



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Facultat de Medicina i Odontologia

Programa de Doctorado en Medicina 3139

Tesis doctoral

Kit de sellado rápido de perforaciones durales
(patente P201730626)
Validación experimental

Presentada por:

Carles García Vitoria

Dirigida por:

José De Andrés Ibáñez

Mireia García Rosselló

Miguel Ángel Reina Perticone

Noviembre de 2023

INFORME DIRECTORES/AS Y TUTOR/A PARA DEPÓSITO DE TESIS

Director / Codirectores:

1.- Apellidos y nombre: José De Andrés Ibáñez N.I.F: 22657075M - Departamento: Cirugía - Centro: Universitat de València

2.- Apellidos y nombre: Mireia García Rosselló N.I.F. 44857839L - Departamento: Medicina y Cirugía Animal - Centro: UCH-CEU

3.- Apellidos y nombre: Miguel Ángel Reina Perticone N.I.F. 50113729H, Departamento de Ciencias Médicas Clínicas - Centro: Universidad CEU – San Pablo, Madrid

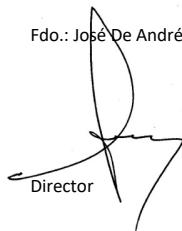
Directores de la tesis doctoral: *"Kit de sellado rápido de perforaciones durales (patente P201730626). Validación experimental."*

de D. Carles García Vitoria,

estudiante del Programa de Doctorado **3139 Medicina** (RD99/2011) en Medicina de la Universitat de València, emiten informe favorable para la realización del depósito y la defensa de la tesis doctoral.

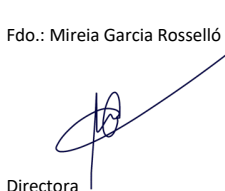
Fecha: 13 de noviembre de 2023

Fdo.: José De Andrés Ibáñez



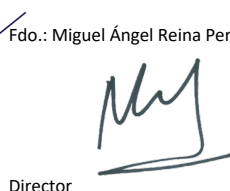
Director

Fdo.: Mireia Garcia Rosselló



Directora

Fdo.: Miguel Ángel Reina Perticone



Director

ESCUELA DOCTORAL
UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Agradecimientos

A ma mare i a mon pare. A ella per fer-me prudent, a ell per fer-me valent. Als dos, per donar-me Marc.

A todas las personas que han sufrido el problema.

A los equipos humanos de innovación, ingeniería, veterinaria y clínica que, cada uno a su manera, han aportado tanto a mi vida profesional. Gracias por darme la oportunidad de vivir esta aventura.

Contenidos publicados y presentados

García-Vitoria C, García -Roselló M, Redondo JI, Gutiérrez-Bautista AJ, De Andres J, Boezaart A, Vicente-Montaña A, Reina MA. Morphology of antemortem dural puncture healing: an ex vivo sheep study. Reg Anesth Pain Med. 2021; 0: 1–3. doi:10.1136/rapm-2021-102867

Factor de impacto: 1,340 (SJR)

García-Vitoria C, García -Roselló M, Reina MA, De Andres J, Gutiérrez-Bautista AJ, Esteve V, Boezaart A, Redondo JI. Validation of a bioabsorbable device that seals perforations after Tuohy needle dural puncture in an ovine model. Reg Anesth Pain Med. 2021; 0: 1-8. doi:10.1136/rapm-2020-102225

Factor de impacto: 1,340 (SJR)

Índice

Agradecimientos	3
Contenidos publicados y presentados	7
Índice	9
Listado de figuras.....	13
Listado de tablas	19
Introducción	21
1. Historia: las raíces del problema clínico	24
2. Epidemiología.....	27
3. La clínica de la cefalea pospunción dural	29
4. Diagnóstico y diagnóstico diferencial.....	30
5. Etiopatogenia	31
6. Prevención y tratamiento	32
1. Justificación del estudio.....	35
2. Hipótesis.....	39
3. Objetivos	43
3.1. Objetivos principales.....	45
3.2. Objetivos secundarios	45
4. Material y método	47
4.1. Fase 1. Experimento en modelo ovino in vivo. Perforación dural y seguimiento de su cierre espontáneo.....	51
4.1.1. Objetivo específico	51
4.1.2. Material y método	51
4.1.2.1. Tamaño del grupo y aleatorización	52
4.1.2.2. Protocolo clínico y punción intencional en la duramadre	52
4.1.2.3. Alojamiento y eutanasia	52
4.1.2.4. Obtención de muestras	53
4.1.2.5. Microscopía electrónica de barrido	53
4.1.2.6. Mediciones	54
4.1.2.7. Análisis estadístico.....	54
4.1.3. Resultados	55

4.1.4. Conclusiones	58
4.2. Fase 2. Conceptualización de la idea y primeros prototipados.....	58
4.2.1. Objetivo específico	58
4.2.2. Material y método	59
4.2.3. Resultados	60
4.2.3.1. Primera reunión conjunta	60
4.2.3.2. Segunda reunión conjunta.....	63
4.2.3.3. Tercera reunión conjunta	65
4.2.4. Conclusiones	69
4.2.4.1. Análisis de las versiones de la solución conceptual 1.....	69
4.2.4.2. Análisis de las versiones de la solución conceptual 2.....	70
4.2.4.3. Análisis de las versiones de la solución conceptual 3.....	70
4.2.4.4. Análisis global de las soluciones conceptuales.....	71
4.3. Fase 3. Simulación y estudio de materiales	72
4.3.1. Objetivo específico	72
4.3.2. Material y método	72
4.3.3. Resultados	74
4.3.3.1. Material ideal de composición del cuerpo del parche (soluciones v. 1_2 y v. 3_2)	74
4.3.3.2. Proveedores	76
4.3.3.3. Consultas técnicas y resultado de simulaciones	76
4.3.3.4. Propuestas de materiales del parche de sellado.....	76
4.3.3.5. Suturas	80
4.3.3.6. Material adhesivo tisular	81
4.3.4. Conclusiones	86
4.4. Fase 4. Diseño y prototipado del kit completo.....	88
4.4.1. Objetivo específico	88
4.4.2. Material y método	88
4.4.2.1. Parche.....	88
4.4.2.2. Hilo	89
4.4.2.3. Soporte de transferencia.....	89
4.4.2.4. Elemento introductor.....	90
4.4.3. Resultados	90
4.4.3.1. Parche.....	90
4.4.3.2. Hilo	92
4.4.3.3. Soporte de transferencia.....	92

4.4.3.4. Elemento introductor.....	95
4.4.4. Conclusiones.....	97
4.5. Fase 5. <i>Bench testing</i> . Ensayos de rendimiento del kit diseñado sobre membrana sintética.....	98
4.5.1. Objetivo específico.....	98
4.5.2. Material y método.....	99
4.5.2.1. Premontado y comprobación de correcta transferencia.....	99
4.5.2.2. Selección de membrana.....	99
4.5.2.3. Pruebas de inyección del adhesivo tisular.....	100
4.5.2.4. Pruebas de funcionalidad global sobre membrana sintética.....	101
4.5.3. Resultados.....	104
4.5.3.1. Premontado y comprobación de correcta transferencia.....	104
4.5.3.2. Selección de membrana.....	107
4.5.3.3. Pruebas de inyección del adhesivo tisular.....	108
4.5.3.4. Pruebas de funcionalidad global sobre membrana sintética.....	109
4.5.4. Conclusiones.....	111
4.6. Fase 6. Validación en entorno artificial estable del rendimiento del kit de sellado dural.....	115
4.6.1. Objetivos.....	115
4.6.2. Material y método.....	115
4.6.2.1. Modificación del diseño y fabricación de kits.....	117
4.6.2.2. Validación funcional del sistema de sellado dural.....	124
4.6.3. Resultados.....	129
4.6.3.1. Modificación del diseño y fabricación de kits.....	129
4.6.3.2. Resultados de la validación funcional del sistema de sellado dural.....	141
4.6.3.3. Pruebas de validación del nuevo sistema de fijación posterior. Resultados.....	151
4.6.4. Conclusiones.....	151
4.7. Fase 7. Ajustes de diseño, elección del fabricante y fabricación de kits estériles para pruebas <i>in vivo</i>	153
4.7.1. Objetivos.....	153
4.7.2. Material y método.....	153
4.7.2.1. Modificaciones del parche implantable. Material y método.....	153
4.7.2.2. Fabricación, montaje y ensamblado de kits. Material y método.....	157
4.7.3. Resultados.....	164
4.7.3.1. Modificaciones del parche implantable. Resultados.....	164
4.7.3.2. Fabricación, montaje y ensamblado de kits. Resultados.....	164

4.7.4. Conclusiones	168
4.8. Fase 8. Pruebas de citotoxicidad	168
4.8.1. Objetivos.....	168
4.8.2. Material y métodos.....	168
4.8.3. Resultados	170
4.8.4. Conclusiones.....	171
4.9. Fase 9. Validación <i>in vivo</i>	171
4.9.1. Objetivos.....	171
4.9.2. Material y método	171
4.9.2.1. Punción dural intencional	171
4.9.2.2. Protocolo clínico	172
4.9.3. Resultados	177
4.9.4. Conclusiones.....	179
5. Discusión	181
5.1. Tratamiento vs. profilaxis.....	185
5.2. Las características de la lesión a taponar	187
5.3. Limitaciones del estudio	196
5.4. Potenciales mejoras	202
Conclusiones	205
Bibliografía	209
Anexos	217
Anexo 1. Artículos publicados	219
Anexo 1.1. Morphology of antemortem dural puncture healing: an ex vivo sheep study.....	220
Anexo. 1.2. Validation of a bioabsorbable device that seals perforations after Tuohy needle dural puncture in an ovine model.....	223
Anexo 2. Comités éticos	233
Anexo 3. Esquema del kit.....	234
Anexo 4. Certificate of Analysis Eurofin	237
Anexo 5. Acute Systemic Toxicity Test on “Duralock”. Eurofins	240
Anexo 6. Maniquí para inyección epidural y espinal P61 (1017891)	250

Listado de figuras

Figura 1. Corte sagital del espesor del saco dural observado con técnicas de microscopía electrónica. Nota: Se ha coloreado el espesor de la duramadre y la zona correspondiente a la lámina aracnoidea para facilitar la comprensión visual. LCR = líquido cefalorraquídeo. Con permiso del Prof. MA Reina.....	23
Figura 2. Corte sagital del espesor del saco dural (duramadre separada de lámina aracnoidea) observado con técnicas de microscopía electrónica. Cortesía de Prof. MA Reina.....	24
Figura 3. Foto con detalle de puntas de agujas diferentes. De izquierda a derecha, una aguja tipo Tuohy 18 Gauge (aguja epidural, izquierda), aguja espinal 22 Gauge, aguja espinal 25 Gauge, aguja espinal 27 Gauge. La foto permite apreciar el tipo de punta de la aguja epidural, destinada a alojar y hacer pasar a su través un catéter en algunas ocasiones. La curvatura de su punta la convierte en potencialmente más traumática ante una perforación dural-aracnoidea	27
Figura 4. Lesión con aguja punta Quincke 25-gauge observada desde el espacio subaracnoideo (una visión obtenida mediante técnicas de microscopía electrónica a 200 aumentos). Se observan los diámetros diferentes entre los bordes de la lesión aracnoidea y la retracción de las capas de duramadre, que no están organizadas de manera lineal. Con permiso del Prof. MA Reina	29
Figura 5. RM cerebral en paciente con CPPD. Se aprecia (a) engrosamiento dural, (b) herniación de las amígdalas cerebrales, (c) colecciones subdurales fronto-temporales, (d) edema cerebral difuso. Cortesía del Dr. Iván Quintero	31
Figura 6. Lesión en el saco dural vista desde la superficie interna (capa aracnoidea) 1 día después de la punción lumbar con aguja Tuohy de calibre de 18 Gauge. Nota: A y B fueron obtenidas de animales diferentes. Microscopía electrónica de barrido. Aumento: A = $\times 70$; B = $\times 45$	55
Figura 7. Lesión en el saco dural vista desde la superficie interna (capa aracnoidea) 3 días después de la punción lumbar con aguja Tuohy de calibre de 18 Gauge. Nota: A y B fueron obtenidas de animales diferentes. Microscopía electrónica de barrido. Aumento: A = $\times 40$; B = $\times 70$	55
Figura 8. Lesión en el saco dural vista desde la superficie interna (capa aracnoidea) 7 días después de la punción lumbar con aguja Tuohy de calibre de 18 Gauge. Nota: A y B fueron obtenidas de animales diferentes. Microscopía electrónica de barrido. Aumento: A = $\times 75$; B = $\times 70$	56
Figura 9. Área. Nota: Mediana, rango y valores atípicos en días 1, 3 y 7, y ajuste logarítmico (línea azul; el área gris representa intervalo de confianza del 95 %)	56
Figura 10. Circunferencia. Nota: Mediana, rango y valores atípicos en días 1, 3 y 7, y ajuste logarítmico (línea azul; el área gris representa intervalo de confianza del 95 %)	56
Figura 11. Modelo 3D de solución conceptual 1, v1_1, en diversas proyecciones y cortes.....	64
Figura 12. Modelo 3D de solución conceptual 2, v2_1, de izquierda a derecha plegado dentro de la aguja Tuohy, en su salida de la misma y tras despliegue de sus alas	64
Figura 13. Modelo 3D de solución conceptual 3, v3_1, de izquierda a derecha plegado dentro de la aguja Tuohy, en su salida de la misma apoyando en la superficie de sellado y tras retirada de la aguja.....	65
Figura 14. Modelo 3D de solución conceptual 1, v1_2, con alas plegadas y desplegadas	66
Figura 15. Secuencia en modelo 3D de solución conceptual 1, v1_2, con paso desde el interior de la aguja hasta despliegue completo tras superar la superficie de apoyo y retirar aguja	67

Figura 16. Secuencia en modelo 3D de solución conceptual 3, v3_2, con paso desde el interior de la aguja hasta despliegue completo tras superar la superficie de apoyo	67
Figura 17. Modelo 3D de solución conceptual 3, v3_2, secuencia de despliegue y giro	68
Figura 18. Modelo 3D y medidas en mm de solución conceptual 1, v1_2	69
Figura 19. Modelo 3D de solución conceptual 1, v1_2 insertado en una simulación de membrana (duramadre-aracnoides)	70
Figura 20. Modelo de vectores de fuerza de la solución conceptual v1_2	78
Figura 21. Simulación del comportamiento bajo condiciones de estrés mecánico de la solución conceptual v1_2	79
Figura 22. Presentación comercial del sellante DuraSeal	85
Figura 23. Detalle de pruebas en laboratorio para comprobar la adherencia de la sutura al sellante DuraSeal	86
Figura 24. Prototipo del implante fabricado en PLA (izquierda) y dimensiones del mismo	90
Figura 25. Trabajos de troquelado y confección de los prototipos de implante	91
Figura 26. Conjunto de sutura barbada y prototipo de parche enhebrado	92
Figura 27. Detalle del prototipo fabricado mostrando el aplicador (canal accesorio) de potencial producto sellante	94
Figura 28. Detalle de conexión de tipo embudo del aplicador de la solución prototipado a la parte proximal de la aguja Tuohy	95
Figura 29. Detalle de la propuesta de elemento introductor (catéter con tope proximal)	96
Figura 30. Elementos que conforman el kit de sellado propuesto	97
Figura 32. Imágenes obtenidas durante las pruebas en laboratorio sobre modelo de intestino animal (izquierda) y guante de látex (Derecha).....	100
Figura 33. Pruebas de laboratorio con aplicación del sellante DuraSeal a través del orificio lateral del aplicador prototipado.....	100
Figura 34. Pruebas sobre modelo de guante de látex, mostrando el manejo del elemento introductor.....	103
Figura 35. Detalle de las pruebas sobre membranas de látex, mostrando la salida del implante a través de la punta de la aguja Tuohy.....	104
Figura 36. Elementos del kit montado, con la sutura e implante (dentro del elemento introductor) pasando por el soporte de transferencia	105
Figura 37. Paso 3 del montaje	105
Figura 38. Retirada de punta del catéter para dejarlo dentro del soporte de transferencia	106
Figura 39. Embocado del soporte de transferencia a la boca de la aguja Tuohy	106
Figura 40. Secuencia de salida y despliegue del implante y sutura por la punta de la aguja de Tuohy, tras lo que una retirada del hilo deja el implante apoyado en la punta de la aguja	107
Figura 41. Adhesivo tisular sobre el punto de punción en montaje de membrana de látex.....	108
Figura 42. Retirada de aguja dejando hilo e implante en el sitio de perforación en test de laboratorio sobre membrana -guante- de látex.....	110
Figura 43. Cierre de la perforación por el implante observado en los test sobre membrana de látex suspendida.....	111

Figura 44. Elementos del sistema de sellado dural	117
Figura 45. Detalle (modelado 3D) de la unión del implante con el hilo barbado	118
Figura 46. Visión lateral con microscopio electrónico a 50 aumentos de un hilo de sutura tras deformación térmica sin contacto en una de las pruebas realizadas.....	119
Figura 47. PA 2200 de las instalaciones del IBV.....	123
Figura 48. Montaje adaptado del simulador de punción epidural para la realización de pruebas de validación funcional.....	127
Figura 49. Comparativa de características de las suturas V-Loc® consideradas.....	129
Figura 50. Detalle de las diferencias entre las suturas V-Loc 3-0 y 4-0 a efectos de diámetro	130
Figura 51. Imagen de microscopía electrónica a 150 aumentos del hilo barbado elegido para el montaje del kit, mostrando con detalle una de las espículas o barbas que le aportan agarre	130
Figura 52. Medidas del implante diseñado	131
Figura 53. Rediseño del soporte de transferencia en dos partes mejorando la ergonomía	133
Figura 54. Soporte roscado sobre la aguja e inicio de la transferencia del implante	133
Figura 55. Izquierda. Detalle en visión con corte lateral del soporte de transferencia alojando plegados la cánula, el implante y el hilo barbado. Derecha: cánula de transferencia	133
Figura 56. Modelado 3D del kit montado, visión lateral.....	134
Figura 57. Sección del tubo elegido para conformar la cánula de transferencia	136
Figura 58. Fabricación de láminas de PLA para prototipado en instalaciones de IBV.....	137
Figura 59. Pruebas de corte de implantes para prototipado en IBV	137
Figura 60. Detalle de la zona de contacto entre hilo barbado y parche tras deformación térmica	138
Figura 61. Elementos del kit prototipado	139
Figura 62. Kit montado y aguja Tuohy	140
Figura 63. Secuencia de 6 pasos a seguir en la aplicación en posteriores experimentos del kit diseñado y ensamblado. Nota: Paso 1: detección de la punción accidental de la duramadre; paso 2: acoplamiento del sistema de sellado sobre la aguja; paso 3: liberación del tope de la cánula e inicio del proceso de transferencia; paso 4: transferencia y despliegue del implante; paso 5: retirada del instrumental; paso 6: posición final del implante sobre la cara anterior de la duramadre	141
Figura 64. Simulador P61 para punciones epidurales.....	142
Figura 65. proceso de fabricación de la ventana para acople de membrana sintética destinada a pruebas de punción en simulador.....	143
Figura 66. Detalle del montaje para mantenimiento de presión en la zona de punción	144
Figura 67. Montaje correcto/incorrecto del soporte de transferencia sobre la aguja	146
Figura 68. Tamaño de tope adecuado (izquierda) y excesivo (derecha)	147
Figura 69. Montaje correcto	147
Figura 70. Montaje incorrecto	147

Figura 71. Secuencia de fotogramas obtenidos en la grabación de los ensayos sobre membrana sintética, mostrando la perforación (con efecto “tienda de campaña”), inserción de la aguja y posterior salida por su punta del parche. Nota: Se muestran tanto visiones desde arriba como las obtenidas desde detrás del montaje	149
Figura 72. Secuencia de retirada de aguja y soporte de transferencia tras punción sobre membrana sintética	149
Figura 73. Diseño y dimensiones del parche inicial	154
Figura 74. Detalle del proceso de transferencia y forma preliminar del implante	155
Figura 75. Implante base con una cara plana y otra redondeada por exigencias del molde	155
Figura 76. Implante recreado por el centro para dar resistencia al entorno del ojal	155
Figura 77. Detalle del alojamiento cónico en torno al ojal para el encaje del tope del hilo	156
Figura 78. Rebaje longitudinal sobre el implante para el paso del hilo durante la transferencia	156
Figura 79. Detalle de interferencia detectada del implante con la aguja durante la transferencia	156
Figura 80. Versión definitiva con recorte curvado en los extremos para eliminar la interferencia	156
Figura 81. Conformado por calor del tope del hilo de estabilización	158
Figura 82. Prueba de resistencia del tope del hilo de estabilización	159
Figura 83. Mesa de montaje	161
Figura 84. Montaje de la cánula sobre el soporte	161
Figura 85. Montaje del hilo en la cánula	162
Figura 86. Montaje del implante sobre el soporte	162
Figura 87. Bloqueo de la cánula de transferencia	163
Figura 88. Diseño definitivo del implante	164
Figura 89. Primeras muestras del implante. Análisis dimensional	165
Figura 90. Análisis funcional. Pruebas de enhebrado, transferencia y despliegue del implante	165
Figura 91. Pruebas de enhebrado, pliegue y conformado del tope realizadas sobre la sutura	166
Figura 92. Soporte de transferencia fabricado y montado sobre la aguja	166
Figura 93. Resultado de la fabricación de las cánulas de transferencia	167
Figura 94. Envasado y etiquetado de los kits	167
Figura 95. Implante desplegado después de que la cánula flexometálica se haya avanzado a través de la aguja Tuohy para desplazar el parche plegado y el hilo dentado hacia el espacio subaracnoideo	173
Figura 96. Ensayos in vivo en oveja anestesiada en las instalaciones del Hospital Veterinario CEU-Cardenal Herrera	174
Figura 97. Análisis del procedimiento utilizado	176
Figura 98. Vista transversal de la TC. Nota: Secuencia de imágenes de la tomografía computarizada, como ejemplo de cuatro cortes consecutivos (de craneal a caudal) en los que se segmentaron los contrastes epidural e intratecal. Seguimos el principio de la continuidad de las estructuras para segmentar el fluido de contraste en el área epidural (el azul corresponde al medio de contraste dentro del espacio subaracnoideo y el amarillo representa el espacio epidural lleno de grasa epidural). Los colores en la superficie de las imágenes fueron modificados utilizando Adobe	

Photoshop (Adobe, San José, California, Estados Unidos). Se mantuvo la textura y se añadió color para facilitar la comprensión de las imágenes.....	178
Figura 99. imágenes obtenidas por microscopía electrónica mostrando un corte del espesor de la membrana duramadre-aracnoides. Cortesía del Prof, MA Reina	189
Figura 100. Visión lateral a 100 aumentos del tope termodilatado del hilo de sutura acoplado a la superficie del implante (microscopio electrónico)	192
Figura 101. Visión lateral a 20 aumentos del implante mostrando su cara redondeada que ha de quedar mirando a la médula espinal cuando se despliega en el espacio subaracnoideo (microscopio electrónico)	193
Figura 102. Doctora Mireia García Rosselló, al fondo, realizando la intubación del rumen en un espécimen anestesiado durante la fase 9 del estudio	194
Figura 103. Trabajos de disección llevados a cabo durante la fase de obtención de muestras para estudio microscópico. Nota: Se muestra un corte en el que se visualiza la médula espinal y el canal medular, con elementos óseos y músculos	198
Figura 104. Visión microscópica mediante técnica de barrido a 30 aumentos. Nota: Corte lateral de membrana dural-aracnoidea mostrando la interfase membrana-implante	201

Listado de tablas

Tabla 1. Datos demográficos, medidas del área y circunferencia a lo largo del tiempo	58
Tabla 2. Análisis de ventajas e inconvenientes de las soluciones conceptuales 1, 2 y 3 propuestas	65
Tabla 3. Comparativa entre diferentes suturas comercializadas con características aceptables para su potencial uso en nuestro contexto	80
Tabla 4. Comparativa de calibres entre tipos de sutura barbada considerados.....	131
Tabla 5. Distintas opciones de sutura barbada probadas.....	131
Tabla 6. Posibles riesgos de fallo y soluciones propuestas.....	148
Tabla 7. Resultados obtenidos de las mediciones de pérdida de líquido en cada una de las fases	150
Tabla 8. Comparativa de fugas epidurales en función del tratamiento asignado*	179

Introducción

El manejo de agujas en vecindad al complejo meníngeo que recubre la médula espinal a nivel lumbar implica riesgos. Uno de ellos, en especial cuando se trabaja con agujas no diseñadas para traspasar la duramadre (agujas epidurales de un calibre grueso), es el de la rotura accidental de la membrana del saco dural, compuesta por la duramadre (90 % de su superficie, externa) y la lámina aracnoidea (10 % restante, interna). Esto provoca, en un porcentaje de casos elevado, un cuadro neurológico conocido como cefalea pospunción dural (CPPD); los datos de los que disponemos hoy en día apuntan a la salida no intencionada de líquido cefalorraquídeo (LCR) a través del orificio creado como principal causante de la aparición y mantenimiento de una cefalea generalmente incapacitante y que suele ceder en 5 a 10 días, si bien algunos casos pueden durar meses o establecerse como crónicos.

