y-H, Oh S-H, Kim J-S, Koo K-H.** Contemporary total hip arthroplasty with and without cement in patients with osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 2003; 85:675-81.
254. **Xenakis TA, Beris AE, Malizos KK, Koukoubis T, Gelalis J, Soucacos PN.** Total hip arthroplasty for avascular necrosis and degenerative osteoarthritis of the hip. *Clin Orthop Relat Res* 1997; 341:62-68.

- 255. Xenakis TA, Gelalis J, Koukoubis TA, Zaharis KC, Soucacos PN.** Cementless hip arthroplasty in the treatment of patients with femoral head necrosis. *Clin Orthop Relat Res* 2001; 386 :93-9.
- 256. Fye MA, Huo MH, Zatorski LE, Keggi KJ.** Total hip arthroplasty performed without cement in patients with femoral head osteonecrosis who are less than 50 years old. *J Arthroplasty* 1998; 13:876-81.
- 257. Chang R.** Reacciones en disolución acuosa. En: Chang R, Collage WW, editores. *Química*. 7a ed. Mexico: Mc Graw-Hill-Interamericana;1992. p.105-52.
- 258. Kohen R, Nyska A.** Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol* 2002; 30:620-50.
- 259. Adly AM.** Oxidative stress and Disease: Un update review. *Res J Immunol* 2010; 3:129-45.
- 260. Finkel T, Holbrook NJ.** Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408:239-47.
- 261. Gutteridge JM, Halliwell B.** Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 899:136-47.
- 262. Rahman T, Hosen I, Islam MMT, Shekhar HU.** Oxidative stress and human health. *Adv Biosci Biotechnol* 2012; 3:997-1019.
- 263. Schieber M, Chandel NS.** ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol* 2014; 24:453-62.
- 264. Liu Y, Zhao H, Li H, Kalyanaraman B, Nicolosi AC, Gutterman DD.** Mitochondrial sources of H₂O₂ generation play a key role in flow-mediated dilation in human coronary resistance arteries. *Circ Res* 2003; 93:573-80.
- 265. Pérez-Gastell Pedro Luis P de AJL.** Métodos para medir el daño oxidativo. *Rev Cuba Med Milit* 2000; 29:192-8.

- 266. Schroder P KJ.** Environmental oxidative stress. Environmental sources of ROS. En: Barceló D, Kostianoy AG, editores. Oxidants and Antioxidant Defense Systems. The Handbook of Environmental Chemistry. Berlin Heidelberg: Springer; 2005. Vol 2, Part0: p. 19-31.
- 267. Rowe LA, Degtyareva N, Doetsch PW.** DNA damage-induced reactive oxygen species (ROS) stress response in *Saccharomyces cerevisiae*. *Free Radic Biol Med* 2008; 45:1167-77.
- 268. Fukai T, Ushio-Fukai M.** Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxid Redox Signal* 2011; 15:1583-1606.
- 269. Röhrdanz E, Kahl R.** Alterations of antioxidant enzyme expression in response to hydrogen peroxide. *Free Radic Biol Med* 1998; 24:27-38.
- 270. Amer MA, Elliot JI.** Influence of supplemental dietary copper and vitamin E on the oxidative stability of porcine depot fat. *J Anim Sci* 1973; 37:87-90.
- 271. Meyers DG, Maloley PA, Weeks D.** Safety of antioxidant vitamins. *Arch Intern Med* 1996; 156:925-35.
- 272. Alfadda AA, Sallam RM.** Reactive oxygen species in health and disease. *J Biomed Biotechnol* 2012:936486.
- 273. Zuo L, Clanton TL.** Reactive oxygen species formation in the transition to hypoxia in skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 289:207-16.
- 274. Berzosa C, Cebrián I, Fuentes-Broto L, y cols.** Acute exercise increases plasma total antioxidant status and antioxidant enzyme activities in untrained men. *J Biomed Biotechnol* 2011: 540458.
- 275. Dröge W.** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82:47-95.
- 276. Jamieson D, Chance B, Cadenas E, Boveris A.** The relation of free radical production to hyperoxia. *Annu Rev Physiol* 1986; 48:703-19.

