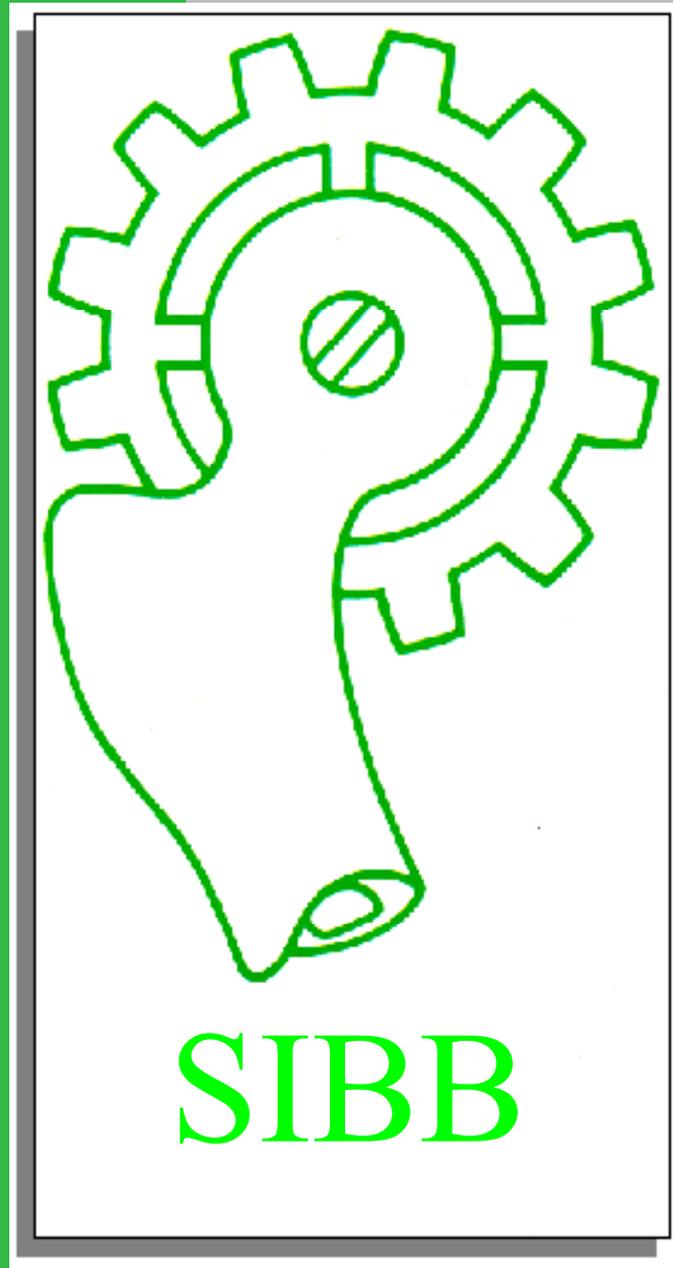


BIOMECÁNICA



Órgano oficial de la Sociedad Ibérica
de Biomecánica y Biomateriales

Volumen 24
2016
ISSN-e:1885-9518

BIOMECÁNICA

Órgano Oficial de la Sociedad Ibérica de Biomecánica y Biomateriales

Página web SIBB: <http://www.e-sibb.org>

Página web *Biomecánica*: <http://revistes.upc.edu/ojs/index.php/SIBB/>

Redacción:

Daniel Rodríguez Rius

Dpto. Ciencia de los Materiales e Ingeniería Metalúrgica

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial de Barcelona

Universidad Politécnica de Catalunya

Av. Diagonal 647, 08028 Barcelona

Fax: 93 401 67 06

Correo electrónico: daniel.rodriguez.rius@upc.edu

Especialidad:

Especialistas en traumatología, medicina deportiva, rehabilitación, ingeniería biomecánica y biomateriales.

Periodicidad: 1 número al año

Depósito legal: B: 9920-2006

ISSN-e: 1885-9518

ISSN: 1135-2205

BIOMECÁNICA

CONSEJO DE DIRECCIÓN

DIRECTOR

D. Rodríguez Rius

SECRETARIO DE REDACCIÓN

P. Puig Mir

COMITÉ CIENTÍFICO

ÁREA DE CIRUGÍA ORTOPÉDICA Y TRAUMATOLOGÍA

Coordinador: J. Valentí Ardanuy
M. Fernández Fairén
J. Usabiaga Zarranz
A. Carranza Bencano
L. Gómez Pellico

ÁREA DE BIOMECÁNICA DEPORTIVA

Coordinador: M. Gutierrez Dávila
A. García Fojeda
K. Gianikellis
R. Arellano Colomina
P. Vera Luna

ÁREA DE BIOMATERIALES

Coordinador: F.J. Gil Mur
E. Jorge Herrero
J. San Román del Barrio
J.J. Vázquez Solsona
F.J. Monteiro
M. Barbosa

JUNTA DIRECTIVA DE LA SIBB

Presidente:

† José Antonio Pedro de Moro

Presidente electo:

Daniel Rodríguez Rius

Tesorero:

Esteban Colell

Secretario:

Luis M. Rodríguez-Lorenzo

Presidente saliente:

Francisco Javier Rojas Ruiz

Director de la Revista:

Daniel Rodríguez Rius

Coordinadora Página Web:

Maria Pau Ginebra Molins

Vocales:

Antonio Viladot Voegli	Javier Gil Mur
M ^a Dolores Cabañas Armesilla	Julio San Román del Barrio
José Campos Granell	Adoración Villarroya Aparicio

Antiguos Presidentes:

Claudio Hernández Ros (1977-79)	Juan José Vázquez Solsona (1993-95)	Julio San Román del Barrio (2005-2008)
Justo Nieto Nieto (1980-82)	Francisco Biosca Estela (1995-97)	José Campos Granell (2008-2009)
Antonio Viladot Pericé (+) (1983-85)	M. Fernández-Fairén (1997-1999)	Antonio Viladot Voegli (2009-2011)
Luis García Font (+) (1986)	F. J. Gil Mur (1999-2001)	J.C. Rodríguez Cabello (2011-2013)
José Antonio Planell Estany (1987-90)	M. Gutierrez Dávila (2001-2003)	F. Javier Rojas Ruiz (2013-2015)
Luis Fernando Llanos Alcázar (1991-93)	J. Valentí Ardanuy (2003-2005)	José Antonio de Pedro Moro (2015-2016)

Antiguos Directores

Luis Fernando Llanos	Maria Pau Ginebra Molins	Josep Antón Planell
Francisco Forriol	José Carlos Rodríguez Cabello	C. Aparicio Bádenas

Normas editoriales

1. Información general

Biomecánica publica trabajos originales, estudios de investigación, temas de actualización y colaboraciones especiales del ámbito de la traumatología, medicina deportiva, rehabilitación, ingeniería biomecánica y biomateriales:

Correo electrónico: daniel.rodriguez.rius@upc.edu

Correo postal:

Daniel Rodríguez Rius
Departamento de Ciencia de los Materiales e Ingeniería Metalúrgica
Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial de Barcelona
Universitat Politècnica de Catalunya
Av. Diagonal 647, 08028 - Barcelona (España)

Los manuscritos deben ser originales y no estar pendientes a publicarse en otras revistas. *Biomecánica* no se hace responsable de la opinión o criterio de los autores. Se reserva el derecho de propiedad de los trabajos publicados, que no deben ser reproducidos sin su autorización.

2. Preparación de manuscritos.

General: Los manuscritos deben ser entregados en procesador de texto (preferentemente en Word), a doble espacio con márgenes amplios y tamaño de fuente entre los 10 y 12 puntos. Conviene evitar un uso excesivo de formatos ya que la mayoría de los ellos serán eliminados o reemplazados durante el procesamiento de su artículo. No utilice formatos automáticos de párrafo, tales como: justificación de texto, separación silábica, doble columna o enumeración de párrafos (especialmente para referencias numeradas). Sin embargo, se pueden utilizar formatos para las fuentes tales como negritas, cursivas, subíndices, superíndices, etc. Los editores se reservan el derecho de ajustar estilos con el fin de uniformar el formato. En la dirección de correspondencia debe especificarse claramente el destinatario, el número de fax y correo electrónico. También deberá anexarse la dirección postal completa de cada coautor. El estilo que se prefiere es: Apellido, Iniciales de Nombre, Departamento, Institución, Ciudad/Comunidad, Código Postal, País. Los autores deberán conservar copias de todas las versiones del manuscrito enviadas a la revista.

Resumen: Todos los manuscritos deben entregarse con un resumen de entre 100 y 200 palabras.

Palabras clave: Los autores deben proporcionar entre 4 y 6 palabras clave para propósitos de índice.

Tanto el resumen como las palabras clave deben enviarse en inglés y español o portugués.

Texto: Siga este orden al construir su manuscrito: Título, Autores, Afiliaciones, Resumen, Texto, Agradecimientos, Apéndice, Bibliografía, leyendas de las Figuras y después Tablas. Las Figuras y Tablas deben presentarse en hojas aparte. No importe o inserte sus Figuras o Tablas en el texto. El autor a quien debe dirigirse la correspondencia debe identificarse con un asterisco y una nota al pie de página.

Unidades: Para todos los datos científicos y de laboratorio presentados deberá usarse el Sistema Internacional.

Introducción: Deben presentarse brevemente los antecedentes y el estado presente del tema de estudio.

Materiales y Métodos: Deben detallarse los materiales, protocolos experimentales, técnicas usadas, métodos de evaluación, etc. Los modelos experimentales deben describirse en suficiente detalle para permitir a otros investigadores la reproducción de los resultados. Debe incluirse una completa referencia al tipo de análisis estadístico empleado.

Resultados: Su presentación debe ser clara y concisa. Se recomienda el empleo de tablas y figuras. Todos los resultados expuestos deben haber sido obtenidos de acuerdo a la metodología descrita en la sección de Materiales y Métodos.

Discusión: Los resultados obtenidos e información que los respalde deben explicarse y correlacionarse con aquellos reportados en la literatura. En este sentido, es necesaria una revisión bibliográfica adecuada. Debe subrayarse la importancia del estudio presentado y su proyección de futuro.

Conclusión: Deberá ser breve, haciendo énfasis en los aspectos originales más relevantes del estudio presentado.

Agradecimientos: Si fuesen necesarios, aparecerán después de las Conclusiones.

Bibliografía: Todas las publicaciones citadas en el texto deben presentarse en una lista de referencias bibliográficas después del mismo en el manuscrito. En el texto, para referirse a la bibliografía, indíquela con un número consecutivo entre corchetes según orden de aparición (Ej. Ya que Peterson[1]), y una referencia completa debe agregarse en la lista enumerada al final del escrito. La bibliografía debe seguir el siguiente formato:

1. Gough JE, Christian P, Scotchford CA, Rudd CD, Jones JA. Synthesis, degradation and in vitro cell responses of sodium phosphate glasses for craniofacial bone repair. *J Biomed Mater Res* 2002;59:481-489.
2. Nancollas H. In vitro studies of calcium phosphate crystallisation. In: Mann S, Webb J, Williams RJP, editors. *Biomaterialization. Chemical and biochemical perspectives*. New York: VCH, 1989. p. 157-182.
3. Brown W, Chow LC. Combinations of sparingly soluble calcium phosphates in slurries and paste as mineralizers and cements. *US Patent No.* 4612053, 1986.

Tablas y figuras: Todas las tablas y figuras deben enumerarse independientemente, con numeración arábiga.

Tablas: no deben duplicar los resultados presentados en algún otro lugar dentro del manuscrito (por ejemplo en figuras). Debe proporcionarse un título adecuado para cada tabla. Éste debe escribirse antes de la tabla. No debe utilizarse reglas verticales, y conviene evitar tablas excesivamente complejas.

Figuras: Es necesario presentar versiones electrónicas de las ilustraciones, que pueden ser enviadas en archivos .jpg o importadas a Word o PowerPoint. Las leyendas de las figuras deben proporcionarse en una página independiente, después de la bibliografía. En microfotografías debe aparecer una barra de escala.

3. Proceso editorial

Los manuscritos serán evaluados por revisores independientes seleccionados por el Consejo de Redacción y el Comité Científico de *Biomecánica*. En caso de que el manuscrito necesite correcciones, estas tendrán que enviarse a la revista en un periodo no mayor a dos meses después de haber sido notificadas al autor. Una vez este tiempo haya concluido, si no hay respuesta, el manuscrito se devolverá al autor y se descartará su publicación. Ningún manuscrito será aceptado hasta que no se hayan hecho las correcciones correspondientes.

4. Autorización de publicación

Los artículos publicados en *Biomecánica* se distribuirán también electrónicamente mediante su incorporación en un repositorio electrónico.

Estos artículos se publican a través de una licencia de uso Creative Commons que permita a los usuarios de la revista su reproducción, distribución y comunicación pública siempre y cuando no se modifique la obra original, no se haga para un uso comercial y se cite la fuente original.

La publicación de los artículos en esta revista implica la aceptación por parte de los autores de las condiciones expresadas.

En ningún caso esta aceptación implica una cesión en exclusiva de los derechos de explotación del autor sobre la obra publicada ni impide la explotación normal de la obra a través de las formas habituales.

BIOMECÁNICA

ÓRGANO DE LA SOCIEDAD IBÉRICA DE BIOMECÁNICA Y BIOMATERIALES

Volumen 24

2016

SUMARIO

6 **Comunicado de fallecimiento del presidente de la SIBB**

ORIGINALES

7 **Mochila y carro escolar: análisis cinemático usando distintas cargas
(Premio Congreso SIBB 2016)**

E. Orantes-González, J. Heredia-Jiménez

14 **Mechanical modulation of a human plasma based skin scaffold via
reactive multi-arm polyethylene glycols (Accésit Congreso SIBB 2016)**

R. Corrales, M. Sikorski, M. García, D. Velasco, J.L. Jorcano

24 **Efecto de la acción posterior a la recepción sobre la amortiguación de los saltos
verticales (Accésit Congreso SIBB 2016)**

M. Gutiérrez-Dávila, J. Olivares, D. Pancorbo, F.J. Rojas

32 **Sensor impedimétrico para la detección de bacterias patogénicas mediante
péptidos antimicrobianos (Accésit Congreso SIBB 2015)**

M. Hoyos-Nogués, S. Brosel-Oliu, N. Abramova, A. Bratov, C. Mas-Moruno, F.J. Gil

39 **Diseño y simulación de una articulación de rodilla para prótesis externa usando
herramientas CAD-CAE**

F. Valencia, F. Olmedo

55 **XL Congreso de la Sociedad Ibérica de Biomecánica y Biomateriales**

Comunicado del fallecimiento del Presidente de la SIBB



SOCIEDAD IBÉRICA DE BIOMECÁNICA Y BIOMATERIALES

UNIVERSIDAD DE GRANADA. DEPARTAMENTO DE EDUCACIÓN FÍSICA Y DEPORTIVA

Facultad de Ciencias del Deporte – Carretera de Alfacar s/n 18071 Granada



Estimados socios y simpatizantes de la SIBB:

Os escribo para comunicaros el fallecimiento de nuestro presidente Prof. D. José Antonio de Pedro Moro el Jueves 25 de Febrero del 2016. El entierro se efectuó el viernes 26 y la familia agradece las muestras de condolencia recibidas. La SIBB fue representada por los doctores Joan Valentí y Julio San Román. Desde esta nota queremos manifestar el profundo dolor que supone para la SIBB perder a uno de sus miembros más activos y representativos. Espero que os encontréis bien.

Un fuerte Abrazo.

Luis Rodríguez Lorenzo
Secretario de la SIBB

Mochila y carro escolar: análisis cinemático usando distintas cargas

Premio Congreso SIBB 2016

E. ORANTES-GONZÁLEZ, J. HEREDIA-JIMÉNEZ
Departamento Educación Física y Deportiva, Universidad de Granada

Resumen

Introducción. El uso de los carros escolares es cada vez mayor en niños de educación primaria. Para clarificar las recomendaciones entre carro y/o mochila, en este estudio se ha realizado un análisis cinemático transportando distintas cargas con ambas opciones de transporte.

Métodos. 14 sujetos fueron evaluados (9.6+1.8 años). Un sistema de captura de movimiento 3D fue utilizado para analizar la locomoción caminando sin carga, llevando una mochila y tirando del carro, ambas con el 10%, 15% y 20% peso corporal (BW) del sujeto. Los parámetros cinemáticos del tronco, pelvis, cadera y rodilla fueron analizados.

Resultados. El tronco aumentó la flexión conforme aumentaba el peso del carro y la mochila. La pelvis y cadera aumentaron su flexión caminando con la mochila cargada comparado con caminar sin carga. La cadera aumentó su aducción usando la mochila con el 10% y el 20% BW con respecto al uso del carro, y disminuyó los movimientos de rotación (20% BW). La rodilla no mostró diferencias en ninguno de los planos, tampoco la pelvis ni el tronco en los planos frontal y lateral.

Conclusiones. El uso del carro escolar requiere menos adaptaciones que la mochila con las mismas cargas y un comportamiento postural más próximo a caminar sin carga.

Palabras clave: Mochila de ruedas, cinemática, estudiantes, carga.

Abstract

Introduction. The use of school trolleys has increased in Elementary school students. To clarify recommendations about the use of trolleys and backpacks, this study compared the effects of carrying a backpack and pulling a trolley with different loads on gait kinematics.

Method. Fourteen students were evaluated (9.6 + 1.8 years). A 3D motion capture system was used to capture gait in the following conditions: walking without a school bag, carrying a backpack and pulling a trolley with 10%, 15% and 20% of their body weight (BW). 3D kinematics of the thorax, pelvis, hip and knee were computed.

Results. Thorax flexion increased as backpack and trolley loads were higher. The hip and the pelvis increased flexion while walking with a backpack compared to a no-load condition. The hip also increased adduction while carrying a backpack loaded with 10% and 20% BW compared to trolley conditions. Rotation movements decreased in the hip while carrying a backpack with 20% BW. The pelvis and the thorax did not show significant differences in frontal and lateral planes, while the knee did not show differences in any of the three planes analyzed.

Conclusions. Pulling a trolley resulted in shorter kinematic adaptations than carrying a backpack with the same loads and also, the gait was more similar to the baseline gait.

Keywords: Wheeled backpack, kinematic, students, load.

Correspondencia:

Eva Orantes González. Departamento Educación Física y Deportiva, Universidad de Granada,
Carretera de Alfacar s/n, Granada, 18011, España.
Email: maevor@ugr.es

Introducción

Los escolares diariamente usan una mochila o un carro escolar para transportar los libros y otros materiales escolares. Las recomendaciones en cuánto a peso de la mochila escolar oscilan entre el 10-20% del peso corporal (BW) del niño [1-3]. Aunque estas recomendaciones no son siempre respetadas tal y como han mostrado estudios previos: entre el 40% y el 72% de los escolares suelen cargar mochilas más pesadas del 15% BW [4-7].

Ante esta situación, el carro escolar surge como una alternativa a la mochila tradicional.

En estudios realizados anteriores a 2014 con muestra española, el carro era la opción elegida por entre el 31% y el 44% de los escolares [8-10]. En un estudio reciente se ha obtenido que los escolares usuarios de carro escolar suponen un 53.8% frente a los que prefieren usar la mochila, por lo tanto, el carro se muestra como la opción más utilizada en el rango de edad de 6 a 12 años [6].

Las ruedas que lleva implementadas el carro evita que la carga a transportar recaiga sobre la espalda de los escolares, como ocurre en el caso de la mochila. Esto podría generar una percepción de seguridad y cuidado de la espalda que hace que el 57% de los padres de los escolares consideren el carro como una opción que requiere menos esfuerzo y les resulta más cómodo para sus hijos [8]. En contra, el uso del carro escolar conlleva un esfuerzo asimétrico. Además los usuarios de carro transportan entre un 6% y un 30% más peso que la mochila [6,7]. Probablemente esta diferencia de peso se deba a la propia estructura del carro con las ruedas, que lo haga de por sí, más pesado que la mochila. Por otro lado, cuándo debemos salvar un obstáculo con el carro, como por ejemplo son las escaleras, conlleva un incremento de la carga asimétrica sobre el escolar al transportarlo sobre un solo hombro [11].

En relación al análisis de los aspectos posturales, la mayoría de estudios han obtenido que transportar una mochila cargada con un peso de entre el 10-20% BW produce principalmente un aumento de la flexión de los segmentos proximales (tronco y pelvis) para

compensar la carga que es soportada sobre la espalda [12-17]. En los segmentos distales (tobillo y rodilla) los cambios producidos como consecuencia de transportar una mochila cargada han estado menos marcados que los producidos en los segmentos proximales [18]. En el caso del carro, su uso ha estado relacionado con un aumento de la flexión de la cadera y de la pelvis cuando se transporta el 20% BW [19]. Además, el carro escolar se ha considerado una buena opción para los escolares cuando su peso oscila entre el 10-15% BW [19].

Otros estudios previos también han analizado por separado los efectos de transportar un carro o una mochila. De esta forma, Schmidt y Docherty [20] usando un diseño entre-grupo, recomendaron hacer mayor hincapié en el uso de la mochila con una carga recomendada en lugar de usar un carro escolar. Por el contrario, en un reciente estudio se concluyó que el uso del carro escolar con el 15% BW puede ser considerado una opción segura para los escolares [17,19]. Dada la importante presencia que supone el uso del carro escolar, este estudio pretende analizar las principales adaptaciones posturales que se producen llevando un carro y una mochila con distintas cargas.

Materiales y Métodos

Participantes

Catorce escolares de educación primaria (8 niñas y 6 niños) fueron analizados. La media de edad obtenida fue 9.6 ± 1.8 años, la altura media 1.5 ± 0.1 m y el peso medio 39.9 ± 12.3 kg. Todos ellos participaron de forma voluntaria en el estudio. Además el 50% de ellos usaban diariamente el carro, y el otro 50% prefería usar la mochila. Como criterios de exclusión se consideró padecer cualquier problema traumatológico o neurológico que impidiera transportar caminando una mochila o un carro escolar. Los padres/madres o tutores legales de los sujetos firmaron un consentimiento informado. El Comité de Ética de la Universidad de Granada aprobó este estudio.

Protocolo

En primer lugar, los sujetos fueron me-

didados y pesados en un tallímetro y báscula (SECA769, Hamburgo, Alemania). Una vez completada esta parte, se procedió a la colocación de los marcadores reflectantes (figura 1) siguiendo el modelo CAST y que ha sido validado en un estudio previo [21]. Los marcadores epidérmicos fueron colocados según se detalla en la figura 1.

Un sistema de captura del movimiento 3D con 9 cámaras grabando a 250 Hz (Qualisys AB, Göteborg, Suecia) fue colocado en la zona central de un pasillo de locomoción de 15 metros para evitar la fase de aceleración y desaceleración de los sujetos en cada una de las condiciones. Tras una fase de familiarización, cada uno de los sujetos caminaron du-

rante 1 minuto en las siguientes condiciones experimentales: caminando sin mochila ni carro (considerada como condición “control”), llevando una mochila con las 2 asas sobre la espalda y tirando de un carro escolar, ambos con las siguientes cargas: 10%, 15% y 20% BW. Las condiciones fueron aleatorizadas y se consideró 3 minutos de descanso entre cada condición para evitar la aparición de fatiga.

La mochila se colocó sobre los dos hombros y con una posición centrada en la espalda. En el caso del carro, los sujetos utilizaban la mano dominante para tirar del mismo (en todos casos fue la derecha). Para conseguir el porcentaje de carga pretendido, se utilizaron libros con distintos pesos, colocando los

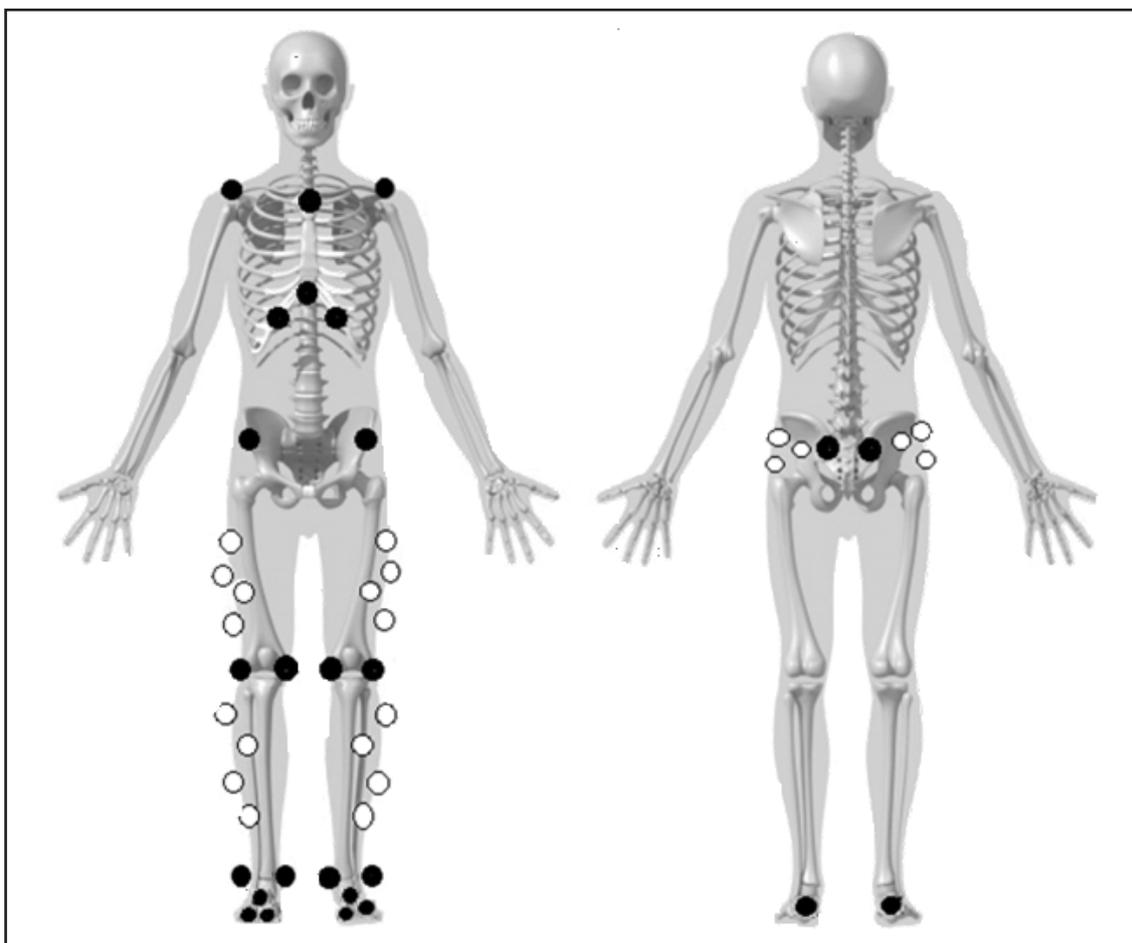


Figura 1. Representación del modelo de marcadores utilizado. Marcadores blancos: clusters utilizados. Marcadores negros: marcadores situados en los puntos acromiocraviculares, punto medio interclavicular, punto inferior del esternón, cartílago costal 7ª costilla, espina iliaca superior anterior y posterior, epicóndilo femoral medial y lateral, maléolo medial y lateral, 1ª y 5ª cabeza del metatarso, 2ª articulación metatarso-falángica y prominencia mayor posterior del calcáneo. Figura adaptada de “Marker Set Guidelines”, C-Motion’s Visual3D biomechanics research software.

más pesados siempre en la zona interna de la mochila/carro. El software Visual 3D v.5 (C-Motion Inc., Germantown, EE.UU.) fue utilizado para obtener las variables cinemáticas de la locomoción en cada una de las condiciones.