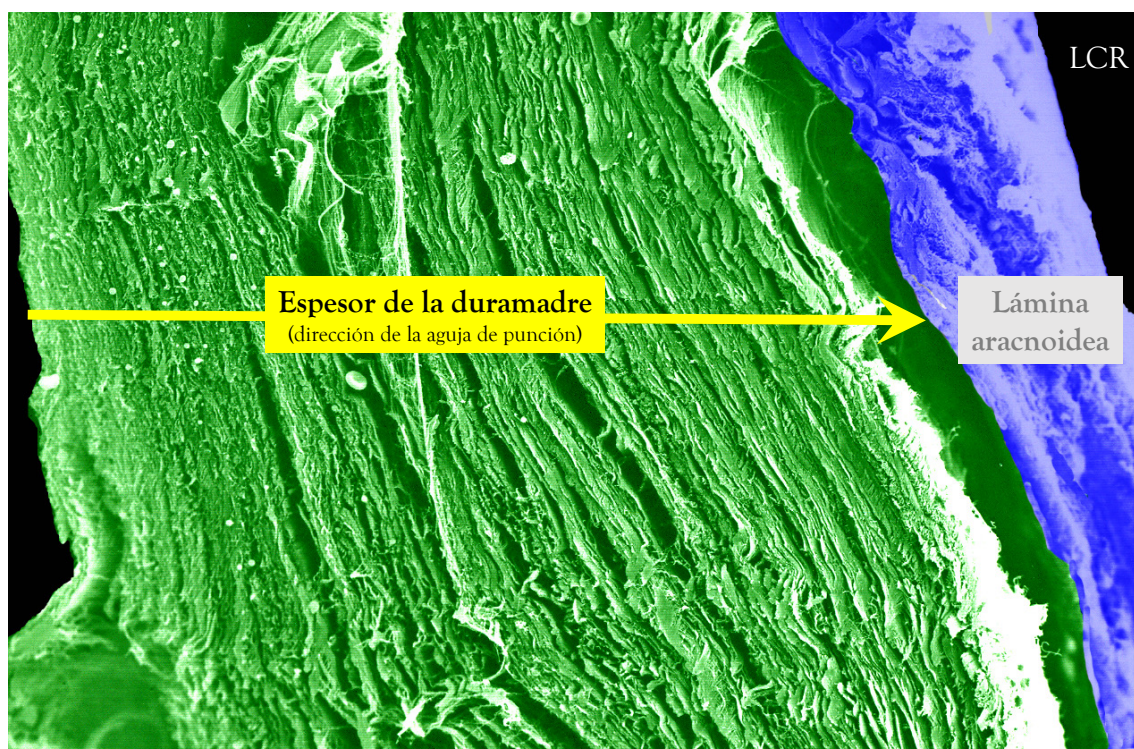


Figura 1. Corte sagital del espesor del saco dural observado con técnicas de microscopía electrónica. Nota: Se ha coloreado el espesor de la duramadre y la zona correspondiente a la lámina aracnoidea para facilitar la comprensión visual. LCR = líquido cefalorraquídeo. Con permiso del Prof. MA Reina

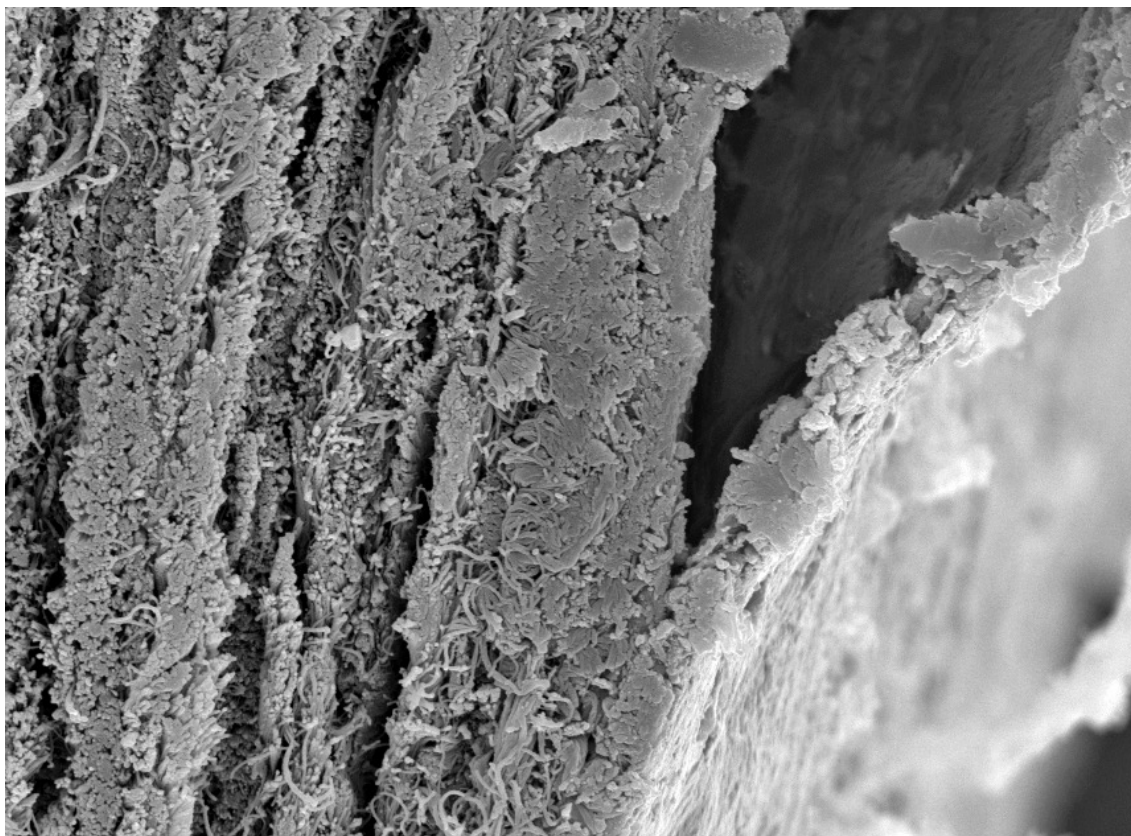


Figura 2. Corte sagital del espesor del saco dural (duramadre separada de lámina aracnoidea) observado con técnicas de microscopía electrónica. Cortesía de Prof. MA Reina

El diagnóstico de la CPPD es básicamente clínico y facilitado por el antecedente reciente de una punción dural. Su tratamiento, en cambio, es retardador: es en la mayoría de los casos un tratamiento sintomático orientado a mitigar la cefalea mientras el cuadro se resuelve; en ciertos casos se intenta atacar a la causa de la fuga de LCR mediante la inyección de sangre autóloga cerca de la perforación. No existen rutinas profilácticas universalmente aceptadas que adoptar en el instante en el que se provoca la rotura no intencionada de la membrana dural con aguja epidural.

1. Historia: las raíces del problema clínico

La anestesia subaracnoidea tiene sus orígenes a finales del siglo XIX. En 1891, los médicos Wynter y Quincke realizaron una extracción de líquido cefalorraquídeo del espacio subaracnoideo, marcando el primer registro de una punción dural utilizada como tratamiento para reducir la presión intracraneal en un caso de meningitis de origen tuberculoso. Fue en 1895 cuando Corning, especializado en enfermedades neurológicas, planteó la idea de que la aplicación de cocaína en la médula espinal podría tener propiedades terapéuticas, lo que podría considerarse como el primer intento de lo que hoy conocemos como anestesia

espinal. Cuatro años más tarde, el doctor Bier llevó a cabo la primera inyección de cocaína (10 a 15 mg) bien documentada en el espacio subaracnoideo de siete voluntarios, incluyendo a sí mismo y a su colega, el doctor Hildebrandt. A pesar del éxito anestésico (el propio Bier y su colega celebraron con vino y puros el hecho de notar totalmente insensibles las piernas, que ellos mismos se golpeaban), seis de esos siete participantes, incluyendo al propio Bier, experimentaron síntomas intensos de lo que hoy denominaríamos cefalea pospunción dural (CPPD). Esta apareció en las primeras 24 horas tras la punción y fue especialmente duradera en el caso del doctor Hildebrandt.

A pesar de las evidentes ventajas de la anestesia regional durante el parto, fue desplazada inicialmente por la anestesia obstétrica inhalatoria con éter, introducida por Morton en 1847. No fue hasta 1901 que se comenzó a administrar cocaína subaracnoidea en la segunda etapa del parto; en 1902 se llevó a cabo la primera cesárea bajo anestesia raquídea por Hopkins en Estados Unidos. Arrancaba así una época de uso indiscriminado de la técnica por manos casi nunca expertas en pacientes cuyas constantes vitales no estaban monitorizadas; esto provocó el fallecimiento de varias mujeres durante la cesárea, por lo que se tiende a calificar de oscura [1] la época que la anestesia obstétrica vivió en la primera mitad del siglo XX.

Además del riesgo vital que entrañaba, la práctica anestésica con agujas espinales (en sus inicios, de gran calibre) se acompañaba de una elevada incidencia de vómitos y CPPD, esta última de alrededor del 50 %. Cayó por ello en desuso hasta que en 1951 Whitacre y Hart desarrollaron agujas espinales con «punta de lápiz», cuyo uso masivo se adoptó a finales de los años ochenta del siglo pasado. Esto resultó en una disminución significativa de la incidencia de cefalea pospunción dural. Desde entonces, avances técnicos y comprensión de los efectos de la punción dural han ido de la mano, permitiendo desarrollar agujas menos traumáticas y más finas, y esto ha acabado por nutrir el arsenal de recursos del que cualquier médico dispone a día de hoy para practicar una punción lumbar, sea con fines diagnósticos o terapéuticos.

Si bien estos avances han minimizado la incidencia de CPPD tras punción dural intencionada, hemos de hacer un alto en el camino para hablar de la anestesia epidural.

En paralelo al desarrollo de la técnica subaracnoidea, con algo de retraso, transcurrió el de la anestesia epidural. En 1921, el cirujano militar español Fidel Pagés Miravet informó de la primera anestesia epidural lumbar, que él calificó de «anestesia metamérica». Su práctica no se tradujo al inglés y no tuvo difusión internacional; además, Pagés murió relativamente joven en un accidente de tráfico. En 1933, el también cirujano Mario Dogliotti [2] publicó en inglés una descripción detallada de la anatomía y fisiología del espacio epidural, y desarrolló la llamada técnica de pérdida de resistencia, por lo que muchos le consideran

erróneamente el padre de la anestesia epidural moderna. Simultáneamente, el asimismo cirujano, esta vez argentino, Alberto Gutiérrez describió el método de la «gota suspendida» para identificar el espacio epidural [3]. El propio Gutiérrez fue quien progresivamente restituyó el crédito de Fidel Pagés como inventor de la anestesia epidural, un mérito que Dogliotti se atribuyó en un principio solamente en base a la mejor difusión de su publicación con respecto a la de un Pagés que, aunque con anterioridad, publicó sus resultados en un medio más local.

La práctica de la anestesia epidural, al contrario de lo que ocurre con la subaracnoidea, no se ha beneficiado de una gran reducción en el calibre de las agujas. Esto ha sido así por la necesidad en muchos casos de alojar un catéter epidural para posterior perfusión continua de anestésico, catéter que a su vez ha de poder discurrir por la luz de la aguja. No obstante, sí que hubo lugar a la innovación: en 1944, Edward Tuohy [1] diseñó la aguja epidural «de Tuohy» con una punta y bisel característicos, pensados específicamente para administrar anestesia en el espacio epidural. En la década de 1960 [4] se produjeron avances en la forma y fabricación de los catéteres diseñados específicamente para la anestesia epidural. Pero, en líneas generales y debido a la necesidad de practicar esta técnica con agujas relativamente gruesas, la incidencia de CPPD tras punción no intencionada con aguja epidural se ha mantenido invariable en las últimas décadas.

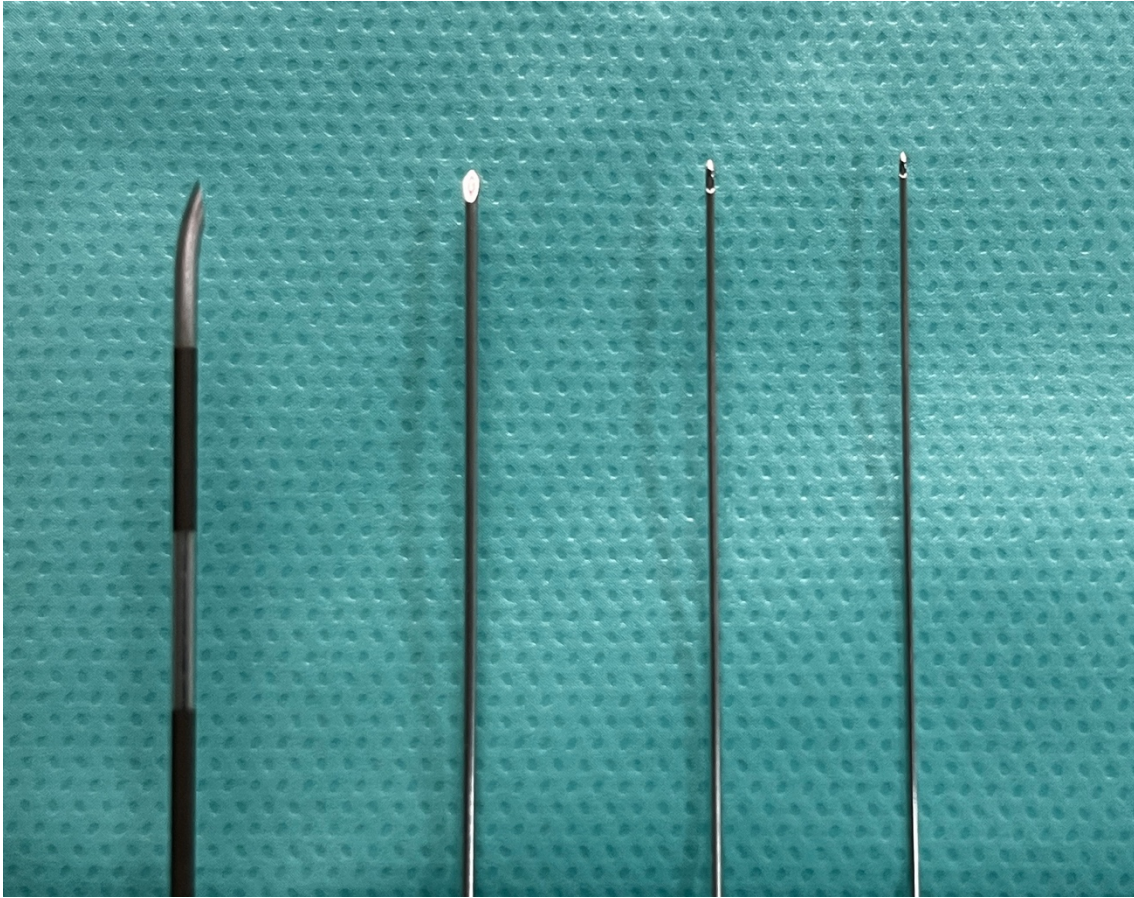


Figura 3. Foto con detalle de puntas de agujas diferentes. De izquierda a derecha, una aguja tipo Tuohy 18 Gauge (aguja epidural, izquierda), aguja espinal 22 Gauge, aguja espinal 25 Gauge, aguja espinal 27 Gauge. La foto permite apreciar el tipo de punta de la aguja epidural, destinada a alojar y hacer pasar a su través un catéter en algunas ocasiones. La curvatura de su punta la convierte en potencialmente más traumática ante una perforación dural-aracnoidea

2. Epidemiología

La punción dural, esto es, la punción y perforación de la duramadre-aracnoides, puede producirse de manera intencionada o accidental. Se busca realizar una punción dural para acceder al saco dural lleno de LCR tanto con fines diagnósticos (punción lumbar diagnóstica) como terapéuticos (anestesia raquídea); por el contrario, la punción dural accidental suele ocurrir en el contexto de un fallo del intento de canalización del espacio epidural. Es importante reseñar que el calibre de las agujas difiere notablemente entre las técnicas que persiguen acceder al interior del saco dural y las que pretenden dejar la aguja en el espacio epidural; en el segundo caso suelen emplearse agujas de un calibre no inferior a 16 o 18 Gauge, habitualmente por la necesidad de hacer pasar a su través un catéter epidural. Esta diferencia entre calibres, como explicaremos, acaba por marcar grandes diferencias en lo que a incidencia de CPPD se refiere.

La incidencia promedio de CPPD en pacientes sometidos a punción lumbar, habitualmente con agujas de 20 Gauge de diámetro, diagnóstica para extracción de muestras a estudiar es cercana al 32 %. Para la anestesia espinal no obstétrica, esta cifra está cerca del 2 %, mientras que para la anestesia espinal obstétrica se sitúa alrededor del 7 % [5] [6] [7]. En comparación con estas cifras de incidencia, la de la CPPD tras una rotura dural accidental con aguja epidural es sustancialmente más alta, con cifras que oscilan entre el 50 % y el 85 % en diferentes reportes, una variabilidad en parte explicada por la presencia de agujas de 16 y 18 Gauge para uso epidural.

Al analizar los factores que predisponen a la CPPD, varios estudios a lo largo de las últimas décadas permiten afirmar que los factores demográficos de riesgo incluyen la edad joven, el sexo femenino y la presencia de cefaleas previas o durante la punción lumbar. La CPPD es unas dos veces más común en mujeres que en hombres. La incidencia más alta se encuentra en el grupo de edad de 30 a 50 años. La frecuencia disminuye en niños menores de 13 años y en adultos mayores de 60 años.

La diferencia en la incidencia de CPPD entre pacientes obstétricas y no obstétricas sometidas a anestesia subaracnoidea se atribuye en parte a la combinación de dos características: edad joven y sexo femenino. Además, la punción dural accidental es más común en pacientes obstétricas, con una incidencia del 1,5 % en comparación con menos del 0,5 % en la población general, y puede pasar desapercibida en más del 25 % de los casos (en los que quien realiza la técnica de abordaje epidural no identifica la salida del LCR a través de la aguja de punción). También se observan diferencias en incidencia de CPPD tras punciones accidentales con aguja epidural, siendo del 75 % en pacientes obstétricas en comparación con el 50 % en pacientes no obstétricas. Esto se traduce en una de las principales causas de demandas por mala praxis en Estados Unidos en anestesia obstétrica, anestesia regional y técnicas relacionadas con el tratamiento del dolor crónico.

En cuanto a los factores relacionados con la técnica, existe consenso en que incluyen el calibre de la aguja de punción, el diseño de la punta de la aguja [8] [9], la dirección del bisel de la aguja [10] [11] [12] [13] y la recolocación del fiador antes de la retirada de la aguja. Sin embargo, el profesor Reina *et al.* han demostrado que las últimas dos premisas quedan, cuando menos, en entredicho: en primer lugar, porque la duramadre no dispone de fibras longitudinales y perfectamente paralelas [14] [15] [16] [17] [18] [19] que hubieran de respetarse con la entrada de la aguja en una u otra posición, como promulgaban los anatomistas clásicos, y, en segundo lugar, porque en el mantenimiento del orificio de salida del LCR hacia el espacio epidural parece contribuir más la lesión de la lámina aracnoidea que la de la duramadre [10] [20] [21]. Además de esto, no parece que exista un mecanismo claro por el que retirar la aguja con el estilete colocado proporcione una protección contra el mecanismo que perpetúa el cuadro de CPPD [6].

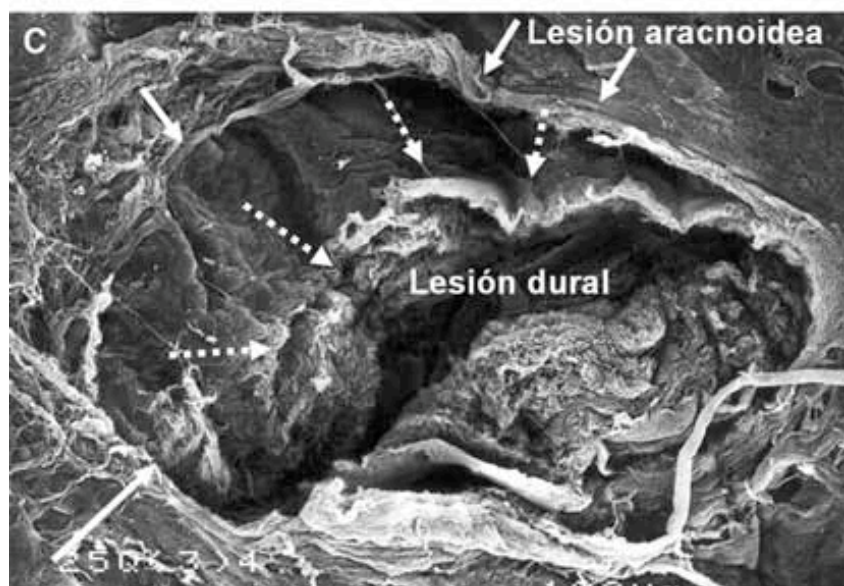


Figura 4. Lesión con aguja punta Quincke 25-gauge observada desde el espacio subaracnoideo (una visión obtenida mediante técnicas de microscopía electrónica a 200 aumentos). Se observan los diámetros diferentes entre los bordes de la lesión aracnoidea y la retracción de las capas de duramadre, que no están organizadas de manera lineal. Con permiso del Prof. MA Reina

Sin entrar a desarrollar las diferencias entre agujas de uso subaracnoideo (existe una gama amplia de opciones en el mercado con estudios que defienden o advierten de su uso), es remarcable que el calibre de la aguja es uno de los principales determinantes de la aparición de una clínica de CPPD tras la perforación dural.

3. La clínica de la cefalea pospunción dural

La presentación de la cefalea pospunción dural (CPPD) puede variar en intensidad. El dolor suele describirse como severo, aunque también puede ser de intensidad media o moderada.

Desde el punto de vista clínico, la CPPD se caracteriza por ser una cefalea que ocurre después de una punción dural y que típicamente se inicia o empeora significativamente cuando el paciente se pone de pie, pero mejora o disminuye notablemente cuando el paciente se recuesta. Esta cefalea suele afectar a ambos hemicráneos y puede tener una distribución frontal (25 %), occipital (27 %) o fronto-occipital (45 %). Los pacientes habitualmente la describen como un dolor sordo, pulsante o con características tensionales. Por lo general, la CPPD comienza entre el primer y quinto día después de la punción y su duración suele ser de varios días, aunque se han informado casos en los que la cefalea ha persistido durante varios meses. [22]

Además del dolor de cabeza, la CPPD puede estar acompañada de otros síntomas que son similares a los observados en situaciones de hipovolemia cerebral. Estos síntomas pueden incluir náuseas, vómitos, dolor o rigidez en el cuello, dolor interescapular, vértigo, diplopía (generalmente diplopía horizontal debido a la afectación del sexto par craneal), fotofobia, acúfenos, visión borrosa, alteraciones en el campo de visión superior binasal, síntomas radiculares en las extremidades superiores y, en raras ocasiones, entumecimiento o debilidad facial [23] [24] [25]. Los análisis de laboratorio generalmente no arrojan alteraciones significativas [25] [26]. Además, al igual que en el síndrome de hipotensión intracraneal, los estudios anatomopatológicos han demostrado que la duramadre y las leptomeninges son normales, y no se observa la presencia anómala de células inflamatorias.

4. Diagnóstico y diagnóstico diferencial

Según la III Edición de la Clasificación Internacional de las Cefaleas (ICDH-III) [27], elaborada por el Comité de Clasificación de la Cefalea de la Sociedad Internacional de Cefaleas, la cefalea tras punción dural es aquella que se manifiesta dentro de los cinco días siguientes a una punción lumbar, causada por pérdida de líquido cefalorraquídeo a través de la punción dural. Suele acompañarse de rigidez cervical y/o síntomas auditivos subjetivos. Se resuelve de manera espontánea en un plazo de dos semanas, o después del sellado de la fuga con un parche epidural autólogo. Esta misma guía aboga por basar su diagnóstico principalmente en la evidencia clínica de un historial de punción dural, la relación temporal con esta punción (debe comenzar en los cinco días posteriores a la punción), la resolución espontánea en un plazo de dos semanas o después de la aplicación de un parche hemático (PH), y la exclusión de otras causas de cefalea. En otras palabras, se trata de un diagnóstico de exclusión que corresponde al síndrome de hipotensión intracraneal de causa conocida, en este caso, la punción dural.

El diagnóstico diferencial de la CPPD acostumbra a ser sencillo, pues el historial de punción dural suele ser un dato conocido, y la presencia de una cefalea severa que se intensifica cuando el paciente se incorpora en la cama aumenta en gran medida las sospechas. No obstante, en pacientes en los primeros siete días del posparto conviene hacer hincapié en que un porcentaje no desdeñable de ellas experimentan cervicalgias y cefaleas que no tienen relación etiopatológica con la fuga de LCR.

A pesar de la aparente claridad en el camino diagnóstico, siempre conviene recordar y considerar otras posibles causas de cefalea, algunas potencialmente graves. Entre ellas destacan migrañas, meningitis, sinusitis, hipertensión arterial durante el embarazo, trombosis venosa cerebral, neumoencéfalo, hemorragia subaracnoidea, tumores cerebrales y hematoma subdural.

La resonancia magnética puede utilizarse tanto para diagnosticar la CPPD como para descartar otras causas de cefalea. En la literatura médica, se han descrito algunos hallazgos radiológicos en casos de CPPD que son similares a los observados en el síndrome de hipotensión intracraneal [25] [26]. Estos hallazgos incluyen la captación difusa de gadolinio en las meninges paquimeníngicas, la presencia de colecciones subdurales, el descenso del cerebro, el quiasma óptico y el tronco cerebral, el colapso de las cisternas basales y el crecimiento de la glándula hipofisaria. Además, a nivel espinal, los principales hallazgos radiológicos incluyen la presencia de higromas y la dilatación de los plexos venosos vertebrales anteriores [25] [28].

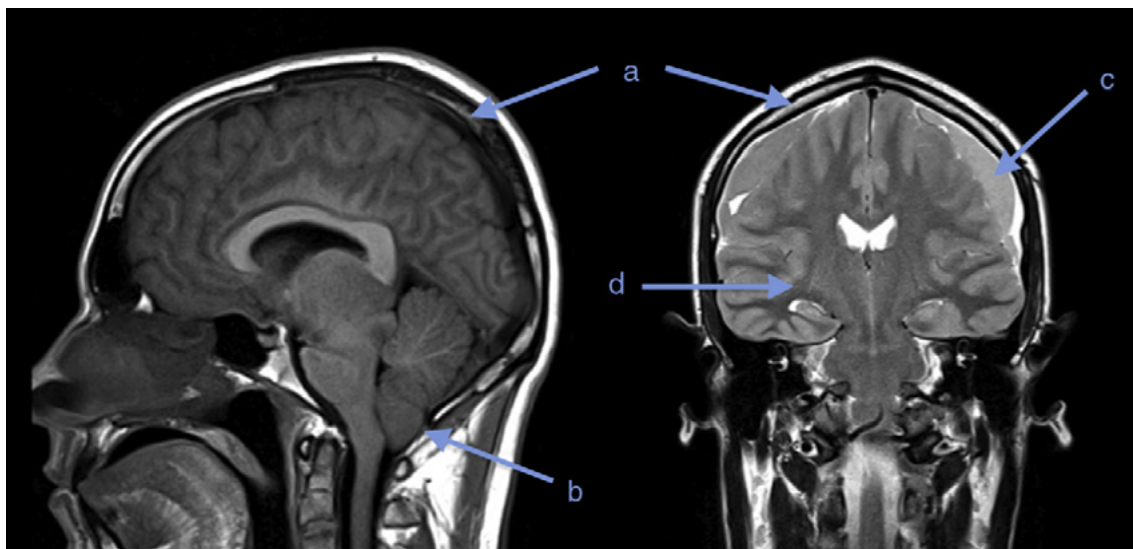


Figura 5. RM cerebral en paciente con CPPD. Se aprecia (a) engrosamiento dural, (b) herniación de las amígdalas cerebrales, (c) colecciones subdurales fronto-temporales, (d) edema cerebral difuso. Cortesía del Dr. Iván Quintero

5. Etiopatogenia

A día de publicación de este trabajo, la etiología precisa de la CPPD no está clara, pero se cree que está relacionada con la fuga de LCR a través del agujero dural creado por la aguja. Si la fuga de LCR ocurre a una velocidad mayor que la tasa de su producción, esto puede resultar en una presión de LCR baja, acentuada a nivel del cerebro cuando se adopta la posición vertical. Sin embargo, no todos los pacientes con CPPD tienen una presión de LCR baja, y no todos los pacientes con una fuga significativa de LCR desarrollan un cuadro de cefalea. Se han propuesto tres mecanismos fisiopatológicos, todos ellos relacionados con la homeostasis del LCR:

1. La hipotensión de LCR provoca una dilatación compensatoria de las venas meníngicas y una expansión del volumen sanguíneo, lo que causa dolor de cabeza debido a la distensión

venosa aguda. Este mecanismo es consistente con imágenes de resonancia magnética (IRM) en varios casos reportados de dolor de cabeza pospunción dural [25] [29] [30].