- 277. Puchades Montesa MJ, González Rico MA, Solís Salguero MA, y cols.** Estudio del estrés oxidativo en enfermedad renal avanzada. *Nefrol* 2011; 29:464-73.
- 278. Borrego S, Vazquez A, Dasí F, y cols.** Oxidative Stress and DNA damage in human gastric carcinoma: 8-Oxo-7'8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxo-dG) as a possible tumor marker. *Int J Mol Sci* 2013; 14:3467-86.
- 279. Wang W, Wei S, Luo M, y cols.** Oxidative stress and status of antioxidant enzymes in children with Kashin-Beck disease. *Osteoarthritis Cartilage* 2013; 21:1781-9.
- 280. Matsui A, Ikeda T, Enomoto K, y cols.** Increased formation of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, in human breast cancer tissue and its relationship to GSTP1 and COMT genotypes. *Cancer Lett* 2000;151:87-95.
- 281. Sohal RS.** Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process. *Free Radic Biol Med* 2002; 33:37-44.
- 282. Reddell L, Cotton BA.** Antioxidants and micronutrient supplementation in trauma patients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2012; 15:181-7.
- 283. Flatow J, Buckley P, Miller BJ.** Meta-analysis of oxidative stress in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2013;74:400-9.
- 284. Palta P, Samuel LJ, Miller ER, Szanton SL.** Depression and oxidative stress: results from a meta-analysis of observational studies. *Psychosom Med* 2014;76:12-9.
- 285. Schulz E, Wenzel P, Münzel T, Daiber A.** Mitochondrial redox signaling: Interaction of mitochondrial reactive oxygen species with other sources of oxidative stress. *Antioxid Redox Signal* 2014; 20:308-24.
- 286. Wang J, Kalhor A, Lu S, Crawford R, Ni J-D, Xiao Y.** iNOS expression and osteocyte apoptosis in idiopathic, non-traumatic osteonecrosis. *Acta Orthop* 2015; 86:134-41.

- 287. Stocker R, Keaney JF.** Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004; 84:1381-478.
- 288. Góth L.** Lipid and carbohydrate metabolism in acatalasemia. *Clin Chem* 2000; 46:564-6.
- 289. Bogdanovic N, Zilmer M, Zilmer K, Rehema A, Karelson E.** The Swedish APP670/671 Alzheimer's disease mutation: the first evidence for strikingly increased oxidative injury in the temporal inferior cortex. *Dement Geriatr Cogn Disord* 12:364-70.
- 290. Evans MD, Cooke MS.** Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *Bioessays* 2004; 26:533-42.
- 291. Altay MA, Erturk C, Aksoy N, y cols.** Serum prolidase activity and oxidative-antioxidative status in Legg-Calve-Perthes disease. *J Pediatr Orthop B* 2011; 20:222-6.
- 292. Bai X, Lu D, Bai J, y cols.** Oxidative stress inhibits osteoblastic differentiation of bone cells by ERK and NF-kappaB. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 314:197-207.
- 293. Asensi M, Sastre J, Pallardó FV, García de la Asunción J, Estrela JM, Viña J.** A high-performance liquid chromatography method for measurement of oxidized glutathione in biological samples. *Anal Biochem* 1994; 217:323-8.
- 294. Fernández-Sabaté A, Cosculuela A, Gomez-Ribelles A, Lluch A.** Necrosis avascular de la cabeza femoral del adulto: estudio multicéntrico. *Rev Ortop Traumatol* 2004; 48 Supl. 1: 91-103.
- 295. Assouline-Dayana Y, Chang C, Greenspan A, Shoenfeld Y GM.** Pathogenesis and natural history of osteonecrosis. *Semin Arthritis Rheum* 2002; 32:94-124.
- 296. Maruenda JI, Barrios C, Gomar-Sancho F.** Intracapsular hip pressure after femoral neck fracture. *Clin Orthop Relat Res* 1997; 340:172-80.

- 297. Damany DS, Parker MJ, Chojnowski A.** Complications after intracapsular hip fractures in young adults. A meta-analysis of 18 published studies involving 564 fractures. *Injury* 2005; 36:131-41.
- 298. Kenzora JE.** Ischemic necrosis of femoral head. Part I. Accumulative cell stress: a hypothesis for the etiology of idiopathic osteonecrosis. *Instr Course Lect* 1983; 32:242-52.
- 299. Miyanishi K, Yamamoto T, Irisa T, y cols.** A high low-density lipoprotein cholesterol to high-density lipoprotein cholesterol ratio as a potential risk factor for corticosteroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Rheumatology* 2001; 40:196-201.
- 300. Miyanishi K, Yamamoto T, Irisa T, y cols.** Effects of different corticosteroids on the development of osteonecrosis in rabbits. *Rheumatology* 2005; 44:332-6.
- 301. Shuai B, Shen L, Yang YP, Xie J, Shou ZX, Wei B.** Low plasma adiponectin as a potential biomarker for osteonecrosis of the femoral head. *J Rheumatol* 2010; 37:2151-5.
- 302. Kuroda T, Tanabe N, Wakamatsu A, y cols.** High triglyceride is a risk factor for silent osteonecrosis of the femoral head in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 2015 Sep 18. [Epub ahead of print]
- 303. Li G-Y, Feng Y, Cheng TS, Yin J-M, Zhang C-Q.** Eदारavone, a novel free radical scavenger, prevents steroid-induced osteonecrosis in rabbits. *Rheumatology* 2013; 52:438-47.
- 304. Ichiseki T, Matsumoto T.** Oxidative stress may underlie the sex differences seen in steroid-induced osteonecrosis models. *Med Hypotheses* 2006; 66:1256.
- 305. Ichiseki T, Kaneuji A, Ueda Y, y cols.** Osteonecrosis development in a novel rat model characterized by a single application of oxidative stress. *Arthritis Rheum* 2011; 63:2138-41.