Variables analizadas

Se obtuvieron la media y desviación típica medida en grados de los movimientos en el plano sagital (flexión-extensión), plano frontal (aducción-abducción) y plano transversal (rotación interna-externa), de los siguientes segmentos corporales: tronco, cadera, pelvis y rodilla. El tronco fue analizado como el ángulo formado por el segmento tórax y la cadera, la cadera como el ángulo formado por la pelvis y el fémur, la pelvis fue analizada con respecto al sistema de referencia global del laboratorio, y finalmente la rodilla, que fue analizada como el ángulo formado por el fémur y la tibia. Todas las variables fueron relativizadas considerando un ciclo de marcha como el 100%, y se usó la media de los ciclos derechos e izquierdos registrados.

Análisis estadístico

El software SPSS v.23 (SPSS Inc, Chicago, Illinois) fue utilizado para el análisis de los

datos. Se realizó un análisis de la normalidad usando el test de Shapiro-Wilks, y se midió la esfericidad de los datos mediante el test de Mauchly. Para comparar las distintas condiciones de carga, un ANOVA de medidas repetidas fue aplicado. En todos los test aplicados, el nivel de significación fue $p < 0.05$.

Resultados

Los movimientos obtenidos en el plano sagital del tronco, pelvis y cadera se muestran en la Figura 2.

En el plano frontal solo la cadera mostró un aumento significativo de su aducción entre la condición mochila 10% BW comparado con el carro 10% BW ($p < 0.05$), y también entre mochila 20% BW y carro 20% BW ($p < 0.05$). En el plano transversal, la cadera fue nuevamente la única afectada por las distintas condiciones de carga, obteniendo una disminución significativa de la rotación comparando la condición control con el 20% BW usando mochila ($p < 0.05$) (Tabla 1). La rodilla no mostró diferencias significativas en ninguno de los planos analizados (Tabla 1).

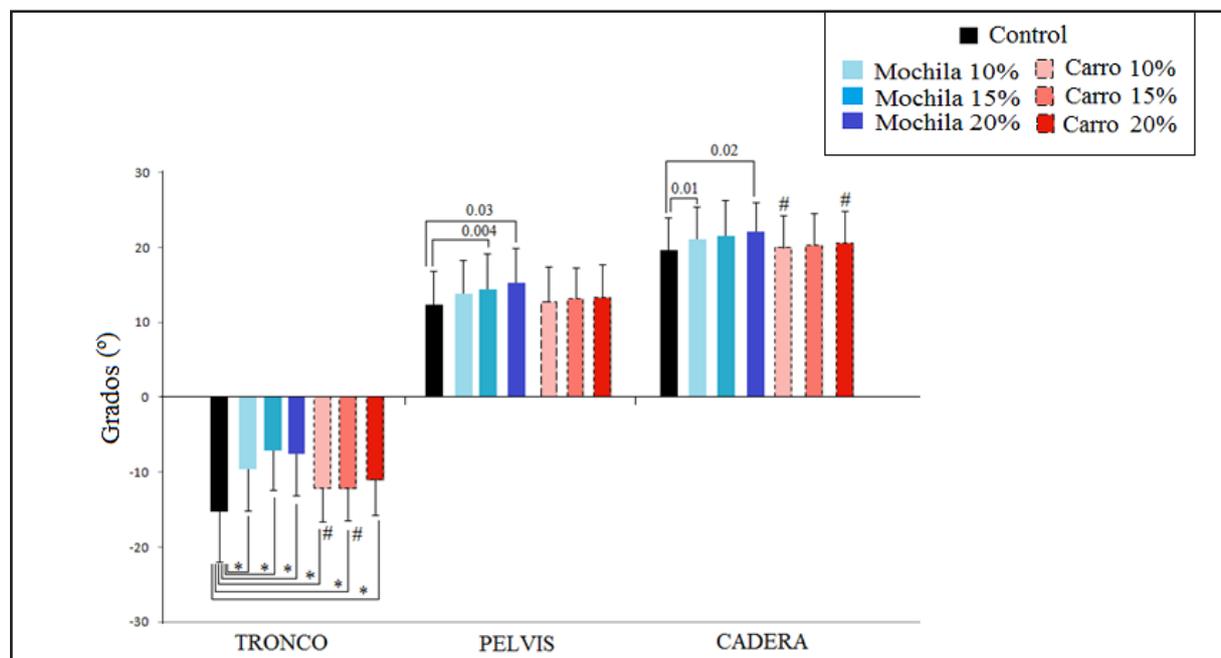


Figura 2. Movimientos en el plano sagital del tronco, pelvis y cadera. Valores positivos indican flexión, valores negativos extensión. *: $p < 0.001$; #: $p < 0.05$ comparando mochila-carro con la misma carga.

Discusión

En este estudio se han analizado las principales adaptaciones posturales del tronco, cadera, pelvis y rodilla utilizando las dos formas de transporte de material escolar preferido por los estudiantes: usando una mochila y usando un carro escolar. Además se han analizado las cargas usadas por la mayor parte de estudios científicos previos relacionados con el tema: 10%, 15% y 20% BW del sujeto [13,22–24].

Una de las principales adaptaciones obtenidas en este estudio ha sido el aumento de la flexión del tronco, tanto llevando la mochila con las distintas cargas, como usando el carro. Esta flexión del tronco ha estado previamente relacionada con una adaptación para compensar el peso transportado sobre la espalda usando la mochila [24–26] y también con el uso del carro [17,19]. La menor flexión del tronco necesaria cuando se utilizó el carro en comparación con la mochila, puede deberse al hecho de

		Condiciones experimentales					
Parámetros cinemáticos (grados)	Control	Mochila			Carro escolar		
		10%	15%	20%	10%	15%	20%
Tronco							
Flexión (+) /extensión (-)	-15.1 (5.9)	-9.5 (5.7)	-7.0 (6.2)	-7.4 (6.8)	-12.2 (5.7)	-12.1 (5.4)	-10.9 (5.7)
Aducción(+) /abducción (-)	-0.01 (0.5)	-0.07 (0.5)	0.03 (0.4)	-0.02(0.3)	0.01 (0.4)	0.01 (0.5)	0.1 (0.4)
Rotación interna (+) /externa (-)	0.1 (0.6)	-0.2 (0.8)	-0.04 (0.5)	0.1 (0.8)	0.1 (1.7)	0.6 (2.5)	0.7 (2.5)
Pelvis							
Flexión (+) /extensión (-)	12.4 (4.5)	13.7 (4.6)	14.4 (4.7)	15.3 (4.7)	12.8 (4.6)	13.1 (4.3)	13.3 (4.5)
Aducción(+) /abducción (-)	-0.02 (0.5)	0.04 (0.5)	-0.07 (0.5)	-0.2 (0.6)	-0.01 (0.4)	-0.01 (0.5)	-0.1 (0.5)
Rotación interna (+) /externa (-)	-0.5 (1.6)	-0.5 (2.1)	-0.2 (1.3)	-0.5(2.0)	-0.2(1.4)	-0.3 (1.6)	-0.3 (1.2)
Cadera							
Flexión (+) /extensión (-)	19.6 (4.3)	21.1 (4.3)	21.5 (4.8)	22.2 (3.8)	19.9 (4.3)	20.2 (4.3)	20.6 (4.2)
Aducción(+) /abducción (-)	1.9 (1.6)	2.8 (1.5)	2.8 (1.5)	2.8 (1.6)	1.9 (1.6)	2.1 (1.4)	1.8 (1.5)
Rotación interna (+) /externa (-)	1.0 (5.9)	-0.2 (5.8)	0.1 (5.2)	-0.4 (5.4)	0.7 (5.8)	0.5 (6.1)	0.6 (5.8)
Rodilla							
Flexión (+) /extensión (-)	25.1 (3.8)	25.4 (4.3)	25.3 (4.9)	25.1 (3.7)	25.2 (3.8)	25.1 (4.3)	25.4 (4.0)
Aducción(+) /abducción (-)	-1.9 (2.5)	-1.8 (2.7)	-1.9 (2.7)	-1.9 (2.5)	-1.7 (2.7)	-1.9 (2.6)	-1.8 (2.6)
Rotación interna (+) /externa (-)	-13.1 (10.7)	-13.1 (10.5)	-12.6 (10.1)	-12.5 (10.1)	-13.3 (10.5)	-13.4 (10.6)	-12.8 (10.6)

Tabla 1. Plano sagital, frontal y transversal en cada una de las condiciones experimentales. Los datos son expresados como media (desviación estandar).

que gracias a las ruedas del carro los escolares no tienen que soportar el peso sobre su propia espalda. El aumento de la flexión del tronco podría provocar un aumento de la presión de los discos intervertebrales según reflejan estudios previos [27,28], y constituye además, uno de los factores identificados como predictores de dolor musculoesquelético en niños [29].

En el plano sagital, la cadera y la pelvis también mostraron un aumento de la flexión conforme la carga de la mochila aumentaba, tal y como se mostró en estudios previos [12,18], mientras que en el caso del carro, ningún tipo de adaptaciones significativas fueron obtenidas en comparación con la locomoción normal. Esta diferencia de resultados obtenidos con el uso de la mochila y el carro podría deberse a que la cadera es una articulación especialmente importante para la propulsión y el frenado cuando caminamos [18]. Por ello, un aumento del peso de la mochila produciría un requerimiento mayor de dicha articulación, mientras que con el uso del carro, al no tener que soportar esa carga sobre la espalda, las necesidades de propulsión y frenado no aumentan con respecto a la locomoción normal.

Con respecto a los resultados obtenidos en el plano frontal y transversal, la cadera mostró un aumento de los movimientos de aducción usando el carro con el 10% y 20% comparado con el uso de la mochila con esas mismas cargas, y también una disminución de los movimientos de rotación llevando la mochila con el 20% BW comparado con la locomoción sin carga. En el caso del carro no se obtuvieron diferencias en ninguno de los movimientos frontales ni transversales de los segmentos analizados, a pesar de que supone una carga asimétrica.

La mayoría de literatura científica previa recomienda la mochila cuando las condiciones de carga están dentro de los límites establecidos (10-15% BW), quedando el carro relegado a situaciones en las que los escolares transportan mucha cantidad de peso [1], o directamente se ha rechazado su uso [20]. En este estudio, el uso del carro ha provocado una menor adaptación postural que el uso de la mochila, y en los casos en los que ha sido ne-

cesaria alguna adaptación, estas han sido menos significativas que las producidas usando la mochila. Además, los resultados obtenidos ponen de manifiesto que incluso cuando se transportan cargas más ligeras, como el 10% y el 15% BW, el carro escolar puede suponer una mejor opción que el uso de la mochila debido a que permite un comportamiento muy próximo a la locomoción sin carga, y necesita de muy pocas adaptaciones posturales.

Destacar que los resultados obtenidos con este estudio permiten considerar al carro escolar una buena opción para que sea usado por escolares de educación primaria siempre que su peso esté entre el 10 y el 20% BW. Habría que destacar algunas situaciones en las que el carro necesita ser objeto de estudio, como por ejemplo ante la presencia de obstáculos, como escaleras o superficies con desniveles, donde la doble opción del carro [usarlo tirando o con las asas colgado sobre los hombros], permitiría que el escolar lo pudiera transportar como una mochila tradicional, hasta que se profundice en un mayor análisis del carro en estas situaciones. A pesar de estas limitaciones, el uso del carro proveería de una mayor ventaja en situaciones estáticas en bipedestación, que cargando la mochila en la espalda, donde el uso del carro evita que el peso de los materiales escolares recaiga sobre su espalda (por ejemplo mientras espera el autobús, permanece de pie en la fila o sale del colegio).

Conclusión

El uso del carro escolar requiere de menor número de adaptaciones posturales que el uso de la mochila usando la misma carga, y además, en las situaciones que lo requería, estas fueron de menor magnitud. Por tanto, el carro escolar podría ser también una opción para los escolares de Educación Primaria.

Agradecimientos

A todos los padres y escolares que han formado parte de este trabajo. El trabajo de Orantes-Gonzalez ha sido financiado por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte (FPU13/00162).

Referencias

1. **American Academy of Pediatrics.** Back to School Tips; 2016. Disponible en: <https://www.aap.org/>. Citado el 15 de Diciembre de 2016.
2. **American Occupational Therapy Association.** 1, 2, 3's of Basic Backpack Wearing; 2014. Disponible en: <http://www.aota.org>. Citado el 15 de Diciembre de 2016.
3. **American Physical Therapy Association.** Backpack Safety - MoveForward; 2016. Disponible en: <http://www.apta.com>. Citado el 15 de Diciembre de 2016.
4. **Al-Saleem SA, Ali A, Ali SI, Alshamrani AA, Almulhem AM.** A Study of School Bag Weight and Back Pain among Primary School Children in Al-Ahsa, Saudi Arabia. *Epidemiology* 2016; 6:2161-2165.
5. **Fadhil FH.** Low back pain in schoolchildren: the role of school bag weight and carrying way. *J Nat Sci Res* 2013; 3.
6. **Orantes-Gonzalez E, Heredia-Jimenez J.** La mochila escolar en Educación Primaria: hábitos, dolor de espalda y calidad de vida. *Actas XXXIX Congreso de la Sociedad Ibérica de Biomecánica y Biomateriales.* León; 2016:55.
7. **Pau M, Pau M.** Postural sway modifications induced by backpack carriage in primary school children: a case study in Italy. *Ergonomics* 2010; 53: 872-881.
8. **Bort N, Pitarch A.** Carritos o mochilas en la edad escolar. *Fisioterapia* 2002; 24: 63-72.
9. **Garrido MSF, González MJL, Muñoz MM, García FP, Espinosa MR, Mora VJ.** Hábitos de transporte de las mochilas escolares y relación con el dolor de espalda en nuestro medio. *Vox Paediatrica* 2011; 18: 24-29.
10. **Ortega FZ, Sanchez MF, García RF, Schyke CEJ, Morales LZ.** Predictors of scoliosis in school-aged children. *Gac Med Mex* 2014; 150: 524-530.
11. **Pau M, Leban B, Paderi M, Nussbaum MA.** Characterization of Pulling Forces Exerted by Primary School Children While Carrying Trolley Bags. *Proc Hum Factors Ergon Soc Annu Meet* 2013;57:501-505.
12. **Devroey C, Jonkers I, de Becker A, Lenaerts G, Spaepen A.** Evaluation of the effect of backpack load and position during standing and walking using biomechanical, physiological and subjective measures. *Ergonomics* 2007; 50: 728-742.
13. **Singh T, Koh M.** Effects of backpack load position on spatiotemporal parameters and trunk forward lean. *Gait Posture.* 2009;29:49-53.
14. **Yen SC, Ling W, Magill R, McDonough A, Gutierrez GM.** Temporal relationship between trunk and thigh contributes to balance control in load carriage walking. *Gait Posture.* 2011;34:402-8.
15. **Smith B, Ashton KM, Bohl D, Clark RC, Metheny JB, Klassen S.** Influence of carrying a backpack on pelvic tilt, rotation, and obliquity in female college students. *Gait Posture.* 2006;23:263-7.
16. **Hyung EJ, Lee HO, Kwon YJ.** Influence of load and carrying method on gait, specifically pelvic movement. *J Phys Ther Sci* 2016;28:2059-62.
17. **Orantes-Gonzalez E, Heredia-Jimenez J, Benneck GJ.** Children require less gait kinematic adaptations to pull a trolley than to carry a backpack. *Gait Posture* 2017; 52:189-193.
18. **Chow DHK, Kwok MLY, Au-Yang ACK, Holmes AD, Cheng JCY, Yao FYD, Wong MS.** The effect of backpack load on the gait of normal adolescent girls. *Ergonomics* 2005; 48: 642-656.
19. **Orantes-gonzalez E, Heredia-jimenez J.** Pulling a school trolley with different loads: A kinematic analysis in children. *Gait Posture* 2016;49:203-4.
20. **Schmidt J, Docherty S.** Comparison of the posture of school children carrying backpacks versus pulling them on trolleys. *Clin Chiropr* 2010;13(4):253-60.
21. **Heredia-Jimenez J, Orantes-Gonzalez E.** Definición de un modelo de marcadores epidérmicos de tórax-pelvis para la evaluación de la locomoción con mochila. *Actas del XXXIX Congreso de la Sociedad Ibérica de Biomecánica y Biomateriales.* León; 2016: 49.
22. **Orantes-Gonzalez E, Heredia-Jimenez J, Soto-Hermoso VM.** The effect of school trolley load on spatiotemporal gait parameters of children. *Gait Posture* 2015;42: 390-93.
23. **Hong Y, Li JX.** Influence of load and carrying methods on gait phase and ground reactions in children's stair walking. *Gait Posture* 2005;22(1):63-8.
24. **Hong YL, Cheung CK.** Gait and posture responses to backpack load during level walking in children. *Gait Posture* 2003;17(1):28-33.
25. **Yen S-C, Ling W, Magill R, McDonough A, Gutierrez GM.** Temporal relationship between trunk and thigh contributes to balance control in load carriage walking. *Gait Posture* 2011;34:402-8.
26. **Li JX, Hong Y.** Age difference in trunk kinematics during walking with different backpack weights in 6- to 12-year-old children. *Res Sport Med an Int J* 2004;135-42.
27. **Rohlmant A, Claes LE, Bergmann G, Graichen F, Neef P, Wilke HJ.** Comparison of intradiscal pressures and spinal fixator loads for different body positions and exercises. *Ergonomics* 2001;44(8):781-94.
28. **Wilke HJ, Neef P, Caimi M, Hoogland T, Claes LE.** New in vivo measurements of pressures in the intervertebral disc in daily life. *Spine* 1999;24(8):755-62.
29. **Grimmer K, Dansie B, Milanese S, Pirunsan U, Trott P.** Adolescent standing postural response to backpack loads: a randomised controlled experimental study. *BMC Musculoskelet Disord* 2002;3:10.

Mechanical modulation of a human plasma based skin scaffold via reactive multi-arm polyethylene glycols

Accesit Congreso SIBB 2016

R. CORRALES^{1*}, M. SIKORSKI^{1*}, M. GARCÍA^{1,2,3}, D. VELASCO^{1,2}, J.L. JORCANO^{1,3}

¹Department of Bioengineering and Aerospace, Universidad Carlos III de Madrid (UC3M), Spain

²Instituto de Investigación Sanitaria de la Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain

³Division of Epithelial Biomedicine, CIEMAT-CIBERER, Madrid, Spain

*These authors contributed equally

Abstract

Autologous human plasma-based dermo-epidermal skin equivalents have been designed over the past decade to treat burns and surgical wounds; however, poor mechanical properties including fragility during handling, and shrinking during culture and implantation persist and demand creative solutions. This article investigates the mechanical modulation of human plasma-based skin scaffolds with the introduction of an interpenetrating biodegradable polyethylene glycol (PEG) network composed of 4-arm succinimidyl glutarate terminated PEG (4SG-PEG) and 4-arm amine terminated PEG (4A-PEG), each with a molecular weight of 10 kDa. The physical properties of the PEG-fibrin network hydrogels were characterized via gelation time, temporal mass swelling, and protein release. Additionally, viability of primary human fibroblasts (hFBs) and keratinocytes (hKCs) was assessed by Alamar Blue and MTS assays, respectively. The results obtained suggested that the incorporation of reactive multi-arm PEGs as an interpenetrating biodegradable PEG network modulated the physical behaviour by inducing swelling and increasing scaffold strength without significantly decreasing cell viability. These results warrant further investigation into this platform as an approach to influence skin scaffold properties.

Keywords: Scaffold, skin engineering, biosynthetic hydrogel, human plasma, fibrin hydrogel, 4-arm polyethylene glycol (PEG)

Resumen

Equivalentes dermo-epidérmicos basados en plasma humano autólogo han sido diseñados a lo largo de la última década con el objetivo de tratar quemaduras y heridas quirúrgicas; aun así, las malas propiedades mecánicas como son la fragilidad o la contracción durante el cultivo y la implantación persisten y requieren soluciones. Este artículo investiga la modulación mecánica de equivalentes dermo-epidérmicos basados en plasma humano mediante la introducción de una red tridimensional (3D) polimérica interpenetrante y biodegradable compuesta por polietilenglicol tetra-glutarato de succinimidil (4SG-PEG) y polietilenglicol tetra-amino (4A-PEG), con pesos moleculares de 10kDa. Las propiedades físicas de estos hidrogeles de fibrina y PEG fueron caracterizadas mediante la cuantificación de grupos aminos libres, el tiempo de gelificación, el hinchamiento de forma temporal y la liberación de proteínas. Además, la viabilidad de fibroblastos y queratinocitos primarios humanos fueron estudiadas mediante los ensayos Alamar Blue y MTS respectivamente. Los resultados obtenidos sugieren que mediante la introducción de una red interpenetrante basada en PEG y fibrina, las propiedades mecánicas de los geles de fibrina fueron moduladas positivamente, sin disminuir significativamente la viabilidad celular. Estos resultados prometen futuras investigaciones para mejorar las propiedades mecánicas de estos equivalentes dermo-epidérmicos.

Palabras clave: scaffold, ingeniería de tejidos, hidrogeles biosintéticos, plasma humano, hidrogel de fibrina, polietilenglicol

Correspondencia:

Diego Velasco y José Luis Jorcano.

E-mail: divelasc@ing.uc3m.es, jjorcano@ing.uc3m.es

Introduction

Patients with skin injuries caused by burns, chronic ulcers, infections, cancer surgery, and other genetic and somatic diseases require effective treatment to prevent morbidity or mortality. Autologous skin grafts are the standard of treatment for severe and extensive burns, and have been used in patients with sufficient healthy tissue to cover the wound (1,2). When 50% to 60% of the patient's body surface area is damaged, not enough skin is available to autograft, and other treatments are considered (3-5). Grafts from other patients, known as allografts can be used as temporary or permanent wound covers to avoid dehydration and infections. The major disadvantage regarding allografts is that when they become vascularized the immunogenic epithelial cells may trigger the immune response of the host and the graft could be rejected (6). Another alternative is the use of cultured autologous epithelial autografts (CEA) but their results are far from ideal since they are limited by the fragility and difficulty of handling, unpredictable take rate and sensitivity to mechanical shearing forces for at least two months post grafting (7).

In response to these limitations, new approaches for skin engineering have been tested and developed in recent years. These advances have led to the development of more sophisticated laboratory-grown skin substitutes containing dermal and epidermal components that interact dynamically with each other during *in vitro* maturation and further after transplantation (8,9). Over the past decade, our group has generated a human plasma-based autologous bilayered (including dermis and epidermis) skin model to treat burns and surgical wounds yielding good clinical results (10,11). However, these plasma-derived fibrin hydrogels suffer from shrinking during transport, fragility, and high degradation rates caused by poor mechanical properties. The combination of plasma-derived fibrin with other synthetic and natural polymers has been considered for improving the hydrogel mechanical properties without compromising biocompatibility (12-14).

One of the most widely investigated polymers is polyethylene glycol (PEG) due to its unique properties, such as solubility in both water and organic solvents, nontoxicity, low protein adhesion and nonimmunogenicity (15). It is synthesized in a wide range of molecular weights, and has the ability to attach to a variety of reactive functional groups such as carboxyl, thiol and acrylate, or to other molecules or bioactive agents through its terminal alcohol group, which greatly increase applications of PEG (16,17). Multi-arm PEG derivatives such as 4-arm PEGs and star PEGs are also prepared and commonly employed in the formation of hydrogels for various applications such as controlled drug release (18,19), wound healing (20), tissue sealing (21,22) and cell encapsulation (23). In addition, amine reactive multi-arm PEG platforms have previously been investigated as tissue adhesives, surgical sealants, and hemostatic agents, and have demonstrated excellent strength as network gels (21, 24). The described research project aimed to improve the mechanical properties of these scaffolds by using two synthetic PEGs: amine reactive succinimidyl glutarate terminated 4-arm PEG (4SG-PEG) and amine terminated 4-arm PEG (4A-PEG), which react covalently with fibrinogen, plasma proteins, and each other to form a PEG-fibrin network hydrogel.

Materials and methods

Materials

Fresh frozen human plasma was provided by voluntary donors of the Centro Comunitario de Tejidos del Principado de Asturias (CCST) and was obtained according to the standards of the American Association of Blood Banks (25). Tranexamic acid (Amchafibrin, Fides- Ecopharma) was used as received. Sodium chloride (NaCl), calcium chloride (CaCl₂), phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.4), and bovine serum albumin (BSA) were purchased from Sigma-Aldrich. 4-arm polyethylene glycol succinimidyl glutarate (4SG-PEG, MW 10,000) and 4-arm polyethylene glycol propylamine (4A-PEG, MW 10,000) were purchased from JenKem Technology Co. and NOF America Corporation, respectively.