2. La hipotensión intracraneal relacionada con la fuga de LCR puede causar un descenso de las estructuras intracraneales y estiramiento de los nervios intracraneales sensitivos, provocando dolor y parálisis de los nervios craneales. En un estudio de siete pacientes con hipotensión intracraneal [23] [24], los hallazgos de RM que mostraban un desplazamiento caudal del cerebro se asociaron con el dolor de cabeza y se resolvieron junto con los síntomas de dolor de cabeza [25]. La tracción de los nervios cervicales superiores puede causar dolor de cabeza pospunción dural junto con dolor en el cuello, la espalda y los hombros [31] [32].

3. La elasticidad craneoespinal alterada después de una punción lumbar desemboca en un aumento de la *compliance* caudal en relación con la *compliance* intracraneal y una dilatación venosa intracraneal aguda en posición vertical [33].

6. Prevención y tratamiento

En el caso de las punciones lumbares diagnósticas o terapéuticas intencionadas, con aguja fina, el balance riesgo-beneficio no sugiere que se adopten medidas preventivas (adoptadas justo después de la punción para reducir las probabilidades de sufrir CPPD). Esto no es así en el caso de la punción accidental con aguja epidural, de mayor calibre, en la que la incidencia de CPPD es más alta. No obstante, ninguna medida preventiva es adoptada universalmente, puesto que no se han demostrado efectos preventivos de ninguna rutina.

El arsenal terapéutico para afrontar el cuadro de CPPD está en constante estudio y evolución, hecho motivado en parte por la falta de terapias que cumplan con las características que debería exhibir una solución ideal. El tratamiento de la CPPD actualmente no se basa en los resultados de estudios aleatorizados controlados, por lo que muchas recomendaciones se derivan de estudios clínicos observacionales y de la experiencia de diferentes grupos médicos.

El enfoque terapéutico puede dividirse en cuatro etapas, que podrían denominarse: tratamiento conservador, tratamiento médico avanzado, tratamiento invasivo convencional y tratamiento invasivo intensivo. La elección del tratamiento adecuado dependerá de la gravedad de los síntomas, las preferencias del paciente y la necesidad de una recuperación rápida, entre otros factores.

Inicialmente, el tratamiento conservador se considera el más apropiado para la mayoría de los pacientes con CPPD debido a su pronóstico habitualmente favorable. Este enfoque se basa en el reposo en cama, la hidratación y el uso de fajas abdominales para mayor

comodidad. El tratamiento farmacológico se centra en aliviar los síntomas y puede incluir analgésicos como el paracetamol y AINE, así como antieméticos. Este tratamiento tiene como objetivo mejorar la comodidad del paciente mientras se espera la resolución de los síntomas, ya que hasta el 50 % de los pacientes experimenta mejoría en cuatro días.

En la siguiente etapa, el tratamiento médico avanzado, se consideran opciones como la administración parenteral de metilxantinas, el bloqueo del nervio occipital y otros tratamientos sintomáticos. Las metilxantinas, como la cafeína y la teofilina, se han utilizado empíricamente, aunque su eficacia no está respaldada por evidencia sólida. Estos medicamentos actúan bloqueando los receptores de adenosina y produciendo vasoconstricción de los vasos cerebrales, lo que podría aliviar temporalmente la cefalea. Sin embargo, su efecto es limitado y a menudo solo es efectivo en las primeras 24 horas.

El siguiente paso en el tratamiento sería la intervención invasiva convencional, que se considera cuando las medidas conservadoras fallan o la CPPD es severa o incapacitante. En esta etapa, muchos centros utilizan el parche hemático como tratamiento de elección; implica la obtención de sangre autóloga del paciente bajo condiciones de asepsia y la inyección de esta inmediatamente después en el espacio epidural. Se ha demostrado que el parche hemático es altamente efectivo, con una tasa de éxito inicial del 91 %, aunque esta tasa disminuye al 61 % a largo plazo. Su efectividad se atribuye a dos teorías posibles: la formación de un coágulo de sangre autóloga que cierra el orificio en la duramadre, impidiendo la fuga de LCR, y el aumento de la presión del LCR, lo que reduce la tracción en las estructuras nociceptivas cerebrales y meníngeas.

La indicación para realizar un parche hemático y el momento óptimo de su realización son temas de debate. Algunos autores sugieren que se debe realizar después de varios días de persistencia de la CPPD a pesar del tratamiento conservador, mientras que otros abogan por su realización temprana. El volumen de sangre autóloga inyectado no debe superar los 20 ml para evitar efectos secundarios, como dolor de espalda y otras complicaciones graves.

Datos recientes demuestran que el bloqueo del nervio occipital mayor (NOM) guiado por ultrasonido es una técnica mínimamente arriesgada y eficaz para aquellos que no responden al tratamiento conservador. Por ello, algunos autores sugieren la inclusión del bloqueo bilateral del NOM como un paso previo a un posible parche hemático.

En caso de que el parche hemático y/o el bloqueo del nervio occipital mayor no sean efectivos, se debe reconsiderar el diagnóstico mediante estudios radiológicos y, si se confirma la presencia de una fuga de LCR, se pueden considerar tratamientos invasivos intensivos como la administración de selladores guiados por radiología o la cirugía.

1. Justificación del estudio

El presente trabajo de investigación nace de la necesidad de aportar soluciones prácticas a un problema que nuestra disciplina arrastra desde hace décadas: la perforación dural no intencionada mediante aguja tipo Tuohy en el contexto de un abordaje epidural, sea para colocar un catéter o para realizar una infiltración epidural, puede llevar al paciente a sufrir el síndrome de hipotensión intracraneal y padecer una cefalea pospunción dural.

El balance riesgo-beneficio nos hace practicar técnicas que, en casi todos los casos, entrañan un riesgo, por pequeño que este sea. En el caso del abordaje epidural, una de las complicaciones temidas por cualquier profesional que lo ejecuta es la posibilidad de romper accidentalmente el complejo duramadre-aracnoides (ocasionando así una «punción dural accidental») con una aguja, la de uso epidural, no diseñada para tal fin. Este miedo existe porque se conoce que la incidencia de cefalea pospunción dural tras una punción dural accidental es alta.

El objetivo principal del presente trabajo es el de desarrollar y validar el funcionamiento de un kit específico para sellar las fugas en el momento de punción dural accidental con aguja Tuohy de 18 Gauge. Se ha realizado con el fin de aportar una vía de investigación que pueda desembocar en la creación de un dispositivo médico que permita la prevención efectiva de la CPPD una vez detectada la punción dural accidental. Conceptualmente, este estudio está diseñado para promover la creación de un mecanismo de seguridad para los anestesiólogos y para los pacientes que se exponen al riesgo descrito.

2. Hipótesis

Se ha trabajado con la hipótesis de que la aplicación de un kit sintético de taponamiento de brechas durales específicamente diseñado y fabricado para tal fin puede ayudar a reducir el flujo de líquido cefalorraquídeo que pasa del espacio intratecal al epidural tras una punción dural con aguja Tuohy de 18 Gauge.

3. Objetivos

3.1. Objetivos principales

Desarrollar conceptualmente y fabricar un dispositivo que permita su aplicación en el momento de la punción dural con aguja Tuohy de 18 Gauge.

Testar en modelo ovino, *in vivo*, su rendimiento físico, entendido como su capacidad para disminuir la cantidad de líquido fugado desde el saco tecal hacia el espacio epidural.

3.2. Objetivos secundarios

Probar en modelo cadavérico el rendimiento de diferentes prototipos diseñados durante el proceso de refinamiento de la solución.

Estudiar la tasa y el modo de cierre natural de las perforaciones provocadas por una punción dural intencionada con aguja Tuohy de 18 Gauge en un modelo ovino *ex vivo* 24, 72 y 168 horas después de la punción.

4. Material y método

Ámbito de actuación y estructura del trabajo

El grueso de este trabajo de investigación ha tenido lugar en laboratorios de investigación y no hubiese sido posible sin la participación de ingenieros. No obstante, en las fases finales de la investigación, se ha trasladado el peso de la misma a animalarios en los que se han realizado los experimentos *in vivo*, contando en este caso con la inestimable ayuda de un equipo de anestesiólogos veterinarios. Por último, como se explicará al final de este apartado, se ha requerido la colaboración de personal especializado en técnicas de análisis microscópico.

En aras de exponer de forma clara la secuencia de hechos que han conducido al resultado final, se detallan a continuación las **9 fases de trabajo**, a veces superpuestas, que han permitido que todo el proceso se haya podido llevar a cabo.

Fase 1. Experimento en modelo ovino *in vivo*. Perforación dural y seguimiento de su cierre espontáneo. Estudio de la tasa y el modo de cierre natural de las perforaciones provocadas por una punción dural intencionada con aguja Tuohy de 18 Gauge en un modelo ovino *ex vivo* 24, 72 y 168 horas después de la punción.

Fase 2. Conceptualización del implante. Abordaje de la idea para generar un set de sellado dural y primeros prototipos 3D.

Fase 3. Simulación y elección de materiales. Un estudio centrado en las características ideales de cada material para los componentes del sistema de sellado dural.

Fase 4. Diseño de los componentes del sistema de sellado para su fabricación.

Fase 5. *Bench testing*. Estudio del rendimiento del kit en simuladores sintéticos.

Fase 6. Mejora del diseño y validación de kits fabricados en fantoma.

Fase 7. Fabricación definitiva de kits estériles para test *in vivo*.

Fase 8. Ensayos de citotoxicidad aguda y sistémica.

Fase 9. Estudio *in vivo* en *Ovis orientalis aries* del rendimiento del implante.

Es importante recalcar que, por motivos de cumplimiento con el código ético de experimentación animal, se tuvo que minimizar el número de especímenes de experimentación. Esto obligó a realizar los experimentos descritos en las fases 1 y 9 en un mismo tiempo, esto es, en las etapas finales del trabajo. En la confección y redacción de este texto se ha respetado el orden de exposición cronológica según el plan original para facilitar la comprensión de quien lo lea.

Las tareas en las que el trabajo requería de la participación de equipos de ingeniería biomédica se han llevado a cabo en su práctica totalidad en las instalaciones del Instituto de Biomecánica de Valencia (IBV). Estas incluyen:

- reuniones de equipo,
- trabajos de diseño de prototipos,
- fabricación de primeros prototipos para test iniciales,
- ensayos sobre fantasmas que no implicasen manejo de restos biológicos,
- grabación y análisis de rendimiento de los parches prototipados,
- estudios sobre los polímeros a emplear,
- diseño de experimentos,
- realización de informes de evolución del proyecto,
- especificaciones técnicas para fabricantes externos,
- ensamblado de muestras,
- esterilización de prototipos para ensayo, y
- tratamiento de imágenes obtenidas (TC) en los ensayos.

Por otra parte, el grueso de las tareas que requerían manejo de animales se ha realizado en las instalaciones del Centro de Estudios Universitarios CEU-Cardenal Herrera. En concreto, se ha trabajado en su Hospital Veterinario (aulas de disección-anatomía, estabulario, quirófanos, sala de TC). Se requirió la participación de anestesiólogos veterinarios y voluntarios para llevar a cabo tareas relacionadas con:

- test inicial sobre cadáveres para valorar la facilidad de inserción del dispositivo diseñado,
- disección de canales raquídeos para obtener puntos de mejora en el rendimiento del test,
- selección de especímenes,
- diseño de las dinámicas de equipo para llevar a cabo los ensayos *in vivo* y planificación de los ensayos,
- manutención de animales,
- rasurado y desinfección de zonas a intervenir,
- sedación preoperatoria e inducción de anestesia general,
- monitorización del animal,

- posicionamiento en el quirófano, punción lumbar seguida o no de inserción del kit de sellado,
- administración de contraste y obtención de imágenes Rx y TC,
- educación anestésica, analgesia y antibioterapia perioperatoria,
- cuidado y estabulación de especímenes,
- sacrificio escalonado siguiendo estándares de calidad en atención y manejo de animales,
- congelación de ejemplares,
- disección, y
- obtención de las zonas de interés para su estudio.

Por último, se ha requerido de servicios de análisis microscópico de diferentes tipos. Se llevaron a cabo en el Centro Nacional de Microscopía Electrónica (Madrid), donde se abordaron las tareas siguientes:

- recepción y preparación de las muestras,
- visionado de las mismas mediante microscopio óptico y de barrido, y
- obtención de imágenes de las áreas de punción e implantes para su estudio.

4.1. Fase 1. Experimento en modelo ovino in vivo. Perforación dural y seguimiento de su cierre espontáneo

4.1.1. Objetivo específico

Estudiar la tasa y el modo de cierre natural de las perforaciones provocadas por una punción dural intencionada con aguja Tuohy de 18 Gauge en un modelo ovino *ex vivo* 24, 72 y 168 horas después de la punción.

4.1.2. Material y método

Este proyecto de investigación fue aprobado por la Dirección General de Ganadería de la Generalitat Valenciana (<https://www.ub.edu/cub/criteri.php?id=2443>; España, código 2018/VSC/PEA/0188 tipo 2) después de la recomendación del Comité de Ética para Experimentación con Animales de la Universidad Cardenal Herrera-CEU (Valencia, España).

El manejo, procedimientos, alojamiento, eutanasia y obtención de muestras se llevaron a cabo en el Hospital Veterinario de la Universidad Cardenal Herrera-CEU, de acuerdo con

la Directiva 63/2010/UE sobre protección de los animales utilizados con fines científicos ([https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=celex %3A32010L0063](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=celex%3A32010L0063)).

4.1.2.1. Tamaño del grupo y aleatorización

27 ovejas adultas (*Ovis orientalis aries*) de ambos sexos se asignaron aleatoriamente a uno de tres grupos (nueve ovejas en cada grupo). Se realizó una punción intencional en la duramadre en cada animal con una aguja epidural de tipo Tuohy y calibre de 18 Gauge, y los animales fueron sacrificados después de un día (grupo 1), tres días (grupo 2) y siete días (grupo 3). La asignación de los grupos se hizo al azar mediante códigos extraídos de un sobre sellado. Los sobres se abrieron inmediatamente antes de comenzar el procedimiento para revelar la aleatorización de cada animal.

4.1.2.2. Protocolo clínico y punción intencional en la duramadre

Después de cateterizar la vena cefálica anterior y sedar a los animales con dexmedetomidina intravenosa (10 µg/kg), se preparó el sitio de punción afeitando el área lumbar y desinfectándola con clorhexidina al 70 % en alcohol. Se indujo la anestesia general con propofol intravenoso (3 mg/kg) y, después de la intubación traqueal, se mantuvo mediante la administración endotraqueal de sevoflurano entregado a través de ventilación mecánica en circuito cerrado en una mezcla de aire y oxígeno con un FiO₂ de 0,50. Se aplicaron monitores rutinarios y se mantuvo a los animales normotérmicos, normocápnicos, normóxicos y hemodinámicamente estables durante todo el experimento.

Después de colocar al animal en posición esternal, se realizó una punción lumbar en la línea media en el espacio de transición lumbosacro entre la sexta vértebra lumbar y la primera vértebra sacra (L6/S1) con una aguja epidural Tuohy de calibre de 18 Gauge (Perican®, B. Braun, Melsungen, Alemania). Luego, se retiró la aguja Tuohy y se colocó una grapa quirúrgica metálica en la piel junto al orificio de punción para marcar el sitio para futuras disecciones y obtención de muestras.

4.1.2.3. Alojamiento y eutanasia

Después de recuperarse completamente de la anestesia general, las ovejas fueron alojadas en un establo donde se las mantuvo alimentadas y en condiciones higiénicas, respetando todos los aspectos descritos en las regulaciones de bienestar animal. Los animales fueron sacrificados mediante una combinación de embutramida, mezebonio y tetracaína (T61, Intervet International GmbH, Unterschleißheim, Alemania), y luego se congelaron inmediatamente a -20 °C (cámara de congelación Zanotti, Zanotti S.P.A., Pegognaga, Milán, Italia)

hasta que fueron necesarios para la obtención de muestras de tejido. La congelación inmediata se realizó para minimizar posibles cambios en los tejidos *post mortem*. Los animales fueron colocados, con las extremidades posteriores ligeramente flexionadas bajo el abdomen, en una posición de hiperflexión lumbar en el congelador.

4.1.2.4. Obtención de muestras

Los animales congelados se prepararon utilizando una sierra circular de autopsia, un torno de fresado quirúrgico y otros equipos de disección para que las muestras contuvieran solo el área de interés. Todas las estructuras de referencia se identificaron en las secciones transversales y longitudinales para evitar dañar cualquier área de interés durante cada paso de la disección final. Se utilizaron técnicas quirúrgicas de perforación y disecciones precisas para eliminar el tejido blando que no era de interés para este estudio. Se empleó un enfoque anterior mediante la perforación de discos, cuerpos vertebrales y pedículos, lo que proporcionó una vista ventral del canal espinal. Esto permitió identificar toda la duramadre y los manguitos de las raíces nerviosas espinales, identificando la arteria espinal ventral que atraviesa la línea media, y manteniendo protegida e intacta el área posterior de la duramadre donde se localizaron las lesiones que posteriormente se estudiarían. En cada foramen vertebral, se identificaron los manguitos de las raíces nerviosas junto con los ligamentos meningo-vertebrales, seccionados para liberar los anclajes de la duramadre dentro del canal espinal. Esto nos permitió extraer la duramadre sin dañarla e inmediatamente sumergirla en glutaraldehído al 2,5 % con solución fosfatada amortiguada a un pH de 7,28 a 7,32 para su preservación y fijación.

4.1.2.5. Microscopía electrónica de barrido

Las muestras de duramadre se cortaron en piezas cuadradas de 20 × 20 mm y se deshidrataron progresivamente sumergiendo las piezas en soluciones que contenían concentraciones crecientes de acetona (hasta el 100 %). Luego, la acetona se sustituyó por dióxido de carbono en una cámara presurizada (Balzers CPD 030 Critical Point Dryer, Bal Tec AG, Fürstentum, Liechtenstein) hasta alcanzar una presión crítica de 73,8 bar y una temperatura de 31 °C. Luego se añadió una capa de carbono a las muestras para obtener un grosor inferior a 200 ángstroms con un sistema de deposición MED 010 Mini (Balzers, Bal Tec AG, Fürstentum, Liechtenstein). La evaporación de carbono se realizó mediante la aplicación de una corriente eléctrica a través de un electrodo de grafito dentro de una cámara de vacío a 1025 milibares. Luego, las muestras se cubrieron con un microfilm dorado pasando una corriente eléctrica de 20 amperios a través de un electrodo de oro dentro de una cámara de vaporización SCD 004 Balzers Sputter Coater (Balzers, Bal Tec AG, Fürstentum, Liechtenstein) regulada con una presión de vacío de 0,1 milibares. Las superficies internas

subaracnoideas de las muestras se estudiaron con un microscopio electrónico de barrido JSM 6400 (JEOL Corporation, Tokio, Japón).

4.1.2.6. Mediciones

Se empleó el *software* Adobe Photoshop Image J versión 1.46a (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>) para homogeneizar las ampliaciones entre imágenes y permitir la medición de circunferencias y áreas de las lesiones del orificio de punción.

4.1.2.7. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el *software* estadístico R (versión 4.0.3). Se calculó el tamaño del efecto con la función `pwr.t2n.test` del paquete `pwr` para grupos de diferentes tamaños de muestra ($n_1 = 9$; $n_2 = 6$). El error alfa se estableció en 0,05, el error beta fue de 0,8 y se consideró la hipótesis alternativa como «menor que». Se obtuvo un tamaño de efecto de -1,4 (<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsyg.2013.00863/full>). Se verificó la normalidad de las variables con una prueba de Shapiro-Wilk. La homocedasticidad se estudió utilizando la prueba de Levene. Tanto el área como la circunferencia no cumplieron los criterios de normalidad o homocedasticidad, por lo que se eligió un enfoque estadístico robusto y se utilizó un modelo lineal general para estudiarlos. La comparación entre el área y la circunferencia en función del tiempo (días 1, 3 y 7) se realizó utilizando pruebas *t* para muestras independientes en medidas de ubicación robustas que incluían tamaños de efecto. La función `t1way` calcula un análisis de varianza de una vía en medias truncadas. No se requiere la suposición de homocedasticidad, ya que utiliza una generalización del método de Welch. Se realizaron pruebas *post hoc* correspondientes utilizando la función `lincon`. Ambos análisis se incluyeron en el paquete `WRS2`. Finalmente, se realizó un modelo lineal general utilizando un modelo logarítmico para estudiar la relación entre las variables estudiadas (área y circunferencia) y el tiempo. Estos resultados se representan en la Figura 9 y en la Figura 10. Elegimos que las diferencias estadísticas se definieran como $P < 0,05$. El nivel de recorte para las medias fue 0,2. Los datos se presentan numéricamente como medianas (mínimo a máximo), intervalos de confianza del 95 % (IC 95 %), y se presentan gráficamente como medianas, rangos intercuartiles y mínimos y máximos.

4.1.3. Resultados

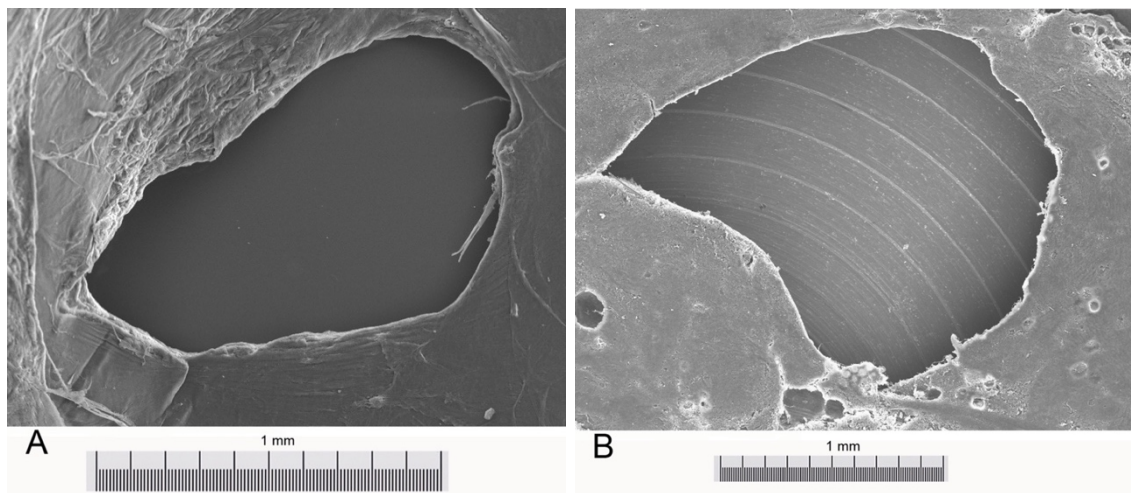


Figura 6. Lesión en el saco dural vista desde la superficie interna (capa aracnoidea) 1 día después de la punción lumbar con aguja Tuohy de calibre de 18 Gauge. Nota: A y B fueron obtenidas de animales diferentes. Microscopía electrónica de barrido. Aumento: A = $\times 70$; B = $\times 45$

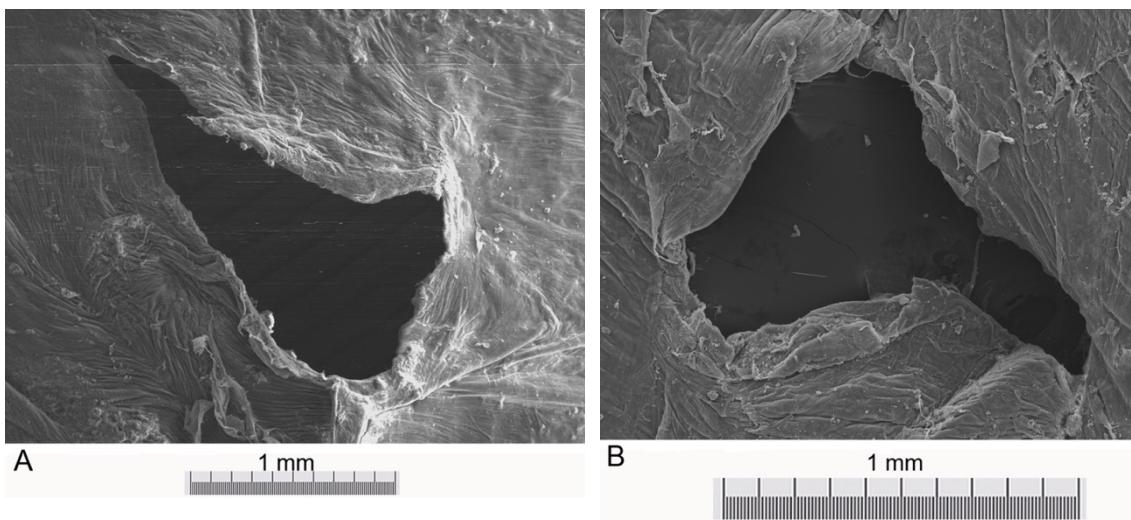


Figura 7. Lesión en el saco dural vista desde la superficie interna (capa aracnoidea) 3 días después de la punción lumbar con aguja Tuohy de calibre de 18 Gauge. Nota: A y B fueron obtenidas de animales diferentes. Microscopía electrónica de barrido. Aumento: A = $\times 40$; B = $\times 70$

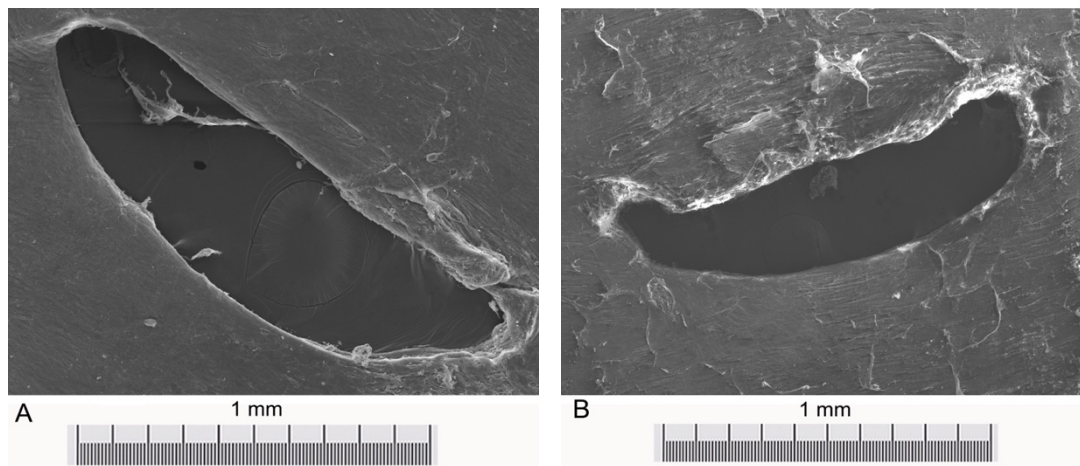


Figura 8. Lesión en el saco dural vista desde la superficie interna (capa aracnoidea) 7 días después de la punción lumbar con aguja Tuohy de calibre de 18 Gauge. Nota: A y B fueron obtenidas de animales diferentes. Microscopía electrónica de barrido. Aumento: A = $\times 75$; B = $\times 70$

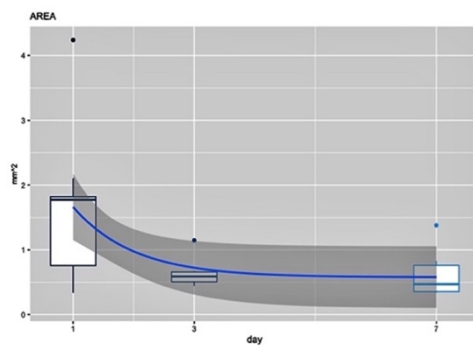


Figura 9. Área. Nota: Mediana, rango y valores atípicos en días 1, 3 y 7, y ajuste logarítmico (línea azul; el área gris representa intervalo de confianza del 95 %)

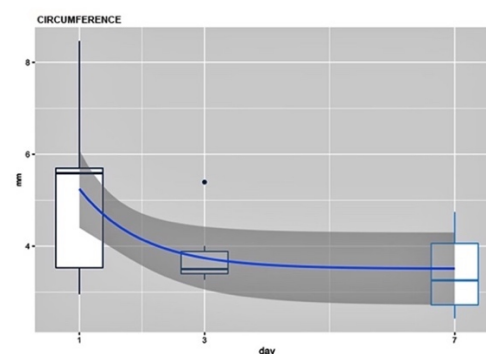


Figura 10. Circunferencia. Nota: Mediana, rango y valores atípicos en días 1, 3 y 7, y ajuste logarítmico (línea azul; el área gris representa intervalo de confianza del 95 %)

De un total de 27 punciones lumbares, se pudieron estudiar 24 lesiones (9, 9 y 6 pertenecían a los grupos 1, 2 y 3, respectivamente; Figura 1, Figura 2 y Figura 3). Se descartaron 3 muestras (todas del grupo 3) debido a artefactos que ocurrieron durante los procesos de laboratorio o a la dificultad de localizar el orificio de punción bajo el microscopio electrónico. Todas estas muestras fueron descartadas ya que optamos por utilizar solo especímenes perfectos y no distorsionados y desechar el resto. Los datos demográficos de los animales se pueden ver en la Tabla 1.