- 306. Sun W, Li Z, Wang B, Liu B, Zhang Q, Guo W.** Relationship between preservation of the lateral pillar and collapse of the femoral head in patients with osteonecrosis. *Orthopedics* 2014; 37:24-8.
- 307. Yu T, Xie L, Zhang Z, Ke X, Liu Y.** Prediction of osteonecrosis collapse of the femoral head based on the proportion of the proximal sclerotic rim. *Int Orthop* 2015; 39:1045-50.
- 308. Dasí F, Pascual S, Silvestre A, Carrasco J, Gomar F.** Estrés oxidativo y osteonecrosis de la cabeza femoral. *Rev Esp Cir Osteoart* 2013; 252:181-6.

9. Anexos

9. ANEXOS

- 1.- Documento de aprobación por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico Universitario de Valencia.
- 2.- Documento de colección de muestras inscrita en el Registro Nacional de Biobancos del Instituto de Salud Carlos III. Referencia: C.0000666.
- 3.- Hoja de Información al Paciente.
- 4.- Documento de consentimiento informado.
- 5.- Hoja de recogida de anamnesis.

INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL CLINIC UNIVERSITARI DE VALENCIA

D. Manuel Labiós Gómez, Secretario del Comité, Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínic Universitari de Valencia

CERTIFICA

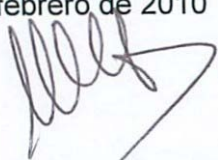
Que en este Comité, en su reunión de comisión permanente de fecha 2 de febrero de 2010, y según consta en el acta de la misma, se han analizado los aspectos éticos y científicos relacionados con el proyecto de investigación que lleva por título:

Estrés oxidativo celular y su relación con la osteonecrosis femoral idiopática

Que será llevado a cabo en el Servicio de Cirugía y cuyo investigador principal es el Dr. Francisco Gomar Sancho, acordando que reúne las características adecuadas referentes a información a los pacientes y cumplimiento de los criterios éticos para la investigación médica y biomédica establecidos en la *Declaración de Helsinki* (Junio 1964, Helsinki, Finlandia) de la Asamblea Médica Mundial, y sus revisiones (Octubre 1975, Tokio, Japón), (Octubre 1983, Venecia, Italia), (Septiembre 1989, Hong Kong), (Octubre 1996, Somerset West, Sudáfrica) y (Octubre 2000, Edimburgo) en la *Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos del Hombre de la UNESCO* y los acuerdos del *Protocolo Adicional del Consejo de Europa para la protección de los Derechos del Hombre y de la dignidad del ser humano frente a la aplicaciones de la biología y de la medicina* (París 12-1-1998, ratificado el 23-7-1999).

Lo que certifico a efectos oportunos de la convocatoria de Ayudas para el fomento de la Investigación Sanitaria en la Comunidad Valenciana.

Valencia, 2 de febrero de 2010



Fdo.: Dr. D. Manuel Labiós Gómez
Secretario del Comité Ético de Investigación Clínica

Comunicado de inscripción en el
Registro Nacional de Biobancos
(Sección de Colecciones)

Referencia : C.0000666	Fecha de Inscripción : 16/11/2012
------------------------	-----------------------------------

Responsable de la colección			
DNI/NIE o NIF: 73724943F	Apellidos y Nombre: GOMAR SANCHO, FRANCISCO		Sexo: Hombre
Dirección: HOSP CLINICO UNI VALENCIA-INCLIVA AVDA. BLASCO IBAÑEZ		Número: 17	Municipio: VALENCIA
C.P.: 46010	Provincia: Valencia	Teléfono/Fax: 963862894	E-mail: francisco.gomar@uv.es