Methods

Plasma-PEG hydrogel preparation

Plasma-derived fibrin hydrogels (without PEG) were prepared following the protocol created by Llames et al. (10). This protocol was modified to incorporate a PEG network composed of 4SG-PEG and 4A-PEG in a 1:1 molar ratio with concentrations between 0.125 and 1% (w/v) of total PEG in the plasma hydrogels (Table 1), while final concentration of fibrinogen, tranexamic acid and CaCl_2 were kept constant at 0.12%, 0.008 % and 0.08% (w/v) respectively.

In order to prepare 2.046mL of hydrogel solution, 20.46mg of 4SG-PEG and 4A-PEG

were weighted, and plasma was thawed at 37°C. A volume of 994 μl of plasma was introduced in a 15mL falcon, followed by 16 μl of tranexamic acid (amchafibrin). Next, the 20.46mg of 4A-PEG were dissolved in 600 μl of 0.9% NaCl. From this volume, 300 μl was added to the plasma solution, plus another 272 μl of NaCl. In a separate eppendorf, 164 μl of 1% CaCl_2 was added. The 20.46mg of 4SG-PEG were dissolved in 600 μl of NaCl, from which 300 μl were added to the CaCl_2 . The eppendorf solution was then added to the falcon solution, vortexed and divided into three equal gels of 682 μl each in 19mm vials. In this way, 1% w/v gels were created (Figure 1).

Abbreviation	4SG-PEG content (% w/v)	4A-PEG content (% w/v)	4SG-PEG : 4A-PEG Weight Ratio
0.125% PEG	0.0625%	0.0625%	1:1
0.25% PEG	0.125%	0.125%	1:1
0.5% PEG	0.25%	0.25%	1:1
1% PEG	0.5%	0.5%	1:1

Table 1. Different tested gel compositions, showing total 4SG-PEG and 4A-PEG content in each plasma-PEG hydrogel.

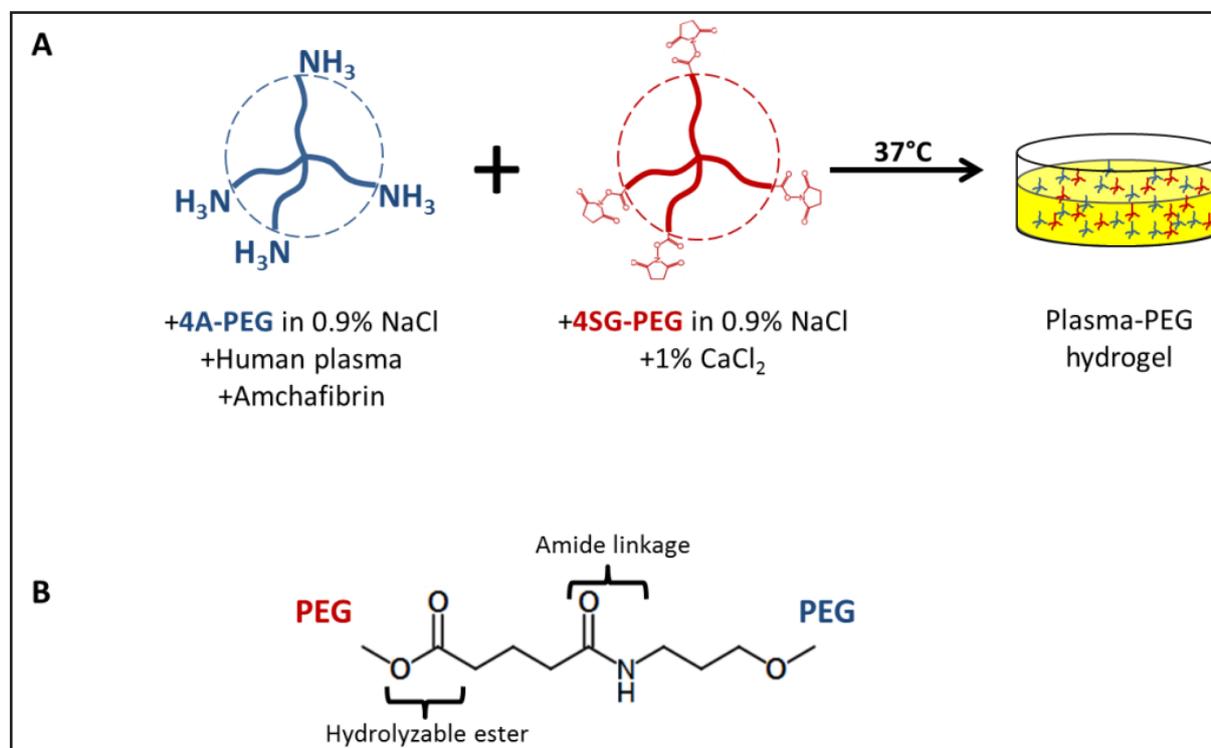


Figure 1. A. Schematic of plasma-PEG gel synthesis. 4A-PEG is dissolved in 0.9% NaCl and combined with human plasma and amchafibrin. Separately, 4SG-PEG is dissolved in 0.9% NaCl and further added to 1% CaCl_2 . Both solutions are combined, and left undisturbed at 37°C until polymerization occurs. B. Schematic of the reaction between 4A-PEG and 4SG-PEG.

The remaining 4A-PEG and 4SG-PEG solutions were diluted by half by adding another 300µl of NaCl, and the same protocol was followed, creating 0.5% w/v PEG gels. The same dilution procedure was carried out to create 0.25% and 0.125% w/v plasma PEG hydrogels. Gel solutions were vortexed between each addition. Gels were incubated in a 37°C oven with 5% CO₂ until gelation occurred.

Gelation Time

Formation of gels and gelation times were confirmed by inversion of the vial. Once the gels were prepared, they were placed in an incubator at 37°C, and gelation was checked every 30 seconds by slightly tilting the vial. The experiments were performed in triplicate.

Swelling studies

Gels were detached from the vials and transferred to a P35 tissue culture plate (Corning). Excess liquid was removed by micropipette aspiration, and mass was recorded. Swelling measurements were taken at different time points: 0, 1, 2, 4, 6, 24, 48 and 72 hours, followed by 10 days and 17 days. After each time point, gels were covered in 3mL 1XPBS and they were placed in the incubator at 37°C until the next measurement. Swelling ratio was computed with the equation:

$$SR = \frac{M_s - M_i}{M_i} \quad (i)$$

Where M_s is the mass of the swollen gel, M_p is the mass of the P35 petri dish and M_i is the initial mass of the gel.

Bradford Assay

The Bradford protein assay (Bio-Rad Protein Assay, Bio-Rad) was performed at time points: 1, 2, 4, 6, 24, and 48 hours, in order to quantify the amount of protein release from gels. At every time point, a sample of 20µL of 1XPBS from each gel was taken and added to 780µL of fresh 1XPBS. Finally, 200µL of Bradford reagent was added. A standard curve of bovine serum albumin (BSA) was carried out to determine the protein content. Absorbance was measured with Biowave II (Bio-

chrom) spectrophotometer at 695nm. This assay was performed simultaneously with the swelling study.

Embedded Human Fibroblast Viability

Primary human fibroblasts (hFBs) were embedded and their viability was quantified. Cells were routinely grown in Dubecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (Sigma Aldrich, Ireland) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) and 1% Penicillin/Streptomycin (P/S). This medium was changed every 3 days, and cells were maintained at 37°C, 5% CO₂.

The plasma-PEG gel preparation protocol was slightly modified in order to encapsulate hFBs in the hydrogels. First of all, medium was removed from plated hFBs, which were then detached using 1mL of Trypsin (Sigma Aldrich). 5mL of DMEM10 was added, and cells were centrifuged. A small volume of NaCl was then used to incorporate the cells in the gels. A 96 well plate was used to prepare the gels, which had a volume of 75µl each and 6,000 hFBs. One hour after the gels had been prepared, 100µl of culture media DMEM10 were added to each well, and left undisturbed for 20 hours in a 37°C, 5% CO₂ oven.

hFBs metabolic activity was quantified by Alamar Blue assay at days 1, 7, 14 and 21. At each time point, a 3mL stock solution with 2700µl DMEM10 and 300µl of Alamar Blue (Thermo Fisher Scientific) reagent was prepared. Culture medium was removed from the gels and they were then covered with 100µl of the new medium containing Alamar Blue reagent, and incubated (37°C, 5% CO₂) for 3 hours. After incubation, 75µl of media from each sample was transferred to another 96-well plate, and fluorescence was measured at 530nm with Synergy HTX multimode reader (BioTek).

Primary Human Keratinocyte Viability

For this study, primary human keratinocytes (hKCs) were used. Cells were routinely grown in CNT57 medium, (CELLnTEC). This medium was changed every 3 days, and cells were maintained at 37°C, 5% CO₂.

Plasma-PEG gel samples of 75µl each were prepared for all compositions on a 96 well

plate, following the protocol previously described. They were then covered with 100 μ l of DMEM10 for 4 hours, allowing excess CaCl₂ to leech out from the gel, in order to avoid hKCs differentiation. Meanwhile, CNT57 medium was removed from the plated hKCs, which were then detached using 1mL of Trypsin (Sigma Aldrich). A volume of 5mL of CNT57 media was added and the solution was further centrifuged. The medium covering the gels was removed, and 10,000 hKCs were added to each well in 100 μ l of CNT57 media. Gels were left undisturbed in a 37°C incubator for 3 days.

hKC viability was assessed by MTS assay (Bio Vision). At day 3, MTS reagent was thawed in a 37°C water bath. A volume of 20 μ l was added to each well already containing 100 μ l of media, and incubated for 2 hours (37°C, 5% CO₂). The reaction was then stopped by adding 25 μ l of 10% sodium dodecyl sulfate (SDS) to each gel. Aliquots of 75 μ l were removed from each well, and absorbance was measured at 490nm with Synergy HTX multi-mode reader (BioTek).

Results

Plasma-PEG Gel Synthesis

Gels with varying PEG content (0.125%, 0.25%, 0.5%, 1%) were synthesized and compared to regular plasma gels (0%) (Figure 2). A difference in colour could be observed between the current plasma gel and the gels containing different PEG contents, as well as an apparent increase in swelling in gels containing PEG. It was also observed that the incorporation of PEG improved gel rigidity and resilience against manipulation.

Gelation time

Plasma gels (0% PEG) were formed in about 12 minutes, and it could be observed that the incorporation of PEG affected and delayed the gelation time (Figure 3). Plasma gels (0% PEG) were formed in about 12 minutes, and it could be observed that the incorporation of PEG affected and delayed the gelation time. As PEG content increased, gelation time increased as well. Gels with final PEG content of 0.125% and 0.25% showed very similar ge-

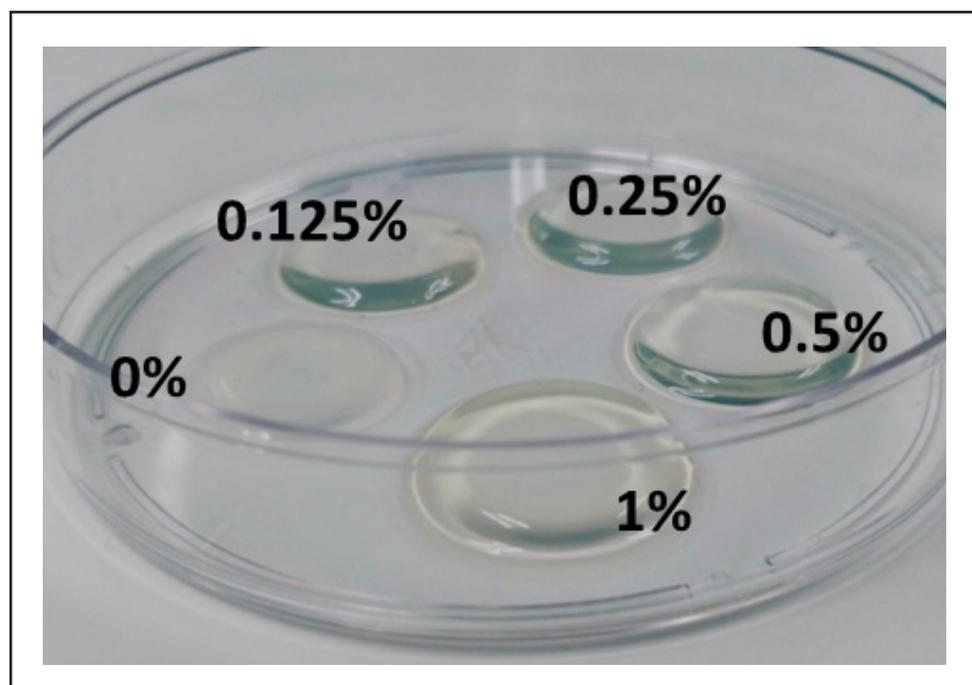


Figure 2. Different tested gel compositions. Percentages indicate total PEG content of each plasma-PEG gel (% w/v).

lation times, around 13 minutes. When PEG content was increased to 0.5% total, gelation took place in 15 minutes, and when this PEG content was doubled (1%), gelation time increased to 19 minutes. Therefore, 0% and 1% PEG gels gelation times differed by about 8 minutes.

Mass Swelling

The addition of an interpenetrating PEG network to the plasma gels had a noticeable effect on the swelling behaviour of the gels, especially during the first 24 hours, where plasma gels have a high tendency to contract (Figure 4). Gels with 0.125%, 0.25% and 0.5% PEG show a lower tendency to contract in relation to plasma gels. Maximum swelling was observed for 1% plasma-PEG gels.

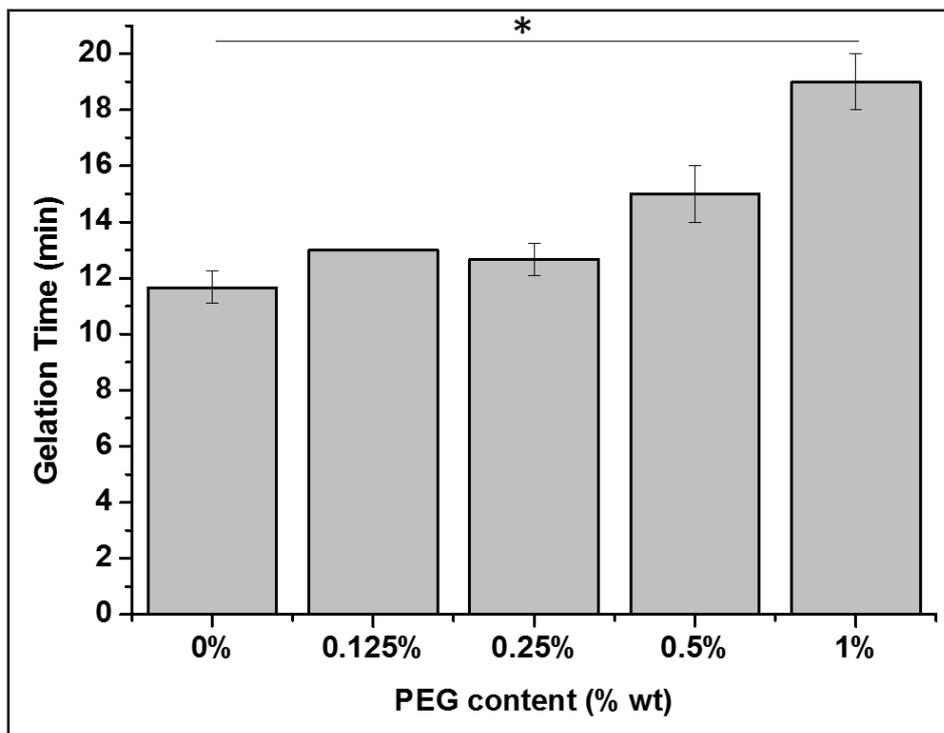


Figure 3. Gelation time at 37°C for each gel compositions (n=3). Data are reported as mean ± SD; asterisk denotes a significant difference between the 0% and 1% compositions (p<0.05).

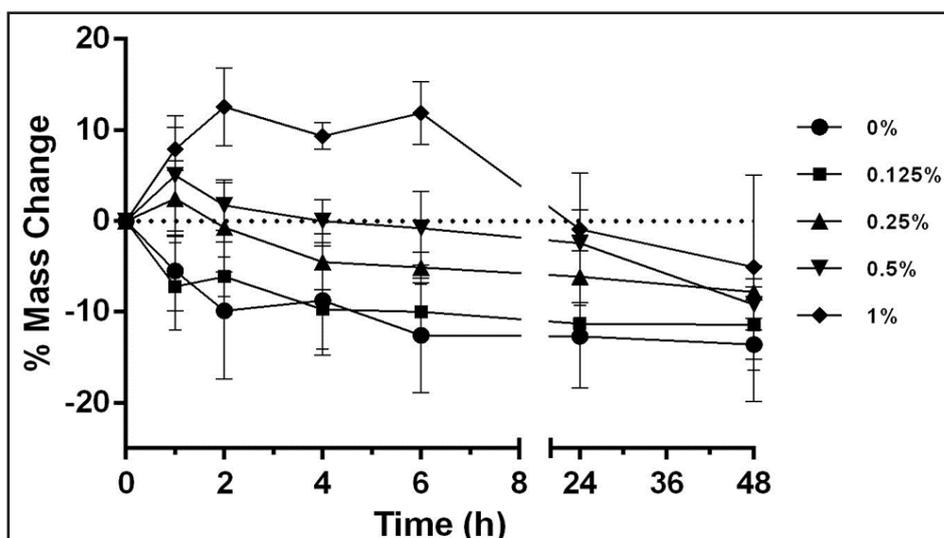


Figure 4. Temporal swelling in 1XPBS (3mL) at 37°C over 48 hours for each scaffold composition (n=3). Insert shows a magnified view of the first 6 hours. Percentages indicate % w/v PEG content.

A Bradford assay was performed at the same time as the swelling study. Gels were embedded in 3mL of 1XPBS. In order to quantify protein release, 20 μ L of 1XPBS were removed from each gel for every time point, and the Bradford assay was performed. A cumulative protein release curve was obtained (Figure 5). The incorporation of an interpenetrating PEG networks in the plasma hydrogels results in a lower amount of protein release.

Embedded Human Fibroblast Viability

An increase in cell proliferation could be observed in all gel compositions between day 1 and 14 (Figure 6), and by day 14 cells from different gel compositions reached very similar metabolic activities. In addition, hFBs morphology was verified by contrast phase microscopy during the experiment.

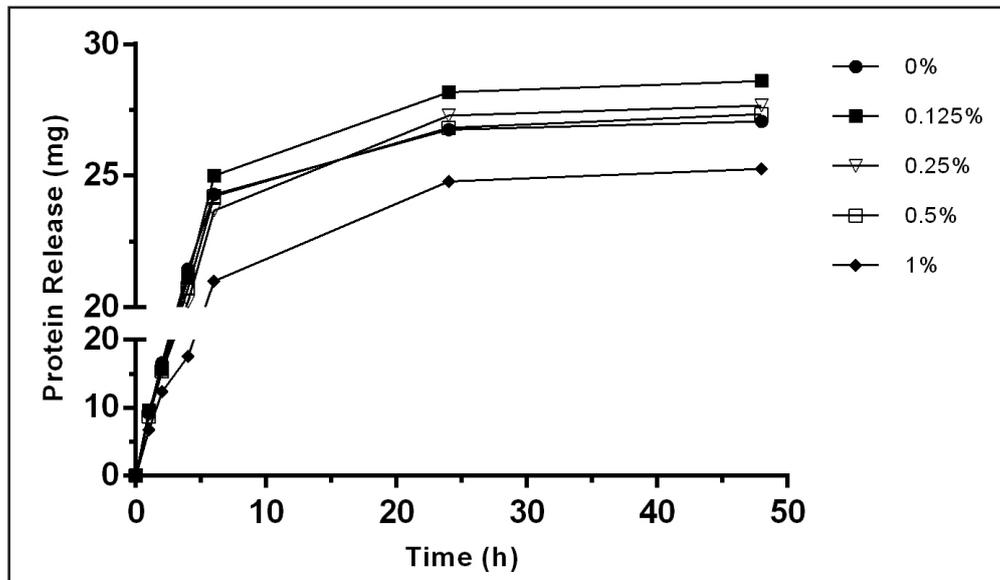


Figure 5. Cumulative protein release during 48 hours for each scaffold composition (n=3).

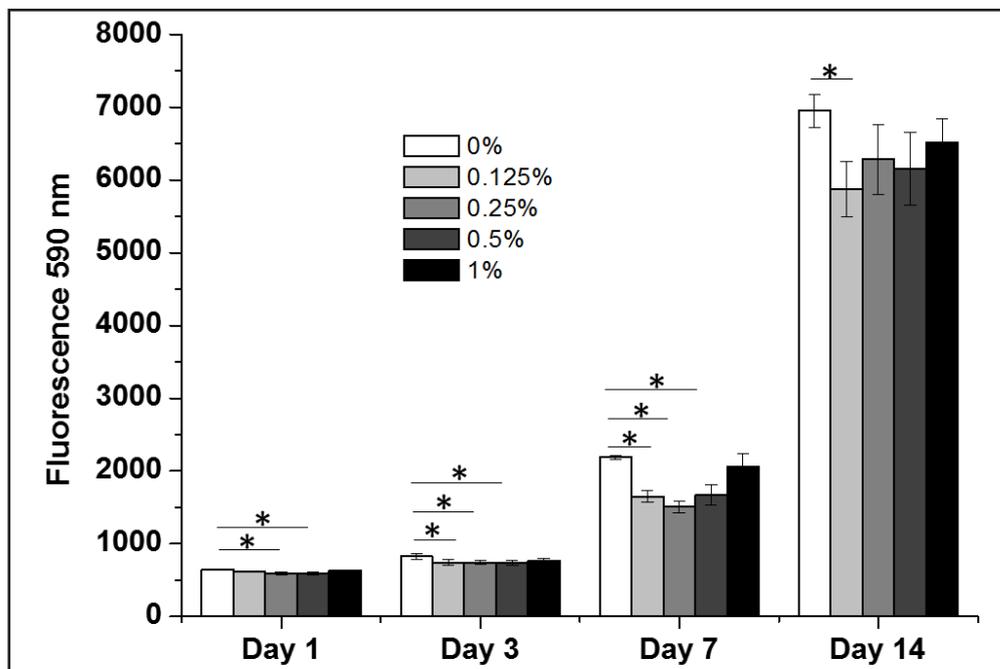


Figure 6. Alamar Blue cell metabolic assay for embedded human fibroblasts in 96-well plate over time. Data are reported as mean \pm SD (n=4); asterisks denote difference between populations ($p < 0.05$).

Primary Human Keratinocyte Viability

MTS assay was performed at day 3 for all scaffold compositions (Figure 7). It could be observed how metabolic output from cells within gels containing PEG was 15-20% lower compared to regular plasma gel (0%) after 72 hours.

Discussion

The goal of this project was to modulate the physical behaviour of autologous human plasma-based biological skin scaffolds without affecting cell viability. A platform was designed, where 4A-PEG and 4SG-PEG were introduced into the existing human plasma-based scaffold protocol in the form of an interpenetrating polymer network. Amine reactive 4SG-PEG reacts covalently with amine terminated 4A-PEG, fibrinogen and plasma proteins, forming a PEG-fibrin network hydrogel.

Gelation time measurements showed that gelation was delayed as total PEG concentra-

tion was increased. This delay can be attributed to competitive covalent inhibition (4SG-PEG reacting with fibrinogen's free amino groups) and non-competitive physical inhibition of PEG molecules with normal fibrin formation. However, gelation times are still suitable for clinical application. The mass swelling ratio of each gel composition was assessed, and it was demonstrated that the capacity of each gel to swell was increased as a function of total PEG content, due to the hydrophilicity of PEG molecule (26). Therefore, when 4A-PEG and 4SG-PEG are introduced into the plasma scaffolds, hydrogel content is increased. Incorporation of PEG network also helped to reduce protein release. Studies have shown that when increasing the amount of PEG in hydrogels, there is a decrease in the amount of protein release, caused by the additional crosslinks in the overall scaffold (27). This is important when involving dermo-epidermal substitutes, as plasma proteins play an important role in wound healing by accelerating tissue repair

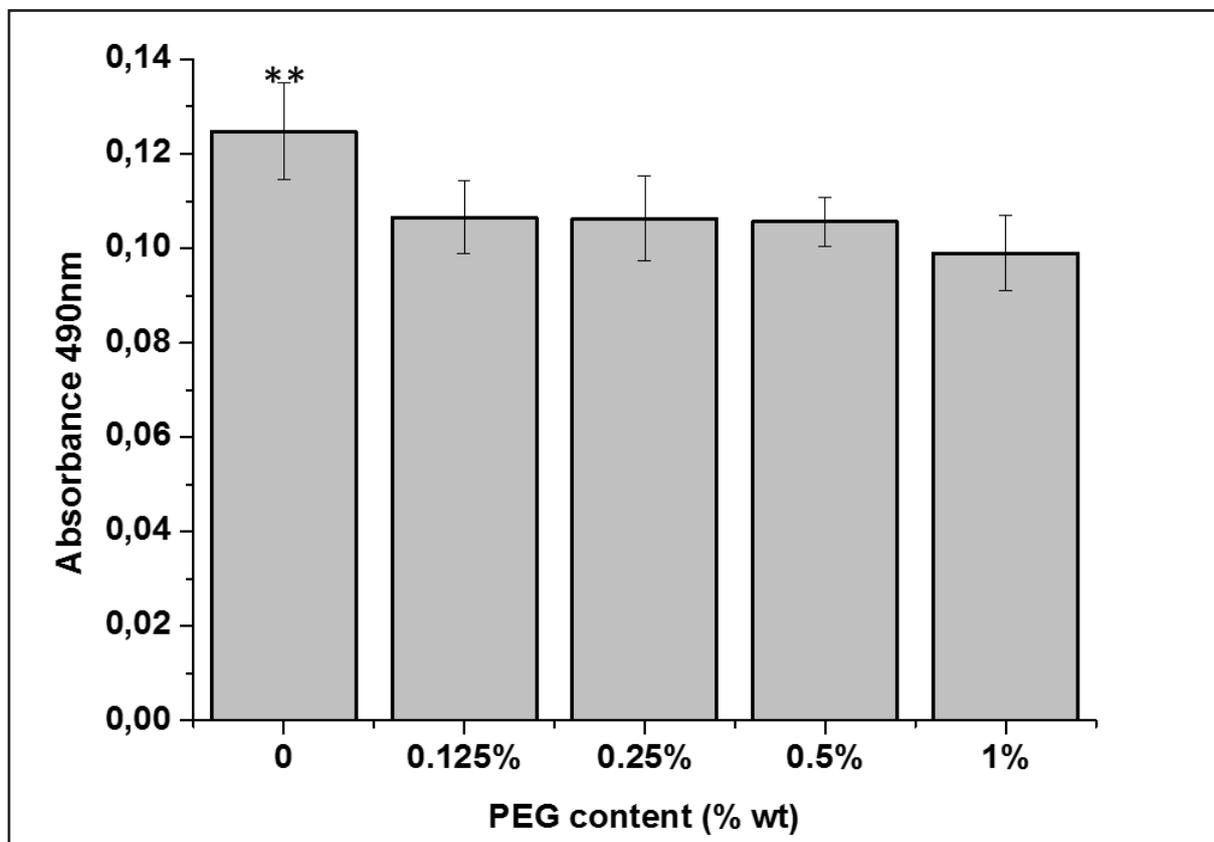


Figure 7. MTS cell viability assay for primary human keratinocytes after 3 days. Data are reported as mean \pm SD (n=8); asterisks denote that 0% is different from all other compositions (p<0.01).

and cell migration, preventing autoimmune reactions, reducing inflammatory response, and inhibiting microbial invasion (28).