Los resultados de las mediciones de área y circunferencia de los orificios de punción en la duramadre y aracnoides se muestran en la Tabla 1. Las lesiones aracnoideas producidas por

las agujas epidurales Tuohy de calibre de 18 Gauge se muestran en la Figura 6, la Figura 7 y la Figura 8. Las lesiones en todos los casos consistieron en una lesión en la duramadre superpuesta a una lesión en la aracnoides. Observamos que la capa interna de la aracnoides, situada superficialmente, estaba parcialmente abierta, y también más profundo, a través del orificio de la capa aracnoidea, el orificio de las láminas durales. Este patrón se encontró en los tres grupos a los 1, 3 y 7 días.

Al analizar las características de las lesiones, se pudo observar que el bisel de las agujas espinales Tuohy produjo una pequeña lesión cortante en el complejo duramadre-aracnoidea. A medida que la punta avanzaba, los bordes afilados cortaban y distendían la duramadre, causando una progresión «limpia» a través del complejo. Las agujas Tuohy produjeron así un corte preciso y controlado con un daño limitado en las materias dural y aracnoidea. La punta de la aguja parecía «doblar» el tejido cortado hacia dentro, hacia la duramadre, de modo que las lesiones dural y aracnoidea producían una forma similar a la de una «luna creciente» que se asemejaba a las letras «U» o «V», así como a una imagen geométrica como un óvalo o elipse.

El área fue menor en los días 3 y 7 en comparación con el día 1 (día 1: $1,77 \text{ mm}^2$; día 3: $0,58 \text{ mm}^2$ [$P = 0,027$; IC 95 %: $0,07-1,08$]; día 7: $0,47 \text{ mm}^2$ [$P = 0,027$; IC 95 %: $0,08-1,84$]). No se observaron diferencias entre los días 3 y 7 ($P = 0,743$; IC 95 %: $-0,55-0,66$). En términos relativos, el área fue un 67 % y un 73,5 % menor, respectivamente, en los días 3 y 7 en comparación con el día 1. Sin embargo, no hubo diferencias en la circunferencia entre los días 1, 3 y 7 (día 1: $5,59 \text{ mm}$; día 3: $3,5 \text{ mm}$ [$P = 0,09$, IC 95 %: $-0,34-3,4$]; día 7: $3,25 \text{ mm}$ [$P = 0,09$; IC 95 %: $-0,43-3,9$]). Tampoco hubo diferencias entre los días 3 y 7 ($P = 0,65$; IC 95 %: $-1,7-2,2$).

Un modelo lineal general encontró que la evolución del área y la circunferencia a lo largo del tiempo se ajusta a un modelo logarítmico (estimación: $-0,14$, error estándar: $0,055$, valor t : $-2,54$, $P = 0,02$, y estimación: $-0,065$, error estándar: $0,025$, valor t : $-2,61$, $P = 0,017$, respectivamente). Los datos se presentan en la Tabla 1, así como en la Figura 8 y en la Figura 9.

Tabla 1. Datos demográficos, medidas del área y circunferencia a lo largo del tiempo

		Día 1 n = 9	Día 3 n = 9	Día 7 n = 6	General n = 24
Sexo	Hembra	8 (88,9 %)	8 (88,9 %)	4 (66,6%)	20 (83,3 %)
	Macho	1 (11,1 %)	1 (11,1 %)	2 (33,3 %)	4 (16,6 %)
Peso	Mediano (min. max.)	37 (30, 48)	39 (30, 57)	30 (24, 46)	38,5 (24, 54)
Área (mm ²)	Mediana (min. max.)	1,77 (0,338; 4,24)	0,589 (0,443; 1,15)	0,470 (0,338; 1,38)	
Circunferencia (mm)	Mediana (min. max.)	5,59 (2,96; 8,46)	3,5 (3,27; 5,39)	2,25 (2,43; 4,74)	

4.1.4. Conclusiones

Los orificios de punción dural iatrogénicos con diferentes tamaños y tipos de agujas han sido bien estudiados y reportados *in vitro* en estudios con cadáveres humanos [10] [11] [12]. En todos estos estudios, los orificios de punción se produjeron *post mortem*. Hasta donde sabemos, este es el primer estudio en el que las punciones durales iatrogénicas se realizaron *ante mortem*. El presente estudio demuestra no solo la morfología del orificio de punción dural realizado por una aguja epidural Tuohy de calibre de 18 Gauge en animales vivos, observado mediante microscopía electrónica, sino que también muestra que el proceso de cicatrización no es lineal sino logarítmico a lo largo del tiempo. Esperábamos completamente un proceso lineal y, por lo tanto, continuamos el estudio durante siete días esperando encontrar una lesión curada, pero nos sorprendió encontrar solo un cierre aproximado del 50 % de los orificios de punción en todos los animales después de siete días. Además, descubrimos que el proceso de cierre fue logarítmico y no lineal.

4.2. Fase 2. Conceptualización de la idea y primeros prototipados

4.2.1. Objetivo específico

La fase 2 del presente trabajo de investigación tuvo como objetivo principal la definición del mejor tipo de elemento teórico de sellado de perforaciones durales, en adelante llamado «parche» por la función teórica que le fue asignada, consistente en producir o promover el cierre de una perforación accidental en el complejo duramadre-aracnoideo.

Ha de notarse que no fue un objetivo de la presente fase el modelado de los dispositivos anexos a un posible parche de sellado. Entiéndase pues que quedaran fuera del alcance de la fase 2 las suturas, elementos introductores, estiletes, guías y cualquier otro tipo de material complementario para posibilitar o facilitar la aplicación del parche.

4.2.2. Material y método

Se llevaron a cabo tres reuniones conjuntas del grupo clínico y el equipo de ingeniería del Instituto de Biomecánica de Valencia (IBV). reuniones separadas 3 semanas entre ellas.

El grupo clínico, además del investigador principal de este estudio, contaba con tres perfiles extra de profesionales de la anestesiología, siendo dos de ellos anestesiólogos dedicados a atención humana y el miembro restante especialista en anestesiología veterinaria. Todos ellos desempeñaban cargos asistenciales en el momento de celebración de las reuniones de esta fase y cada uno contaba asimismo con más de diez años de experiencia clínica y se consideraban expertos en el manejo de las técnicas anestésicas sobre neuroeje.

Por su parte, el equipo de ingeniería del IBV estaba integrado por tres miembros, todos ellos ingenieros de formación, con un perfil técnico y más de cinco años de experiencia en el campo de la ingeniería dedicada a las ciencias de la salud. Uno de los miembros asistía en calidad de director de equipo y coordinaba la comunicación con el investigador principal, mientras que los dos miembros restantes ejercían las tareas de conceptualización, diseño y posterior rediseño de las soluciones ideadas, además de documentación del trabajo.

El objetivo de la primera reunión conjunta fue la transferencia de información entre el grupo clínico y el equipo de ingeniería para contextualizar el problema que se quería abordar y la definición de solución ideal a la necesidad clínica. La reunión de 90 minutos requirió preparación por separado (coordinación y ajuste de expectativas/necesidades por parte del investigador principal), un *debriefing* en el que se expusieron y meditaron conclusiones, y un seguimiento posterior para aclarar cualquier posible duda por parte del grupo clínico o el equipo de ingeniería, así como recogida de cualquier información que no pudiera haber sido transmitida durante la reunión.

La segunda reunión también duró 90 minutos y tuvo lugar una vez el equipo de ingeniería integró la información expuesta en la primera y trabajó sobre las ideas que conjuntamente se esbozaron en esta. El objetivo fue el de exponer un total de tres soluciones conceptuales tentativas al problema de la brecha dural accidental y someterlas a juicio conjunto. Previamente a esta reunión, el equipo de ingeniería laboró en la creación de *renders* tridimensionales para ilustrar las ideas de solución. Durante la reunión, se elaboraron listas de ventajas e inconvenientes teóricos de cada una de las propuestas, así como de ideas de mejora y complementos informativos sobre los temores prácticos por parte del grupo clínico.

Por último, la tercera reunión se celebró tras integrar en un archivo único todas las ideas de mejora expuestas en la reunión previa y dar tiempo al equipo del IBV para mejorar las propuestas en base a lo discutido, permitiendo durante esta última reunión —de 60 minutos

de duración— elegir una solución «ganadora» ya mejorada respecto a la primera versión expuesta.

Durante la fase del trabajo correspondiente al tiempo entre la primera reunión y la tercera, la herramienta de modelado tridimensional de uso habitual fue CAD. La exposición y documentación de los avances se realizó mediante envío de correos electrónicos regulares — periodicidad a demanda—.

4.2.3. Resultados

4.2.3.1. Primera reunión conjunta

Se exponen las principales líneas de información (*inputs*) ofrecidas por el grupo clínico al equipo de ingeniería del IBV. Durante la reunión se explicaron en detalle el problema clínico a resolver, las soluciones actuales, las necesidades teóricas de rendimiento de un posible parche y el entorno fisiológico en el que el implante habría de desarrollar su actividad:

- Se trabaja con el dato de la presión que ejerce el líquido cefalorraquídeo sobre las paredes del saco dural (complejo aracnoides-duramadre) oscilando en un rango entre los 60 y los 180 mm de H₂O. Este dato corresponde a la presión de la columna de líquido en sedestación en los espacios bajos de la zona lumbotorácica, correspondientes a las metámeras de punción habitual.
- La punción dural accidental en el contexto de manejo de agujas epidurales (tipo Tuohy) es una punción traumática, en la que el área de perforación o diámetro de la brecha creada es por definición mayor al diámetro externo de la aguja. Esto no es así en los casos de punción dural intencionada con agujas de menor calibre, ya que no necesitan alojar ningún catéter en su interior.
- Las agujas «epidurales», comúnmente llamadas tipo Tuohy (en honor al Dr. James E. Tuohy, su inventor), disponen de una punta ligeramente curvada, diseñada específicamente para permitir el paso de un catéter epidural de manera ligeramente orientada. Las agujas epidurales tipo Tuohy de 18 Gauge tienen un diámetro externo de 1,3 mm y un diámetro interno —o luz— de 0,85 mm. Cualquier implante, así como los elementos de transferencia, suturas u otros elementos aledaños, ha de poder operar en este contexto, siendo de especial interés el calibre interno o luz de la aguja por haber de alojar una solución plegada y el diámetro externo por ser el que marca el área de lesión a taponar.

- El espesor del complejo duramadre-aracnoides en el segmento de interés (raquis lumbar) es de alrededor de 300 micrones. [34]
- En los kits de abordaje epidural comerciales y de uso común, la aguja tipo Tuohy suele venir acompañada, entre otros, de un estilete específico que sirve para mantener la luz de la aguja obliterada durante el avance y subsiguientes maniobras a fin de evitar que se arrastren partículas orgánicas como grasa o tejido conectivo hasta el espacio epidural. Este estilete es generalmente retirado cuando el anestesiólogo ha hecho llegar la punta de la aguja Tuohy al área cercana al espacio epidural, normalmente tras haber avanzado sintiendo las diferentes resistencias tisulares (piel, tejido subcutáneo, ligamento interespinoso y en algunos casos ligamento amarillo).
- En el momento de generación de una punción dural no intencionada con flujo de LCR evidente (definida como «punción húmeda»), la práctica habitual incluye sostener la aguja Tuohy en el sitio de punción, insertando en ese momento el estilete específico antes de tomar la siguiente decisión procedimental.
- Si bien no existe una práctica universal que rijan qué paso seguir tras la observación de una punción húmeda, la mayoría de los anestesiólogos, siempre según el grupo clínico, optan por retirar el conjunto aguja + estilete sin haber aplicado una solución específica en el momento agudo. En cualquier caso, es de especial relevancia entender que el momento inmediatamente posterior a la detección de la punción húmeda, en el que la punta de la aguja Tuohy queda distal al complejo meníngeo formado por aracnoides y duramadre y por lo tanto intratecal, es el único en todo el proceso en el que se tiene una certeza absoluta de que se ha canalizado el agujero o brecha dural que genera el problema de fuga. Es, por tanto, el único momento en el que el anestesiólogo tiene la certeza de disponer de acceso directo al sitio anatómico donde cabe esperar reparar o taponar la fuga. Una vez retirada la aguja Tuohy no será posible abordar el problema en el sitio exacto de la lesión generada, o no sin un alto grado de complejidad técnica. Esto es especialmente cierto si se quiere diseñar una solución que implique la entrada en el saco tecal de un implante.

Estas son las necesidades y características del entorno que tras la primera reunión presencial quedaron definidas conjuntamente para ayudar al equipo de ingeniería a moldear las soluciones iniciales sobre las que pivotar y refinar, que serían expuestas en la subsiguiente reunión:

- Cabe centrar el esfuerzo de conceptualización únicamente en el elemento que interactuará con la duramadre-aracnoides (llamado parche), sin necesidad de generar *renders* o prototipos de otros elementos que potencialmente formen un kit de aplicación de la solución.

- Es preceptivo disponer de tres soluciones conceptuales diseñadas y expuestas con modelos tridimensionales dedicadas a taponar una hipotética lesión dural. Sobre las mismas, en una siguiente etapa del presente trabajo, se aplicarán mejoras para refinar sus características en base a lo razonado por el grupo clínico.
- En base a la primera fase de estudio de este trabajo de tesis, practicada sobre animales vivos, es congruente pensar que también en humanos el cierre natural del defecto generado sigue un patrón no lineal, con tendencia a una retracción de las paredes del orificio muy temprana en probable relación con su capacidad elástica y retráctil. Así pues, sobre este supuesto es preceptivo tener en cuenta que podría ser suficiente con diseñar un implante o parche que tapone un alto porcentaje, pero no el 100 % del orificio de fuga de LCR, puesto que dicha retracción podría actuar como elemento de contención al coaptar parcialmente sobre el dispositivo implantado.
- Las características del proceso de reparación natural de tejidos y la observación empírica del curso de la patología (cefalea postpunción dural) que se pretende ayudar a evitar nos hacen pensar que será suficiente con diseñar un dispositivo que permanezca en el sitio de la lesión ayudando a cerrarla durante un período limitado de tiempo. Esto, con el nivel de desarrollo de los copolímeros biocompatibles del que se dispone hoy en día, puede hacernos decantar por un implante reabsorbible, cuyo tiempo mínimo de permanencia antes del inicio de un proceso de degradación natural *in situ* ha de ser de siete días.
- Asimismo, idealmente y puesto que se conoce el grado de sofisticación de los materiales biocompatibles con los que se podría fabricar un implante o parche, es posible contar con la posibilidad de que el parche pueda transferirse al sitio de lesión a través de la aguja Tuohy, plegado o no, para que su posterior apertura en vecindad a la brecha sea automática y no traumática.
- Si el implante no tiene flexibilidad suficiente para plegarse de forma autónoma, podría estar compuesto por partes rígidas pero móviles de forma que el conjunto pueda plegarse o posicionarse sobre la pared interior de la duramadre.
- Conviene evitar en la medida de lo posible realizar esfuerzos excesivos sobre la membrana dural que puedan causar el desgarro de la misma durante el posicionado del implante o retirada de la aguja, o una salida del implante por el agujero de la punción.
- A futuro y en función de la necesidad de comportamiento de la solución diseñada, cabe la posibilidad de incorporar un hilo de sutura también reabsorbible fijado al

implante para un mejor control de este y que permita una posible retirada inicial. Esto, en cualquier caso, no se desarrollará en el presente estado del trabajo.

- Es de capital importancia a nivel clínico diseñar un sistema que evite a toda costa la migración interna del implante por medios mecánicos (en caso de diseñar un implante plegable) o adhesivos (en caso de optar por otro tipo de soluciones). Esta fue una preocupación recurrente en el seno del grupo clínico.
- Conviene remarcar que, de optarse por un hilo de sutura como elemento de fijación, ha de tenerse en cuenta el período de degradación del mismo y escoger un material de sutura que no se degrade especialmente rápido, puesto que podría permitir la suelta del parche antes de que se haya integrado y ayudado a reparar la lesión.
- Se entiende que, de cara a una posterior fabricación en serie, es importante disponer de un diseño globalmente sencillo que simplifique su generación y ensamblaje.
- En sucesivas reuniones cada versión pasaría a ser criticada para ser mejorada o descartada.

4.2.3.2. Segunda reunión conjunta

Se presentaron las soluciones conceptuales requeridas.

A. Solución conceptual 1, versión 1_1

Solución de implante compacto de una pieza con alas plegables que permitiría su introducción por la cánula de la aguja y se desplegarían tras salir por el extremo que queda dentro de la duramadre, quedando las alas delanteras dentro del saco tecal y las traseras en el espacio epidural. Las alas delanteras de menor tamaño permitirían una degradación gradual del implante de «dentro hacia fuera» y las alas traseras mayores evitarían una posible migración del implante hacia el interior. El implante iría fijado a un hilo de sutura en su parte central.



Figura 11. Modelo 3D de solución conceptual 1, v1_1, en diversas proyecciones y cortes

B. Solución conceptual 2, versión 2_1

Solución de implante con un cuerpo central más dos alas abatibles que se montarían plegadas en el interior de la aguja y que tras sobresalir por el extremo distal de la misma se desplegarían por la acción combinada de tirar de un hilo interno fijado en la parte central, mientras las alas apoyan sobre las superficies inclinadas del elemento introductor del implante. Una vez el implante en posición sobre la pared interna de la duramadre, se inyectaría algún tipo de adhesivo/sellante y se retiraría la aguja.

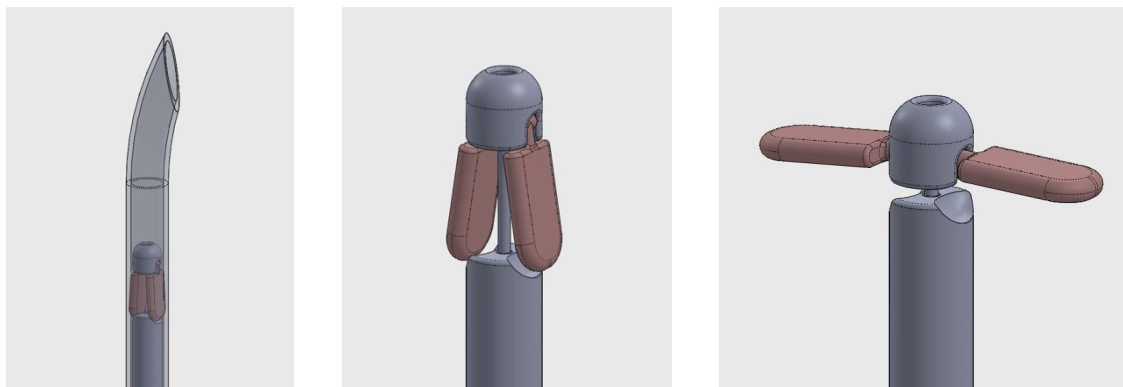


Figura 12. Modelo 3D de solución conceptual 2, v2_1, de izquierda a derecha plegado dentro de la aguja Tuohy, en su salida de la misma y tras despliegue de sus alas

C. Solución conceptual 3, versión 3_1

Solución de implante compacto formado por una pieza plana unida a un hilo que, tras introducirse en la aguja de forma longitudinal, permitiría girarse 90° una vez el implante hubiera traspasado el extremo distal de la aguja que queda dentro del saco tecal. El giro se produciría al tirar del extremo proximal del hilo con la ayuda del instrumento introductor que haría de elemento de apoyo que induce al giro para evitar que la fuerza necesaria para bascular tuviera que ser ejercida por la propia pared meníngea.

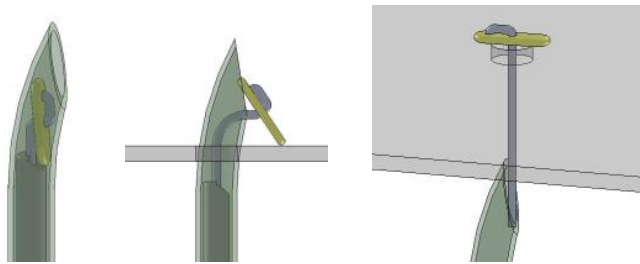


Figura 13. Modelo 3D de solución conceptual 3, v3_1, de izquierda a derecha plegado dentro de la aguja Tuohy, en su salida de la misma apoyando en la superficie de sellado y tras retirada de la aguja

Tabla 2. Análisis de ventajas e inconvenientes de las soluciones conceptuales 1, 2 y 3 propuestas

	Ventajas potenciales	Inconvenientes
Sol. conceptual 1, v. 1_1	Potente fijación trasera No dependencia del hilo de sutura para mantener su estabilidad en el sellado	Complicada apertura de alas, dependiente de las propiedades del material Requiere de gran elasticidad en el material para evitar un daño mayor alrededor de la brecha dural
Sol. conceptual 2, v. 2_1	No requiere material elástico para su confección, pues la apertura depende de la articulación de piezas Permite una apertura controlada de las alas	Entraña dificultades de fabricación importantes Complejidad de ensamblaje a escala real No es posible asegurar su fijación posterior
Sol. conceptual 3, v. 3_1	No requiere material elástico para su confección Simplicidad en el diseño Facilidad en su eventual fabricación	Método de fijación posterior por determinar

Dado que no se pretendía avanzar en paralelo con un número determinado de soluciones conceptuales para mejorarlas, sino que la intención era descartar aquellas que no ofreciesen seguridad suficiente sobre su comportamiento y centrar los esfuerzos en refinar las propuestas más adaptadas a la necesidad, el grupo clínico abogó por rechazar la solución conceptual v. 2_1. El principal motivo fue que, además de una posible dificultad en su fabricación y ensamblaje, el comportamiento de una pareja de pequeñas piezas articuladas una vez liberadas en el espacio intratecal podía suponer un riesgo de rotura/luxación, migración y eventual daño neurológico.

4.2.3.3. Tercera reunión conjunta

A. Solución conceptual 1, versión 1_2

Dado que las pruebas con prototipos fabricados en sinterizado de poliamida de la solución v. 1_1 plantearon serias dudas en cuanto a que pudiera funcionar sin romperse por el hecho de que las alas tenían que doblarse mucho, se probó a modificar el diseño.

Una posible vía de rediseño pasaba por una opción de dos pares de alas independientes que se montarían y desplegarían en pasos sucesivos unas dentro y otras por fuera de la duramadre. Estudiada la opción en detalle se concluye que una solución con unas alas delanteras que se abran tras pasar la duramadre puede ser viable, pero cómo premontar el segundo par de alas en el mismo instrumental y cómo controlar cuándo se deben desplegar las segundas alas o alas traseras añade complejidad al parche y promueve la aparición de soluciones de cierta dificultad técnica que ponen en riesgo la fiabilidad del sistema, aparte de complicar también el proceso de fabricación.

En consecuencia, se desestimó dicha alternativa y se reenfocó la idea inicial cambiando la forma de plegado de las alas para facilitar el flujo del material y evitar deformaciones altas que comprometieran su integridad y se rompiesen.

El resultado fue un implante en forma de X con unas alas delanteras pequeñas que doblasen hacia arriba y otras traseras más grandes que doblasen hacia abajo, de tal modo que no se solapasen las alas al plegarse, cosa que condicionaba el diseño anterior.