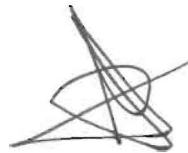
Finalidades de la colección (Por ejemplo, investigación en cáncer)
INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL DE LAS PATOLOGÍAS DEL APARATO LOCOMOTOR

Tipo y origen de las muestras conservadas	
Tipo (por ejemplo sangre, grasa)	Origen anatómico / patología
HUESO DESCALCIFICADO	PACIENTES NECROSIS AVASCULAR IDIOPÁTICA CADERA
SUERO	PACIENTES NECROSIS AVASCULAR IDIOPÁTICA CADERA
PLASMA	PACIENTES NECROSIS AVASCULAR IDIOPÁTICA CADERA
LINFOCITOS	PACIENTES NECROSIS AVASCULAR IDIOPÁTICA CADERA
SUERO	SUJETO CONTROL
PLASMA	SUJETO CONTROL

Lo que el RESPONSABLE de la COLECCIÓN DE MUESTRAS comunica a efectos de su inscripción en el REGISTRO NACIONAL DE BIOBANCOS, SECCION DE COLECCIONES.

En Valencia a 16 de noviembre de 2012

Firma:



HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

Se le ofrece la posibilidad de participar en el proyecto de investigación titulado "**Estrés oxidativo celular y su relación con la osteonecrosis femoral idiopática**" que está siendo realizado por el **Dr. Francisco Gomar Sancho** de la Fundación para la Investigación del Hospital Clínico Universitario y que ha sido ya evaluado y aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico Universitario de Valencia

Antecedentes:

La osteonecrosis no traumática de la cabeza femoral (ONF) es una enfermedad que afecta a personas entre la tercera y quinta década de vida, provocando una grave limitación funcional de la cadera del paciente, lo que condiciona su vida laboral y social en una edad plenamente productiva. Debemos tener en cuenta que en el 75-80% de los casos de ONF no tratadas se produce un colapso condral con las consiguientes repercusiones articulares.

El mecanismo exacto por el que se desarrolla la ONF no se conoce. Estudios recientes, en modelos animales, han demostrado una clara asociación entre el estrés oxidativo y el desarrollo de ONF, que podría ser responsable de la disminución del flujo sanguíneo de la cabeza del fémur observada en los pacientes con ONF. No existen, sin embargo, estudios en individuos humanos que hayan analizado la posible correlación entre el estrés oxidativo y el desarrollo de la ONF. Esta correlación es importante, ya que en caso de confirmarse, abriría la puerta a la utilización de sustancias antioxidantes para la profilaxis de la enfermedad.

¿Cuál es el objetivo de este estudio?

El objetivo del estudio es analizar el posible papel del estrés oxidativo celular en los procesos de ONF así como su relación con los factores de riesgo como el tabaquismo, el alcoholismo, la exposición a corticoides y diversos polimorfismos genéticos.

¿Por qué se le ha pedido que participe?

Se le pide su participación en este estudio ya que ha sido diagnosticado de **osteonecrosis de cabeza de fémur**

¿En qué consiste su participación? ¿Qué tipo de pruebas o procedimientos se le realizarán?

Se le solicita permiso para utilizar con fines científicos **una muestra de su sangre**

La participación en el presente proyecto no supone ninguna alteración del tratamiento que este llevando (si lo tiene) y todo tratamiento que se le pueda poner a partir de los estudios clínico-bioquímicos que se le realicen será siempre bajo criterio médico.

¿Cuáles son los riesgos generales de participar en este estudio?

No se prevee ningún riesgo adicional para usted ya que utilizaremos para el estudio una pequeña parte de las **muestras de sangre** que trajo a la consulta de **Cirugía Ortopédica y Traumatología**.

¿Cuáles son los beneficios de la participación en este estudio?

Es muy posible que los resultados obtenidos en esta investigación tengan poco valor diagnóstico o predictivo para usted, pero podrá ayudar a conocer mejor su enfermedad y mejorar el pronóstico y el tratamiento de futuros pacientes.

¿Qué pasará si decido no participar en este estudio?

Su participación en este estudio es totalmente voluntaria. En caso de que decida no participar en el estudio, esto no modificará el trato y seguimiento que de su enfermedad realicen ni su médico ni el resto del personal sanitario que se ocupa de su enfermedad. Así mismo, podrá retirarse del estudio en cualquier momento, sin tener que dar explicaciones.