Regarding in vitro assessment, hFBs proliferation increased in all scaffold compositions between day 1 and 14, which confirms the biocompatibility of the synthetic polymer PEG. However, incorporating PEG into the system increased the overall degree of crosslinking in the gel network. Studies have shown that increased degree of crosslinking increases the stiffness of the environment, causing limitations for cell elongation, migration and proliferation, which could have led to a slight decrease in hFB proliferation up to day 7 (29). However, high protein content help regulate cell proliferation and survival, which might have helped counteract this effect in the long-term (30). The MTS assay showed a slight decrease in hKC metabolic output in gels containing PEG, which is likely due to PEG's non adhesiveness to cells (31).

Conclusion

Mechanical behaviour of the new scaffolds was assessed by mass swelling, protein release, and gelation time. Increasing PEG content delayed gelation, possibly caused by competitive covalent and non-competitive physical inhibition with normal fibrin formation, but gelation times remained clinically viable. Plasma gel contractibility was decreased as hydrogel content was increased, and the addition of the PEG network helped reduce protein leeching. Elasticity and ease of handling was improved as PEG content increased. Regarding cell viability, hFB and hKCs proliferation were assessed by Alamar Blue and MTS assays respectively. Results indicated a slight decrease in hFB proliferation as crosslinking increased, and suggested a decrease in hKC adhesion to the scaffold when PEG was present. This project demonstrated a platform that has potential to modulate the physical behaviour of human plasma-based biological skin scaffolds while having only mild effects on hFB and hKC viability.

References

1. **Horch RE, Kopp J, Kneser U, Beier J, Bach AD.** Tissue engineering of cultured skin substitutes. *J Cell Mol Med.* 2005;9(3):592-608.
2. **Pham C, Greenwood J, Cleland H, Woodruff P, Maddern G.** Bioengineered skin substitutes for the management of burns: A systematic review. *Burns.* 2007;33(8):946-57.
3. **Sheridan R.** Closure of the excised burn wound: autografts, semipermanent skin substitutes, and permanent skin substitutes. *Clin. Plast. Surg.* 2009;36:643-51
4. **Andreassi A, Bilenchi R, Biagioli M, D'Aniello C.** Classification and pathophysiology of skin grafts *Clin. Dermatol.* 2005;23:332-337.
5. **SuppDMand Boyce S T.** Engineered skin substitutes: practices and potentials. *Clin. Dermatol.* 2005;23:403-412.
6. **Shevchenko RV, James SL, James SE.** A review of tissue-engineered skin bioconstructs available for skin reconstruction. *J R Soc Interface.* 2010;7(43):229-258.
7. **Atiyeh BS, Costagliola M.** Cultured epithelial autograft (CEA) in burn treatment: three decades later *Burns* 2007;33:405-413.
8. **Shevchenko RV, James SL, James SE.** A review of tissue-engineered skin bioconstructs available for skin reconstruction. *J R Soc Interface.* 2010;7(43):229-258.
9. **MacNeil S.** Progress and opportunities for tissue-engineered skin. *Nature.* 2007;445:874-880.
10. **Llames SG, Del Rio M, Larcher E, García E, García M, Escamez MJ, et al.** Human plasma as a dermal scaffold for the generation of a completely autologous bioengineered skin. *Transplantation.* 2004;77(3):350-355.
11. **Llames S et al.** Clinical results of an autologous engineered skin. *Cell Tissue Bank.* 2006;7:47-53.
12. **Gonzalez de Torre I, Weber M, Quintanilla L, Alonso M, Jockenhoevel S, Rodríguez Cabello JC, et al.** Hybrid elastin-like recombinamer-fibrin gels: physical characterization and in vitro evaluation for cardiovascular tissue engineering applications. *Biomater Sci.* 2016;4(9):1361-1370.
13. **Scionti G, Moral M, Toledano M, Osorio R, Durán JDG, Alaminos M, et al.** Effect of the hydration on the biomechanical properties in a fibrin-agarose tissue-like model. *J Biomed Mater Res A.* 2014;102(8):2573-2582.
14. **Jiang B, Waller TM, Larson JC, Appel AA, Brey EM.** Fibrin-loaded porous poly(ethylene glycol) hydrogels as scaffold materials for vascularized tissue formation. *Tissue Eng Part A.* 2013;19(1-2):224-234.
15. **Zhu J, Marchant RE.** Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds. *Expert Rev Med Devices.* 2011;8(5):607-626.
16. **Hutanu D, Frishberg MD, Guo L, Darie CC.** Re-

- cent Applications of Polyethylene Glycols (PEGs) and PEG Derivatives. *Mod Chem Appl* [Internet]. 2014 Aug 26
17. **Zhu J.** Bioactive modification of poly(ethylene glycol) hydrogels for tissue engineering. *Biomaterials*. 2010;31(17):4639-4656.
 18. **Banerjee SS, Aher N, Patil R, Khandare J, Banerjee SS, Aher N, et al.** Poly(ethylene glycol)-Prodrug Conjugates: Concept, Design, and Applications. *Journal of Drug Delivery*. 2012;2012:ID103973.
 19. **Lin C-C, Anseth KS.** PEG Hydrogels for the Controlled Release of Biomolecules in Regenerative Medicine. *Pharm Res*. 2009;26(3):631-643.
 20. **Song A, Rane AA, Christman KL.** Antibacterial and cell-adhesive polypeptide and poly(ethylene glycol) hydrogel as a potential scaffold for wound healing. *Acta Biomater*. 2012;8(1):41-50.
 21. **Wallace DG, Cruise GM, Rhee WM, Schroeder JA, Prior JJ, Ju J, et al.** A tissue sealant based on reactive multifunctional polyethylene glycol. *J Biomed Mater Res*. 2001;58(5):545-555.
 22. **Behrens AM, Lee NG, Casey BJ, Srinivasan P, Sikorski MJ, Daristotle JL, et al.** Biodegradable-Polymer-Blend-Based Surgical Sealant with Body-Temperature-Mediated Adhesion. *Adv Mater*. 2015;27(48):8056-8061.
 23. **Phelps EA, Enemchukwu NO, Fiore VF, Sy JC, Murthy N, Sulchek TA, et al.** Maleimide Cross-Linked Bioactive PEG Hydrogel Exhibits Improved Reaction Kinetics and Cross-Linking for Cell Encapsulation and In Situ Delivery. *Adv Mater*. 2012;24(1):64-70.
 24. **Sakai T, Matsunaga T, Yamamoto Y, Ito C, Yoshida R, Suzuki S, et al.** Design and Fabrication of a High-Strength Hydrogel with Ideally Homogeneous Network Structure from Tetrahedron-like Macromonomers. *Macromolecules*. 2008;41(14):5379-5384.
 25. **Technical Manual (11th ed).** Walker RH, ed. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1993, pp 728-730.
 26. **Banerjee SS, Aher N, Patil R, Khandare J.** Poly(ethylene glycol)-Prodrug Conjugates: Concept, Design, and Applications. *J Drug Deliv*. 2012;2012:e103973
 27. **Lin C-C, Anseth KS.** PEG Hydrogels for the Controlled Release of Biomolecules in Regenerative Medicine. *Pharm Res*. 2009;26(3):631-643.
 28. **O'Toole EA, Mellerio JE.** Wound healing. In: Burns DA, Breathnach SM, Cox N, Griffiths C, eds. *Rook's Textbook of Dermatology*, 8th edition, Oxford: Wiley-Blackwell; 2010; p. 1-27.
 29. **Chen X, Thibeault SL.** Biocompatibility of a synthetic extracellular matrix on immortalized vocal fold fibroblasts in 3d culture. *Acta Biomater*. 2010;6(8):2940-2948.
 30. **Mazzucotelli JP, Klein-Soyer C, Beretz A, Brisson C, Archipoff G, Cazenave JP.** Endothelial cell seeding: coating Dacron and expanded polytetrafluoroethylene vascular grafts with a biological glue allows adhesion and growth of human saphenous vein endothelial cells. *Int J Artif Organs*. 1991;14(8):482-490.
 31. **Lensen MC, Schulte VA, Diez M.** Cell Adhesion and Spreading on an Intrinsically Anti-Adhesive PEG Biomaterial. In: Pignatello R, editor. *Biomaterials - Physics and Chemistry* [Internet]. InTech; 2011.

Efecto de la acción posterior a la recepción sobre la amortiguación de los saltos verticales

Accésit Congreso SIBB 2016

M. GUTIÉRREZ-DAVILA, J. OLIVARES, D. PANCORBO, F.J. ROJAS
Departamento de Educación Física y Deportiva. Universidad de Granada

Resumen

El principal objetivo de este estudio ha sido comprobar el efecto que tienen tres acciones posteriores al aterrizaje del salto vertical (aterrizaje discreto (AD), aterrizaje preparatorio al salto (APS), aterrizaje preparatorio a la carrera (APC)) sobre los factores mecánicos que determinan la amortiguación. Han participado 29 estudiantes con experiencia en deportes donde el salto vertical constituye una habilidad básica. Se ha utilizado una plataforma de fuerza operando a 500 Hz, sincronizada con una cámara de vídeo que registraba a 210 Hz el plano sagital del movimiento. En la situación AD, debían dejarse caer a una plataforma desde una altura de 0.5 m partiendo de una posición erguida con los brazos por encima de la cabeza y permitiendo su participación libre durante la fase de impacto (FI). En la condición APS, se procede igual pero, a continuación, se realiza un salto vertical máximo y, en la condición APC, el aterrizaje se acompaña con un desplazamiento horizontal. Los resultados indican que el 2-PMF (pico máximo de fuerza) es mayor para AD, alcanzándose antes que en APS y APC. Al inicio de la recepción el centro de gravedad está más adelantado en APC debido a la carrera posterior. En el 2-PMF, el desplazamiento horizontal del CG (S_xCG) y la velocidad horizontal del CG (V_xCG) se han incrementado con la carrera posterior con respecto a las otras dos situaciones, una tendencia cinemática que se mantiene hasta el final de FI. Con la carrera posterior, la mayor contribución a la amortiguación la realizan las piernas en su desplazamiento hacia delante, mientras que en las otras dos situaciones se compensa con el desplazamiento hacia atrás de los muslos.

Palabras clave: *Biomecánica, Aterrizaje salto vertical, Amortiguación, Lesiones deportivas.*

Abstract

The main aim of this research has been to verify the effect, that three actions after the landing of the vertical jump (discrete landing (AD), preparatory landing to the jump (APS), and preparatory landing to the race (APC)), on the mechanical factors that determine the jump's damping. Twenty-nine students with experience in sports where vertical jumping is a basic skill. A force platform operating at 500 Hz, synchronized with a video camera recording the sagittal plane of the motion at 210 Hz were used. In AD condition, the participants dropped onto a platform from a height of 0.5 m starting with the arms above the head and allowing their free participation during the impact phase (FI). In the APS condition, the same procedure was followed, but after the landing, a maximum vertical jump was made and in the APC condition the landing was accompanied by an immediate run. The results indicate that second peak of force is higher for AD, reaching it before than in APS and APC conditions. At the start of the reception, the CG is more advanced in APC due to the later race. In the second peak of force, the horizontal displacement and have increased with the posterior run with respect to the other two situations, a kinematic tendency that remains until the end of FI. In the APC situation, the greatest contribution to the damping is made by the calves in their forward movement, while in the other two situations it is compensated by the backward movement of the thighs.

Keywords: *Biomechanics, Vertical jump landing, Damping, Sports injuries.*

Correspondencia:

Marcos Gutiérrez Dávila
Universidad de Granada. Departamento de Educación Física y Deportiva
Carretera de Alfacar s/n (18071 - Granada, España)
e-mail: marcosgd@ugr.es

Introducción

El salto es una habilidad básica presente en numerosas modalidades deportivas cuyo aterrizaje posee fines diferentes. En este sentido, Caster [2] distingue dos grupos: a) Aterrizajes discretos, considerados como los que se producen posteriores a la acción, solo con el objetivo de amortiguar la caída y b) Aterrizajes preparatorios, como aquellos que se producen antes de una acción posterior determinada y tienen como objetivo activar el ciclo estiramiento-acortamiento, o producir un impulso de frenado que permita incrementar el impulso de aceleración posterior.

La mayor parte de los trabajos de investigación dirigidos hacia la prevención de lesiones se han centrado en los aterrizajes discretos [4, 6, 27], mientras que el análisis de los aterrizajes preparatorios se ha orientado más hacia el rendimiento de acciones posteriores [18, 20, 26]. Por lo tanto, son escasas las investigaciones que han tratado los aterrizajes preparatorios desde una perspectiva del análisis de la absorción de las fuerzas de reacción con el propósito de tratar de dar explicación a la génesis de ciertas lesiones deportivas.

En esta investigación se pretende comprobar el efecto que tienen tres acciones posteriores al aterrizaje (aterrizaje discreto, preparatorio al salto y preparatorio a la carrera), sobre los factores mecánicos que determinan la amortiguación. Decker [6] comprobó que las extremidades inferiores reducen y controlan la aceleración descendente adquirida durante la fase de vuelo mediante la flexión de sus articulaciones de tal manera que reducen las fuerzas de reacción mediante una ligera flexión en el contacto inicial con el suelo, seguida de una gran amplitud de movimiento articular tras el mismo.

Los movimientos de las extremidades inferiores para reducir las fuerzas de reacción pueden estar mediatizados por las acciones posteriores a realizar por los deportistas. En este sentido, Zhang [32] considera que las alteraciones en las posiciones corporales y velocidades angulares durante el aterrizaje podrían influir en las magnitudes de los momentos de fuerza que producen tensión en la estructura

interna de la rodilla, lo que adquiere especial relevancia cuando la articulación de la rodilla se considera como el principal amortiguador en la recepción [6].

Apoyando esta teoría, Kuling et al. [22], utilizando movimientos de danza donde la demanda estética condiciona en gran medida la amortiguación de los saltos, han puesto de manifiesto que dicha demanda limitaría la variabilidad individual de ejecución técnica, e incrementaría la rigidez articular durante la recepción. Dos aspectos relacionados y que se asocian al riesgo de producirse lesiones.

De la misma forma, DeVita y Skelly [7], mediante la comparación de aterrizajes rígidos y aterrizajes suaves desde una altura de 59 cm, comprobaron que la rigidez articular de la rodilla en el momento de la recepción incrementaba las fuerzas de reacción del suelo, aumentando, en consecuencia, el riesgo de lesión.

Por otro lado, ciertas lesiones deportivas también se relacionan con el aumento del pico máximo de las fuerzas de reacción procedentes del suelo durante la amortiguación [2]. Entre las lesiones sin contacto más graves que se atribuyen a los aterrizajes de saltos, una de las más comunes es la rotura de ligamento cruzado anterior (LCA) [1, 10, 11, 12, 14, 24].

Aunque no existen datos concluyentes sobre la influencia que tienen las demandas posteriores a la recepción sobre el riesgo de lesión, las aportaciones expuestas parecen evidenciar que las exigencias de ciertas acciones posteriores al aterrizaje podrían incrementar la tensión en estructuras internas de las articulaciones. Por el contrario, ciertas teorías procedentes de la neuromecánica muscular ponen de manifiesto que, cuando se realiza un aterrizaje preparatorio para realizar un segundo salto, se incrementa la activación neuromuscular antes de iniciarse la toma de contacto, lo que predispone al sistema músculo-esquelético para iniciar la absorción del impacto con mayor eficacia, reduciendo así el impacto inicial [13, 21]. Mizrahi [25], corroborando esta teoría, destaca la importancia de mejorar los ajustes de preactivación muscular no reflejos en la primera fase de impacto con el fin de reducir las fuerzas de reacción del suelo.

Según las evidencias y controversias expuestas que se derivan de las investigaciones precedentes, se plantea como hipótesis que la acción posterior al aterrizaje reduce las fuerzas de reacción del suelo durante la amortiguación y condiciona el modelo de ejecución técnica, pudiendo situar ciertos segmentos en posiciones que incrementan los momentos de fuerza que pueden soportar las articulaciones asociadas.

Método

Participantes

Han participado 29 estudiantes (hombres) de Ciencias de la Actividad Física y del Deporte (edad = $21,1 \pm 1,7$ años; talla = $1,78 \pm 0,06$ m; masa = $70,6 \pm 8,1$ kg), utilizando para su selección el criterio de haber participado en deportes donde sea habitual la realización de saltos. A todos ellos se les informó y solicitó su consentimiento para participar en este estudio, siguiendo las directrices de la Comisión Ética de la Universidad de Granada.

Material y procedimientos

Se ha utilizado una plataforma de fuerza Dinascan IBV, operando a 500 Hz, sincronizada temporalmente a una cámara de vídeo Casio EXFH20, que registraba a 210 Hz el plano sagital del movimiento.

Después de un calentamiento normalizado de 10 minutos basado en carrera y estiramientos, y un proceso de adaptación a las tres condiciones experimentales en el cual se practicaron cada una de ellas durante un tiempo aproximado de 20 minutos, se realizaron cinco ensayos para cada condición: en la condición aterrizaje discreto (AD), los participantes debían dejarse caer a la plataforma desde una altura de 0.5 metros, partiendo de una posición erguida con los brazos por encima de la cabeza y permitiendo su participación libre durante la fase de vuelo y amortiguación de la caída. En el aterrizaje preparatorio al salto (APS), se parte de la misma posición anterior, aunque en este caso el participante debe realizar un salto máximo inmediatamente después de la amortiguación. Finalmente, en el aterrizaje preparatorio a la carrera (APC), se proce-

de igual que en el anterior, pero el propósito es realizar un rápido desplazamiento horizontal tras la recepción. El orden de las condiciones se cambió para cada participante.

Análisis de los datos

Para el análisis posterior se seleccionó el ensayo cuyo tiempo de absorción era el mediano entre los cinco de cada situación experimental. Este tiempo de absorción se definió como el periodo comprendido desde el inicio de la recepción hasta el instante en que la velocidad vertical del centro de gravedad (CG) alcanzaba valores positivos. A partir de los datos procedentes de la plataforma se registró el valor máximo del segundo pico máximo de fuerza (2-PMF), así como los registros de los dos componentes de la velocidad del CG y sus respectivos desplazamientos durante la fase de impacto, la cual estaba definida por los primeros 100 ms desde el contacto con la plataforma [28]. Para su determinación se utilizó dinámica inversa, siguiendo el método descrito por Gutiérrez-Dávila et al. [15].

Las constantes de integración se han obtenido a partir de la digitalización manual de las imágenes de vídeo, utilizando para ello un modelo mecánico plano de 8 segmentos, determinados por 11 puntos (extremos anterior y posterior del pie; centros articulares del tobillo, rodilla, cadera, codo y muñeca; tercer metacarpiano de la mano; hueco supraexternal; ángulo del maxilar y vertex), donde las masas segmentarias y las respectivas localizaciones de sus centros de masas (CM) se han obtenido a partir de los valores propuestos por Zatsiorsky & Seluyanov (1983) y adaptados por de Leva, [31].

Tras la digitalización, las coordenadas planas fueron suavizadas mediante un filtro digital de paso bajo, a 8 Hz [29] e interpoladas a 500 Hz, utilizando splines de quinto grado. La conversión de las coordenadas digitalizadas en datos reales se realizó mediante un sistema de referencia que consistía en un cubo de $2 \times 2 \times 0,5$. La constante de integración correspondiente a la velocidad instantánea en el momento aproximado de la toma de contacto con la plataforma, se determinó mediante la primera derivada de la posición vertical con

respecto al tiempo, utilizando las funciones Quintic splines [30]. A partir de las coordenadas planas del modelo, se determinaron las posiciones angulares de las articulaciones de la cadera, rodilla y tobillo, utilizando para ello el producto escalar de los vectores que definían las posiciones de sus respectivos segmentos. Es necesario aclarar que el segmento pie se definió como el vector que une los puntos del centro articular del tobillo y el final del pie. Finalmente se determinó la contribución de los brazos, tronco+cabeza, muslos, piernas y pies a la distancia vertical de frenado del CG durante la fase de impacto, utilizando para ello el método de cálculo propuesto por Gutiérrez-Dávila et al [16].

Resultados

En la tabla 1 se presenta la estadística descriptiva e inferencial de las variables generales relacionadas con la amortiguación de la caída para las tres condiciones experimentales. Los datos indican que han existido diferencias significativas ($p < 0.01$) en el pico máximo de fuerza (2-PMF) entre las medias de las 3 condiciones experimentales expuestas, expresado ese dato en relación al peso corporal de cada participante. La prueba de contrastes aplicada a esta variable indica que los aterrizajes discretos producen un pico de fuerza mayor que

cualquiera de las otras dos situaciones de aterrizaje preparatorios. El tiempo en el que se alcanza el 2-PMF ($t_{(2-PMF)}$), ha sido mayor en los aterrizajes preparatorios al salto, con respecto a las otras dos condiciones ($p < 0.01$). Con respecto a la localización del CG en el momento de la toma de contacto con la plataforma, éste se encuentra significativamente más alto ($Y_{CG-(TOMA CONTACTO)}$; $p < 0.05$) cuando el aterrizaje es discreto, con respecto a las otras dos condiciones. En cuanto a la componente horizontal, el CG está más adelantado cuando el aterrizaje es preparatorio a la carrera ($X_{CG-(TOMA CONTACTO)}$; $p < 0.001$). En la misma tabla se muestra la posición angular de la articulación de la cadera en el instante de la toma de contacto con la plataforma. Los datos ponen de manifiesto que han existido altas diferencias entre las medias ($\theta_{CADERA-(TOMA CONTACTO)}$; $p < 0.001$), siendo menor el ángulo medio en la condición de aterrizaje preparatorio al salto, con respecto a los otros dos.

En la tabla 2 se presenta una estadística descriptiva e inferencial de las componentes del desplazamiento del CG en la fase de impacto que, como se había descrito, se produce durante los 100 ms de la toma de contacto. Los datos ponen de manifiesto que existe una cierta significación en el desplazamiento vertical del CG ($Sy_{CG(100)}$ $p < 0.05$), aunque la prueba de contrastes solo nos permite afirmar que éste

Variables	Discreto (AD)	Preparatorio al salto (APS)	Preparatorio a la carrera (APC)	F
2-PMF (N/N)	4.941 ± 1.344	4.157 ± 1.211 ¹	3.936 ± 0.886 ¹	13.17**
$t_{(2-PMF)}$ (s)	0.050 ± 0,015	0.054 ± 0,015	0.066 ± 0,020 ^{1,2}	9.79**
$Y_{CG-(TOMA CONTACTO)}$ (m)	1.154 ± 0,041	1.136 ± 0,048 ¹	1.132 ± 0,053 ¹	3.35*
$X_{CG-(TOMA CONTACTO)}$ (m)	-0.068 ± 0,018	-0.042 ± 0,029	0.110 ± 0,078 ^{1,2}	111.27***
$\theta_{TOBILLO-(TOMA CONTACTO)}$ (°)	134 ± 7	132 ± 11	130 ± 8	2.93
$\theta_{RODILLA-(TOMA CONTACTO)}$ (°)	159 ± 6	154 ± 7 ¹	157 ± 7	4.05*
$\theta_{CADERA-(TOMA CONTACTO)}$ (°)	157 ± 6	151 ± 8 ¹	159 ± 9 ²	11.83***
*** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$				

Tabla 1. Estadística descriptiva e inferencial de las variables generales relacionadas con la amortiguación de la caída para las tres condiciones experimentales: Los valores de la fuerza se han expresado en Newton de fuerza por Newton de peso corporal.

es mayor cuando la recepción se realiza para la preparación del salto vertical con respecto de las otras 2. Sin embargo, el mayor desplazamiento horizontal del CG cuando se prepara a la carrera ($Sx_{CG(100)}$ $p < 0.01$), reduce las diferencias de los desplazamientos resultantes entre los dos aterrizajes preparatorios. Algo similar ocurre con las componentes de la velocidad al final de la fase de impacto. Con respecto a la componente vertical existe una alta significación entre las medias ($vy_{CG(100)}$, $p < 0.001$), siendo sus valores negativos superiores para la condición de aterrizaje preparatorio al salto con respecto a las otras dos condiciones. Aunque, como sucedía con el desplazamiento del CG, la mayor velocidad horizontal del CG cuando se prepara la carrera ($vx_{CG(100)}$, $p < 0.001$) hace que se reduzcan las diferencias

de las velocidades resultantes entre los dos aterrizajes preparatorios.

En la tabla 3 se presenta el análisis de la contribución segmentaria para las tres condiciones. En ella se pueden apreciar las contribuciones de los brazos, tronco+cabeza, muslos, piernas y pies, expresadas en porcentajes del desplazamiento vertical del CG hasta el final de la fase de impacto. Se observa que, para los tres tipos de aterrizaje, la mayor contribución la realizan las piernas. La estadística inferencial indica que esta contribución es significativamente mayor cuando la recepción es preparatoria de la carrera con respecto a las otras dos ($p < 0.001$), mientras que la del muslo se reduce de forma muy significativa ($p < 0.001$) compensándose, en cierto modo, con una mayor contribución del tronco+cabeza ($p < 0.01$).