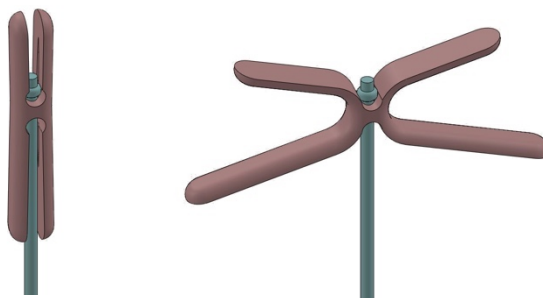


Figura 14. Modelo 3D de solución conceptual 1, v1_2, con alas plegadas y desplegadas

Los prototipos escalados fabricados en sinterizado de poliamida, material que no es excesivamente elástico, funcionaron parcialmente. Aunque se deformaron un poco y no recuperaban su forma inicial, no se rompieron en primera instancia como las pruebas anteriores. En ese caso, si la solución v. 1_2 prosperase, se concluyó que habría que ajustar el diseño y hacer prototipos con materiales elásticos para validar si funcionaba o realizar cálculos de tensiones/deformaciones para evaluar si la solución pudiera ser viable.

La pauta de introducción y apertura del dispositivo seguiría los siguientes pasos:

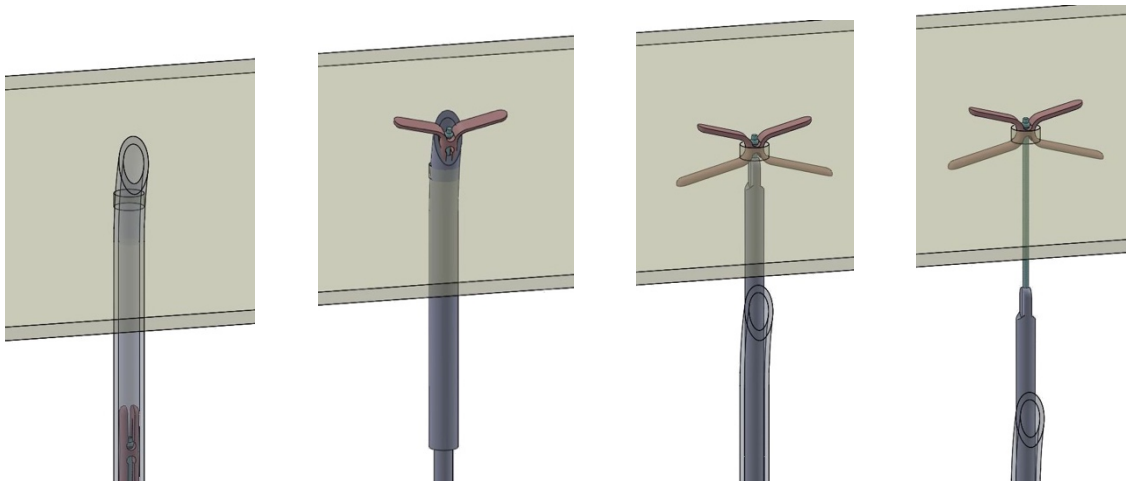


Figura 15. Secuencia en modelo 3D de solución conceptual 1, v1_2, con paso desde el interior de la aguja hasta despliegue completo tras superar la superficie de apoyo y retirar aguja

B. Solución conceptual 2, versión 2_2

Como se ha detallado anteriormente, no se procedió a su prototipado por quedar descartada esta línea de trabajo.

C. Solución conceptual 3, versión 3_2

La evolución de esta solución pasó por buscar la forma de que el implante no tuviera que apoyar sobre la duramadre para girar. Esto se podía conseguir tirando del hilo mientras el implante se apoyaba sobre el instrumento introductor (todavía por diseñar).

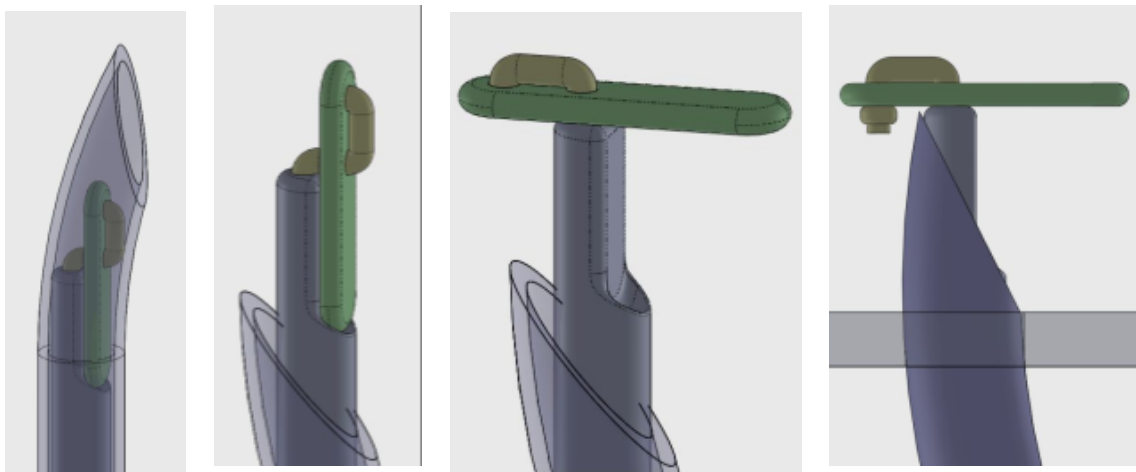


Figura 16. Secuencia en modelo 3D de solución conceptual 3, v3_2, con paso desde el interior de la aguja hasta despliegue completo tras superar la superficie de apoyo

Según la propuesta v. 3_2, una vez girado o desplegado el implante en el saco dural se debería retirar el bloque formado por introductor + parche hasta que este último reposase sobre la cara interna del complejo duramadre-aracnoides, y se retirarían la aguja y el instrumento introductor. Se anticipó un inconveniente durante la fase de exposición de la solución, puesto que si la forma de fijar el potencial hilo de retención (sutura) al implante fuese en forma de nudo, el enhebrado de este requeriría de una o dos perforaciones en el parche, que a su vez podrían dar pie a microperforaciones que comprometiesen el rendimiento del sellado por permitir pequeñas fugas de LCR a su través. Asimismo, el hecho de condicionar que el nudo de la sutura quedase en la cara del parche que se destinara a coaptar con el complejo meníngeo podría suponer un riesgo de lesión sobre este.

Una alternativa sería usar un implante que llevara un agujero más y que el nudo quedara así por arriba, abocado al saco dural. Un implante más largo, de unos 4 mm, podría cumplir esta premisa, si bien a la hora de bascular el implante más largo necesitaría más espacio para girar y podría aumentar el riesgo de roce sobre la médula espinal. Partiendo de una posición en que la aguja estaría atravesando la membrana hasta la base de la punta, necesitaríamos de unos 4-5 mm dependiendo de cuán profunda hubiera sido la penetración de la aguja dentro del saco tecal.

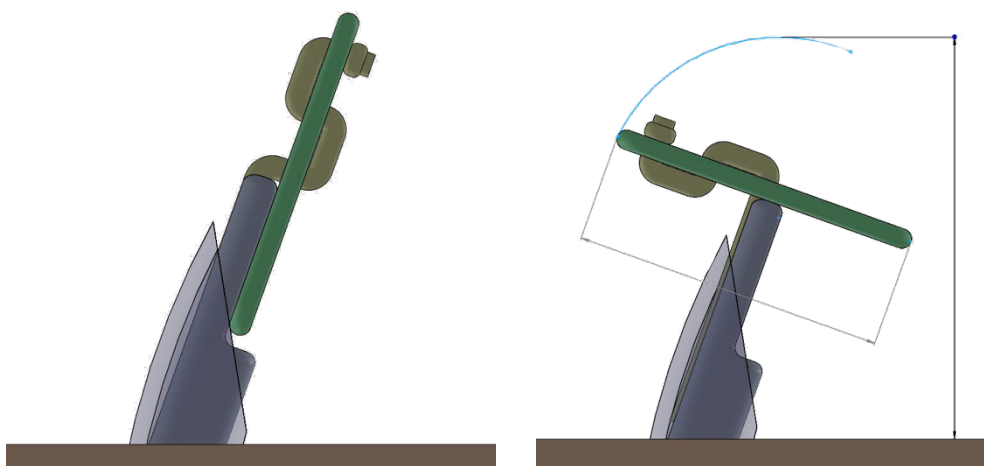


Figura 17. Modelo 3D de solución conceptual 3, v3_2, secuencia de despliegue y giro

4.2.4. Conclusiones

4.2.4.1. Análisis de las versiones de la solución conceptual 1

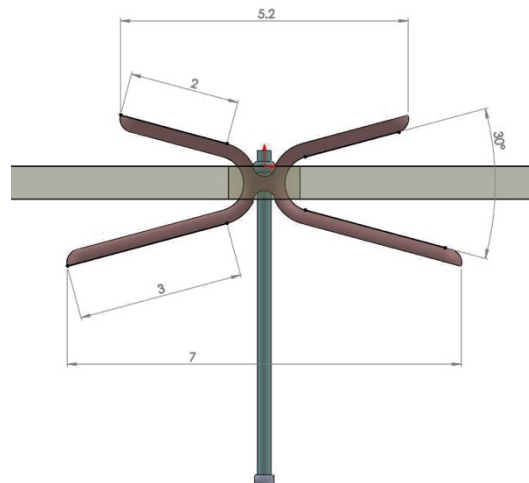


Figura 18. Modelo 3D y medidas en mm de solución conceptual 1, v1_2

Una primera tentativa de tamaño del implante se muestra en la Figura 18 en la que se enseña el espacio intratecal necesario para que el implante entre y pueda desplegarse en el interior.

La solución requeriría de un ángulo mínimo entre alas para evitar una deformación excesiva de las mismas al plegarse en el interior de la cánula de la aguja. Se estimó un ángulo inicial de 30°, pues ángulos menores implicarían un grado excesivo de deformación y riesgo de rotura del material, mientras que ángulos mayores serían más invasivos y podrían inducir a un riesgo de salida del implante de su posición en la duramadre si se tirase ligeramente del hilo, dado el carácter elástico del material previsto a usar en esta solución.

La clave para el funcionamiento de esta solución, según el grupo clínico y el equipo del IBV, radicaría en las propiedades mecánicas del material a utilizar. Tras consultar con posibles fabricantes se sugirió la utilización del polímero biorreabsorbible policaprolactona (PCL) que posee un comportamiento más elástico que el ácido poliláctico (PLA), que sería la otra alternativa viable según las capacidades de dicho proveedor; todo esto debería ser estudiado en posteriores fases.

Otro tema a definir si se siguiera adelante con esta solución sería la fijación del hilo al implante. El uso de cianocrilato para fijar el hilo al implante como primera alternativa no está del todo claro dado que faltaría por validar su uso dentro de la duramadre y el hecho de garantizar un buen pegado, tanto por el par de materiales a utilizar como por la poca

superficie de pegado entre componentes que no garantizaría una fijación muy segura. La idea de utilizar un nudo sencillo que no le dé demasiado volumen podría ser suficiente. Se ha probado con un hilo de sutura reabsorbible de calibre 4/0 y no parece que se pueda deshacer fácilmente.

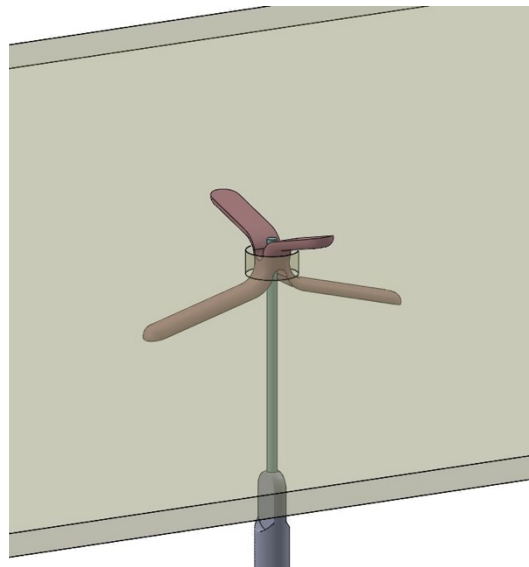


Figura 19. Modelo 3D de solución conceptual 1, v1_2 insertado en una simulación de membrana (duramadre-aracnoides)

Una variante del diseño con las alas giradas 90° se desarrolló pensando en una mejor fijación del implante sobre la membrana para agujeros de la punción que no sean del todo cilíndricos, sino más bien alargados. Esta solución tendría los mismos inconvenientes de deformación y de requerimientos sobre el material a utilizar que la descrita anteriormente.

4.2.4.2. Análisis de las versiones de la solución conceptual 2

Como se ha detallado anteriormente, no se procedió a su prototipado por quedar descartada esta línea de trabajo.

4.2.4.3. Análisis de las versiones de la solución conceptual 3

Como se expuso al finalizar la segunda reunión presencial, la línea de trabajo centrada en el desarrollo de las iteraciones de la solución conceptual 3 permitía imaginar una solución en la que la elección del material podía basarse, más que en sus propiedades elásticas, en su perfil de biodegradación, compatibilidad histológica y seguridad. El diseño de la solución conceptual 3, tanto en la versión 3_1 como en la 3_2, prometía una confección más sencilla que la de las soluciones competidoras, puesto que su mecanismo se basaba en el despliegue de un único elemento conceptual una vez alcanzado el saco tecal.

El inconveniente principal de la solución 3, aún perfeccionada en su versión 3_2, era el de una incógnita en su modo de fijación posterior, esto es, en la forma de asegurar su permanencia en el sitio de actuación una vez implantado el parche. Para ello, el grupo clínico sugirió el empleo de materiales biosintéticos de uso común en medicina como los cianocrilatos, si bien era una opción no preferida ante la solución ideal: idear un modo de fijación mecánica sencillo y reabsorbible en una nueva iteración de diseño.

4.2.4.4. Análisis global de las soluciones conceptuales

Tras el análisis conjunto por parte del equipo de trabajo del IBV, el grupo clínico y el personal de Fisabio implicados, se decidió descartar como opción de diseño la solución conceptual 2, como se ha expuesto anteriormente, por los riesgos que esta conllevaba.

Con respecto a la solución 1, si bien prometía una forma de implantación sencilla y con potencial para permanecer en el sitio de acción gracias al diseño de sus patas traseras, tanto el grupo clínico como el equipo del IBV convinieron que una nueva fase de trabajo era necesaria antes de perseguir subsiguientes versiones, puesto que el principal reto era el de encontrar un material que soportase con garantías las exigencias de esta versión.

Asimismo, se decidió seguir adelante con la solución v. 3_2 y abordar la fase de diseño de detalle de la misma haciendo especial hincapié en la necesaria búsqueda de materiales de uso médico avalados para ser implantados *in vivo* que resolviesen los retos de fijación y control del posicionado del implante.

Por ese motivo, el siguiente paso de la investigación pretendió, como se expondrá a continuación, ahondar en el estudio de un potencial material que facilitase el desarrollo de la solución 1 o, en su defecto, la búsqueda de materiales específicos para seguir adelante con la solución 3.

Era una necesidad detectada la de ahondar en el estudio de las opciones disponibles en materia de polímeros para fabricación del parche, sutura reabsorbible y pegamento sintético biocompatible.

4.3. Fase 3. Simulación y estudio de materiales

Tras la finalización de la fase anterior, en la que se desarrollaron dos soluciones conceptuales validadas a nivel teórico tanto por el grupo clínico como por el equipo del IBV, se impuso la tarea de sentar la base deseable sobre la que trabajar a efectos de confección material de los futuros kits de sellado.

4.3.1. Objetivo específico

En primer lugar, se convino en definir qué material debería constituir cada una de las dos soluciones propuestas (v. 1_2 y v. 3_2) para poder cumplir con su función prevista de sellado de la brecha dural, en base al modo de funcionamiento previsto de cada solución.

Por otro lado, se fijó como objetivo encontrar un número no inferior a dos opciones de hilo de sutura comercial que cumpliesen los requisitos técnicos que el procedimiento de aplicación y mantenimiento del parche en su lugar de acción requerían, teniendo en cuenta las tasas de degradación deseables en cada uno de los componentes del sistema de sellado.

Por último, se propuso realizar una búsqueda y testado *in vitro* de potenciales materiales sellantes aptos para aplicación en tejido perineural humano y que cumpliesen con los requerimientos descritos para la fijación de la solución v. 3_2.

4.3.2. Material y método

El investigador principal trabajó en este caso en estrecha relación con el Instituto de Biomecánica de Valencia, cuya participación implicó el trabajo de los dos ingenieros dedicados al modelado de soluciones en la pasada fase y la suma de un tercer especialista en biomateriales. La periodicidad de las reuniones, en su mayoría presenciales y puntualmente conducidas a través de la aplicación Teams (Microsoft Corporation), fue de dos semanas.

En la primera fase del trabajo, se resumieron en una primera reunión los requerimientos técnicos y fisicoquímicos de los materiales destinados a integrar el parche de sellado. Las soluciones conceptuales seleccionadas anteriormente fueron fabricadas en sinterizado de poliamida mediante técnicas de prototipado rápido disponibles en el IBV para disponer de una primera aproximación a la forma y funcionamiento de los distintos componentes planteados en las soluciones y valorar su viabilidad. Dadas las reducidas dimensiones de los modelos a estudio y las capacidades técnicas de los medios disponibles, los prototipos fueron fabricados a escala 3:1 y 5:1.

Tras ello, se realizó una búsqueda de potenciales fabricantes familiarizados con el sistema de producción y esterilización del material que compondría el parche. Se priorizó la

búsqueda de fabricantes nacionales (España) que contasen con al menos cinco años de experiencia en el sector y que combinarasen conocimiento sobre la síntesis de copolímeros y sobre el tratamiento del material de cara a su procesado para la eventual fabricación de kits de sellado dural. La base de datos utilizada fue propia del IBV.

En tercer lugar, el equipo de ingenieros realizó consultas específicas al fabricante elegido para resolver las dudas ya expuestas y orientar la elección del posible material de confección, atendiendo a tiempos de degradación y propiedades elásticas, así como a la facilidad de procesado. Tras ello, se realizaron simulaciones de comportamiento y rendimiento físico en los casos en los que se albergaban dudas sobre posibles puntos de fallo físico del implante.

Por otra parte, y en paralelo a la actividad anterior, se definieron las características de la sutura ideal que potencialmente se dedicase a facilitar la transferencia del parche y su permanencia en el sitio de acción biológica una vez implantado, teniendo en cuenta su deseable tasa de degradación.

En base a la tarea anterior, se realizó una búsqueda en bases de datos de fabricantes autorizados de sutura (sin discriminación por país) para obtener catálogos de productos con marcado CE aprobados para su uso en humanos. Se cribaron las soluciones que cumplieran las características definidas.

Por último, se definieron conjuntamente (investigador principal + equipo de ingeniería) las atribuciones de un posible sellante sintético destinado a facilitar la adhesión del parche a su zona de acción. Para ello, se realizó una búsqueda bibliográfica sobre los grandes grupos de sellantes biológicos y sintéticos disponibles en el mercado, para así resaltar sus características y las propiedades que podrían decantar al equipo por emplearlos como potencial solución fijadora o descartarlos. En base a esto se cribaron soluciones comercialmente disponibles que cumplieran los criterios de inclusión (esto es: disponible en *stock*, con marcado CE, testada en humanos sobre tejido neural y que permitiese ser inyectada a través de una aguja de 18 Gauge). Tras ello y para finalizar esta fase de trabajo, se realizó un test de los sellantes identificados *in vitro* para obtener conclusiones sobre la conveniencia o no de seguir trabajando en una línea que exigiese la presencia de sellantes como complemento al cierre mecánico de la perforación.

4.3.3. Resultados

4.3.3.1. Material ideal de composición del cuerpo del parche (soluciones v. 1_2 y v. 3_2)

Se estableció que, en base al trabajo y conclusiones de las fases previas, los requerimientos ideales del material destinado a conformar el cuerpo del parche de sellado habían de ser:

A. Biocompatibilidad

La primera capa de intereses de este proyecto, según lo expresado por el investigador principal y posteriormente por el grupo clínico, es la de preservar la seguridad de potenciales pacientes, y eso pasa por confeccionar un eventual kit de sellado de brechas durales cuyos componentes estén fabricados en materiales con perfil de seguridad largamente testado. La biocompatibilidad de los polímeros utilizados en dispositivos médicos se refiere a la capacidad de estos materiales para interactuar de manera favorable con los sistemas biológicos sin provocar respuestas adversas, tóxicas o inmunológicas significativas. Esta propiedad se basa en la capacidad del polímero para mantener una interacción equilibrada y no perjudicial con los tejidos, células y fluidos corporales con los que entra en contacto.

La evaluación científica de la biocompatibilidad implica considerar varios aspectos:

1. **Respuestas inmunológicas:** los polímeros biocompatibles deben minimizar la activación del sistema inmunológico, evitando reacciones inflamatorias excesivas o respuestas inmunitarias agudas o crónicas.
2. **Degradación y metabolismo:** la degradación de los polímeros debe ser controlada y no generar productos tóxicos o perjudiciales para el cuerpo. Los productos de degradación deben ser eliminados de manera segura a través de los procesos metabólicos naturales.
3. **Adherencia celular e interacciones:** los polímeros deben permitir una interacción adecuada con las células y tejidos, promoviendo la adhesión celular cuando es necesario y evitando la acumulación excesiva de proteínas o células que puedan conducir a reacciones adversas.
4. **Coeficiente de fricción y superficie:** las propiedades de la superficie del polímero, como su textura y capacidad de repeler o adherir fluidos y células, deben ser diseñadas para evitar roces excesivos o adherencias indeseadas en los tejidos.
5. **Biodegradabilidad y excreción:** si el polímero es biodegradable, su tasa de degradación debe ser compatible con los procesos metabólicos del organismo y su eliminación segura. Los productos de degradación deben ser eliminados sin causar toxicidad.

6. **Compatibilidad química:** los materiales poliméricos deben ser compatibles con los fluidos y sustancias biológicas con las que entran en contacto, evitando reacciones químicas no deseadas.
7. **Estabilidad a largo plazo:** los polímeros deben mantener sus propiedades físicas y químicas a lo largo del tiempo en el entorno biológico, evitando la liberación de componentes que puedan ser perjudiciales.

B. Cinética de degradación

El polímero ideal ha de tener un perfil de degradación seguro leído en clave del interés del proyecto; esto es, su tasa de degradación ha de permitir que el implante o parche dural quede intacto al menos durante las primeras dos semanas posimplantación.

C. Flexibilidad adaptada

Como se ha explicado en apartados previos, es relevante disponer de un material con una flexibilidad determinada que no comprometa la función del implante ni su despliegue en el caso de optar por la solución v. 1_2, ya que el implante en forma de X se almacenaría plegado en el interior de un elemento de transferencia hacia una aguja Tuohy para, una vez desplegado en el saco tecal, recobrar su posición natural en el máximo grado posible, puesto que esta es la que permitiría su acción taponadora. En cambio, el supuesto camino hacia la adopción de la solución v. 3_2 como opción más viable (implante «plano») permitiría un grado menor de exigencia en lo tocante a flexibilidad del implante, puesto que la acción de taponado en este caso no dependería de cambios de conformación del implante, sino de su pivotación y retirada hacia la coaptación de la brecha desde la parte interna del complejo dural-aracnoideo.

D. Capacidad de manufactura y procesado

Se persiguió disponer de un material cuya forma de procesado de cara a la confección y ensamblaje de pequeñas piezas (que rondarían el orden de 1 a 5 mm de longitud) no supusiera un problema.

E. Capacidad de obtención y precio

El material elegido, destinado a conformar el cuerpo del parche sintético de sellado dural, deberá ser accesible en el mercado y no raro. Además, se rehuirían elecciones que condicionasen un elevado coste de fabricación unitario.

4.3.3.2. Proveedores

Con estas especificaciones, el equipo del IBV realizó una búsqueda de proveedores potenciales con capacidad de respuesta ante consultas técnicas, siguiendo los criterios expuestos en el apartado 3.3. Se buscaron empresas con capacidad de fabricar prototipos del dispositivo a estudio en el presente proyecto dados los condicionantes de tener que estar fabricados en materiales biocompatibles y reabsorbibles y en el tamaño previsto con elementos de tamaño menor que 1 mm. Esta búsqueda arrojó una lista de tres principales candidatos:

- **BioInicia.** Empresa de base tecnológica que desarrolla su actividad en torno a una tecnología propia que se basa en técnicas de atomización electrohidrodinámicas y aerodinámicas para la producción de micro y nanopartículas.
- **Cikautxo.** Empresa especialista en el desarrollo y producción de componentes en caucho y plástico para diversas aplicaciones, entre las que destacan la fabricación de dispositivos médicos en materiales termoplásticos y de silicona.
- **Tekniker.** Centro tecnológico especializado en mecatrónica, tecnologías de fabricación y microtecnologías con capacidad para fabricar los componentes del implante e instrumental en los materiales y tamaño previstos en el desarrollo del proyecto.

4.3.3.3. Consultas técnicas y resultado de simulaciones

Tras los contactos realizados se llevaron a cabo dos reuniones y consultas con cada proveedor, una para ofrecerles un mapa global del proyecto y consultarles sobre la posibilidad de aportar su capacidad técnica y su *know-how* al proyecto, y la siguiente para debatir los términos de una posible colaboración. Tras recabar la información cruzada con todos ellos, se optó por trabajar más en detalle con Tekniker para el desarrollo de las soluciones conceptuales dado que los materiales y procesos de fabricación de que disponían se adaptaban mejor a las necesidades del proyecto. El proceso de fabricación implicaría la fabricación de micromoldes con la geometría del implante y la inyección del material biocompatible y biorreabsorbible pertinente según el tipo de solución acordada para la obtención del implante.

4.3.3.4. Propuestas de materiales del parche de sellado

Tras las mencionadas consultas con el fabricante, se propuso trabajar con dos copolímeros ampliamente disponibles en el mercado y que cumplían las especificaciones dadas en el apartado 3.4.1.1. Estos fueron el ácido poliláctico (PLA) y la policaprolactona (PCL).