Si hay extracción de sangre hay que indicar : El riesgo previsible de su participación únicamente será el mínimo riesgo que conlleva la extracción de una muestra de sangre, que incluye molestias, dolor, enrojecimiento e hinchazón y/o pequeños hematomas en el lugar del brazo donde se ha producido la extracción.

¿A quién puedo preguntar en caso de duda?

Es importante que comente con cualquiera de los investigadores de este proyecto los pormenores o dudas que surjan antes de firmar el consentimiento para su participación.

Así mismo, podrá solicitar cualquier explicación que desee sobre cualquier aspecto del estudio y sus implicaciones a lo largo del mismo contactando con el investigador principal del proyecto, el **Dr. Francisco Gomar Sancho** en el teléfono **963987841**.

Confidencialidad:

Todos sus datos, así como toda la información médica relacionada con su enfermedad será tratada con absoluta confidencialidad por parte del personal encargado de la investigación. Así mismo, si los resultados del estudio fueran susceptibles de publicación en revistas científicas, en ningún momento se proporcionarán datos personales de los pacientes que han colaborado en esta investigación.

Tal y como contempla la Ley de Protección de Datos de Carácter Personal, podrá ejercer su derecho a acceder, rectificar o cancelar sus datos contactando con el investigador principal de este estudio.

¿Qué pasará con las muestras biológicas obtenidas durante la investigación?

Durante su participación en este estudio, se le extraerá una muestra de **sangre**. Esta muestra será siempre utilizada con fines científicos, pudiéndose utilizar si usted así lo autoriza en el marco de otros proyectos de investigación que tengan como objetivo el estudio de su enfermedad y que previamente hayan sido evaluados y aprobados por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital.

Además, este material no será bajo ningún concepto ni en ningún momento motivo de lucro, bien sea por la venta del material o de los derechos para realizar estudios sobre los mismos.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del Proyecto: **"Estrés oxidativo celular y su relación con la osteonecrosis femoral idiopática"**

Investigador Principal: Dr. Francisco Gomar Sancho

Fundación para la Investigación del Hospital Clínico Universitario

Yo, _____, he sido informado por el Dr. _____, colaborador del proyecto de investigación arriba mencionado, y declaro que:

- He leído la Hoja de Información que se me ha entregado
- He podido hacer preguntas sobre el estudio
- He recibido respuestas satisfactorias a mis preguntas
- He recibido suficiente información sobre el estudio

Comprendo que mi participación es voluntaria

Comprendo que todos mis datos serán tratados confidencialmente

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera
- Sin tener que dar explicaciones
- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Mediante este acto ud. Consiente el uso de sus muestras en relación con este proyecto de investigación. Este estudio tiene carácter terapéutico, por tanto no se le informará de los resultados del estudio genético.

Autorizo a que las muestras obtenidas durante el proyecto de investigación sean utilizadas con fines científicos en otros proyectos de investigación que tengan por objeto el estudio de mi enfermedad y que hayan sido aprobados por el Comité de Ética de Investigación Clínica del Hospital Clínico Universitario de Valencia

Si

No

Quiero que se me pida autorización previa para utilizar mis muestras biológicas para futuros proyectos de investigación

Si

No

Con esto doy mi conformidad para participar en este estudio.

Firma del paciente:

Fecha:

Firma del Investigador:

Fecha

Etiqueta Datos del Paciente

Datos clínicos

DIAGNOSTICO

EDAD COMIENZO CLÍNICA.....UNILATERAL BILATERAL

ANTECEDENTES TRAUMÁTICOS.....

ANTECEDENTES INFECCIOSOS.....

OTROS DIAGNÓSTICOS:

DIABETES MELLITUS

FECHA DEL DIAGNÓSTICO.....

TRATAMIENTO.....

LUPUS ERITEMATOSO

FECHA.....

TRATAMIENTO.....

PROBLEMAS DIGESTIVOS

Enfermedad de Crohn

Colitis ulcerosa

FECHA.....

TRATAMIENTO.....

ENFERMEDAD CARDÍACA

DIAGNÓSTICO.....

FECHA.....TRATAMIENTO.....

NEOPLASIAS SI NO

¿Ha sido intervenido quirúrgicamente en los últimos meses (3/4)

SI NO

HÁBITOS

¿Es fumador/a? NO

SI

Ocasionalmente

Menos de 10 cigarrillos/día

Entre 10-20 cigarrillos/día

Entre 20-30 cigarrillos/día

¿Consumo alcohol?..... Cantidad diaria.....

Mañana.....

Mediodía.....

Tarde.....

Noche.....

EQUIVALENCIAS

CORTICOIDES (Nombre y cantidad diaria).....

EQUIVALENCIAS