Variables	Discreto (AD)	Preparatorio al salto (APS)	Preparatorio a la carrera (APC)	F
$Sy_{CG(100)}$ (m)	$0.248 \pm 0,023$	$0.262 \pm 0,024^1$	$0.250 \pm 0,025^2$	7.71*
$Sx_{CG(100)}$ (m)	$0.034 \pm 0,006$	$0.035 \pm 0,005$	$0.051 \pm 0,006^{1,2}$	34.69**
$vy_{CG(100)}$ (ms^{-1})	-1.746 ± 0.303	-1.810 ± 0.287	$-1.516 \pm 0.365^{1,2}$	14.59***
$vx_{CG(100)}$ (ms^{-1})	$0.171 \pm 0,095$	$0.223 \pm 0,096$	$0.755 \pm 0,334^{1,2}$	64.07***
*** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$				

Tabla 2. Estadística descriptiva e inferencial de los desplazamientos del CG en el plano sagital en los 100 ms tras el contacto con la plataforma y las componentes de la velocidad alcanzada por el CG en ese instante.

Variables	Discreto (AD)	Preparatorio al salto (APS)	Preparatorio a la carrera (APC)	F
$C_{brazos}_{(100)}$ (%)	7.94 ± 2.74	8.08 ± 2.61	7.88 ± 3.12	0.05
$C_{tronco+cabeza}_{(100)}$ (%)	7.70 ± 4.04	9.89 ± 5.39	$11.37 \pm 5.51^{1,2}$	5.46**
$C_{muslos}_{(100)}$ (%)	29.09 ± 9.60	27.74 ± 9.13	$10.91 \pm 8.86^{1,2}$	45.84***
$C_{piernas}_{(100)}$ (%)	33.04 ± 8.14	32.56 ± 8.49	$47.00 \pm 13.00^{1,2}$	28.57***
$C_{pies}_{(100)}$ (%)	23.45 ± 7.29	23.85 ± 8.15	23.88 ± 7.68	0.06
*** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$				

Tabla 3. Estadística descriptiva e inferencial de las contribuciones segmentarias para las tres condiciones experimentales. Los datos se expresan en porcentaje con respecto al desplazamiento del CG en los 100 ms tras el contacto con la plataforma.

Discusión

Los datos han puesto de manifiesto que los aterrizajes discretos producen un pico de fuerza mayor que los aterrizajes preparatorios. La explicación podría estar relacionada con una mayor preactivación muscular debido al ciclo estiramiento-acortamiento en el salto vertical, además del mayor tiempo utilizado para alcanzar el pico de fuerza cuando se utiliza el aterrizaje preparatorio a la carrera. Este dato confirmaría los resultados obtenidos por Caster [2] quien comprobó un incremento de la fuerza máxima de reacción del suelo para los aterrizajes discretos con respecto al preparatorio al salto.

Además, se ha comprobado que el CG en el momento de la toma de contacto con la plataforma está más alto en la condición de aterrizaje discreto, con respecto a los aterrizajes preparatorios. Por lo tanto, la velocidad vertical del CG debería ser ligeramente menor, pero debido al menor tiempo empleado en la amortiguación, el pico de fuerza es mayor. Este comportamiento parece estar relacionado con la mayor extensión de la cadera cuando se compara con el aterrizaje preparatorio al salto, y con el desplazamiento horizontal hacia delante del CG cuando se compara con el aterrizaje preparatorio a la carrera. Esta mayor extensión de la cadera en la recepción podría también explicar el mayor pico de fuerza con respecto a los aterrizajes preparatorios, posiblemente debido a la mayor rigidez articular en la toma de contacto, apoyando la teoría de Kuling y col. [22].

En cuanto a los desplazamientos del CG durante la fase de impacto (100 ms), se puede afirmar que sus resultantes en los aterrizajes preparatorios son mayores que cuando se realiza el aterrizaje discreto. Esta diferencia, respecto al aterrizaje preparatorio a la carrera, podría confirmar lo indicado por Mizrahi [25], quien sugiere que la acción conjunta de los movimientos y la acción muscular juegan un papel importante en la absorción de fuerzas durante el aterrizaje, traduciéndose ésta en un mayor desplazamiento vertical y hacia delante del CG, incrementando de esta manera el tiempo de frenado de la velocidad vertical.

Con respecto a las componentes de la velocidad del CG al final de la fase de impacto, los datos evidencian un comportamiento similar al obtenido en las del desplazamiento, donde la velocidad resultante del CG es mayor para los aterrizajes preparatorios que para los aterrizajes discretos. En consecuencia, los aterrizajes discretos reducen más la velocidad con menor distancia de frenado del CG, lo que justifica que las fuerzas de reacción durante la fase de impacto sean mayores con respecto a los aterrizajes preparatorios. También se puede afirmar que el modelo de amortiguación de los aterrizajes preparatorios a la carrera es diferente con respecto a los otros dos. Uno de los mecanismos que explican esta diferencia se debe a la estrategia de rotación-extensión a partir de la articulación del tobillo, la cual es necesaria para poder producir fuerzas horizontales al suelo [16] cuando el sujeto pretende iniciar la carrera. Así, se confirma que la acción posterior condiciona la técnica de aterrizaje, modificando las posiciones de los segmentos así como su contribución durante el proceso de amortiguación, lo que podría conducir a incrementar los momentos de fuerza que soportan las articulaciones y, en consecuencia, el riesgo de sufrir lesiones.

En cuanto las contribuciones segmentarias al desplazamiento vertical del CG, resulta interesante destacar la mayor contribución del segmento pierna para las 3 condiciones experimentales. Un dato que estaría de acuerdo con lo aportado por Decker [2], aunque este autor hace referencia a la articulación de la rodilla, y sin embargo nuestros datos indican que la rodilla se flexiona más por el desplazamiento hacia delante de la pierna que por la flexión del muslo. Los datos expuestos señalan, además, un modelo de absorción diferente para los dos aterrizajes preparatorios a la carrera, donde el mayor desplazamiento de la tibia hacia delante junto a la mayor contribución del tronco+cabeza en su flexión hacia delante, incrementaría la tensión de las estructuras de la articulación de la rodilla, lo que se agrava cuando el peso del cuerpo tiende a desplazarse lateralmente hacia el apoyo contrario al que tiene que desplazarse para iniciar la carrera, lo cual ya afirmaron Chappel y col. [3] cuando

destacaban el aumento de los ángulos de las piernas en valgo como uno de los factores de incremento de la tensión articular.

Este mecanismo podría estar relacionado con ciertas lesiones de ligamento cruzado anterior, ya que su función principal es impedir la traslación anterior de la tibia, coincidiendo con numerosas investigaciones que la han asociado al incremento de las fuerzas durante la recepción de los saltos [8, 19, 23].

Conclusiones

Por un lado se ha constatado que se consigue mayor amortiguación de las fuerzas de reacción con los dos tipos de aterrizajes preparatorios, con respecto al aterrizaje discreto, lo que se produce por la menor desaceleración, fundamentalmente por el mayor tiempo utilizado para alcanzar el 2-PMF en APS y APC, y la mayor distancia de frenado del CG.

Por otro, se han identificado cambios en las posiciones de los segmentos durante su contribución a la absorción de las fuerzas en los aterrizajes preparatorios a la carrera, concretamente en el desplazamiento hacia delante y abajo de la tibia con respecto al fémur y el desplazamiento, a su vez, del muslo hacia debajo y del tronco hacia delante, lo que podría incrementar el riesgo de producir lesiones del LCA.

Referencias

1. **Beynon BD, Vacek PM, Murphy D, Alosa D, Paller D.** First-time inversion ankle ligament trauma: The effects of sex, level of competition, and sport on the incidence of injury. *Am J Sports Med.* 2005;33:1485-91.
2. **Caster BL.** The effect of height and post-landing movement task on landing performance. *Amherst: Biomechanics in Sports XI;* 1993. 60-64.
3. **Chappell JD, Yu B, Kirkendall DT, Garret WE.** A comparison of knee kinetics between male and female recreational athletes in stop-jump tasks. *Am J Med.* 2002;30(2):261-267.
4. **Cortes N, Abrantes J, Gagen L, Dowling E, Onate J, Van Lunen B.** Effects of gender and foot-landing techniques on lower extremity kinematics during drop-jump landings. *J Appl Biomech.* 2007; 23:263-268.
5. **de Leva P.** Adjustments to Zatsiorsky-Seluyanovs segment inertia parameters. *J Biomech.* 1996;29:1223-1230.

6. **Decker MJ, Steadman JR, Sterett WI, Torrey MR, Wyland DJ.** Gender differences in lower extremity kinematics, kinetics and energy absorption during landing. *Clin Biomech.* 2003;18:662-669.
7. **Devita P, Skelly WA.** Effect of landing stiffness on joint kinetics and energetics in the lower extremity. *Med Sci Sports Exerc.* 1992;24(1):108-15.
8. **Eriksen HM, Gribble PA, Pfile KR, Pietro-simone BG.** Different modes of feedback and peak vertical ground reaction forcé during jump landing. A systematic review. *J Athl Training.* 2013;48(5):685-682.
9. **Ferretti A, Papandrea P, Conteduca F, Mariani PP.** Knee ligament injuries in volleyball players. *Am J Sports Med.* 1992;20:203-207.
10. **Ferretti A, Papandrea P, Conteduca F.** Knee injuries in volleyball. *Sports Med.* 1990;10:132-8. Ferretti A. Epidemiology of jumper's knee. *Sports Med.* 1986;3:289-95.
11. **Ferretti A.** Epidemiology of jumper's knee. *Sports Med.* 1986;3:289-95
12. **Frank CB, Jackson DW.** Current concepts review: The science of reconstruction of the anterior cruciate ligament. *Journal of Bone and Joint Surgery, American Volume.* 1997;79:1556-66.
13. **Gollhofer A, Kyröläinen H.** Neuromuscular control of the human leg extensor muscles in jump exercise under various stretch-load conditions. *In J Sports Med.* 1991;12:34-40.
14. **Griffin LY, Agel J, Albohm MJ, Arendt EA, Dick RW, Garrett WE, et al.** Noncontact anterior cruciate ligament injuries: Risk factors and prevention strategies. *J Am Acad Orthop Surg.* 2000;8:141-150.
15. **Gutiérrez-Dávila M, Campos J, Navaro E.** A comparison of two landing styles in a two-foot vertical jump. *J Strength Cond Res.* 2009;23(1):325-331.
16. **Gutiérrez-Dávila M, Garrido JM, Amaro F, Ramos M, Rojas FJ.** Método para determinar la contribución segmentaria en los saltos. Su aplicación en el salto vertical con contramovimiento. *Motricidad. Eur J Hum Mov.* 2012;29:1-21.
17. **Gutiérrez-Dávila M, Garrido JM, Amaro FJ, Rojas FJ.** Contribución segmentaria en los saltos con contramovimiento en vertical y en horizontal. *RICYDE.* 2014;28(10):289-304.
18. **Gutiérrez-Dávila M, Giles J, Gonzalez C, Gallardo D, Rojas FJ.** Efecto de la intensidad del contramovimiento sobre el rendimiento del salto vertical. *Apunts.* 2015; 119:87-96.
19. **Hewett TE, Myer GD, Ford KR, Heidt RS, Colosimo AJ, McLean SG et cols.** Biomechanical measures of neuromuscular control and valgus loading on the knee predict anterior cruciate ligament injury risk in female athletes; A prospective study. *Am J Sport Med.* 2005;33(4):492-501.
20. **Komi PV.** Stretch-shortening cycle: a powerful model to study normal and fatigued muscle. *J Bio-*

- mech. 2000;33(19): 1197-206.
21. **Komi PV.** Stretch-shortening cycle. Strength and Power in Sport. Blackwell Scientific Publ: Oxford; 1992. 169-179.
 22. **Kuling PV, Fietzer AL, Popovich JM.** Ground reaction forces and knee mechanics in the weight acceptance phase of a dance leap take-off and landing. *J Sports Sci.* 2011;29(2):125-131.
 23. **McNair PJ, Marshall RN.** Landing characteristics in subjects with normal and anterior cruciate ligament deficient knee joints. *Arch Phys Med.* 1994;75(5):584-589.
 24. **Miyasaka KC, Daniel DM, Stone ML, Hirshman P.** The incidence of knee ligament injuries in the general population. *Am J Knee Surg.* 1991;4:3-8.
 25. **Mizrahi J, Susak Z.** Analysis of parameters affecting impact force attenuation during landing in human vertical free fall. *Eng Med.* 1982;11:141-147.
 26. **Peng H.** Changes in biomechanical properties during drop jumps of incremental height. *J Strength Cond Res.* 2011; 25(9):2510-2518.
 27. **Rowley KM, Richards JG.** Increasing plantar-flexion angle during landing reduces vertical ground reaction forces, loading rates and the hip's contribution to support moment within participants. *J Sports Sci.* 2015;33(18):1922-1931.
 28. **Schot PK, Bates BT, Dufek JS.** Bilateral performance symmetry during drop landing: a kinetic analysis. *Med Sci Sports Exerc.* 1994;26:1153-1159.
 29. **Winter D.** Biomechanics and motor control of human movement. New York: John Wiley; 1990.
 30. **Wood GA, Jennings LS.** On the use of spline functions for data smoothing. *J Biomech.* 1979;12(6):477-9.
 31. **Zatsiorsky VM, Seluyanov NV.** The mass and inertial characteristics of the main segments of the human body. Champaign: Human Kinetics; 1983.
 32. **Zhang SN, Bates BT, Dufek JS.** Contributions of lower extremity joints to energy dissipation during landings. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32:812-819.

Sensor impedimétrico para la detección de bacterias patogénicas mediante péptidos antimicrobianos

Accésit Congreso SIBB 2015

M. HOYOS-NOGUÉS^{1,2,*}, S. BROSEL-OLIU³, N. ABRAMOVA³,
A. BRATOV³, C. MAS-MORUNO^{1,2}, F.J. GIL^{1,2}

¹ Biomaterials, Biomechanics and Tissue Engineering Group, Technical University of Catalonia, Spain

² Centre for Research in Nano Engineering, Technical University of Catalonia, Spain

³ BioMEMS Group, Centre Nacional de Microelectrónica (IMB-CNM, CSIC), Spain

Resumen

La peri-implantitis, una inflamación causada por la formación del biofilm, es una de las causas más importantes de la falla de los implantes en odontología [1]. Por esto, la detección de bacterias patogénicas al inicio del proceso de formación de biofilms, representa una estrategia muy potente para la prevención de las infecciones en los implantes. Entre los diferentes métodos para la detección de bacterias patogénicas, los biosensores electroquímicos, especialmente los sistemas basados en impedancia (EIS), presentan una serie de ventajas como la miniaturización, la mejora en sensibilidad y el bajo coste. En este sentido, los péptidos antimicrobianos (AMPs), conocidos como componentes del sistema inmune y con actividad hacia las bacterias, pueden ser usados para desarrollar elementos de bioreconocimiento altamente efectivos. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es la combinación del uso de EIS y la habilidad de los AMPs para obtener biosensores con alta sensibilidad, especificidad y límites de detección muy bajos para la detección de bacterias patogénicas.

Palabras clave: Biosensor impedimétrico, peri-implantitis, péptidos antimicrobianos (AMPs).

Abstract

Peri-implantitis, an inflammation caused by biofilm formation, constitutes a major cause of implant failure in dentistry [1]. Thus, the detection of bacterial pathogens at the early steps of biofilm growth represents a very powerful strategy to prevent from implant-related infections. Among different methods to detect pathogenic bacteria, electrochemical biosensors, especially impedance-based systems (EIS), present key advantages in terms of miniaturization, improvement in sensitivity and low cost. In this regard, antimicrobial peptides (AMPs), which are well-known components of the immune system and active towards bacteria, can be used to develop highly effective biological recognition elements. Thus, the aim of the present study is to combine the use of EIS and the ability of AMPs to obtain biosensors with high sensitivity, specificity and low detection limits for pathogenic bacteria.

Keywords: Impedimetric biosensor, peri-implantitis, antimicrobial peptides (AMPs).

Correspondencia:

Mireia Hoyos Nogués

Email: mireia.hoyos@upc.edu

Introducción

Los implantes dentales son hoy en día uno de los recursos más frecuentes usados como sustitutos artificiales de la raíz de un diente perdido. Aunque los casos de éxito de un implante son elevados, existe aún un porcentaje muy significativo de fracaso de implantes [2]. Una de las partes más críticas de implante es el surco gingival, que es el punto de unión entre la mucosa gingival y el cuello del implante. La integridad de este sellado biológico gingival, es de gran interés debido a los posibles daños asociados con un sellado de calidad inferior: la invasión bacteriana y subsecuente colonización derivando en enfermedades como la peri-implantitis. La peri-implantitis se define como un proceso inflamatorio de la mucosa que rodea al implante provocando la pérdida del soporte óseo y es una de las principales causas de fracaso del implante. Su aparición requiere un diagnóstico y tratamiento precoz para evitar el fracaso del implante. Para ello es necesario entender cuál es el desarrollo de la adhesión bacteriana y como se comportan estas especies.

La peri-implantitis no es el resultado de la infección por una sola cepa de bacterias, sino es fruto de un complejo ecosistema dinámico de bacterias conocido como placa dentobacteriana (o biofilm). El proceso de formación de este biofilm está formado por varias etapas [3]: en una primera fase, la presencia de nutrientes y glicoproteínas promueve la adhesión de los llamados colonizadores primarios, tales como el *Streptococcus gordonii*. Esta primera capa de bacterias inicia una cadena de señalización produciendo la adhesión de las bacterias de transición, como el *Streptococcus sanguinis*. Estas, a su vez, promueven la adhesión de los colonizadores secundarios, donde encontramos las especies más periodontopatogénicas, como el *Porphyromonas gingivalis* [4]. Poco a poco las bacterias se acomodan con la ayuda de los pili y se va generando una red de bacterias más estructurada. Finalmente, con la secreción de una matriz extracelular de las propias bacterias, se origina el biofilm, una estructura compleja y altamente resistente a los tratamientos antibióticos [5].

Para evitar el desarrollo del biofilm, necesitamos realizar una detección precoz. Los métodos convencionales para la detección e identificación bacteriana están basados principalmente en técnicas de laboratorio, como el cultivo celular, análisis microscópico y ensayos bioquímicos que conllevan largos tiempos de procesamiento e implementación y una baja sensibilidad [6]. Con el objetivo de superar estas restricciones, se necesitan nuevos métodos y entre ellos, los biosensores son unos de los más prometedores. Recientemente, se han realizado investigaciones muy interesantes en biosensores para la detección de bacterias patogénicas [7].

Los biosensores se constituyen principalmente de dos elementos: una unidad de bioreconocimiento, que es la parte responsable de detectar la sustancia que queremos analizar; y el transductor, el cual convierte la interacción entre nuestra muestra y la primera unidad funcional y la convierte en una señal medible y procesable.

Los biosensores pueden clasificarse dependiendo del tipo de elemento de reconocimiento que usan. Hasta ahora los biosensores para detectar microorganismos patógenos han sido principalmente inmunosensores. Sin embargo, la inestabilidad en condiciones ambientales extremas y la detección de un solo analito, limita la aplicación práctica de estos sistemas. Los basados en ácidos nucleicos, requieren una extracción eficiente del DNA y algunos incluso una amplificación mediante PCR. Por el contrario, la facilidad en la síntesis, la buena estabilidad y el amplio espectro hacia una gran variedad de microorganismos, hacen que los péptidos antimicrobianos (AMPs) sean unos candidatos interesantes para su uso como elementos de reconocimiento [8].

Los biosensores también se pueden categorizar según la señal de transducción: puede ser mecánica, óptica o eléctrica. Hay un especial interés en los biosensores electroquímicos, sobre todo los basados en impedancia (EIS), ya que presentan importantes ventajas en la facilidad de miniaturización, el no uso de reactivos, la alta sensibilidad y un bajo coste [6].

Una vez vistas todas las premisas, podemos establecer el objetivo de nuestro proyecto:

diseñar un sistema de detección precoz para bacterias mediante el uso de sistemas impedimétricos funcionalizados con AMPs. Todo ello con el propósito de poder evitar el desarrollo de la peri-implantitis y una consecuente caída del implante.

Materiales y métodos

Diseño del sistema

Los sensores escogidos son electrodos fabricados y diseñados en el grupo de biomems del CSIC en Bellaterra [9,10]. El tipo de sensores utilizados son sensores interdigitados fabricados con tántalo de silicio basados en impedancia (EIS). Partimos de dos morfologías: una planar (IDEA) y una que contiene unas barreras de dióxido de silicio de 4µm de altura entre los dedos interdigitados (3D-IDEA). Ambas morfologías se pueden ver en las Figuras 1A (IDEA planar) y 1B (3D-IDEA).

En cuanto al elemento de bioreconocimiento de nuestro sensor, ya hemos comentado que usaremos los péptidos antimicrobianos (AMPs). Los péptidos cargados positivamente, como la lactoferrina, se sienten atraídos electrostáticamente por la membrana celular cargada negativamente de las bacterias. Esta habilidad para interactuar con las bacterias permite el uso de los AMPs en sistemas de detección. El AMP escogido es un péptido derivado de la lactoferrina humana, el *hFL1-11*, catiónico e hidrofóbico, y que se ha sintetizado en nuestro grupo y demostrada su actividad bactericida [11]. La estructura química se puede ver en la Figura 1C.

Optimización de la biofuncionalización

La técnica usada para inmovilizar el AMP en la superficie del sensor es la silanización. Un primer paso ha sido optimizar este proceso, probando dos métodos: silanización en gas

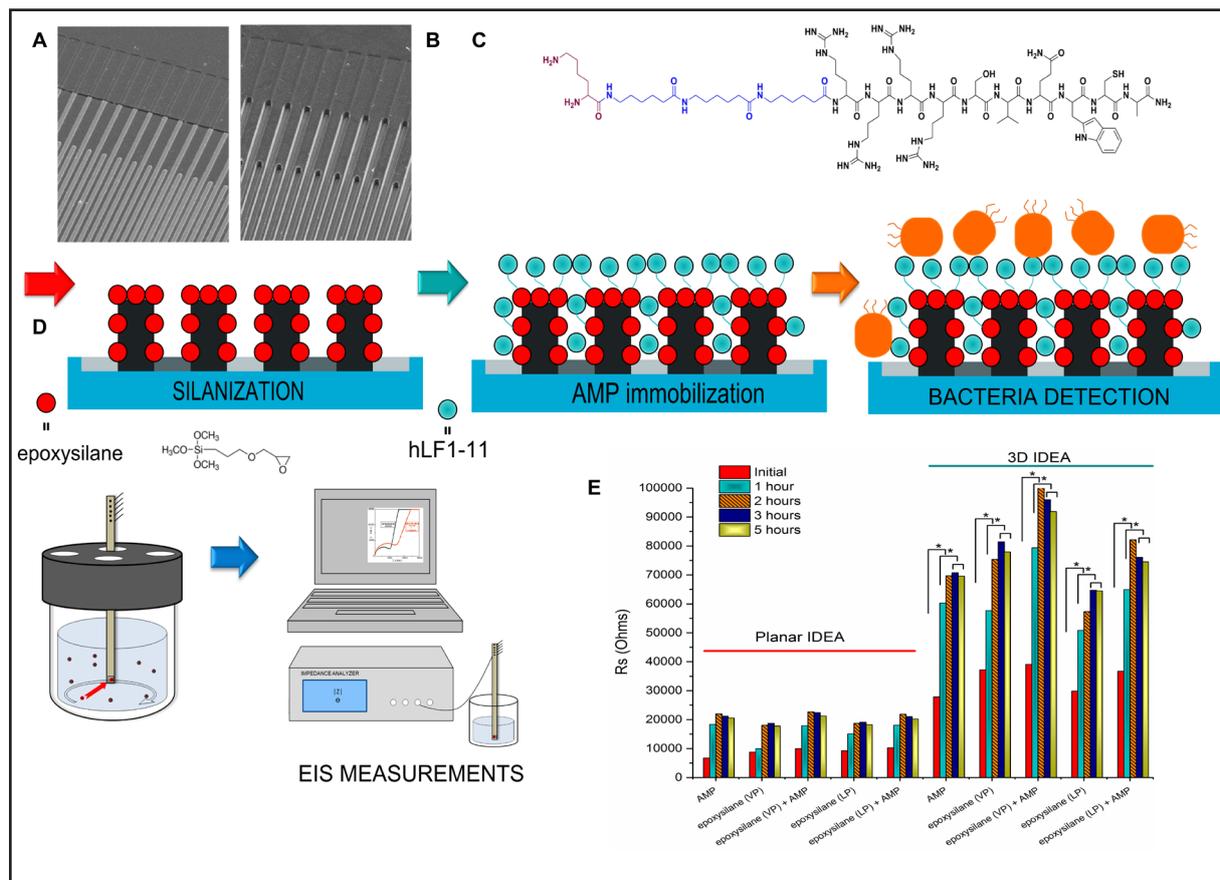


Figura 1. (A) Imagen SEM de la morfología planar. (B) Imagen SEM de la morfología 3D (3D-IDEA). (C) Estructura química de la lactoferrina (*hLfl-11*). (D) Proceso de biofuncionalización del sensor. (E) Optimización de la biofuncionalización mediante EIS. Optimización entre diferentes geometrías del sensor (planar y 3D) y entre diferentes métodos de silanización (gas-VP y líquida-LP).

(VP) durante 1 hora en atmosfera controlada a 50°C con (3-glycidioxypropyl) trimethoxysilane (epoxisilano); y silanización en líquido (LP), que consistió en sumergir los electrodos en una solución de epoxisilano y ethanol absoluto (1:10, v/v) durante 1 hora. Posteriormente, se sumergió el electrodo en una solución del péptido a 100 µM con PBS a pH neutro y a pH básico (8.5). Se probaron todos los métodos tanto con los IDEA planar como con los 3D-IDEA. El proceso de biofuncionalización está esquematizado en la Figura 1D.

Detección bacteriana

Para todos los ensayos, los sensores han sido incubados con cultivos bacterianos de *Streptococcus sanguinis*, como modelo de bacteria oral. *S. sanguinis* se cultivaron en caldo de cultivo Todd-Hewitt (TH) y se dejó crecer toda la noche a 37°C antes de cada ensayo. Se ajustó mediante densidad óptica la concentración bacteriana para obtener 10⁸ CFU•mL⁻¹.