	Resistencia a la flexión	Módulo de Young
Ácido poliláctico (PLA)	80 MPa	3,5 GPa
Policaprolactona (PCL)	15,85-31,24 MPa	336-579 MPa

A. Ácido poliláctico (PLA)

El ácido poliláctico es el polímero biodegradable más comúnmente utilizado en aplicaciones clínicas en la actualidad. Los ejemplos de su uso abarcan desde sistemas de administración de fármacos, ingeniería de tejidos, dispositivos implantables temporales y a largo plazo; y se expanden constantemente hacia nuevos campos. Esto se debe en gran medida a la favorable biocompatibilidad del polímero y a sus productos de degradación con un perfil seguro. Una vez en contacto con medios biológicos, el polímero comienza a descomponerse, generalmente por hidrólisis, en ácido láctico (LA) o en dióxido de carbono y agua. Estos productos se metabolizan intracelularmente o se excretan en la orina y el aliento. La infección bacteriana y la inflamación por cuerpo extraño mejoran la descomposición del PLA, a través de la secreción de enzimas que degradan la matriz polimérica.

La biodegradación ocurre tanto en la superficie del dispositivo polimérico como en el interior del cuerpo del polímero, mediante la difusión de agua entre las cadenas del polímero.

La semivida mediana del polímero es de 30 semanas; sin embargo, esto puede alargarse o acortarse para satisfacer las necesidades clínicas. Las cinéticas de degradación pueden ajustarse determinando la composición molecular y la arquitectura física del dispositivo. El uso de la quiralidad L- o D- del LA retardará o alargará considerablemente las tasas de degradación, respectivamente.

A pesar de que este polímero tiene más de 150 años de antigüedad, el PLA sigue siendo una plataforma fértil para la innovación biomédica y la comprensión fundamental de cómo los polímeros artificiales pueden coexistir de manera segura con los sistemas biológicos.

B. Policaprolactona (PCL)

Durante el auge de los polímeros reabsorbibles en las décadas de 1970 y 1980, el poliéster policaprolactona (PCL) fue ampliamente utilizado en el campo de los biomateriales y en diversos dispositivos de administración de fármacos. Sin embargo, su popularidad pronto fue superada por polímeros reabsorbibles más rápidos que presentaban menos desventajas percibidas en términos de degradación a largo plazo (hasta 3-4 años) y vías de reabsorción intracelular. Como resultado, durante casi dos décadas, el PCL quedó en gran medida en el olvido.

Recientemente, un resurgimiento del interés ha vuelto a poner al PCL en el centro de atención en el campo de los biomateriales. Sus propiedades reológicas y viscoelásticas

superiores en comparación con muchos de sus contrapartes de poliéster alifático hacen que el PCL sea fácil de fabricar y manipular en una amplia gama de implantes y dispositivos. Junto con rutas de producción relativamente económicas y la aprobación de la FDA, esto proporciona una plataforma prometedora para el diseño y la fabricación de implantes degradables a largo plazo que pueden ser manipulados física, química y biológicamente para poseer cinéticas de degradación adaptables a sitios anatómicos específicos.

El poliéster biodegradable policaprolactona (PCL) se presenta como un candidato promotor para la producción de implantes. Durante su descomposición, genera metabolitos ligeramente ácidos. Este material brinda la posibilidad de que el organismo reemplace la estructura con tejido funcional sin dejar residuos a largo plazo. En comparación con otros polímeros como el ácido poliglicólico (PGA), el ácido poli-L-láctico (PLLA) o sus copolímeros (PLGA), el PCL es capaz de absorber mayores fuerzas y muestra una mayor rigidez. La elasticidad del PCL está mayormente influenciada por su peso molecular. El PCL ya se emplea en aplicaciones como material de sutura y como vehículo para sistemas de administración de medicamentos.

Entre varios polímeros biodegradables, el PCL es un poliéster alifático lineal hidrofóbico y semicristalino con un bajo punto de fusión (aproximadamente 60 °C) y una temperatura de transición vítrea (aproximadamente -60 °C), lo que permite un procesamiento sencillo. Se ha publicado que el PCL se descompone mediante depolimerasas extracelulares o en diversos entornos naturales. Por lo tanto, el PCL ha captado la atención como material de implantación biodegradable que puede reemplazar a los materiales no biodegradables.

C. Testado teórico de la solución v. 1_2

En primer lugar, se optó por descartar o validar la opción v. 1_2 como factible. Por ello se realizó un estudio por medio de elementos finitos con el diseño del implante y las propiedades del material PCL aplicando una carga, en principio solo a las alas delanteras, hasta el punto en que se deformen lo suficiente para plegarse dentro de la aguja.

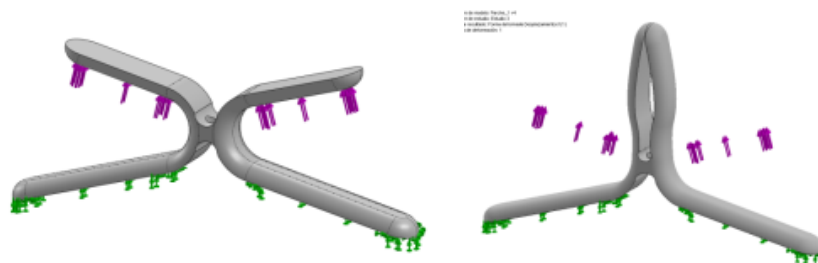


Figura 20. Modelo de vectores de fuerza de la solución conceptual v1_2

Los resultados del análisis mecánico revelaron valores de deformación en torno al 20 % que implicarían tensiones en torno a 70-80 MPa, muy superiores a la tensión de fallo del modo de flexión, si el comportamiento del material fuera completamente lineal, cosa que no ocurría desde el momento en que el material supera su límite elástico situado entre 15-30 MPa.

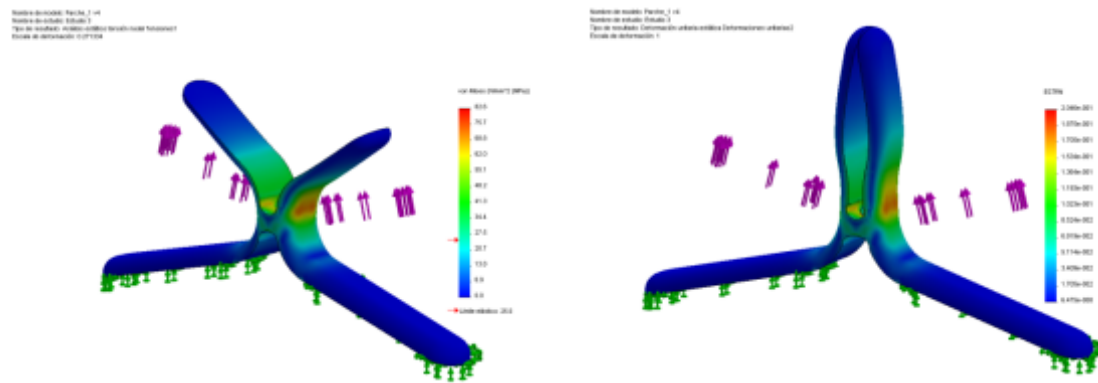


Figura 21. Simulación del comportamiento bajo condiciones de estrés mecánico de la solución conceptual v1_2

Ahora bien, según la literatura, el PCL puede soportar deformaciones superiores al 700 % antes de llegar a la rotura, cosa que inducía a pensar que la solución pudiera ser válida, pero la clave en nuestro caso radicaba en que se requería que el material tras deformarse al entrar en la luz de la aguja Tuohy recuperase su forma inicial al salir por el otro extremo para mantenerse anclado a la membrana. Del estudio de la curva tensión-deformación de un PCL puro e inyectado, similar al que estaba previsto utilizar, se concluyó que, si bien el material podría no romperse, este no recuperaría su forma inicial por completo y quedaría con una deformación permanente quedándose, por tanto, ligeramente abierto y no cumpliendo su función.

Todo esto nos llevó a concluir que el riesgo de que esta solución no funcionase era alto salvo que se cambiase el material o su forma de fabricación a fin de obtener unas propiedades mecánicas del material diferentes.

Así pues, quedó descartada la solución v. 1_2, puesto que no cumpliría la función para la que se diseñó, y se trabajó en adelante con la solución v. 3_2, que podría ser fabricada en PLA sin aparentes ni previsibles problemas que afectasen a su rendimiento físico.

4.3.3.5. Suturas

De la misma manera que con el cuerpo del implante, se realizó un *briefing* para acordar qué características habían de ser perseguidas en una potencial sutura de sujeción posterior del implante, parte relevante del futuro kit de sellado dadas las características mecánicas del parche diseñado.

Tras ello y a fin de elegir el que mejores prestaciones presentara para la realización de los ensayos globales, el equipo del IBV realizó una búsqueda entre los proveedores de suturas aprobadas para uso humano sin restricción por países ni precio. Se encontraron cuatro hilos de sutura reabsorbibles comercializados todos ellos por la compañía B. Braun que cumplían las características deseadas en cuanto a calibre y materiales, que se resumen en la tabla siguiente.

Tabla 3. Comparativa entre diferentes suturas comercializadas con características aceptables para su potencial uso en nuestro contexto

Nombre	Tipo de confección	Material	Degradación	Calibre
Safil Quick	Multifilar trenzada e impregnada	Ácido poliglicólico	42 días	4/0 y 3/0
Novosyn	Multifilar trenzada e impregnada	90/10 Poli (glicólico-co-L-láctico)	56 a 70 días	4/0
Monosyn	Monofilar	Gliconato copolímero	60 a 90 días	3/0
Monoplus	Monofilar no recubierta	Poli-p-dioxanona	180 a 270 días	4/0

Tras una segunda revisión de las propiedades requeridas, se consensuó emplear suturas denominadas de «degradación a largo plazo» en previsión de la necesidad de mantener el implante sujeto a las inmediaciones del orificio más allá de 30 días (dado el perfil de degradación de los copolímeros empleados). Por ello, las subsiguientes pruebas se realizaron con Monoplus 4/0.

Se obtuvieron diversas muestras comerciales de las suturas cribadas para su test en seco en los departamentos de ingeniería del IBV, atendiendo a las propiedades que el futuro kit demandaba. En las pruebas, llevadas a cabo por el investigador principal y los tres ingenieros designados al proyecto, se valoraron aspectos relacionados con la usabilidad del hilo y con la adherencia entre el hilo y el material adhesivo seleccionado (ver más adelante) para usar en el sistema:

- **Facilidad de anudado.** Cualquiera de ellos presentó buenos resultados, facilitando la creación de un nudo simple en los primeros intentos en todos los casos.
- **Persistencia del nudo.** Una vez pasado por el implante y anudado se probó a tirar del hilo haciendo tope el implante en el extremo final del introductor. En ocasiones, independientemente del hilo probado, se comprobó la posibilidad de que el

nudo se soltara. Esto sucedió sobre todo con nudos flojos y/o con longitudes cortas de hilo sobrante tras el nudo. En el caso de estos prototipos se consiguió evitar dicho riesgo, primero, con nudos bien apretados y, luego, dejando tras el nudo una longitud de hilo sobrante equivalente a dos veces el diámetro del hilo.

- **Manejo del calibre.** Se seleccionó el calibre 4/0 como óptimo dado que el de calibre 3/0 presentaba dificultades para enhebrarse por el interior del catéter a la vez que obligaba a un ojal de mayor diámetro sobre el implante, cosa que debilitaría el implante constituyendo un riesgo de rotura del mismo.

4.3.3.6. Material adhesivo tisular

En previsión de una posible necesidad de aplicación de un sellante sintético a través de la aguja de punción Tuohy, se realizó según lo expuesto anteriormente un procedimiento de búsqueda y testado de sellantes biocompatibles.

Los requerimientos del material adhesivo tisular con finalidades sellantes acordados fueron:

- ser un material que se adhiriese al implante, la membrana y el hilo, o cuando menos tuviese capacidad de ejercer como tope trasero para impedir que el implante que estuviese fijado al hilo pudiera migrar hacia el interior del espacio subdural;
- ser biocompatible y biorreabsorbible;
- permitir la conservación fuera de frigorífico, de ser posible;
- que el material no estuviese contraindicado para el uso previsto por su emplazamiento o por entrar en contacto con los tejidos o fluidos adyacentes al punto de aplicación del adhesivo; y
- que dispusiese de un modo de aplicación adecuado para su uso a través de la cánula de la aguja epidural Tuohy de 18 Gauge y un tiempo de fraguado controlado que permitiese su uso sin solidificar antes de tiempo en el interior de la luz de la aguja.

Los adhesivos tisulares se definen como cualquier sustancia que polimeriza en contacto con una superficie tisular creando una reacción exotérmica. Entre sus funciones se encuentran:

- Hemostasia: permite la formación focal del coágulo y puede actuar paralelamente al sistema de coagulación del paciente aumentando la hemostasia local.
- Sellado de los tejidos: evitando la fuga de sustancias como aire, linfa, líquido cefalorraquídeo o sangre.

- Liberación local de sustancias exógenas: medicamentos, factores de crecimiento y líneas celulares.

Se distinguen dos tipos de adhesivos tisulares: adhesivos biológicos y el material adhesivo, a su vez divisible en cianocrilatos e hidrogeles sintéticos.

A. Adhesivos biológicos

Entre sus propiedades potencialmente interesantes para el caso que nos ocupa destacaron:

- fuerte adhesión de los tejidos en forma fisiológica,
- absorción rápida,
- fijación de suturas convencionales,
- hemostasia en pacientes de alto riesgo con problemas de coagulación, y
- aplicación a distintos tipos de cirugía: abdominal, oftálmica, cardiovascular, neurológica, ortopédica y traumatológica, plástica, torácica, urológica, maxilofacial.

Su lista de inconvenientes que podrían condicionar su uso en el proyecto contaba con:

- Toxicidad: al igual que con otros productos proteínicos, pueden producirse reacciones de hipersensibilidad de tipo alérgico. Las reacciones de hipersensibilidad pueden presentarse bajo los siguientes síntomas: picores, urticaria generalizada, presión en el pecho, respiración dificultosa, hipotensión y anafilaxia.
- Posible transmisión de enfermedades infecciosas.
- Complicaciones tromboembólicas.
- Degradación en contacto con soluciones que contengan alcohol, yodo o metales pesados.
- Necesidad de preparación antes de ser aplicados.

De entre este grupo de productos, el equipo investigador conocía y tenía acceso al Tissucol (fibrinógeno + factor XIII + aprotinina bovina trombina humana). Requiere de una preparación de dos componentes congelados que hay que atemperar a 37,5 °C y la aplicación pudiera no ser inmediata cuando se detecta la necesidad de uso, por lo que quedó descartado como sellante puesto que las condiciones de trabajo tras la detección de una perforación dural aguda exigen la disponibilidad inmediata del dispositivo y la aplicabilidad en el mismo instante. No se creyó conveniente seguir con una solución que exigía la no remoción de la aguja Tuohy en un área potencialmente susceptible a daño neurológico.

B. Cianocrilatos

Entre sus ventajas destacan:

- Alta resistencia mecánica (buena fortaleza de enlace entre los tejidos).
- Fácil y rápida manipulación, sin dolor. Polimerizan rápidamente (30 segundos) en presencia de sangre.
- Disminuyen el tiempo quirúrgico. No existe riesgo de lesión por pinchazo por el cirujano.
- Biocompatibles y biodegradables: no precisan ser retirados, se desprenden por sí solos de cinco a diez días posteriores a su aplicación.
- Radiolúcidos.
- Bacteriostáticos: forman una capa oclusiva impermeable que les confiere propiedades antimicrobianas contra organismos grampositivos.
- Más económicos que el tratamiento convencional con sutura, debido fundamentalmente al ahorro en anestesia y en el tiempo de tratamiento, además de no ser necesaria una segunda visita al médico para retirarlos.

Entre los inconvenientes teóricos del cianocrilato que podrían representar un riesgo para el kit de sellado dural destacamos:

- Toxicidad: necesidad de humedad para polimerizarse y disminuir la toxicidad. La polimerización es una reacción exotérmica que puede causar daño a los tejidos.
- Baja biodegradabilidad de los compuestos de cadenas alquílicas más largas; dificulta su utilización en las aplicaciones internas.
- Poca flexibilidad del polímero: no es conveniente para su aplicación en tejidos blandos.
- Insuficiente fortaleza adhesiva y compatibilidad ósea para las aplicaciones en tejidos duros.
- Baja viscosidad del monómero: puede producir corrimientos del producto durante su aplicación. No admiten correcciones, por lo que se precisa un cuidado extremo a la hora de realizar el afrontamiento de los tejidos para el sellado.
- Solo debe aplicarse a la superficie epidérmica sin introducirse entre los labios de la herida, puesto que dificultaría la cicatrización y favorecería la infección.

Dentro de este grupo, el investigador principal conocía y pudo disponer de Glubran (n-butil-2-cianocrilato). Según ficha técnica, el compuesto estaba contraindicado para uso en el sistema nervioso central o en contacto con el líquido cefalorraquídeo. Además, exigía una conservación permanente entre 0 °C y 4 °C.

El uso de cianocrilato conllevaba además la dificultad de tener que aplicarse por el mismo canal que se reservaba para que discurriese el hilo de sutura, con el inconveniente de que si solidificara en poco tiempo podría quedarse todo fusionado: implante, hilo y aguja; situación que no se podía permitir dadas sus implicaciones (dificultad de retirada del bloque formado, potencial lesión de estructuras aledañas). Valorada la alternativa de generar un kit de aplicación con dos agujeros paralelos, uno para el hilo y otro para inyectar el cianocrilato, se desestimó pues supondría un problema de fabricación dadas las reducidas dimensiones del tubo (\varnothing 0,85 mm) para cánulas de longitudes mayores a 80 mm. El hecho de tener que inyectar un adhesivo rápido por un diámetro tan fino podía, por último, suponer un riesgo de obstrucción si las condiciones de aplicación y parámetros como la viscosidad o el tiempo de curado del adhesivo no estuvieran controlados. Quedó pues descartado.

C. Hidrogeles sintéticos

Entre sus ventajas destaca su perfil de seguridad, ya que son completamente sintéticos y no contienen productos de origen humano ni animal. Tampoco contienen látex.

Entre los inconvenientes de cualquier hidrogel sintético encontramos:

- Necesidad de preparación.
- En algunos casos, reacciones adversas como: infección de la herida, afectación renal, reacción inflamatoria, reacción a cuerpos extraños, afectación neurológica, reacción alérgica y/o retraso en la cicatrización.

Se tenía acceso al hidrogel DuraSeal, una solución tipo hidrogel con dos soluciones acuosas, la primera de ellas conteniendo un polietilenglicol (PEG), con un colorante azul, y la segunda, aminos de bajo peso molecular hidrosolubles. Las dos soluciones se aplican simultáneamente y forman en segundos un hidrogel fuerte. Su conservación está prescrita a 25 °C.

Se seleccionó el sellador quirúrgico sintético absorbible DuraSeal como mejor alternativa.

El sistema consta de varios componentes para la preparación y administración del sellador quirúrgico compuesto de dos soluciones: una solución de éster de PEG y una solución de trilisina. La mezcla de los dos componentes a medida que salen por la punta del

aplicador hace que se forme el sellador quirúrgico. La conexión lateral del dispositivo de transferencia está adaptada para que se acople dicho aplicador directamente.



Figura 22. Presentación comercial del sellante DuraSeal

El sellador quirúrgico DuraSeal es biocompatible y biorreabsorbible y según su fabricante se absorbe a tiempo para permitir la cicatrización normal de la herida. El sistema de sellado DuraSeal es completamente sintético y no contiene productos de origen humano ni animal, y está indicado para su utilización como complemento en métodos normalizados de reparación de la duramadre, como en suturas, para lograr cierres herméticos.

D. Test del hidrogel sintético DuraSeal®

Una vez elegida la solución a testar, de las especificaciones requeridas para el material adhesivo quedaría por comprobar su adherencia al hilo que sujetaba el implante para que así cumpliese la función de tope físico que, sujetando el hilo en la región epidural de la punción, evitase que el implante situado intratecal pudiera migrar hacia el interior.

Para probar la adherencia del hilo al DuraSeal se colocaron distintas muestras de hilo a validar dispuestas en forma de cruz sobre un soporte de parafina. Posteriormente se depositó una gota del adhesivo sobre el punto de cruce de los hilos y pasados 30 segundos (las especificaciones técnicas referían que el material fraguaba en el lapso de pocos segundos) se intentó separar los hilos. El resultado de la prueba mostró que la adherencia del DuraSeal a los distintos tipos de hilo era pobre, insuficiente según el criterio del investigador principal, y después refrendado, repitiendo el experimento, por los dos anestesiólogos que integraron el grupo clínico en la fase 2 del presente trabajo de investigación. En el mejor de los casos en que la gota de gel se quedaba adherida al hilo, solamente con colocar el hilo de sutura en posición vertical la gota por efecto de su propio peso deslizaba sobre el hilo.

Esta adherencia se consideró por tanto insuficiente para el fin previsto de sujetar el hilo sobre la membrana dural-aracnoidea y evitar que el implante pudiera migrar hacia el interior, si bien era una de las hipótesis a probar en sucesivos pasos del estudio.

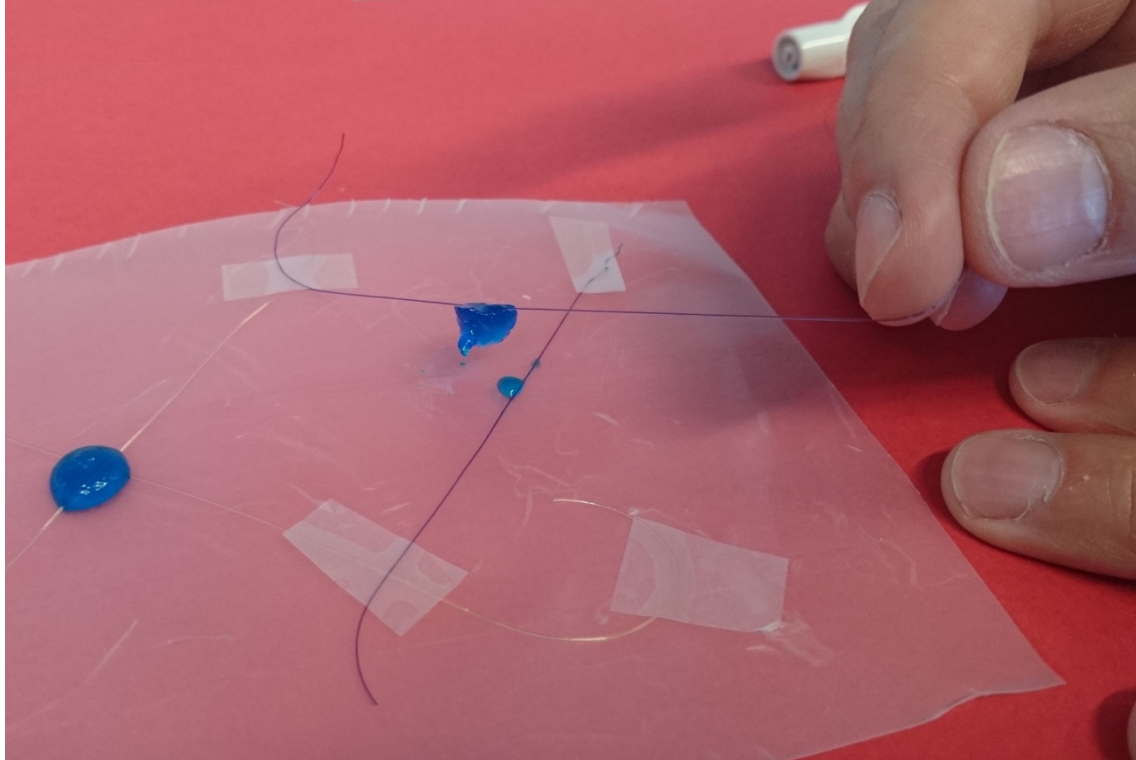


Figura 23. Detalle de pruebas en laboratorio para comprobar la adherencia de la sutura al sellante DuraSeal

4.3.4. Conclusiones

Tras el proceso de estudio de las propiedades idóneas del material destinado a constituir el kit de sellado dural (cuerpo del parche, hilo de sujeción y potencial adhesivo) y la posterior búsqueda de soluciones disponibles, se pueden sacar varias conclusiones.

En primer lugar y en lo referente al cuerpo del parche dural, no es recomendable seguir con el desarrollo de subversiones de la propuesta v. 1 (siendo su última versión la v. 1_2). Esto es así por la necesidad de ser construida en un material elástico y resistente que vuelva a recobrar su estricta forma inicial a pesar de pasar mucho tiempo forzada dentro de una cánula de transferencia hasta ser eventualmente usada. Siendo la policaprolactona o PCL el material disponible y asequible que podría cumplir su función, las simulaciones de comportamiento físico empleando dicho material en el caso concreto del implante v. 1_2 arrojaron riesgo de rotura en algunos de sus puntos, además de no garantizar la vuelta a la configuración en «X» deseada una vez implantado. Esto podría comprometer su función.

De ello deriva la conveniencia de desarrollar la línea conceptual 3 (siendo su última versión la v. 3_2), una propuesta constructivamente más sencilla que traslada el peso de su responsabilidad a la hora de funcionar a la rotación y coaptación de un parche que, por otro lado, es sencillo en su configuración. El mecanismo de plegado en una eventual cánula de transferencia y en la aguja Tuohy durante su avance para ser implantado es ostensiblemente menos retador que en el caso de la versión 1_2 del parche. Esto puede facilitar su aplicabilidad y asegurar que el parche no se deforma durante su almacenaje o su aplicación. En cualquier caso, el reto remanente es el de diseñar una transición parche-sutura que permita no depender de un nudo, por un lado, y no interponer entre la aracnoides y la cara del parche destinado a apoyar en ella ningún elemento potencialmente dañino, por otro. Todo ello debería hacerse garantizando que la transición parche-sutura no esté en riesgo de rotura. Este reto se abordaría en la siguiente fase del trabajo de investigación.

En cuanto a las suturas destinadas a guiar y mantener el parche en el sitio de acción mecánica, se encontró una variedad no despreciable de opciones en el mercado, asequibles, biocompatibles y manejables. Se determinó que habría de trabajarse con suturas finas, de diámetro 4/0.

Por último y en base a los pobres resultados y riesgos inherentes del sellante elegido en los test, se descartó la opción de uso de un adhesivo tisular para confiarle la tarea de sostener el complejo hilo-parche en su sitio, conminando al equipo a buscar soluciones alternativas.

Con toda esta información, una de las posibles soluciones a testar, según se apuntó en la reunión de *briefing* o sumario de final de la presente fase del trabajo, fue la conveniencia o no de emplear una sutura barbada. Como se verá en siguientes apartados, la sutura barbada se caracteriza por la presencia de «barbas» o hendiduras que se encuentran dispuestas de forma homogénea a lo largo de toda la sutura, permitiendo una distribución más homogénea de la tensión, con menor resistencia a la tracción y menor riesgo de dehiscencias. Empleadas en procedimientos quirúrgicos principalmente en los campos de urología y cirugía plástica, podrían suponer una opción de interés para garantizar la fijación del complejo parche-sutura en el sitio deseado de acción sin tener que emplear un adhesivo.

4.4. Fase 4. Diseño y prototipado del kit completo

4.4.1. Objetivo específico

Tras la definición de las características del kit de sellado, persiguió el diseño de todos y cada uno de los elementos que lo componen con el nivel de detalle suficiente que permitiese la fabricación de prototipos funcionales para su posterior evaluación en la fase de ensayos *in vitro*.

Los elementos a fabricar o ensamblar y que constituirían los componentes del sistema eran:

- **Implante** o parche destinado al sellado total o parcial de la brecha dural.
- **Hilo** de guiado que permitiese la sujeción del implante y su control durante la transferencia y posterior colocación sobre la cara interior del complejo duramadre-aracnoides.
- **Soporte** de transferencia. Entendido este como una pieza que, tras conectarse sobre el extremo posterior de la aguja en el momento de necesidad de uso del sistema, permitiese la transferencia del implante a la aguja epidural de forma rápida y eficaz.
- Elemento **introduccionador**. Destinado a facilitar la inserción del parche a través de la aguja Tuohy y el posicionado del mismo una vez sobrepasado el extremo final de la aguja en el interior del saco tecal.

4.4.2. Material y método

4.4.2.1. Parche

Puesto que el diseño de forma estaba ya definido, se procedió al cálculo de longitud y anchura óptimas del parche de sellado dural. Esta atribución quedó definida como la superficie mínima que permitiese cumplir todas estas características:

- Alojar al menos una perforación circular por la que pasase un cabo de sutura de 0,25 mm.
- Tolerar sin flexarse o quebrarse la presión suave del parche contra una membrana flexible, siendo el parche atraído hacia el ejecutor de la presión mediante el uso de una sutura de diámetro 4/0 y con el origen de la fuerza de pinza a 100 mm de la membrana, ejerciendo la fuerza de tracción de forma perpendicular a la disposición longitudinal del implante.

El método de prueba para la simulación de la localización óptima del orificio fue el modelado en CAD y la obtención de diez propuestas diferentes, sinterizado en poliamida, anudado de sutura tipo Novosyn y posterior testado de la resistencia sobre guante de látex relleno de agua.

Tras definir la superficie y configuración del implante, se pasó a la fase de troquelado y fabricación de parches planos de las dimensiones requeridas. Por último, se realizaron pruebas con implantes multiperforados para la fijación del hilo de guiado que permitieran una mejor sujeción del implante.

4.4.2.2. Hilo

Quedó previamente definido por el grupo IP + IBV que la fijación del hilo al implante durante esta fase de desarrollo se realizaría con un nudo simple en el hilo tras haber sido enhebrado por el ojal del implante, para su posterior plegado en el soporte de transferencia y ensamblado en el kit.

Se realizó la confección de las diez primeras unidades de complejos hilo-parche mediante el paso de la sutura por el orificio de los implantes fabricados y posterior anudado manual.

Posteriormente se recortaría el sobrante de hilo en la cantidad suficiente para que el nudo no se soltase y no quedase hilo en exceso que pudiera ejercer un efecto indeseado en el interior del saco tecal.

4.4.2.3. Soporte de transferencia

El soporte de transferencia había sido conceptualizado previamente como el dispositivo sobre el que debería ir premontado el conjunto hilo-implante para que, dado el caso de que surgiese la necesidad de aplicar el sistema de sellado de perforaciones durales, se pudiera conectar de forma rápida y segura al extremo proximal de la aguja epidural y así permitir la transferencia del implante y el hilo a través de la aguja hacia el saco tecal.

Para obtener una primera versión que poder testar en sucesivas etapas del trabajo, en esta fase se diseñó esta metodología:

- Elección del grupo clínico a incluir como asesores.
- Celebración de una primera reunión *online* de 45 minutos (mediante el uso de la plataforma Microsoft Teams) entre el IP + grupo clínico + equipo de ingeniería del IBV para determinar las características imprescindibles a cumplir por un soporte de transferencia como el requerido.

- Elaboración de una propuesta de diseño por parte del IBV y presentación en una subsiguiente reunión *online* (misma plataforma y duración) para la validación por parte del grupo clínico.
- Impresión 3D de un total de cinco muestras de soporte de transferencia diseñadas.
- Uso *ex vivo* de las muestras por parte del IP + grupo clínico para validar la usabilidad del sistema.

4.4.2.4. Elemento introductor

Se requería un elemento que permitiese la transmisión de fuerza por parte del operario de la técnica de sellado dural (usuario del kit) para hacer avanzar el implante hasta el saco tecal. En esta subtarea, se empleó el mismo grupo clínico especificado en 4.2.3.

En una primera reunión telemática (misma reunión que la definida en 4.2.3.) se conminó al equipo de ingeniería a medir los volúmenes totales de luz que ocuparían los complejos plegados de implante-sutura-introductor en un soporte de transferencia sobre el que en el futuro habrían de ser premontados. Tras ello, se definieron las características ideales de un elemento introductor.

En una segunda reunión, el equipo de IBV presentó una solución para la validación por parte del grupo clínico.

4.4.3. Resultados

4.4.3.1. Parche

El implante final quedó definido con unas dimensiones de $3,5 \times 0,8$ mm, un orificio central de 0,3 mm y un espesor de 0,25 mm.

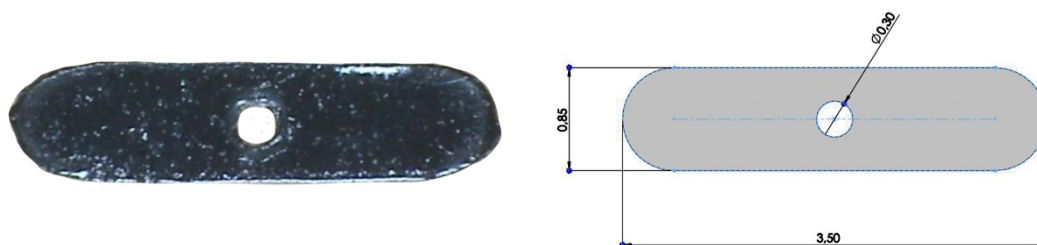


Figura 24. Prototipo del implante fabricado en PLA (izquierda) y dimensiones del mismo

El implante objetivo debería ser fabricado en material biocompatible y biorreabsorbible, que según lo analizado anteriormente en nuestro caso sería de ácido poliláctico (PLA).

Se contactó a una empresa capaz de fabricar un micromolde con la geometría del implante adecuada y de realizar la posterior inyección en el material seleccionado para la obtención de un implante totalmente funcional.

Tras analizar el presupuesto con el coste de los moldes de microinyección y el material asociado junto con los plazos de fabricación de los mismos, se decidió descartar la fabricación del implante en materiales finales dado el elevado coste económico y la dilatación en el tiempo que esto suponía, alejándonos así de los objetivos finales y del alcance del proyecto.

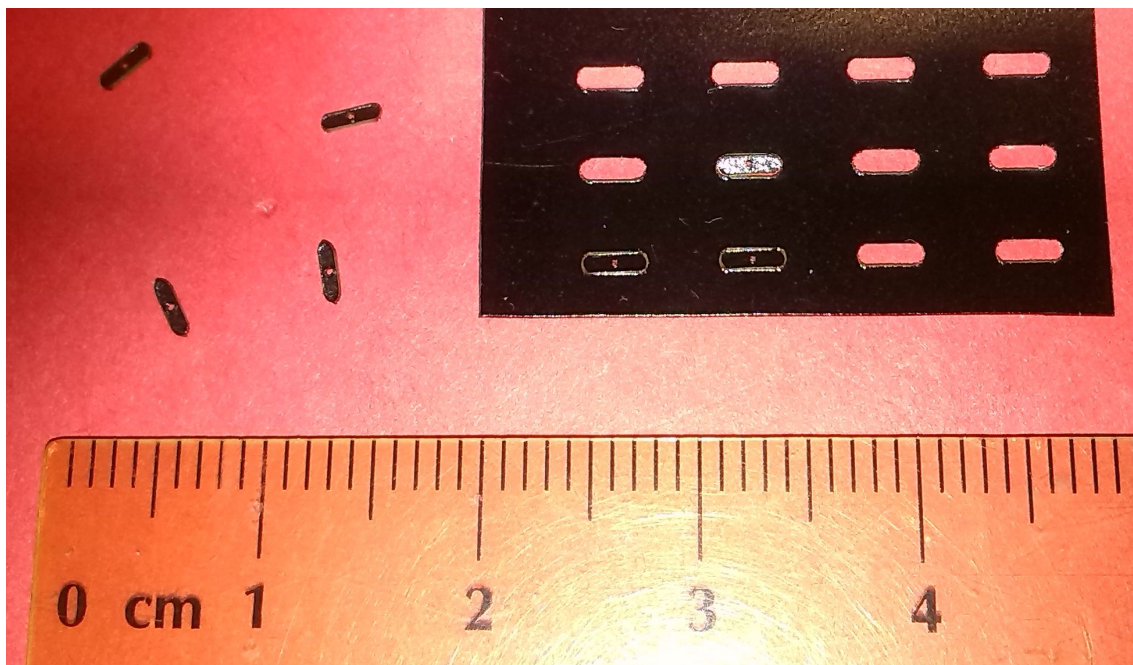


Figura 25. Trabajos de troquelado y confección de los prototipos de implante

Se optó por fabricar el implante a partir de una lámina de material plástico que tuviera un comportamiento elástico y funcional semejante al que podría tener el implante definitivo, con la salvedad de no ser un material biorreabsorbible, para probar su funcionalidad mecánica. Asimismo, se observó que la necesidad de usar un implante biocompatible, dado que los ensayos estaban planteados para realizarse sobre membranas sintéticas de características similares a la epidural, carecía de sentido.

Finalmente, el implante se fabricó con los medios disponibles en el IBV a partir de una lámina de polipropileno de espesor 0,27 mm recortada por medio de una máquina de corte láser para adaptarla a las dimensiones requeridas.

Se observó que realizar más de una perforación sobre el implante lo debilitaba a nivel estructural. A su vez, los bucles adicionales de hilo pasando por encima y/o debajo del implante dificultan su transferencia desde el dispositivo de soporte a la aguja y le restan espacio una vez dentro del canal interno de la misma, entorpeciendo el tránsito holgado del implante en su recorrido hasta su implantación.

4.4.3.2. Hilo

El hilo de guiado cumplía la función de sujeción del implante y su control durante la transferencia del mismo a través de la cánula de la aguja epidural y permitiría, a su vez, una retirada parcial del implante siempre que este no hubiese salido por el extremo final de la aguja epidural. Sin embargo, la función principal del hilo consistiría en el posicionado del implante sobre la pared interna de la membrana dural una vez que este hubiese asomado por el final de la aguja y se encontrase dentro del saco tecal.

Dado que se pretendía que el hilo pasase con holgura por el interior del elemento introductor del implante, el calibre del hilo debería ajustarse a un tamaño inferior al diámetro interior de dicho dispositivo introductor. Se eligió la sutura monofilar Monosyn® del calibre 4/0 de la casa B. Braun, que es una sutura sintética absorbible a medio plazo de gliconato (copolímero del ácido glicólico —72 %—, ϵ -caprolactona —14 %— y trimetilencarbonato —14 %—).

Se obtuvieron 10 unidades de hilo + parche confeccionadas según lo descrito en el apartado 4. Material y método. No se reportaron incidencias en el proceso de enhebrado y anudado.

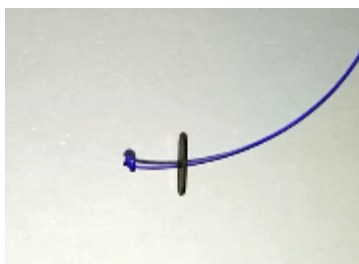


Figura 26. Conjunto de sutura barbada y prototipo de parche enhebrado

4.4.3.3. Soporte de transferencia

En el grupo clínico se incluyeron dos anestesiólogos profesionales. Ambos desempeñaban cargos asistenciales en el momento de celebración de las reuniones de esta fase y cada uno de ellos contaba asimismo con más de diez años de experiencia clínica y se consideraban expertos en el manejo de las técnicas anestésicas sobre neuroeje.

Tras la primera reunión, quedaron fijadas estas guías de diseño:

- El introductor debía permitir introducir el implante (con una forma y dimensiones ya definidas) a través de la aguja Tuohy para colocarlo en el espacio intratecal.
- El extremo distal del introductor había de disponer de una conexión fiable con el extremo proximal o boca de la aguja Tuohy para permitir su acople e inicio de la transferencia en menos de cinco segundos.
- Toda la luz del introductor ha de ser compatible con el alojamiento y paso del hilo que sujeta el implante.
- Idealmente, el soporte ha de permitir el acople y avance del complejo hilo + implante con una sola mano.
- Idealmente, el soporte ha de disponer de un canal de trabajo accesorio para la eventual inyección de un material adhesivo. Esto se decidió así porque, si bien las pruebas hechas con adhesivos tisulares hasta el momento habían dejado algunas dudas sobre la conveniencia de usarlos, no había quedado todavía descartada la opción de un futuro uso. No obstante, se marcó esta necesidad como de prioridad baja.
- El soporte de transferencia ha de permitir el paso de un elemento llamado «introductor» del implante, que debería ser diseñado y confeccionado en la presente fase del trabajo. Este introductor cumpliría la necesaria función de dotar de *pushability* al complejo hilo-implante, esto es, facilitar el avance del implante hasta el saco tecal sin suponer un riesgo de acodamiento o rotura del mismo y con fiabilidad.
- Este introductor, descrito en el apartado siguiente, debería alojarse premontado junto con el implante y el hilo sobre el soporte de transferencia en una posición que dejase a todo este grupo de elementos listo para la transferencia.
- No se creyó necesario dotar al soporte de transferencia de flexibilidad. Por parte del grupo clínico, el soporte podría ser diseñado y fabricado en materiales tanto porosos como no porosos, siendo exigible un grado de rigidez que permitiese su manipulación sin riesgo de rotura.

El equipo del IBV recogió esta información y trabajó en la elaboración de una primera propuesta. Puesto que durante la fase de diseño contactó con el investigador principal recurrentemente, se decidió avanzar y aportar a la siguiente reunión, que cambió de *online* a presencial y se celebró en una sala habilitada en el propio IBV, un prototipo impreso de la solución concebida.

Estos fueron los resultados de esta subtarea, presentados en la segunda reunión interdisciplinaria:

- La fabricación de los prototipos funcionales se realizó en sinterizado de poliamida (PA 2200) con ayuda de la máquina de prototipado rápido Formiga P100 de EOS disponible en el IBV.
- El soporte de transferencia diseñado partió de un modelo sencillo en el que destacaban tres partes diferenciadas:
 - Una conexión distal en forma de embudo cónico (destinada a realizar un acople rápido con la boca de una aguja epidural Tuohy de 18 Gauge). A su vez, sobre esta conexión en embudo se disponía de una rosca de ajuste con conexión universal tipo Luer Lock.
 - Una conexión o zona proximal en la que embocar el elemento introductor (que empujaría el hilo + implante). Para que la posición inicial del introductor no se viera alterada, el sistema disponía de una lengüeta de bloqueo que permitía frenar el introductor e impedía que el implante se moviese.
 - Una conexión lateral que permitía acoplar el extremo del aplicador del adhesivo para así poder inyectar el adhesivo a través del soporte y de la aguja sobre la zona epidural si fuera requerido.

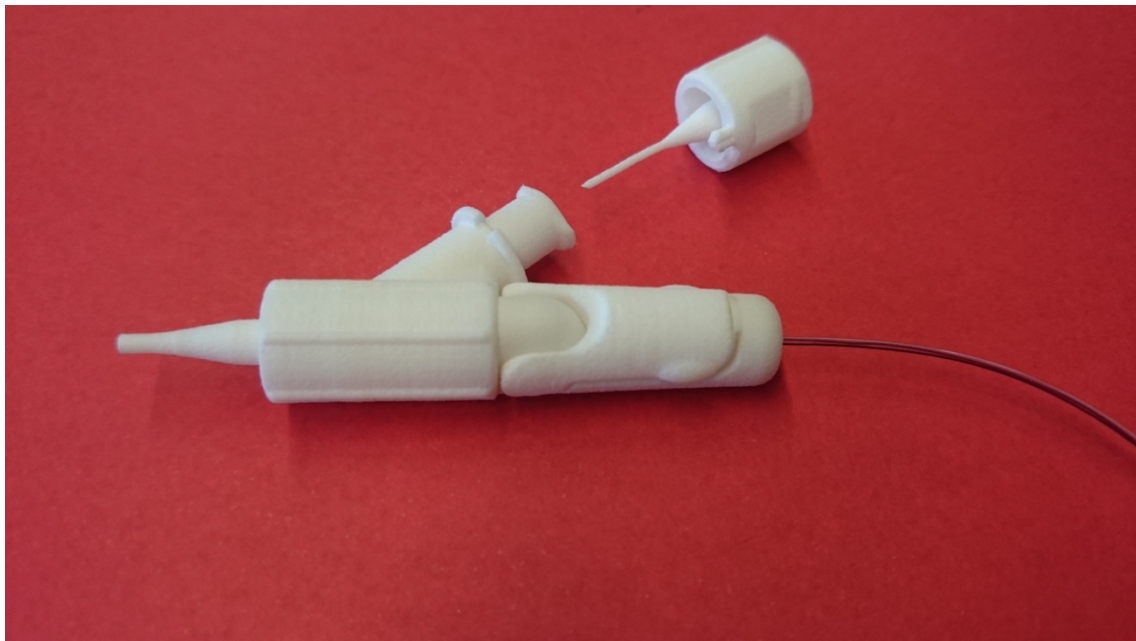


Figura 27. Detalle del prototipo fabricado mostrando el aplicador (canal accesorio) de potencial producto sellante

El grupo clínico realizó pruebas de conexión a una aguja Tuohy de 18 Gauge que resultaron satisfactorias, puesto que la embocadura cumplía lo especificado.

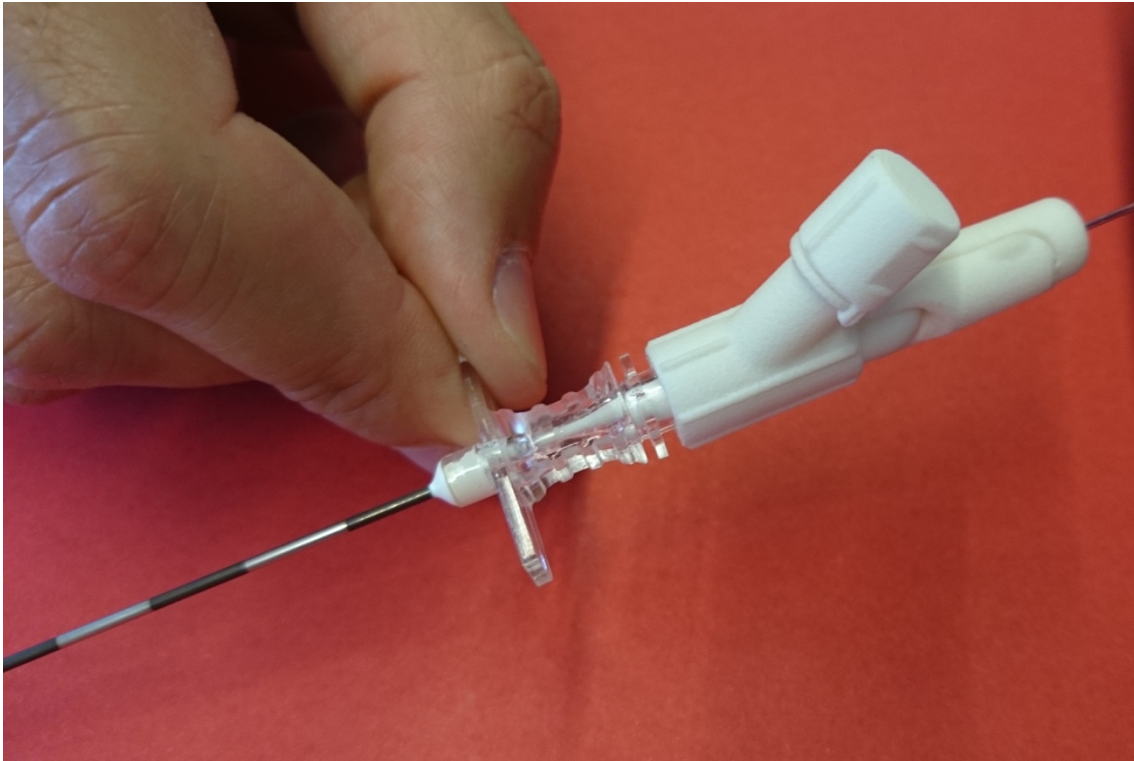


Figura 28. Detalle de conexión de tipo embudo del aplicador de la solución prototipado a la parte proximal de la aguja Tuohy

4.4.3.4. Elemento introductor

En la primera reunión:

- El equipo del IBV especificó la luz útil de la aguja y del soporte de transferencia —teóricamente idénticas—, esto es, el espacio del que se disponía para alojar coaxialmente un complejo parche-hilo y el propio elemento introductor. Este valor fue de 0,85 mm.
- Se definió que la forma más sencilla que permitía la coexistencia de ambos elementos en el interior de la aguja de 0,85 mm de diámetro era un tubo. Debía, pues, ser un tubo el elemento introductor.
- El grupo clínico definió el introductor ideal como un introductor fino, sin propensión al acodamiento, capaz de transmitir correctamente la tensión aplicada sobre este con el pulgar de una mano al complejo parche-hilo. Además, se expresó la necesidad de disponer de un material biocompatible, de uso aprobado en humanos y no resbaladizo (para evitar la falta de avance del parche).

En base a ello, en la segunda reunión de trabajo de esta fase, el grupo del IBV expuso sus conclusiones y su propuesta. Se expresó que fabricar tubos del calibre requerido con longitudes superiores a 100 mm para que cubriesen la longitud del soporte de transferencia y toda la longitud de la aguja Tuohy era harto complejo y podría resultar excesivamente caro para el alcance del proyecto. Se decidió, pues, utilizar como elemento introductor un tramo de catéter de los que normalmente incluye el set convencional epidural (en este caso el Perifix, B. Braun, Melsungen, Alemania). Este tubo de calibre 20 Gauge poseía el diámetro óptimo para pasar por el interior de la aguja —fin para el que estaba diseñado— y, a su vez, presentaba un diámetro interior aproximado de 0,45 mm que se adaptaba a las dimensiones del hilo de 4/0 (\varnothing 0,2 mm aproximadamente) que pretendíamos pasar por su interior. Además, estaba fabricado en un material biocompatible de uso muy común en práctica médica y ofrecía cierta capacidad de transmisión de fuerzas, dato refrendado por el grupo clínico que estaba acostumbrado a su uso en el contexto de cateterización del espacio epidural para aplicar analgesia el trabajo de parto.

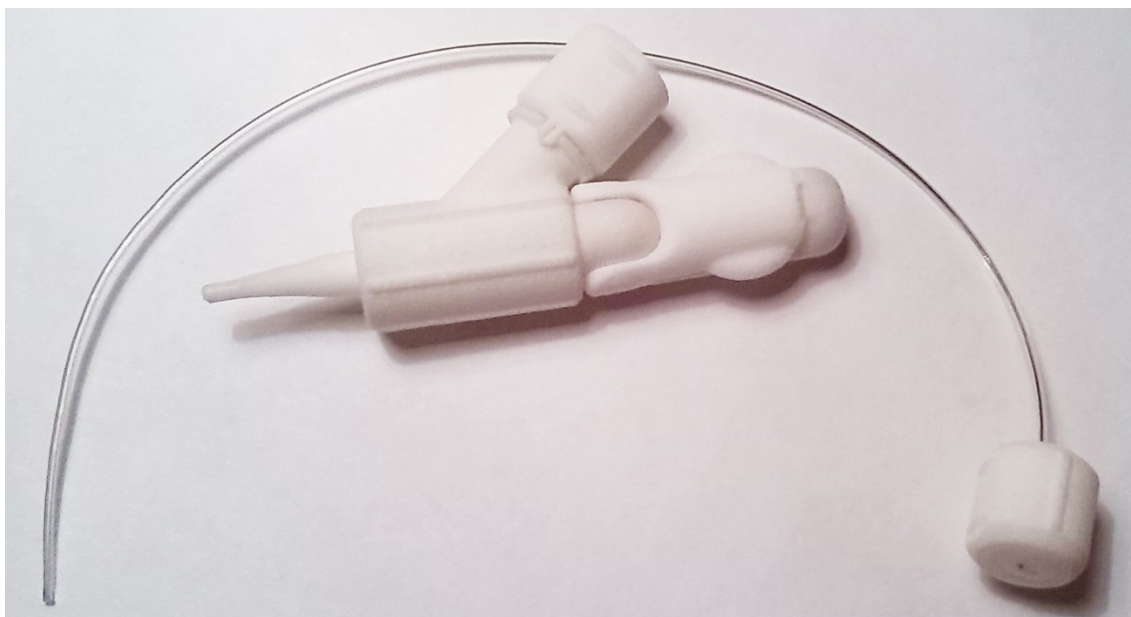


Figura 29. Detalle de la propuesta de elemento introductor (catéter con tope proximal)

Puesto que no se deseaba que el introductor empujase al implante más allá del final de la aguja para que no penetrase en exceso en el espacio intratecal, se calculó la longitud exacta que debía tener para que el implante pudiera salir y se colocó un tope físico trasero que impidiera sobrepasar dicha medida. El catéter, de este modo, saldría lo justo para que el implante, una vez fuera de la aguja, pudiera girar y posicionarse paralelo a la membrana dural apoyándose en el final del catéter y no en la duramadre-aracnoides cuando se tirase del hilo. Se evitaría así, al menos sobre el plano teórico, que se dañase la pared interna del saco tecal y que el hilo se pudiera cortar en contacto con el borde de la aguja.