Después de los tiempos de incubación se han ido tomando medidas impedimétricas en soluciones de KCL 10⁻⁵ M con la conductividad controlada en todo momento. El equipo usado fue el Quadtech 7600 Plus LCR Meter. Para el análisis de los resultados se usó el software de Z-Plot/Z-View.

Ensayo de citotoxicidad

Fibroblastos humanos (hFFs) fueron cultivados en medio Dulbecco Eagle's enriquecido con un 10%(v/v) de fetal bovine serum (FBS), 1% (w/v) de L-glutamine y 1% de penicillin/streptomycin (50 U•mL⁻¹ y 50 mg•mL⁻¹).

Las muestras control y los 3D-IDEA funcionalizados con el AMP se usaron para realizar el ensayo de citotoxicidad indirecta con hFFs. Este ensayo estuvo basado en la medida de la liberación del enzima de lactate dehydrogenase (LDH) mediante el Kit de Detección de Citotoxicidad LDH.

Límite de detección

Con el fin de calcular la sensibilidad de los biosensores, se realizaron medidas de impedancia en KCl y en una solución de saliva artificial [12,13]. Se estableció un rango de diferentes concentraciones de *S. sanguinis*: desde

10¹ hasta 10⁶ CFU•mL⁻¹ en condiciones dinámicas para poder garantizar una distribución homogénea de las bacterias en el volumen total. Los electrodos fueron sumergidos en la solución 1 h para cada una de las concentraciones y se realizaron medidas de impedancia para cada electrodo.

Análisis estadístico

Las diferencias significativas entre los diferentes grupos fueron analizadas mediante el test paramétrico ANOVA seguido de un test comparativo de Tukey para minimizar el error. También se usó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis para verificar los resultados. Los niveles de significancia se establecieron al 95%.

Resultados y discusión

Optimización de la biofuncionalización

Tal y como se muestra en los datos analizados (Figura 1E), se observan diferencias significativas entre las diferentes técnicas de inmovilización del péptido. Los resultados de impedancia indican que la silanización VP permite una mayor impedancia comparado con la silanización LP o bien con los métodos de fisorción. Esto sugiere que la silanización VP promueve un mayor anclaje del AMP en la superficie de los IDEA. Esto concuerda con estudios anteriores donde se demostraba que la silanización VP era más efectiva que la silanización LP en la adhesión de moléculas [14]. Los resultados también indican que aunque la técnica de fisorción también da unos buenos resultados de impedancia, la estabilidad de este tipo de unión es inferior a la obtenida con la silanización, la cual ofrece un enlace covalente y estable [15].

Si nos fijamos en la geometría del sensor, la respuesta impedimétrica correspondiente al 3D-IDEA es mayor que el IDEA planar, dando a entender una mayor sensibilidad. Debido a su diseño específico, cuando un potencial se aplica entre los electrodos del 3D-IDEA, la mayor parte del flujo de corriente pasa cerca de la superficie de las barreras originando una microcapilaridad en cada electrodígito. Cambios en la distribución eléctrica de carga

en la interface sólido/líquido provocan a su vez cambios en la conductividad a lo largo de la superficie de las barreras [10,16]. Estos resultados concuerdan con estudios reportados anteriormente [9,17]. Todo ello sugiere una mayor sensibilidad para la morfología 3D, con lo que los sensores 3D-IDEA se eligieron para realizar el resto de experimentos. Otro dato que se extrae de la Figura 1E es que después de 3h de estabilización en KCl, el valor de impedancia se mantuvo invariable en todas las condiciones.

Detección bacteriana

Tal y como se muestra en la Figura 2A, la presencia de AMP provocó un incremento en la respuesta de R_s después de 1h de incubación, comparado con la muestra control. Este aumento fue más pronunciado en la condición del péptido con enlace covalente (silanizado). Este efecto es probablemente debido a la pre-

sencia de la unidad de anclaje y espaciador del péptido hLF1-11, que asegura un enlace covalente de la molécula con el epoxisilano y una accesibilidad del motivo antimicrobial para favorecer la interacción con la bacteria. Además, el estudio sugiere que la presencia del péptido hLF1-11 en la superficie del sensor permite registrar la interacción de *S. sanguinis* en las dos primeras horas de incubación. De todas estas observaciones se deriva que estos sistemas basados en sensores de impedancia recubiertos con AMP, pueden detectar de manera efectiva la presencia de bacterias en la superficie.

Ensayo de citotoxicidad

La posibilidad de integrar esta plataforma de detección en un implante dental hace necesario comprobar que los electrodos no son tóxicos para las células humanas. Para ello, se estudió la citotoxicidad indirecta de los elec-

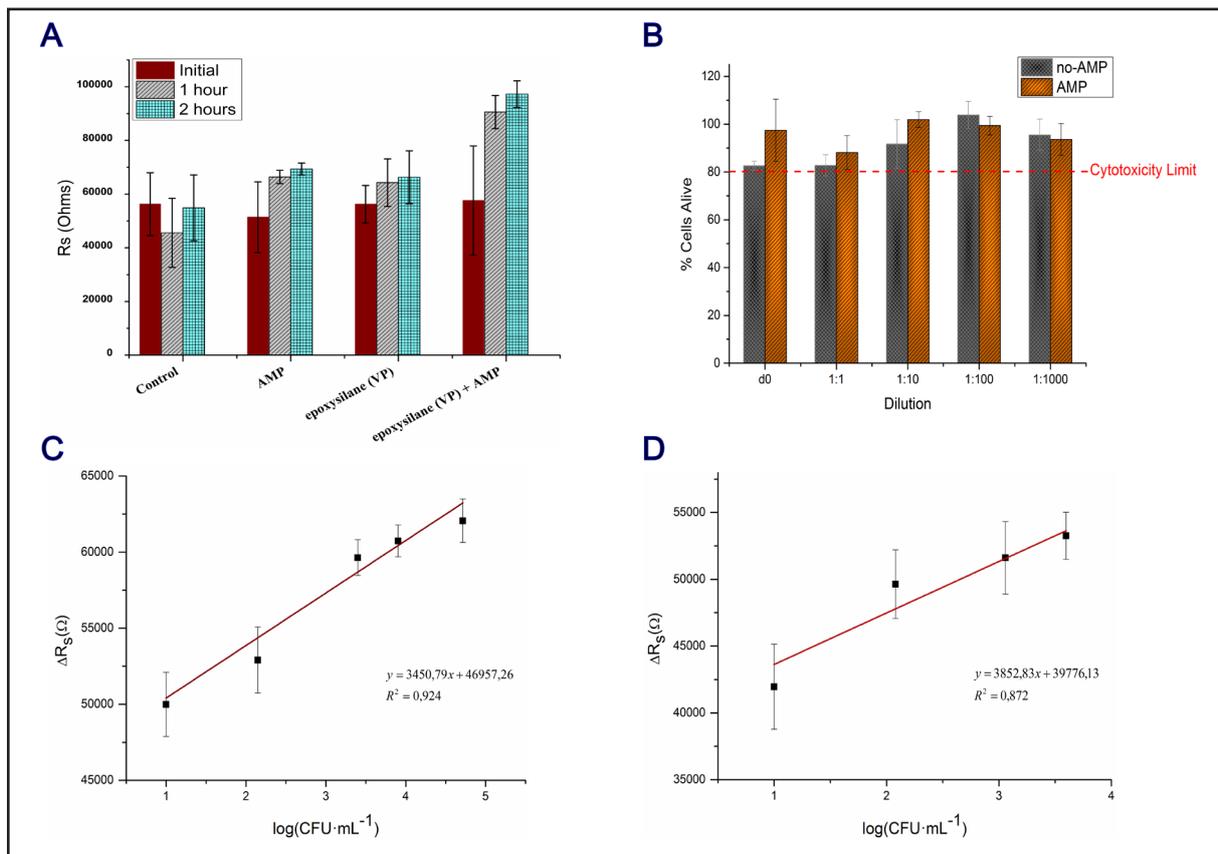


Figura 2. (A) Ensayo de detección en 3D-IDEA. (B) Ensayo de citotoxicidad con hFFs. (C) Regresión lineal de las medidas de impedancia con *S. sanguinis* en una solución de KCl. (D) Regresión lineal de las medidas de impedancia con *S. sanguinis* en una solución de saliva artificial. Los electrodos estuvieron en contacto con cada solución 1 h.

trodos (tanto los iniciales como los funcionalizados con la molécula) con fibroblastos humanos (hFFs). El ensayo se realizó después de 1 día de incubación en diferentes concentraciones de medio previamente en contacto con los electrodos. Los resultados se obtuvieron mediante el Kit de detección de Citotoxicidad (LDH). Los datos obtenidos (Figura 2B) muestran como todas las superficies evaluadas ofrecen unos valores de viabilidad por encima del 80% para todas las diluciones examinadas. Estos resultados evidencian como ni los sensores ni la molécula de péptido hLF1-11 tienen efectos citotóxicos hacia las células de fibroblasto.

Límite de detección

Para evaluar la sensibilidad del biosensor desarrollado, se realizaron medidas de impedancia usando *S. sanguinis* en diferentes concentraciones. Tal y como se muestra en la Figura 2C, se establece una correlación lineal entre ΔR_s y el logaritmo de la concentración bacteriana entre 10^1 – 10^5 CFU•mL⁻¹ con un coeficiente de correlación de $R^2=0.924$. La ecuación del modelo lineal se puede expresar mediante la ecuación: $y=bx+a$. Este modelo es usado para el cálculo de la sensibilidad del sistema, b , versus el logaritmo de la concentración bacteriana, obteniendo un valor de 3.45 ± 0.5 k Ω por década de concentración bacteriana. El límite de detección (LoD), se determina mediante: $LoD=3\cdot Sa/b$ [18], donde Sa es la desviación estándar y b la pendiente de la curva. El LoD se estableció a $3.5\cdot 10^1$ CFU•mL⁻¹, el cual es comparable e incluso mejor que otros valores de límite de detección reportados para sistemas de detección de bacterias [19].

Se usó saliva artificial como medio de cultivo para *S. sanguinis* con el fin de simular la salinidad y la conductividad del entorno bucal y validar así el uso del biosensor para detección en condiciones fisiológicas. Se realizaron ensayos de detección como hemos explicado anteriormente pero en el rango entre 10^1 CFU•mL⁻¹ y 10^5 CFU•mL⁻¹ y usando saliva artificial en vez de KCl (Figura 2D). Como ilustra el gráfico, ahora la respuesta sigue una correlación lineal ($R^2=0.872$) en el rango de

10^1 – 10^4 CFU•mL⁻¹. En este caso la sensibilidad del sensor fue de 3.85 ± 1.3 k Ω por década de concentración bacteriana. El LoD se obtuvo de $8.6\cdot 10^2$ CFU•mL⁻¹. Esta diferencia respecto los resultados obtenido en KCl es probablemente debido a que el factor saliva puede influenciar en la respuesta del biosensor. De todos modos, el valor obtenido es mejor que los reportados en otros estudios [20].

Conclusiones

En conclusión, el uso de AMP como elementos de bioreconocimiento en sensores 3D-IDEA, ha permitido la implementación de un sistema de detección rápido y fácil de usar con una elevada sensibilidad, para la detección de la cepa periodontopatogénica *S. sanguinis*, que ha sido elegida como ejemplo de colonizador primario. Este array integrado y basado en AMP puede ser usado para la detección de un amplio espectro de bacterias y de gran interés para la prevención de la formación inicial de biofilm y las consecuentes infecciones relacionadas.

Agradecimientos

Los autores agradecen el soporte económico de MINECO (MAT 2012-30706) y del Government of Russian Federation (Grant 074-U01).

Referencias

1. **A. Lee, H.-L. Wang**, Biofilm related to dental implants., *Implant Dent.* 19 (2010) 387–93.
2. **H. Algraffee, F. Borumandi, L. Cascarini, Peri-implantitis, Br. J. Oral Maxillofac. Surg.** 50 (2012) 689–694.
3. **P.E. Kolenbrander, R.J. Palmer, S. Periasamy, N.S. Jakobovics**, Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance., *Nat. Rev. Microbiol.* 8 (2010) 471–80.
4. **M. Kuboniwa, G.D. Tribble, C.E. James, A.O. Kilic, L. Tao, M.C. Herzberg, S. Shizukuishi, R.J. Lamont**, *Streptococcus gordonii* utilizes several distinct gene functions to recruit *Porphyromonas gingivalis* into a mixed community, *Mol. Microbiol.* 60 (2006) 121–139.
5. **C.P.J.M. Brouwer, M. Rahman, M.M. Welling**, Discovery and development of a synthetic peptide derived from lactoferrin for clinical use., *Peptides.*

- 32 (2011) 1953–63.
6. **A. Ahmed, J. V. Rushworth, N.A. Hirst, P.A. Millner**, Biosensors for whole-cell bacterial detection, *Clin. Microbiol. Rev.* 27 (2014) 631–646.
 7. **R.R. Silva, K.Y.P.S. Avelino, K.L. Ribeiro, O.L. Franco, M.D.L. Oliveira, C.A.S. Andrade**, Optical and dielectric sensors based on antimicrobial peptides for microorganism diagnosis., *Front. Microbiol.* 5 (2014) 443.
 8. **M. Zasloff**, Antimicrobial peptides of multicellular organisms, 415 (2002) 389–395.
 9. **A. Bratov, N. Abramova, J. Ramón-Azcón, A. Merlos, F. Sánchez-Baeza, M.-P. Marco, C. Domínguez**, Characterisation of the interdigitated electrode array with tantalum silicide electrodes separated by insulating barriers, *Electrochem. Commun.* 10 (2008) 1621–1624.
 10. **A. Bratov, N. Abramova, M.P. Marco, F. Sanchez-Baeza**, Three-Dimensional Interdigitated Electrode Array as a Tool for Surface Reactions Registration, *Electroanalysis.* 24 (2012) 69–75.
 11. **M. Godoy-gallardo, C. Mas-moruno, M.C. Fernández-calderón, C. Pérez-giraldo**, Acta Biomaterialia Covalent immobilization of hLf1-11 peptide on a titanium surface reduces bacterial adhesion and biofilm formation, *ACTA Biomater.* (2014).
 12. **H.H. Huang, T.H. Lee**, Electrochemical impedance spectroscopy study of Ti-6Al-4V alloy in artificial saliva with fluoride and/or bovine albumin, *Dent. Mater.* 21 (2005) 749–755.
 13. **C.E.B. Marino, L.H. Mascaro**, EIS characterization of a Ti-dental implant in artificial saliva media: Dissolution process of the oxide barrier, *J. Electroanal. Chem.* 568 (2004) 115–120.
 14. **M. Zhu, M.Z. Lerum, W. Chen**, How to prepare reproducible, homogeneous, and hydrolytically stable aminosilane-derived layers on silica., *Langmuir.* 28 (2012) 416–23.
 15. **X. Chen, P. Sevilla, C. Aparicio**, Surface bio-functionalization by covalent co-immobilization of oligopeptides, *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 107 (2013) 189–197.
 16. **A. Bratov, N. Abramova**, Response of a micro-capillary impedimetric transducer to changes in surface conductance at liquid/solid interface, *J. Colloid Interface Sci.* 403 (2013) 151–156.
 17. **A. Bratov, J. Ramón-Azcón, N. Abramova, A. Merlos, J. Adrian, F. Sánchez-Baeza, M.-P. Marco, C. Domínguez**, Three-dimensional interdigitated electrode array as a transducer for label-free biosensors., *Biosens. Bioelectron.* 24 (2008) 729–35.
 18. **A. Shrivastava, V. Gupta**, Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods, *Chronicles Young Sci.* 2 (2011) 21–25.
 19. **P.K. Basu, D. Indukuri, S. Keshavan, V. Navratna, S.R.K. Vanjari, S. Raghavan, N. Bhat**, Graphene based E. coli sensor on flexible acetate sheet, *Sensors Actuators B Chem.* 190 (2014) 342–347.
 20. **M.S. Mannoer, H. Tao, J.D. Clayton, A. Sengupta, D.L. Kaplan, R.R. Naik, N. Verma, F.G. Ometto, M.C. McAlpine**, Graphene-based wireless bacteria detection on tooth enamel., *Nat. Commun.* 3 (2012) 763.

Diseño y simulación de una articulación de rodilla para prótesis externa usando herramientas CAD-CAE

F. VALENCIA, F. OLMEDO

Departamento de Energía y Mecánica,
Universidad de las Fuerzas Armadas, ESPE. Quito, Ecuador

Resumen

Alrededor del mundo existen un gran número de personas que tienen algún tipo de discapacidad física. La pérdida de un miembro inferior afecta considerablemente a la movilidad bípeda, dificultando sus actividades cotidianas y frustración en las personas generando un sin número de consecuencias tanto físicas como emocionales. El uso de una prótesis externa de tipo transfemoral aumenta la confianza, la movilidad y mejora de la autoestima. Uno de los inconvenientes en la adquisición de una prótesis son los costos elevados siendo este un gran limitante. Por esta razón es importante desarrollar prótesis inteligentes, siendo los sensores los encargados de tomar las señales biológicas del músculo para pasar al procesamiento de la señal y emitir una determinada señal para el manejo de los actuadores y de esta forma emular la caminata de una persona.

La pérdida de un miembro inferior afecta a la movilidad bípeda, y frustración en la persona generando consecuencias tanto físicas como emocionales. El uso de una prótesis externa de tipo transfemoral aumenta la confianza, la movilidad, mejora su autoestima. Uno de los inconvenientes en la adquisición de una prótesis son los costos elevados siendo este un gran limitante. Por esta razón es importante desarrollar prótesis inteligentes con el uso de micro controladores, sensores y actuadores. Al diseñar una articulación de rodilla para prótesis transfemoral y general una simulación de todas las fuerzas que intervienen en el mecanismo permite desarrollar un mecanismo funcional y tener una buena relación peso resistencia. Para el desarrollo del diseño se debe comprender la biomecánica, determinar los principales parámetros que influyen en el diseño como son las fuerzas, los momentos, los desplazamientos los ángulos que intervienen en el mecanismo, Una vez comprendido todos estos aspectos se realiza el diseño asistido por computador (CAD) de la articulación de rodilla de acuerdo a estudios antropométricos para finalmente colocar todas las cargas que intervienen en dicho mecanismo y obtener el análisis estático mediante el método de elementos finitos.

Palabras clave: Antropometría, Biomecánica, Ciclo de caminata, Prótesis Externa.

Abstract

The loss of a lower limb affects bipedal mobility and frustration in the people, generating physical and emotional consequences. The use of a transfemoral-type external prosthesis increases confidence, mobility and improves self-esteem. The main limitation for the acquisition of a prosthesis is its high cost. For this reason, it is important to develop intelligent prostheses with the use of micro-controllers, sensors and actuators. The design of a knee joint for transfemoral prosthesis and generate a simulation of all the forces involved in the mechanism allows to develop a functional mechanism and have a good weight-resistance. For the development of the design must be understood the biomechanics, determine the main parameters that influence the design as are the forces, the moments, the displacements the angles that intervene in the mechanism. Once all the topics are understood, the computer assisted design (CAD) of the knee joint is performed according to anthropometric studies to finally locate all the loads involved in this mechanism and obtain the static analysis using the Finite Element Method.

The aim of this research is development of the simulation of a mechatronic external knee prosthesis for transfemoral amputation. The prototype in process of development is considered to be an intelligent prosthesis since it is able to be controlled by signals from the biological body. The aspects considered in development are: the mechanical relationship with the human body and the human motion analysis as principal function of the prosthesis that enables to determine the forces involved in the development of the motion, the angles of knee displacement and motion speed. The strain distributions under different compressive load conditions were simulated by using the Finite Element Method.

Keywords: Anthropometry, Biomechanics, Gait cycle, External Prosthesis.

Correspondencia:

F. Valencia / F. Olmedo

Emails: viniciovale@hotmail.com, fvvalencia@utn.edu.ec / jfolmedo@espe.edu.ec

Introducción

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) informa que del total de amputados de las extremidades inferiores, entre 40% y 85% están relacionadas con la diabetes, otro gran porcentaje de las amputaciones de extremidades inferiores ocurren por una atención médica tardía de lesiones en pies, principalmente en personas que padecen diabetes, otras causas son las enfermedades de los vasos sanguíneos llamadas enfermedades vasculares periféricas o PVD, la diabetes como se mencionó anteriormente, los coágulos de sangre, otra causa son las heridas o traumatismos, muchas veces se producen traumatismos severos ocasionados por accidentes de tránsito o por explosiones a causa de minas.[1]

Las prótesis biónicas o rodillas con microprocesadores aumenta la confianza al caminar, aumenta la movilidad del usuario, reduce la demanda cognitiva al caminar, mejoran el autoestima, aumenta la velocidad de marcha en terrenos irregulares, mejoran el patrón de marcha al descender escaleras, disminuyen las caídas, produce una mayor satisfacción del usuario y produce un menor consumo de oxígeno un ejemplo claro de este tipo de prótesis es la denominada GENIUM de OTTOBOCK que dispone de un sistema inteligente controlado por microprocesador, este sistema integra muchas innovaciones técnicas y tecnológicas como sensores, ordenadores y control con el objetivo de reducir las diferencias entre las funciones naturales del cuerpo humano y la situación artificial. Estos avances permiten que las personas que han tenido una amputación de este tipo, por primera vez podrán emular el dar un paso de la manera más parecida a la forma biológica natural. Este sistema de prótesis para pierna integra el llamado CAA (computer-aided alignment) que incorpora todas las ventajas del producto a través de la adaptación a medida de la prótesis. [2]

Al tener la simulación de la rodilla permite comprender de mejor forma la biomecánica y desarrollar la geometría, determinar el diseño, y en corregir este por software antes de pasar a la fabricación del mismo.

La investigación en la biomecánica tiene como objetivo mejorar los conocimientos del cuerpo humano, la biomecánica del sistema músculo-esquelético requiere un buen entendimiento de la mecánica básica, se usa la física para describir las fuerzas internas del cuerpo humano, estas fuerzas permiten comprender la condición de carga de los tejidos blandos y sus respuestas mecánicas. [8]

Al ser un campo bastante extenso el desarrollo de una prótesis biónica, se ha ramificado en varias líneas de investigación, siendo una de estas áreas el desarrollo de la articulación de rodilla para posteriormente acoplar el actuador que permita generar movimiento y pueda emular los movimientos de una pierna sana. Para llegar a desarrollar el mecanismo de articulación de rodilla se debe analizar la marcha humana, obtener los principales parámetros como son las fuerzas que actúan en el mecanismo, los ángulos, el desplazamiento, la velocidad, el menor peso posible, y comprender la marcha humana para diseñar y simular una articulación de rodilla. [9]

Materiales y métodos

Parámetros principales en la marcha humana

Los parámetros que se consideran para este estudio son los que se nombra a continuación:

- Tipo de caminata, Walky 1; el usuario de prótesis es capaz de usar para caminar sobre una superficie completamente plana a un paso continuo. [5]
- Grados de libertad en la articulación de rodilla; el primer grado de libertad, está condicionado por el eje transversal XX' , este movimiento es denominado como flexo-extensión y se genera entre la extensión completa a la flexión completa de la rodilla que va de 0 grados a 140 grados aproximadamente. El segundo grado de libertad es la rotación sobre el eje longitudinal de la pierna que sólo aparece cuando la rodilla se encuentra flexionada, este movimiento se denomina de abducción y aducción afectado por la cantidad de flexión en la articulación, cuando la pierna se encuentra extendida impide casi todo el movimiento en el plano frontal, la abducción y la aducción pasiva aumenta con la flexión de rodilla hasta

30 grados. [3]

- La rodilla trabaja esencialmente bajo compresión, ya que soporta todo el peso de la persona.

- Las actividades cotidianas requieren un rango de movimiento desde la extensión completa hasta el menor ángulo que es alrededor de 117 grados de flexión. [3]

- Observando la figura 2 se tiene el menor ángulo de 0 grados y el mayor ángulo generado en el ciclo de la marcha de 46 grados, entre el 60% y 80% del ciclo de la marcha. Este análisis es realizado al tipo de caminata 1. [10]

- Observando la figura 3 se tiene el mayor momento generado en el ciclo de la marcha que es al inicio, 12.5%, 37.5%, y al 100%.

Selección del material

Como base principal se considera los materiales que usan los grandes fabricantes de prótesis, siendo los más destacados el aluminio, el acero inoxidable, y por supuesto el titanio siendo unos de los más ligeros y resistentes, pero esto quiere decir que es uno de los materiales más costosos. Se valida la información de los materiales por software, realizando graficas como, peso – resistencia, costo - resistencia, estas gráficas permiten una visión completa del universo de materiales (figura 1),

claro que salen varios materiales compuestos, siendo el inconveniente la adquisición de estos materiales. Para culminar con la selección del material se consultó en el mercado local la disponibilidad de éstos, y también considerando el proceso de fabricación, ya que se pretende realizar la articulación de rodilla mediante mecanizado, para posteriormente realizar los diferentes ensayos y por último realizar el molde de la articulación de rodilla, para una producción en serie. [4]

Una vez desarrollado el CAD, es necesario colocar el material con el cual se pretende materializar el diseño mencionado. En este caso el material adecuado es el aluminio 7075-T6, el cual es usado en Ecuador para matricería por sus propiedades mecánicas, las cuales se menciona a continuación: [13]

Nombre: 7075-T6

Categoría: Aleación de aluminio

Criterio de fallos: Tensión de Von Mises máxima.

Módulo elástico: 72 GPa

Coefficiente de Poisson: 0.33

Módulo cortante: 26,9 GPa

Densidad: 2810 kg/m³

Límite de tracción: 570 MPa

Límite elástico: 505 MPa

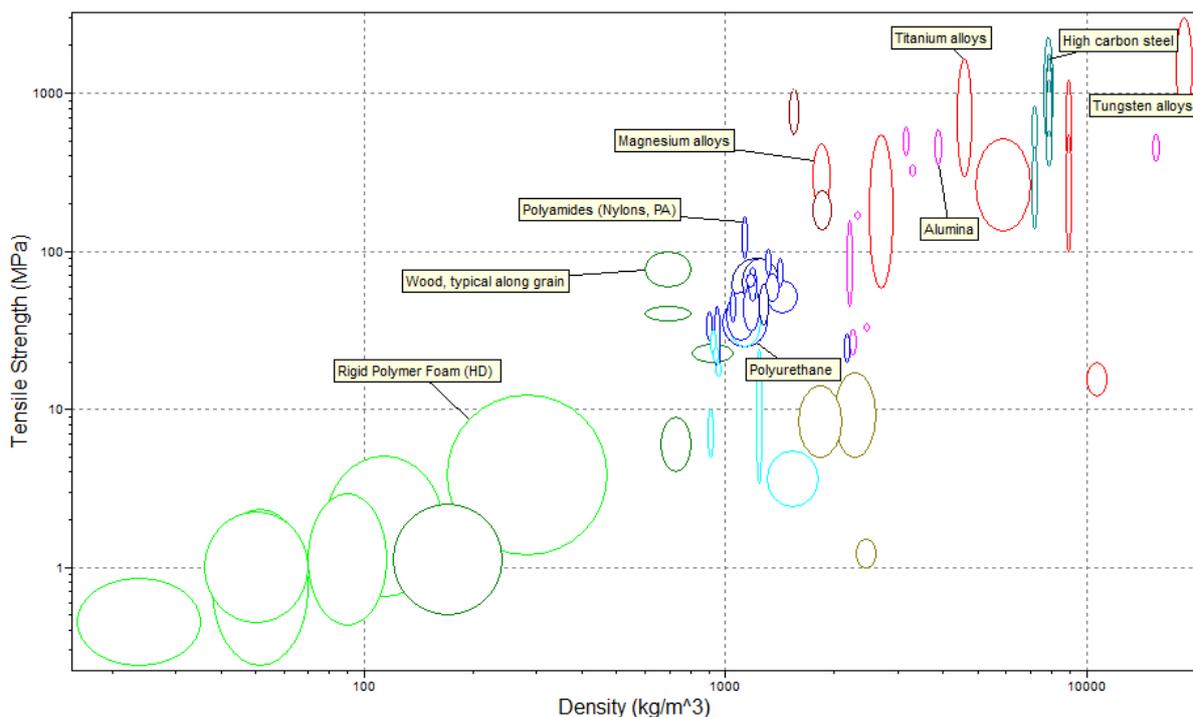


Figura 1. Tensión versus densidad. [6]

Diseño asistido por computador

Se desarrolló una serie de bocetos con medidas aproximadas de acuerdo a los parámetros dados en el ciclo de la marcha y las medidas antropométricas. El diseño inicia con las longitudes dadas por estudios antropométricos, y considerando las fuerzas que actúan sobre el mecanismo. Este mecanismo se fue solidificando generando diferentes partes de

la articulación de rodilla, una vez obtenido el mecanismo se lo lleva a un análisis estático, cargando el material adecuado a cada elemento de la articulación de rodilla, colocando las cargas dadas en el estudio de la marcha, y finalmente realizando el análisis; como el factor de seguridad y los desplazamientos. Este proceso de mejoramiento continuo lleva un tiempo considerable, porque es un proceso con

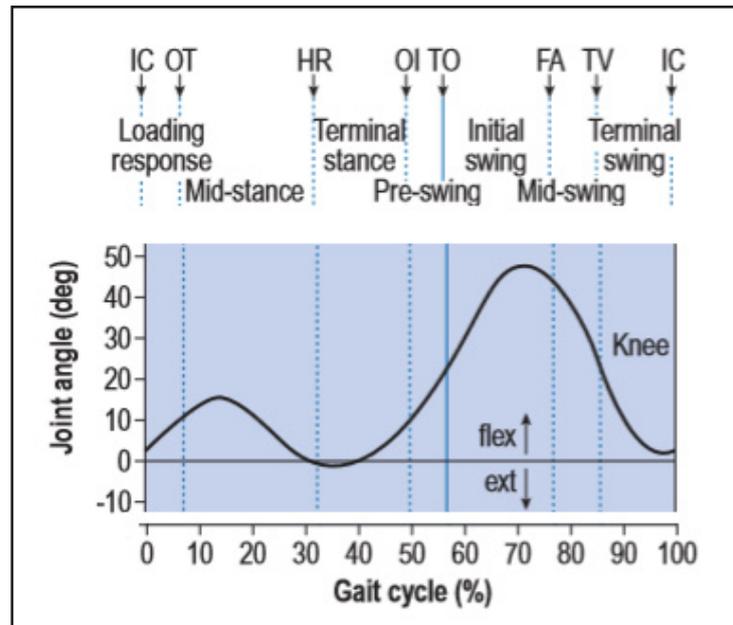


Figura 2. Ángulos en el plano sagital de la articulación de rodilla durante el ciclo de la marcha de una persona sin problemas patológicos. [16]

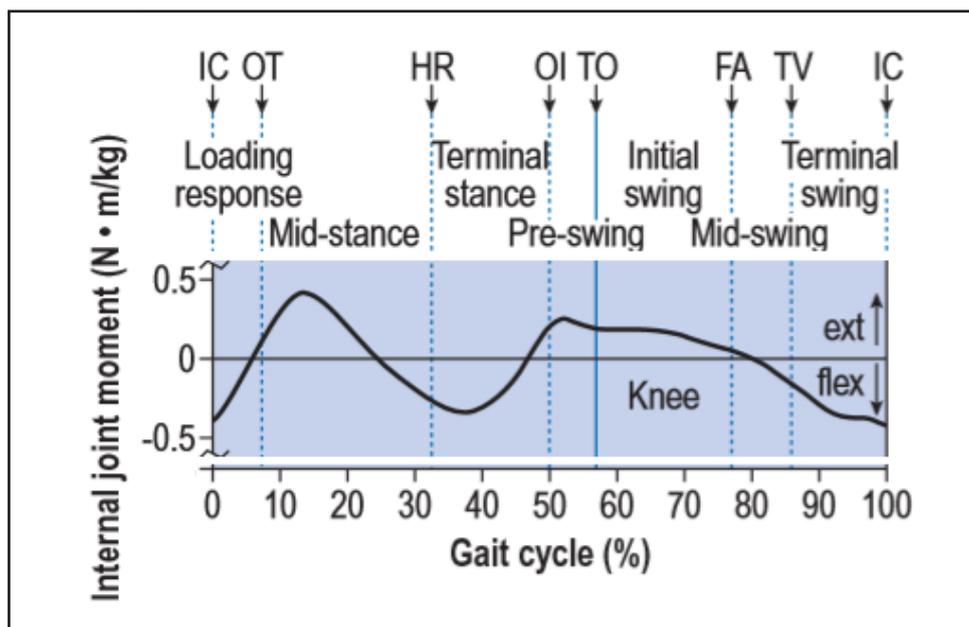


Figura 3. Momento versus ciclo de la marcha de la articulación de rodilla de una persona sin problemas patológicos. [16]

retroalimentación, inicia en el croquis, pasa por la solidificación, al ensamble, luego las restricciones, las cargas en el sistema, el malla-do, y los resultados, en caso de que hay exceso de material, o baja resistencia en el mecanismo, el proceso se repite realizando cambios en el croquis y el proceso continua, llevando de esta forma mucho tiempo computacional hasta conseguir cada vez un diseño que satisfaga las necesidades. Una gran ventaja al tener un sistema CAD-FEA integrado ya que permite realizar cambios al instante, e interactuar en cada paso. [13]

Resultados y análisis

Se considera los datos mencionados a continuación de un paciente promedio: [11]

- Masa: 72.84 kg.

- Estatura: 1.72 m
- Altura de la rodilla: 0.52 m
- Masa del muslo, pierna y pie: 11.65 kg
- Velocidad media a pie: 4 a 5 km/h (nivel 1 de caminata)

Se toma como las gráficas más importantes en este estudio citando la figura 2 y figura 3 las cuales mediante intervalos de 2.5% se obtiene los ángulos para el análisis de éstos. Se obtienen gráficamente los valores, como se muestran en la figura 4, para tener los puntos más relevantes en el trayecto de la caminata humana.

Se analiza estos datos que indican el momento versus el ciclo de la marcha, y es necesario obtener los valores para definir los puntos con mayor esfuerzo para estos datos ser pasados al diseño, como se observa en la figura 5.



Figura 4. Ángulo versus ciclo de la marcha de la articulación de rodilla de una caminata normal.

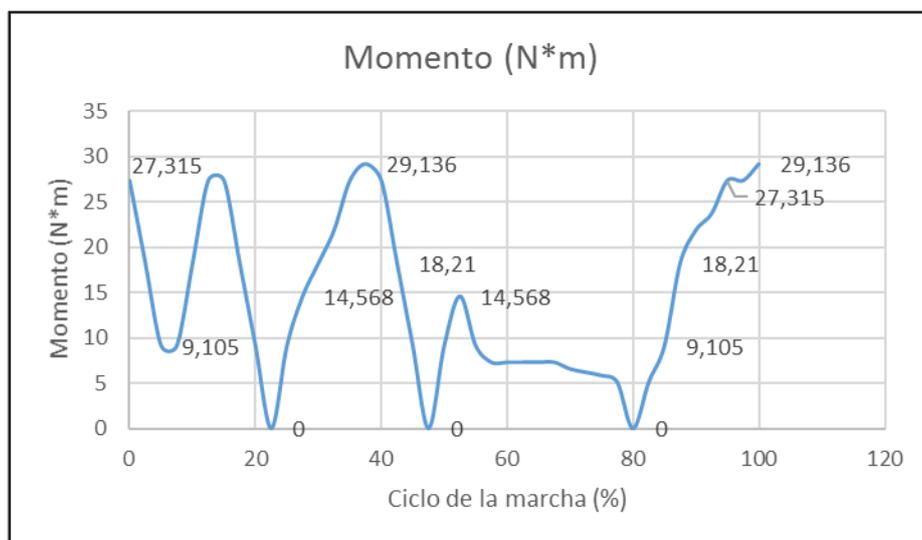


Figura 5. Momento versus ciclo de la marcha de la articulación de rodilla en una camina normal.

Análisis cinemático

Se esquematiza dicha articulación (ver figuras 5-7), permitiendo determinar las trayectorias del mecanismo, los ángulos, y desplazamiento del actuador. [12]

Como se muestra en la figura 6,7 y 8, se tienen los siguientes datos:

Siendo:

- K= Ángulo generado durante el ciclo de la marcha.
- r1= 0.207 m, longitud base de la articulación de rodilla.
- r2= 0.050 m, longitud de parte móvil de la articulación de rodilla.
- c= desplazamiento del actuador

Entonces:

$$\delta = 90 - k$$

$$c = \sqrt{r_2^2 + r_1^2 - 2r_1 \cdot r_2 \cdot \cos(\delta)}$$

De esta forma se determina “c” dando la longitud correcta que debe tener el actuador lineal de acuerdo al ángulo generado durante el ciclo de marcha. Es necesario determinar el ángulo “β” para el análisis de fuerzas siendo:

$$\beta = \sin^{-1}(r_2 \cdot \sin \delta / c)$$

Resultados

Se puede dividir en tres partes al ciclo de la marcha, definido este por la carga durante el ciclo de la marcha, siendo de esta forma la primera división con respuesta a la carga, estancia media, pre-balanceo – balanceo, estas condiciones representa la variación de la fuerza en la articulación de rodilla, dependiendo directamente del ciclo de la marcha.

Siendo:

- M1: Momento dada por figura 2
- Fm1: Es la fuerza necesaria para generar dicho momento.
- r2: 0.050 m
- F1: Fuerza ejercida por el peso de la persona.
- M1 = Fm1•r2

Las componentes de las fuerzas dependen directamente del ángulo del mecanismo de la

articulación de rodilla.

Siendo:

K = el ángulo durante la caminata

Entonces:

$$\sum f_x = 0$$

$$F1x + Fm1x - Rx = 0$$

$$\sum f_y = 0$$

$$-F1y - Fm1y + Ry = 0$$

Fa=Fuerza del actuador.

$$Fa = Ry / \cos \beta$$

Resumiendo, el análisis de fuerzas y momentos se representa en la figura 10, el cual indica el ángulo de la articulación de rodilla versus las fuerzas que actúan en dicha posición, los puntos más representativos como se puede observar se encuentra cuando la articulación de rodilla tiene un ángulo de 2.5 ya que actúan las fuerzas tanto generadas por el momento y por la fuerza generada por el peso de la persona.

CAD (diseño asistido por computador)

Se indica a continuación cada una de las partes que constituyen la articulación de la rodilla, empezando por la parte superior que representa la parte móvil del mecanismo, luego la base de la articulación de rodilla, incluyendo los acoples de tipo pirámide, los encargados de la sujeción al resto de elementos que conforman la prótesis de rodilla, y la representación gráfica del actuador, la cual permite tener una visión mucho más clara (figura 12).

Condiciones de fronteras

Para el caso de este estudio se considera los elementos de conexión y alineación los cuales se denomina acople pirámide “Socket Adapter rotatable” y el “socket adaptador” (figura 13), para la conexión de la parte superior de la prótesis, se considera también una fuerza de compresión la cual está dada por el peso total de la persona. [14]

Mallado

Para determinar el mallado se realizó con una relevancia de 10 entre -100 hasta 100, ya que si se realiza un mallado mucho más fino el tiempo de procesamiento computacional se

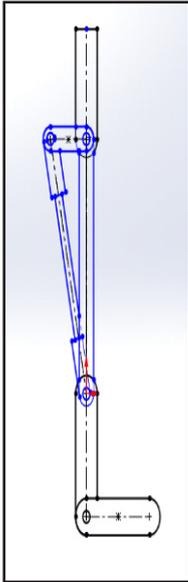


Figura 6. Prótesis transfemoral.

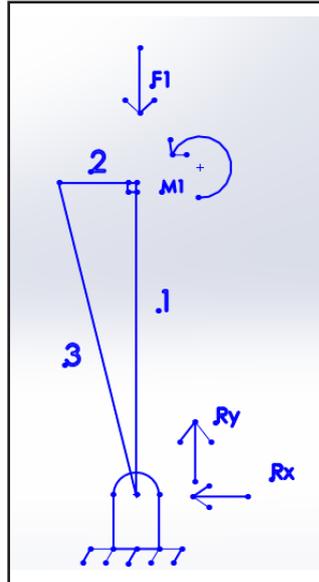


Figura 7. Diagrama de Fuerzas

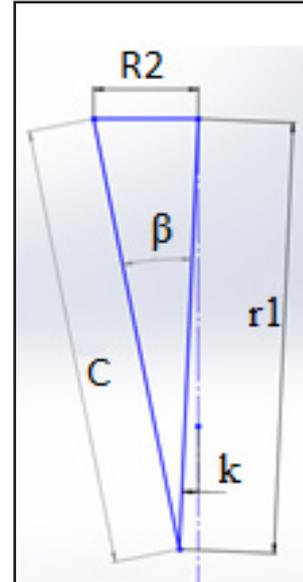


Figura 8. Ángulos y longitudes

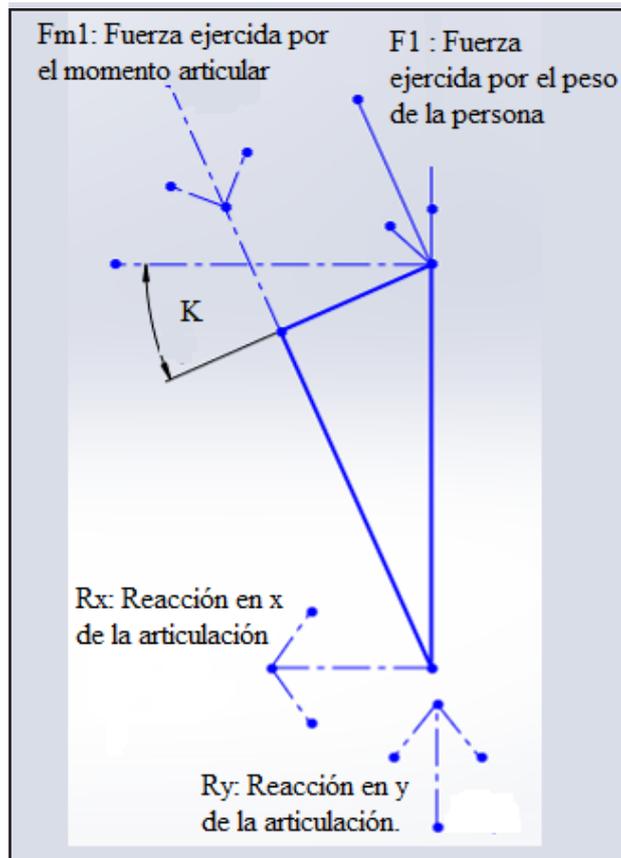


Figura 9. Componentes de fuerzas articulación de rodilla.

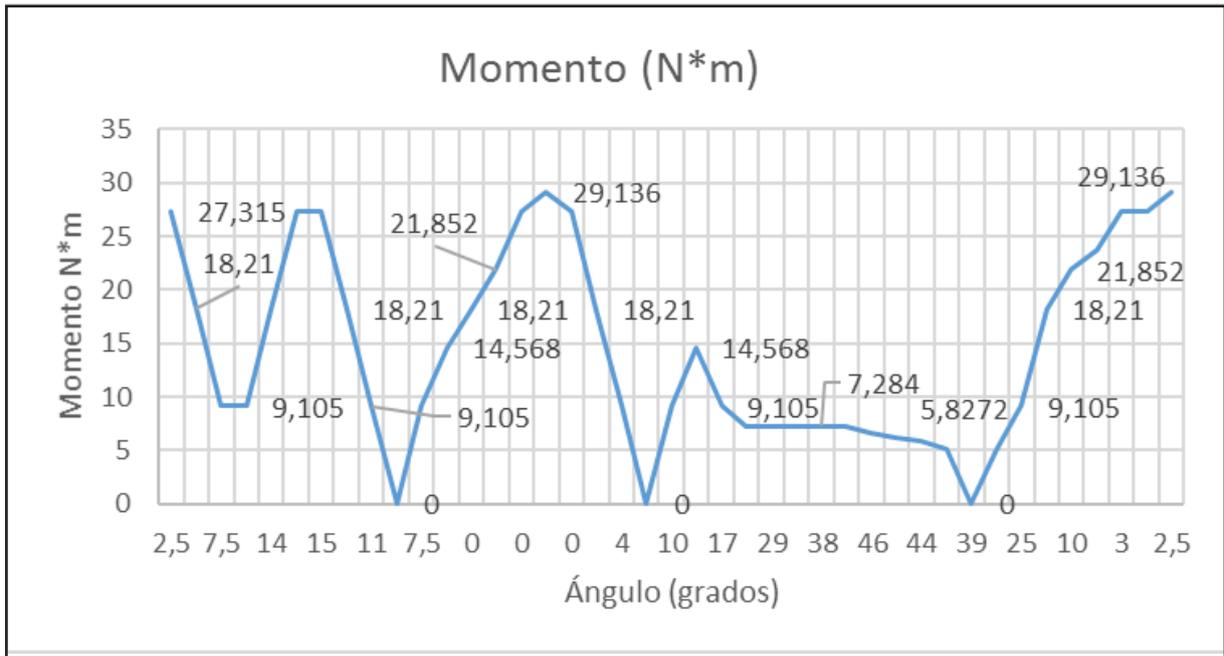


Figura 10. Ángulo versus momento.

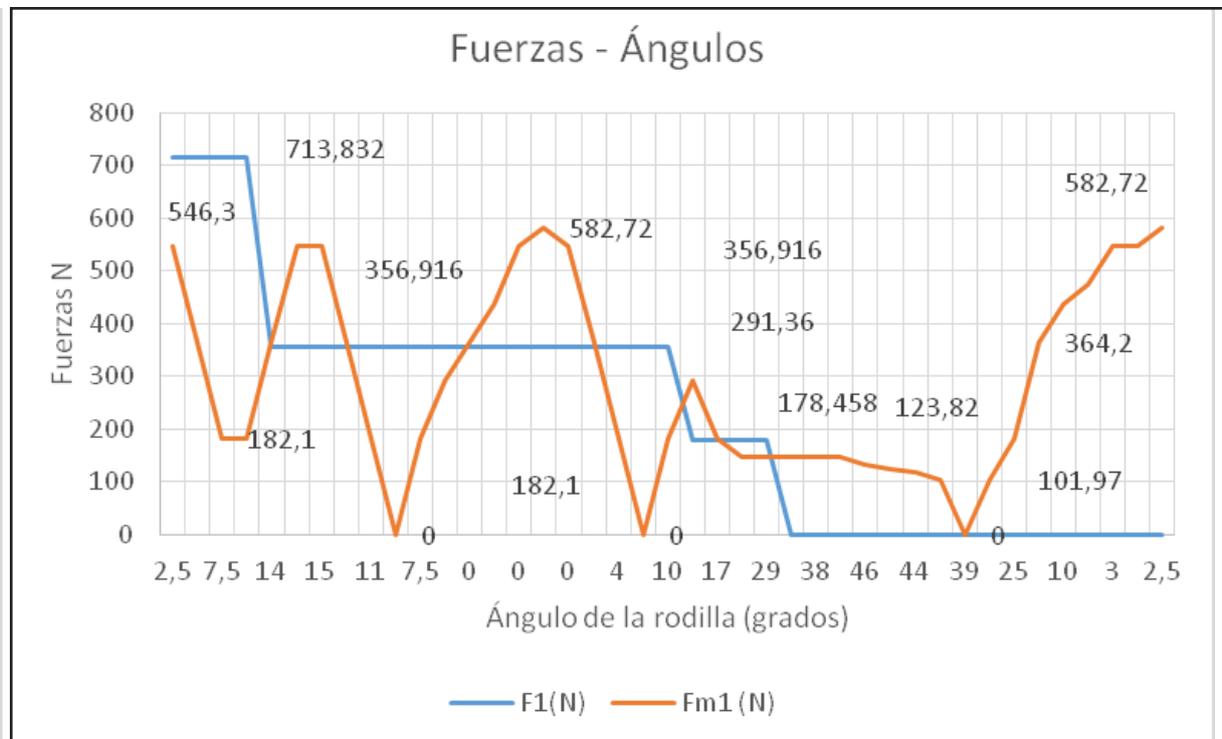


Figura 11. Fuerzas versus ángulos

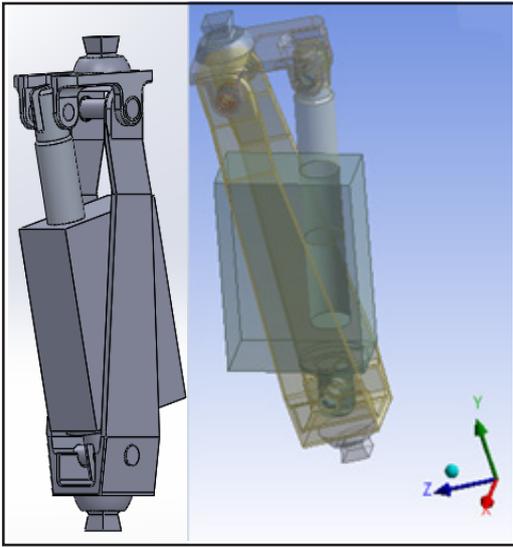


Figura 12. Articulación de rodilla monocéntrica



Figura 13. Socket rotatable – socket adaptador.

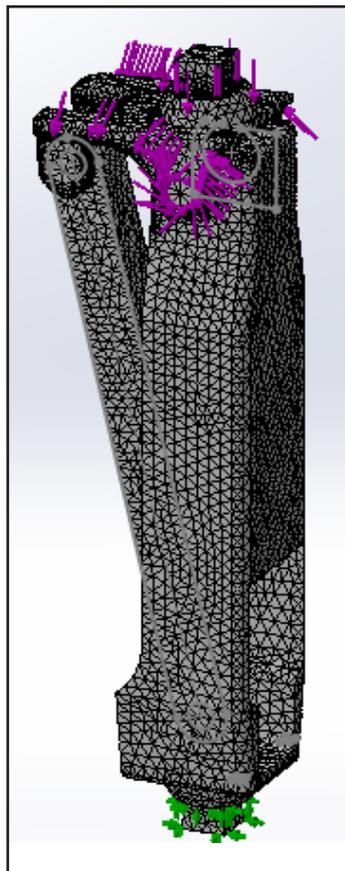


Figura 14. Mallado de articulación de rodilla.

incrementa considerablemente (figura 14):

- Numero de nodos: 43036
- Número de elementos: 21543

Deformación

Se obtiene los valores mínimos y máximos para el mecanismo, dando como valor mínimo de deformación 0 (m), y como valor máximo de deformación 0.00024 (m) es un valor prácticamente despreciable en la articulación

de rodilla (figura 15).

Equivalente de Von Mises

La teoría de la máxima energía de distorsión puede considerarse un refinamiento del criterio de Tresca, de acuerdo con este criterio una pieza resiste estructuralmente en términos de la llamada Von Mises, dando para este caso un esfuerzo máximo de 70 MPa (figura 16).

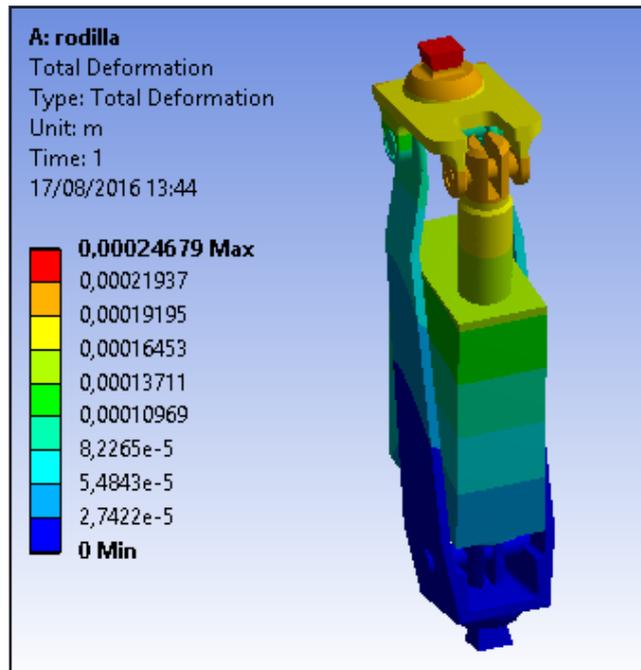


Figura 15. Deformación total.

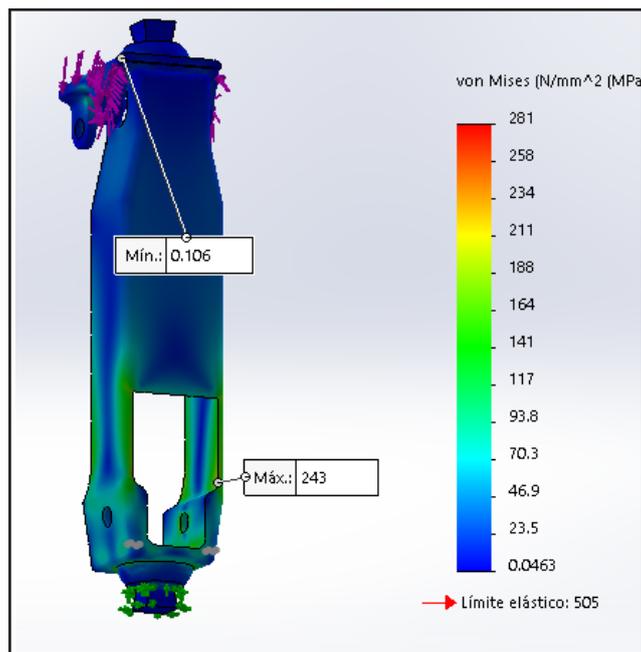


Figura 16. Equivalente de von Mises

Factor de seguridad

Se obtiene un factor de seguridad mínimo en los elementos principales de la articulación de rodilla siendo:

La figura 17 muestra el factor de seguridad mínimo de la articulación de rodilla en el ensamble:

$$F_{s_{min}} = 2$$

Como se observa en la gráfica a continua-

ción se tiene un factor de seguridad mínimo de 3 en la parte móvil (figura 18).

Se ha realizado un análisis en la zona que tiene el factor de seguridad más bajo para tener un factor de seguridad más real (figura 19).

A continuación se observa el factor de seguridad en la parte base de la articulación de rodilla, dando un factor de seguridad de 2, y se analiza la zona en la que se encuentra el factor de seguridad mínimo (figuras 20 y 21).

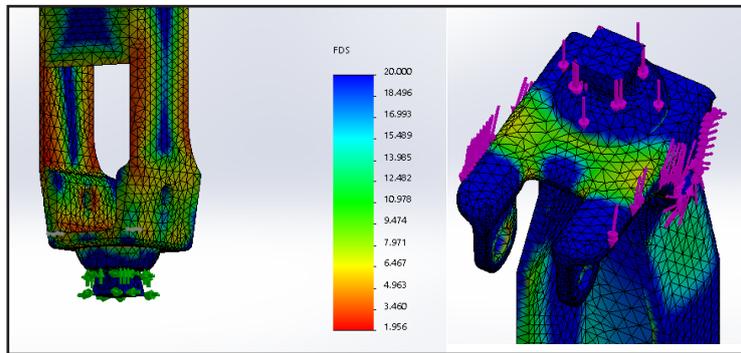


Figura 17. Factor de seguridad en articulación de rodilla.

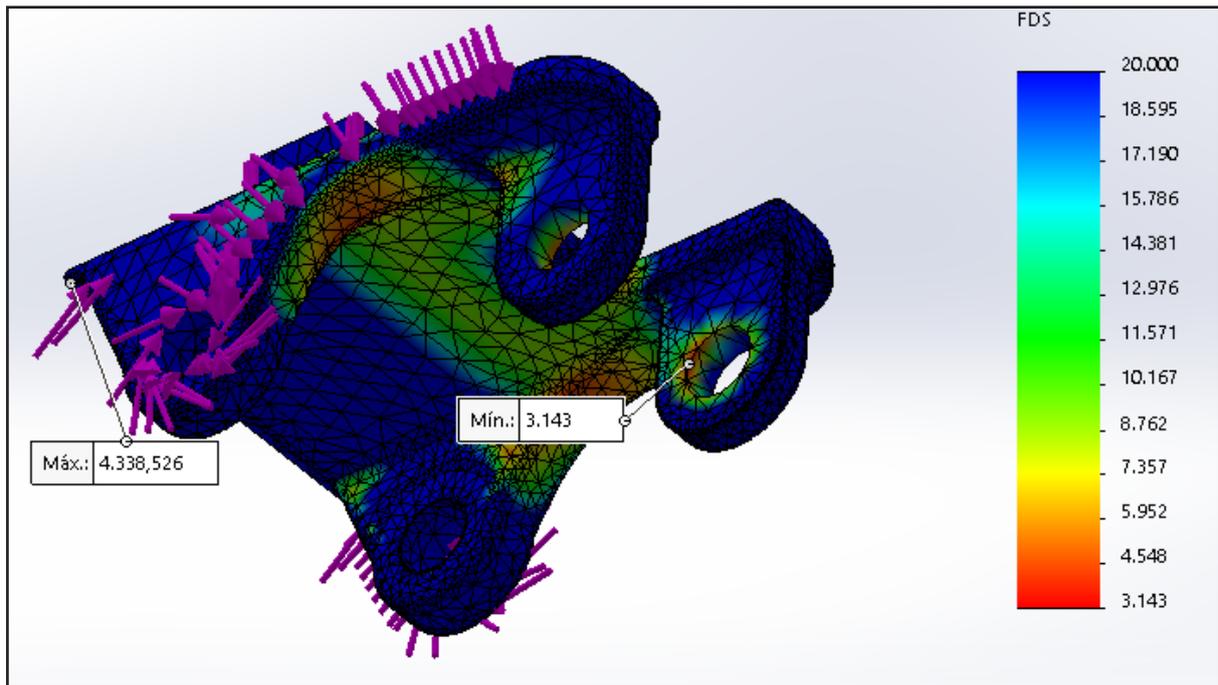


Figura 18. Factor de seguridad, parte móvil

	Valor	
Suma:	141.96	
Avg	7.8865	
Máx.	10.495	
Mín.	3.1428	
Valor RMS (media cuadrática)	8.169	

Figura 19. Parte móvil, zona representativa

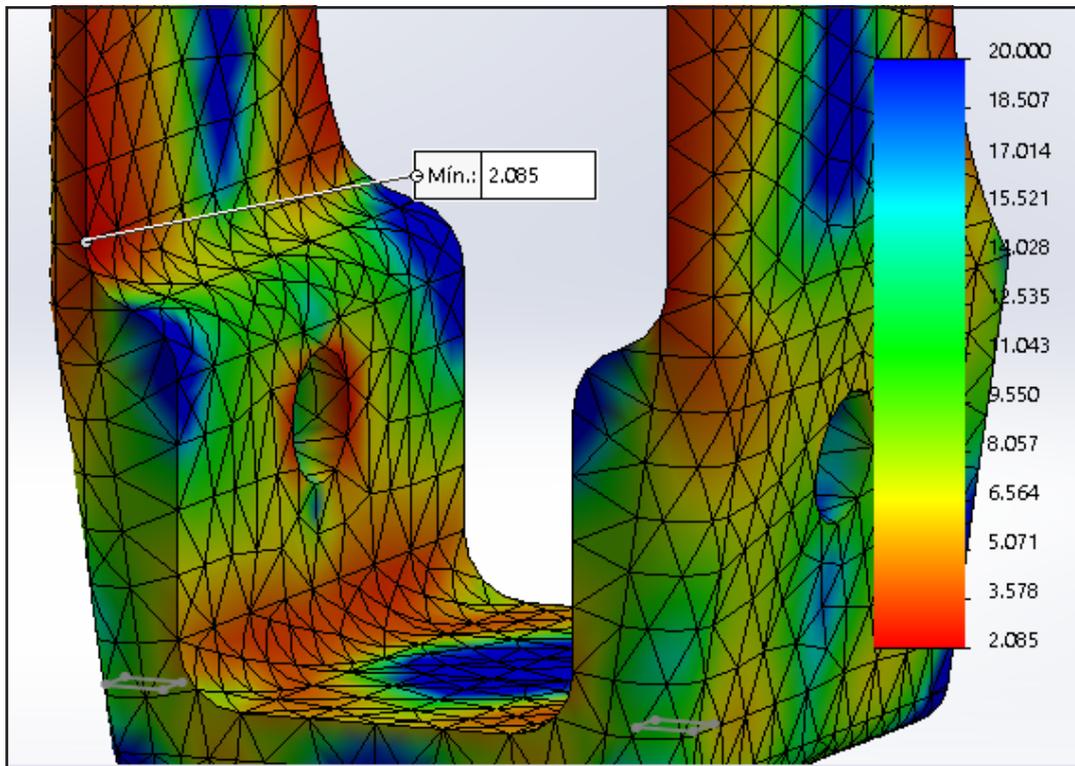


Figura 20. Factor de seguridad, Base rodilla

	Valor
Suma:	53.474
Avg	2.8144
Máx.	3.2789
Mín.	2.085
Valor RMS (2.8371

Figura 21. Base rodilla, zona representativa

Fatiga

La falla por fatiga resultante de carga variable. En elementos de máquinas se producen esfuerzos que se llaman esfuerzos variables, repetitivos, alternantes o fluctuantes. A menudo se encuentran que los elementos de máquinas han fallado bajo la acción de esfuerzos repetidos o fluctuantes, el análisis más cuidadoso revela que los esfuerzos máximos reales estuvieron por debajo de la resistencia última del material y con mucha frecuencia incluso por debajo del límite elástico. [15]

Existen tres métodos: Método de la fatiga-vida, método de la deformación-vida, y método de la predicción de la mecánica de la fractura, con que se intenta predecir la vida en números de ciclos (N) hasta la falla.

- Fatiga de bajo ciclaje $1 < N < 10\ 000$
- Fatiga de alto ciclaje $N > 10\ 000$

El método de la mecánica de la fractura se usa cuando ya se ha detectado una grieta o fisura. Para determinar en número de ciclos se va a graficar los esfuerzos cíclicos (figura 22).

Siendo: ϑ_{max} : Esfuerzo máximo
 ϑ_{min} : Esfuerzo mínimo
 ϑ_a : Esfuerzo amplitud
 ϑ_m : Esfuerzo medio

Entonces:

$$\begin{aligned}\vartheta_{max} &= 70 \text{ MPa} \\ \vartheta_{min} &= 0.01 \text{ MPa} \\ \vartheta_a &= (\vartheta_{max} - \vartheta_{min}) / 2 = 34.995 \text{ MPa} \\ \vartheta_m &= (\vartheta_{max} + \vartheta_{min}) / 2 = 35.005 \text{ MPa}\end{aligned}$$

Se determina el factor de seguridad por Goodman modificado:

$$\frac{\vartheta_a}{S_e} + \frac{\vartheta_m}{S_u} = \frac{1}{n}$$

Dando un factor de seguridad de 5.7

Para determinar los ciclos de vida de dicho material se usa la curva S-N para aluminio 7075-T6.

Siendo $S_e = 285 \text{ MPa}$ y si se compara con la figura 23 el número de ciclos antes de producir la falla oscila en los 100 000 de ciclos.

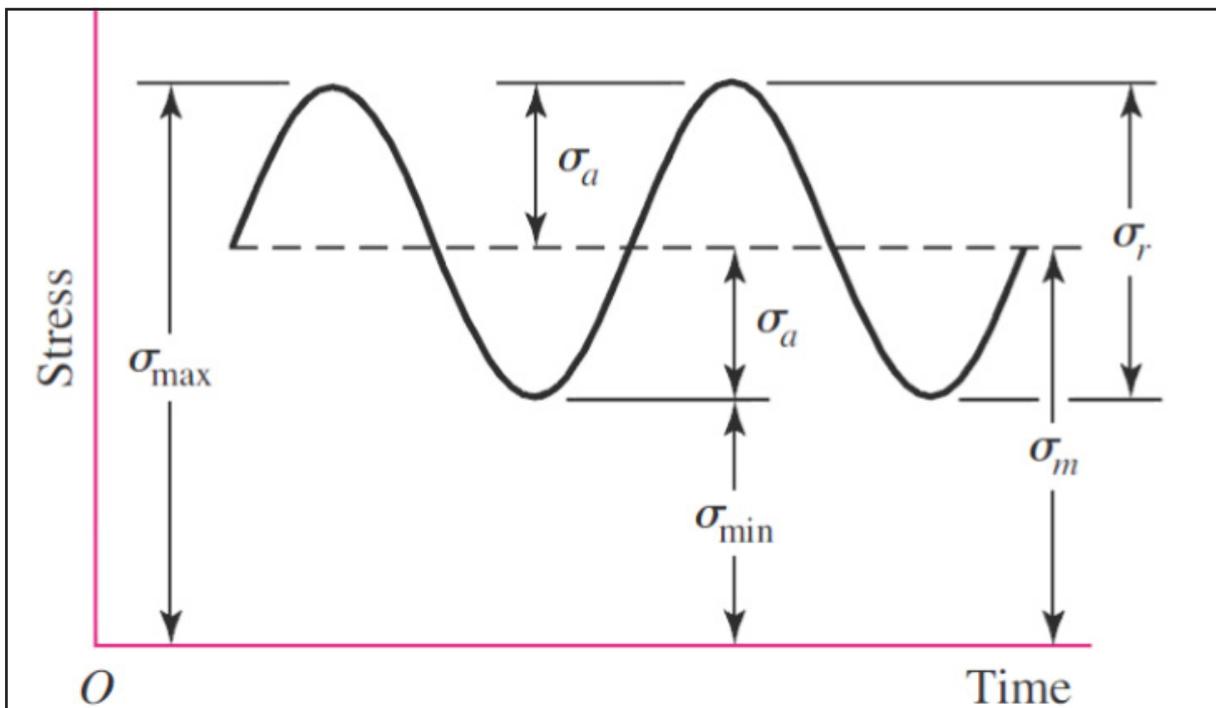


Figura 22. Esfuerzos cíclicos [15]

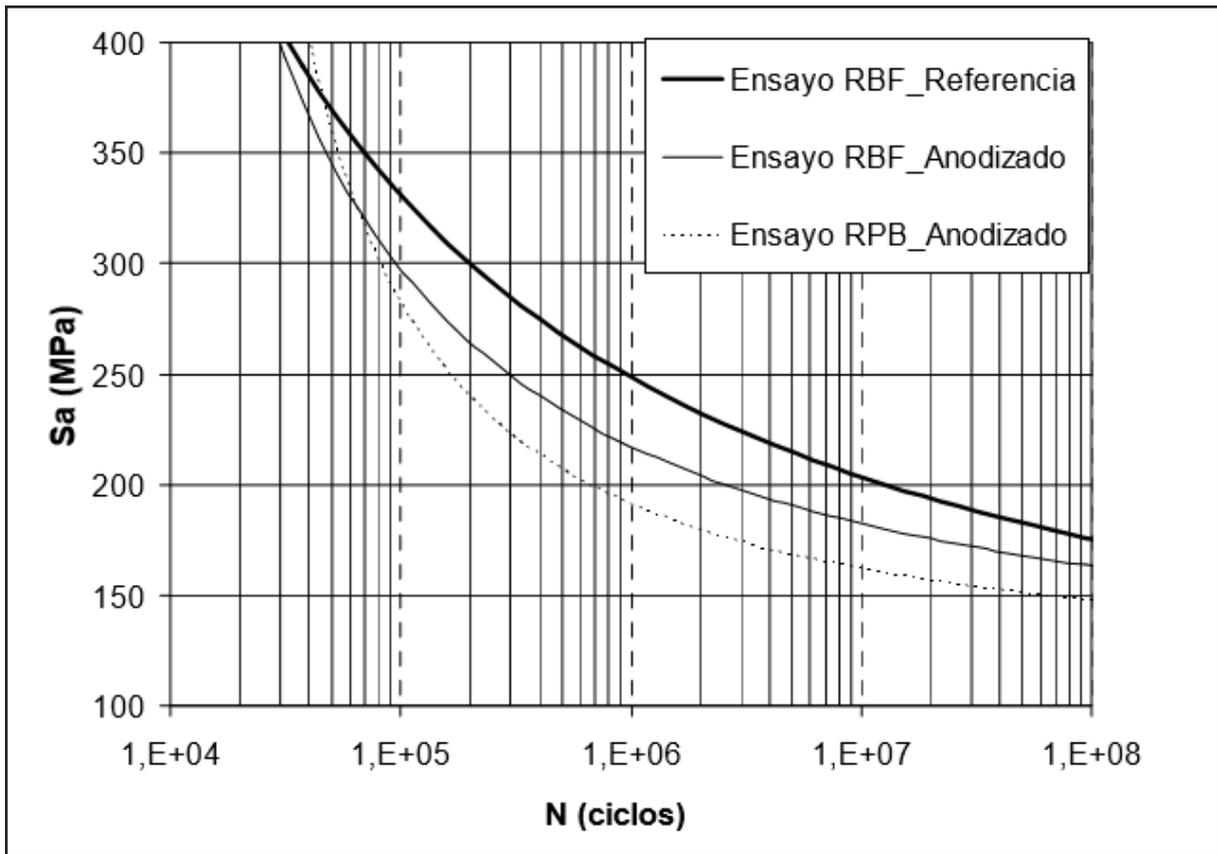


Figura 23. Curva S-N para aluminio 7075-T6. [17]

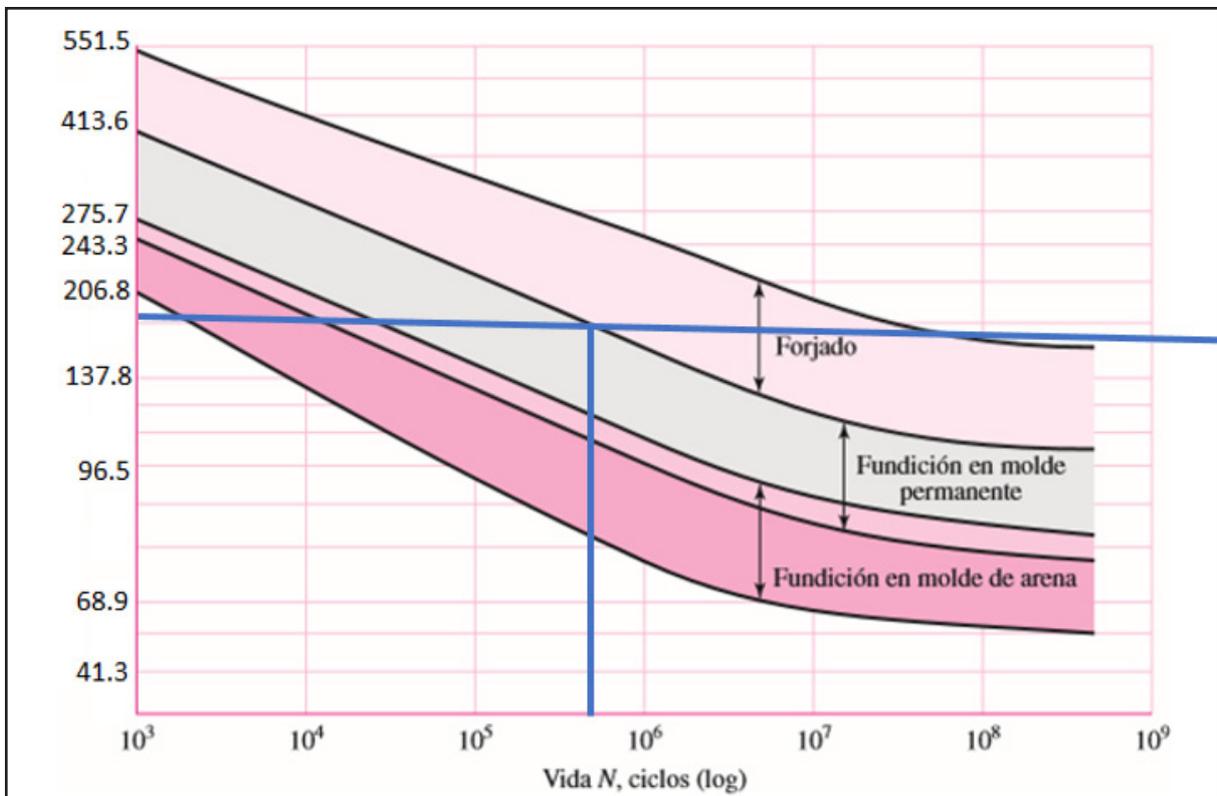


Figura 24. Curva S-N de aleaciones representativas de aluminio, S_e (MPa) versus ciclos de vida, excluyendo las aleaciones forjadas con $S_{ut} < 262$ MPa. [15]

De la misma forma se podría usar la siguiente gráfica para determinar el número de ciclos, considerando que $S_e = 285$ MPa, y si se observa la gráfica se tiene un ciclo de vida superior a 10^5 ciclos, ya que el proceso de fabricación de este material es por forjado. Esto quiere decir que el mecanismo de articulación de rodilla se debe usar hasta que haya cumplido los 10^5 ciclos (figura 24).

La Ecuación de Marin identifica los factores que relacionan los efectos de la condición superficial, tamaño, tipo de carga, temperatura, y efectos varios. De manera experimental, la ecuación de Marin se representa de la siguiente forma:

$$S_e = k_a k_b k_c k_d k_e k_f S'_e$$

Siendo:

k_a : factor de modificación de superficie

k_b : factor de modificación de tamaño

k_c : factor de modificación de carga

k_d : factor de modificación de la temperatura

k_e : factor de confiabilidad

k_f : factor de modificación de efectos varios

S'_e : límite de resistencia a la fatiga en viga rotatoria

S_e : límite de resistencia a la fatiga en la ubicación crítica

$$S'_e = 0.5 \cdot (S_{ut})$$

$$S_e = 0.6708 \cdot 1 \cdot 285 \text{ MPa}$$

$$S_e = 191,178 \text{ MPa}$$

Se calcula por el método de Marin, obteniendo $S_e = 191.178$ MPa como resultado del análisis por fatiga.

Conclusiones

Al analizar la biomecánica de la articulación de rodilla permite encontrar los principales parámetros, comprender el funcionamiento y desarrollar un mecanismo que pueda emular el funcionamiento de la articulación de rodilla.

Los parámetros principales en la marcha humana para este estudio se define desde el tipo de caminata siendo este nivel 1 que es en superficies completamente planas, otro parámetro son los desplazamientos angula-

res a través del eje transversal XX' denominado como flexo-extensión este ángulo va de 0 grados a 46 grados entre el 60% y 80% del ciclo de la marcha, las fuerzas que actúan en la articulación de rodilla son principalmente dos la producida por el peso de la persona, y la segunda fuerza principal es la generada por los músculos y tendones, estas fuerzas dependen directamente del ángulo durante el ciclo de la marcha humana siendo las de mayor influencia cuando la articulación de rodilla se encuentra al inicio al 12.5%, 37.5% y al 100% del ciclo de la marcha.

El material más adecuado para la fabricación de la articulación de rodilla es el aluminio 7075-T6 siendo sus principal propiedad la resistencia a la tracción (zona elástica), con 503 MPa y una densidad de 2810 kilogramos / metro cúbico, esta relación peso resistencia es una de las mejores en comparación con materiales como el acero inoxidable, o el titanio. Pero este último sería uno de los mejores materiales pero es difícil de conseguir en el mercado local.

Con la utilización de herramientas computacionales como el CAD-CAE-FEA, se pudo simular, analizar, y realizar un diseño funcional de manera interactiva para el desarrollo de una articulación de rodilla, con un factor de seguridad global de 2.8, y una masa total de 0.493 Kg.

Referencias

1. **Stang-Alva MF.** Las personas con discapacidad en América Latina: del reconocimiento jurídico a la desigualdad real. Ed. CEPAL Naciones Unidas. Santiago de Chile, 2011.
2. **Ottobock.** <http://www.ottobock.com/es/> (recuperado 8 de mayo de 2016).
3. **Nordin M, Frankel VH.** Biomecánica Básica del Sistema Musculoesquelético. Ed. Mc Graw Hill / Interamericana de España, Madrid, 2004.
4. **Aceros Boehler Undeholm S.A., 2016.**
V. Streifeneder, V. S. Streifeneder. www.streifeneder.com (recuperado 8 de mayo de 2015).
5. **Ashby MF.** CES Edupack 2013, Granta Teaching Resources.
6. **Altamirano A, Leija L, Vera A., Muñoz R, Valentino A.** Prótesis Biónica de Rodilla de bajo costo basada en mecanismos policéntricos. Health Care Exchanges (PAHCE), 2012 Pan American, DOI: 10.1109/PAHCE.2012.6233447.

7. **Claudia PM.** Biomecánica clínica de la Rodilla. Universidad del Rosario, Facultad de Rehabilitación y Desarrollo Humano, 2008.
8. **Chien MS, Erdemir A, van den Bogert AJ, Smith WA.** Development of dynamic models of the Mauch prosthetic knee for prospective gait simulation. *J Biomech* 2014;47(12):3178–3184.
9. **Kapandji AI.** Fisiología Articular. Ed. Médica Panamericana, París, 2006.
10. **Lema D.** Comparación estadística de medidas antropométricas entre mestizos, indígenas, y afroecuatorianos de la región sierra del Ecuador. MSc Thesis. Univ. S. Francisco de Quito, 2013.
11. **Norton L.** Diseño de Maquinaria. E.d McGraw-Hill, México DF, 2004.
12. **Kalpakjian S, Schmid SR.** Manufactura, ingeniería y tecnología. Ed. Pearson Educación, México DF, 2008.
13. **Gaviria BA,** Dinámica de un cuerpo rígido. Ed. Universidad de Antioquia, Instituto de Física, 2012.
14. **Budynas RG, Nisbett JK.** Diseño en ingeniería mecánica de Shigley, 8a Edición. Ed. McGraw-Hill Interamericana, México DF, 2008.
15. **Whittle MW.** Gait Analysis. An introduction. Ed. Elsevier, Butterworth-Heinemann, 2007.
16. **Toledano M, Arenas MA, Galán JJ, Ramirez L, Borja SM, Conde A, Monsalve A.** Resistencia a fatiga de la aleación de Aluminio 7075-T6 en función del tipo de ensayo y espesor del recubrimiento. XXVII Iberian Conference on Fracture and
17. **Structural Integrity. Porto:** Portugal, 2010.



XL CONGRESO DE LA SOCIEDAD IBÉRICA DE BIOMECÁNICA Y BIOMATERIALES

Barcelona, 10 y 11 de noviembre de 2017

SIBB 2017

SEDE: Hospital de ASEPEYO Sant Cugat

congresosibb2017@gmail.com



web: sibb2017.wixsite.com/congreso