4.4.4. Conclusiones

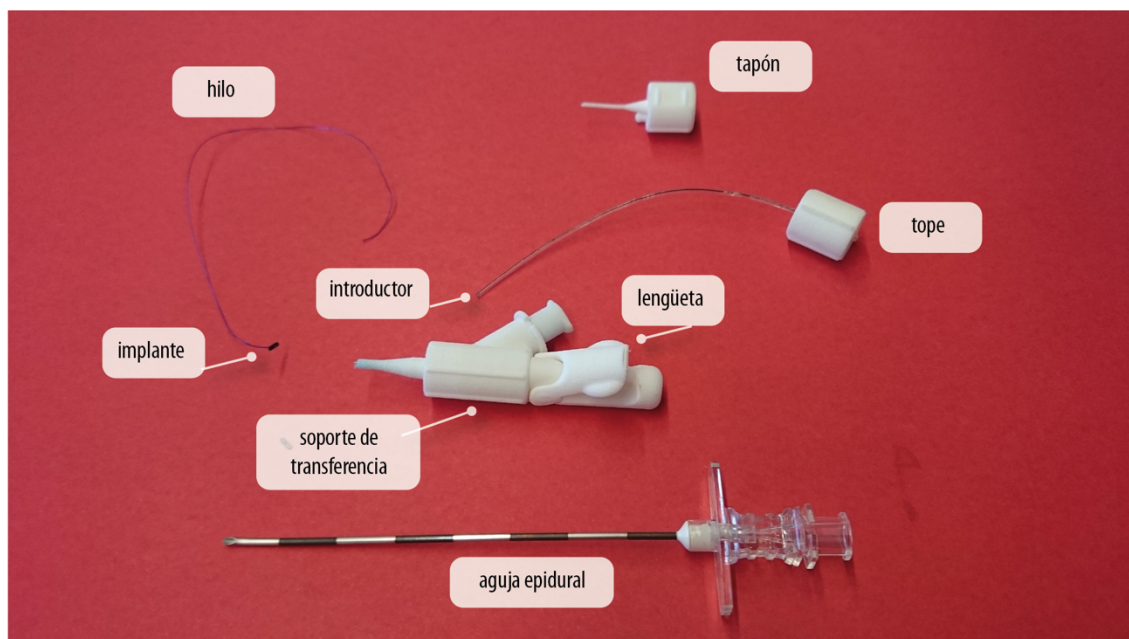


Figura 30. Elementos que conforman el kit de sellado propuesto

Al final de esta fase de trabajo se dispuso de un kit completo de sellado de perforaciones durales para poder testar en subsiguientes etapas de investigación. Cabía la posibilidad de que surgiesen importantes áreas de mejora, pero unánimemente se decidió probar *ex vivo* el rendimiento del kit desarrollado hasta la fecha.

En las pruebas *ex vivo* realizadas durante la segunda reunión, el grupo clínico coincidió con el investigador principal en proponer dos áreas de mejora.

Por un lado, se había propuesto un soporte de transferencia difícil de operar con una sola mano. El soporte ideal debería partir de la base del expuesto en la reunión, pero convendría añadir un anillo o estructura similar que facilitase el asido por parte del operario del kit. Esto, en última instancia, mejoraría la capacidad de aplicar fuerzas con un dedo sobre el introductor, destinadas a promover el avance del parche hacia el saco tecal.

Por otra parte, se juzgó como insuficiente la *pushability* del elemento introductor. Si bien era cierto que ofrecía seguridad en lo tocante al material elegido, podría llegar a requerirse disponer de un introductor más rígido. Se podrían tomar como referencia algunos de los estiletes o guías flexometálicas de uso común en técnicas tipo Seldinger como la cateterización de vías venosas centrales o arteriales.

Además de estos apuntes clínicos, todo el equipo accedió a realizar las siguientes fases del estudio sin explorar todavía la solución del hilo barbado como elemento de sujeción trasera del parche, cosa que se dejaría para futuras fases en las que ya se hubiese dado por buena la forma de insertar el parche en el saco tecal.

El grupo clínico hizo hincapié en la necesidad de testar este kit completo tanto en membrana sintética como en membrana biológica. En membrana sintética podría manipularse con cierta solvencia el extremo proximal del kit, realizando pruebas de roscado-desenroscado del soporte de transferencia sin el miedo a romper la membrana sobre la que se apoyase el parche. En cambio, los test de membrana biológica ayudarían a anticiparse a potenciales problemas en la interacción tisular del parche (con apoyo sobre complejos meníngeos).

4.5. Fase 5. *Bench testing*. Ensayos de rendimiento del kit diseñado sobre membrana sintética

4.5.1. Objetivo específico

Tras el diseño y fabricación de los prototipos descritos con anterioridad, se plantea la realización de ensayos mecánicos y funcionales *ex vivo* con el objetivo principal de validar la correcta transferencia y despliegue del implante, así como la facilidad de usar el instrumental asociado en entornos más realistas.

Además del objetivo principal, se describieron estos objetivos de las subfases:

- Definir y sistematizar los pasos a seguir para el premontado del implante y del introductor en el soporte de transferencia con el fin de disponer de una guía para que proveedores externos puedan entregar al grupo de investigación kits estériles en condiciones de ser aplicados con garantías.
- Definir qué tipo de membrana se empleará para validar el comportamiento del implante e instrumental en condiciones similares a las que experimenta la duramadre tras ser puncionada por la aguja epidural.
- Validar o descartar el proceso de inyección del adhesivo a través del soporte de transferencia diseñado en la fase previa de este trabajo de investigación.

4.5.2. Material y método

4.5.2.1. Premontado y comprobación de correcta transferencia

En esta fase participó el equipo de ingeniería del IBV y el investigador principal. Se realizó una recogida de información con la única fuente de información de los informes técnicos y de resultados de las fases previas de este trabajo para la elaboración de una guía de montaje del dispositivo. Los pasos fueron razonados conjuntamente y se eliminó la información no relevante para un futuro montador externo al equipo.

4.5.2.2. Selección de membrana

Se realizaron dos ensayos *in vitro* en los que se probó la conveniencia de utilizar en los subsiguientes test de rendimiento membranas de origen sintético vs. membranas de origen animal.

Para ello, se testó la opción de membrana de látex en el primero de los casos y la de membrana de intestino ovino en el segundo. Para probar la usabilidad de la membrana de látex se emplearon guantes quirúrgicos de látex sin polvo y estériles de marca Naturflex, con un espesor referenciado en la ficha técnica de 0,08 mm en la zona de palma y dorso de la mano. En el caso de la membrana ovina, se emplearon piezas de intestino delgado ovino adulto. En ambos casos, se generaron montajes para dejar en suspensión el guante o el fragmento de intestino ovino rellenos de una solución cristalóide (suero fisiológico al 0,9 %, Fresenius, Kabi) hasta notar una tensión subjetivamente suficiente en la superficie de la membrana a puncionar.

Se dispusieron cinco montajes por grupo (cinco guantes y cinco fragmentos de intestino animal según lo descrito). En cada uno de ellos, suspendido mediante la sujeción a un trípode de metal, el investigador principal empleó una aguja epidural tipo Tuohy de 18 Gauge como las que posteriormente se habrían de emplear en los test de comportamiento del kit. Puncionó en el centro de cada membrana, avanzando la aguja Tuohy unos 5 mm y retirando el estilete, tras lo cual (habiendo observado salida de suero fisiológico por la boca de la aguja) se empleó un soporte de transferencia como el descrito y confeccionado en la fase 4 de este trabajo, que se embocó en el extremo proximal o entrada a la aguja. Este acto simulaba la manipulación a la que el kit y la aguja habían de ser sometidos durante los experimentos posteriores (acto de embocar y acoplar el soporte de transferencia a la aguja para insertar el parche en la luz de esta última).

Esta fase del experimento se condujo de esta manera para testar la resistencia de la membrana a la manipulación de la parte proximal de la aguja, por lo que posteriormente se

retiró la aguja y se observó el agujero de punción macroscópicamente en busca de irregularidades o cierta capacidad de retracción del mismo.

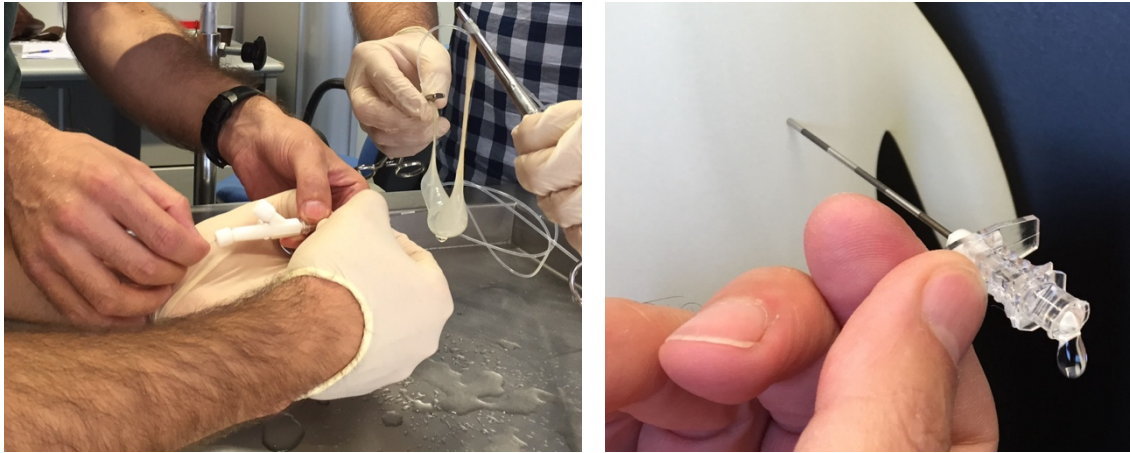


Figura 31. Imágenes obtenidas durante las pruebas en laboratorio sobre modelo de intestino animal (izquierda) y guante de látex (Derecha)

4.5.2.3. Pruebas de inyección del adhesivo tisular

Se pretendía validar el proceso de inyectado del material DuraSeal a través del canal diseñado específicamente para su inyección en el soporte de transferencia del kit de sellado dural. En el sistema original la mezcla de los dos componentes que constituyen el sellador se realiza a medida que salen por la punta del aplicador, la cual tiene a su vez función de pulverizador. En el presente ensayo se decidió prescindir de dicha boquilla dado que se empleaba la rosca del aplicador donde esta se enroscaba para conectar con el terminal lateral del sistema de transferencia.

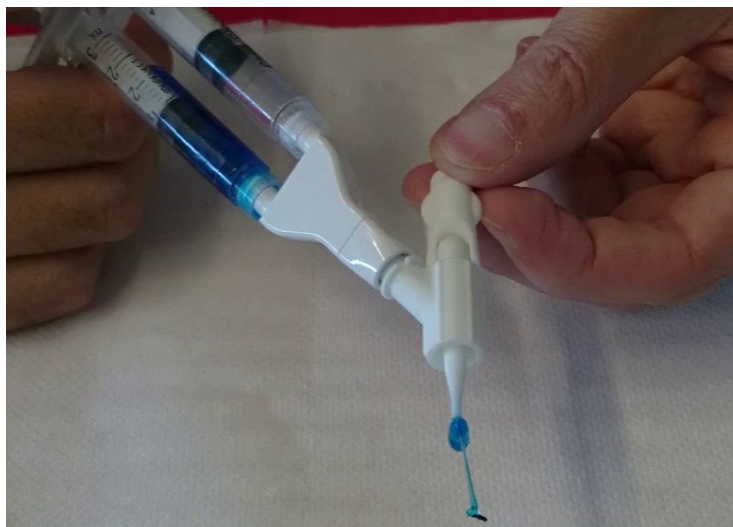


Figura 32. Pruebas de laboratorio con aplicación del sellante DuraSeal a través del orificio lateral del aplicador prototipado

Se perseguía ver cómo se mezclaba el adhesivo, qué consistencia adquiriría tras la mezcla, qué velocidad de fraguado tenía, para averiguar de cuánto tiempo se dispondría para la maniobra de sellado en caso de ser elegido como opción viable en el actual estado de desarrollo del kit de sellado dural.

Se realizaron tres pruebas sobre prototipos de poliamida del soporte de transferencia, consideradas pruebas «al aire» por no realizarse sobre montajes de membrana ni cadáver, pretendiendo obtener una visión directa del proceso de mezcla, salida y fraguado del sellante. Se siguieron estos pasos:

1. Una vez preparado el adhesivo siguiendo los pasos recomendados por el fabricante, se roscó el aplicador sobre el conducto lateral del soporte. El soporte de transferencia llevaba premontado el implante con el hilo pasante y retirado parcialmente el introductor del implante a un punto por detrás de la bifurcación de los dos conductos del soporte para que pudiera pasar el adhesivo (de otro modo el adhesivo no se podría inyectar). La decisión de dejar montado el catéter justo por detrás de dicho punto pretendía a su vez minimizar la posible salida de adhesivo en dirección contraria por el conducto de entrada del hilo.
2. Tras observar que el adhesivo estaba colocado sobre el punto deseado se retiró la aguja y el soporte trasero. Durante esta maniobra se determinó como necesario tener hilo suficiente para poder sacar el sistema sin perder el hilo y para permitir que se pudiera dejar este fijado a la piel del paciente (en futuros casos de uso), evitando así que quedase libre.
3. En este punto se comprobaba el resultado de la mezcla y gelificación del sellante.
4. Tras la gelificación, pasados los segundos que esta requiriese, se intentaba empujar el émbolo del aplicante de DuraSeal para intentar «reaplicar» la solución. Esto se comprobaba para determinar si sería posible manipular el flujo de sellante una vez fraguada la primera dosis inyectada.

4.5.2.4. Pruebas de funcionalidad global sobre membrana sintética

Se realiza una prueba sobre un montaje completo de membrana de látex simulando las condiciones de una perforación accidental de la duramadre y reproduciendo los pasos previstos a seguir para evaluar la viabilidad de aplicación del sistema de sellado epidural, y así obtener información visual sobre el despliegue y sellado de la perforación *in vitro*.

Para ello se realizaron dos pruebas separadas, llamadas con el fin de facilitar la comprensión de la dinámica de estudio:

- Test de funcionalidad «húmeda»: sobre dos montajes con guante de látex según lo descrito en el apartado 5.2.2.
- Test en seco: sobre dos montajes con una membrana de látex sobre una lámina de cartón rígido con una fenestración circular de 4 cm de diámetro. Se realizaron para poder percibir visualmente cómo se comportaba el implante desde la cara interior de la membrana.

Los pasos a seguir para la realización de los test de funcionalidad «húmeda» se detallan a continuación:

1. Premontaje del implante sobre el soporte de transferencia y puesta a punto para su aplicación según lo descrito en 4.5.3.1.
2. Preparación de los dos componentes del adhesivo DuraSeal y montaje sobre el aplicador (boca lateral del soporte de transferencia) dejándolo listo para la inyección.
3. Perforación con aguja Tuohy de 18 Gauge nueva en la zona palmar del guante de prueba (relleno de suero salino al 0,9 %) montado sobre el soporte estable.
4. Tras observar la salida de suero desde el interior del guante hacia la parte proximal de la aguja Tuohy, se mantenía la aguja con la mano izquierda sin colocar estilete alguno ni mover la punta.
5. Conexión del soporte de transferencia a la aguja Tuohy de 18 Gauge mediante rosado de la conexión Luer Lock.
6. Desbloqueo de la lengüeta de freno del soporte.
7. En ese momento y con la mano derecha, se realizaba la transferencia del parche a la aguja con la ayuda del elemento introductor. Se introducía hasta que el tope trasero chocase con el extremo posterior del soporte y se percibiese que el parche ya estaba dentro del volumen de suero salino del interior del guante.
8. Se tiraba del hilo de sutura para garantizar que, haciendo tope sobre el extremo del catéter, el implante quedase posicionado paralelo a la membrana y justo a la salida de punta de la aguja.
9. Se retiraba entonces parcialmente el introductor para dejar paso a la entrada del adhesivo por el conducto lateral.
10. Se retiraba el tapón del conducto lateral para conectar el aplicador del adhesivo y se observaba la salida de suero salino por este conducto.

11. Se retiraba la aguja lentamente hasta que dejase de salir líquido por el conducto lateral, siendo este un indicador de que la punta de la aguja se encontraría en posición «epidural», puesto que el líquido cefalorraquídeo (en este caso suplantado por suero fisiológico) saldría a dicho espacio directamente y no por la aguja.
12. En ese momento, sin retirar la aguja más para no alejarla del punto simulador del espacio epidural, se inyectaba el adhesivo para que se fijase al hilo sobre la membrana.

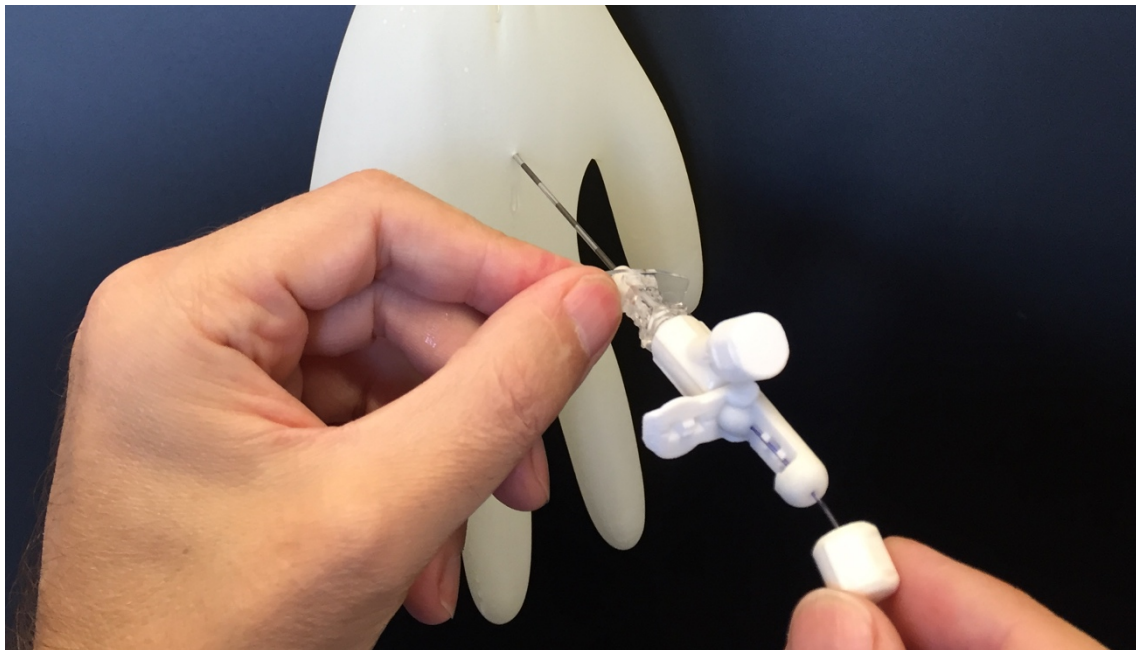


Figura 33. Pruebas sobre modelo de guante de látex, mostrando el manejo del elemento introductor

En el caso de los test en seco, se realizaron los mismos pasos, pero en este caso puncionando las membranas de látex premontadas en seco sobre una lámina de cartón rígido con una fenestración circular de 4 cm de diámetro. Se obviaban los pasos en los que se había de esperar la salida o cese de flujo del suero para realizar cualquier acción, ya que en este entorno de simulación «seco» no existía volumen de suero.

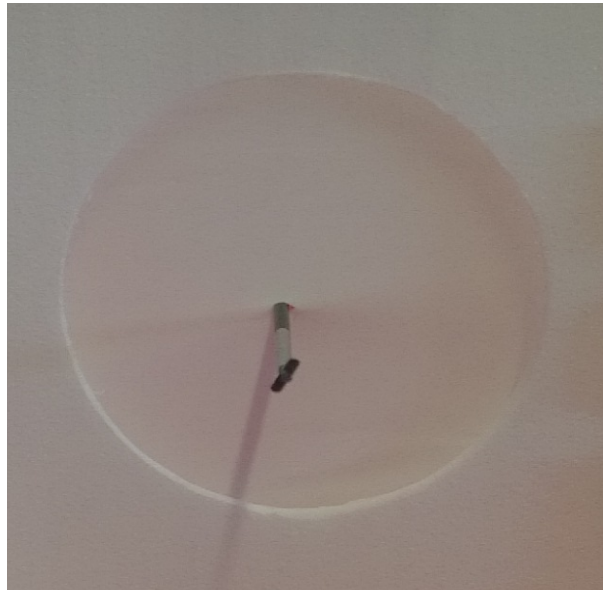


Figura 34. Detalle de las pruebas sobre membranas de látex, mostrando la salida del implante a través de la punta de la aguja Tuohy

Un observador del equipo de ingeniería del IBV observaba y tomaba imágenes (de la superficie del guante relleno de suero en los test «húmedos» y de la cara interna de la membrana de látex en los test «secos») mientras el investigador principal realizaba las acciones descritas. Se anotaba cualquier incidencia referida por el investigador principal que operaba el sistema de punción y transferencia, así como los momentos en los que el suero emanaba del guante y la forma de hacerlo.

4.5.3. Resultados

4.5.3.1. Premontado y comprobación de correcta transferencia

Tras la revisión del material, quedó definido un protocolo de montaje y comprobación de transferencia que incluía los siguientes ocho pasos:

1. Se pasa el catéter epidural Perifix (longitud de 157 mm, B Braun Melsungen AG) por el orificio del tope trasero y se pega este último con un cianocrilato de uso médico (Dermabond® Ethicon, Johnson and Johnson Medtech). El resultado es un conjunto, llamado introductor, que ha de pasarse a través del soporte de transferencia quedando el tope situado en la parte trasera del soporte.

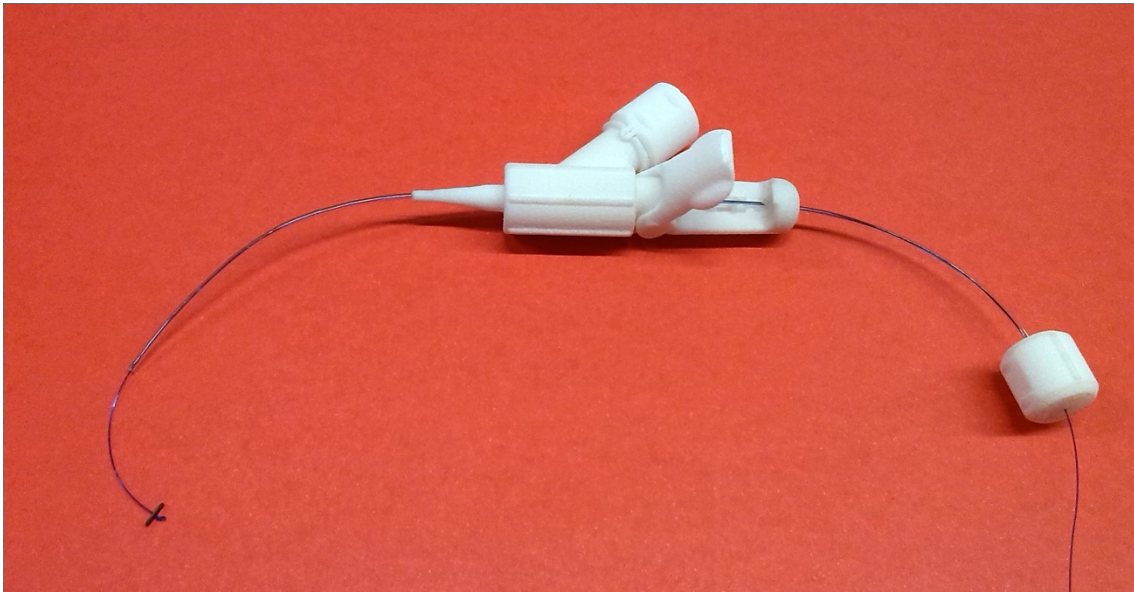


Figura 35. Elementos del kit montado, con la sutura e implante (dentro del elemento introductor) pasando por el soporte de transferencia

2. Pasar el hilo de sutura Novosyn 4/0 (longitud de 350 mm) por el ojal del parche y anudar. Cortar el sobrante del hilo distal sin apurar demasiado, pues en caso de tirar del implante con demasiada fuerza podría soltarse el nudo. Esto podría suponer el riesgo de invalidar por completo el sistema en caso de quedarse atascado el implante en el interior de la cánula de la aguja. En caso de soltarse una vez en posición dentro de la duramadre se perdería el control total del implante con el riesgo de migración dentro del saco tecal.
3. Pasar el extremo libre del hilo por la punta distal del catéter y meterlo hasta que el implante haga tope. Comprobar que el tapón protector está puesto sobre el conducto lateral antes del siguiente paso.

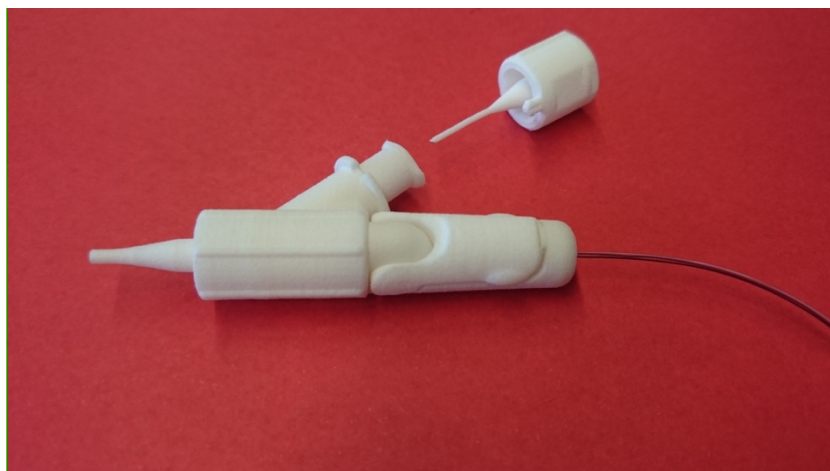


Figura 36. Paso 3 del montaje

4. Retirar 5 mm el catéter para que quede dentro del soporte de transferencia y se pueda introducir el implante por la punta del mismo en dirección contraria a la de salida, de forma que quede dentro del soporte encarado para la transferencia a la aguja Tuohy de 18 Gauge.

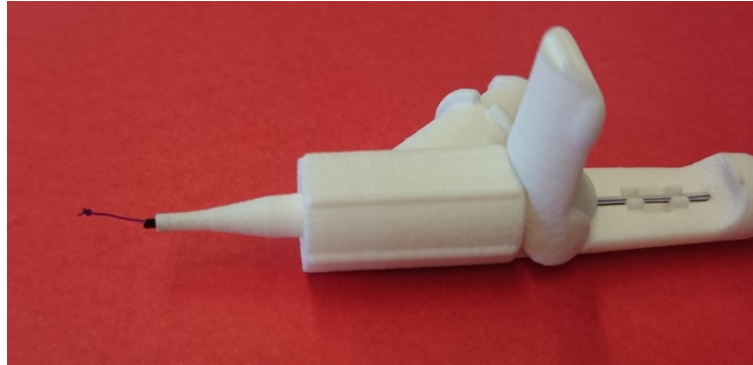


Figura 37. Retirada de punta del catéter para dejarlo dentro del soporte de transferencia

5. Introducir ligeramente el catéter hasta que se note que toca con el implante, pero sin sacarlo y que quede listo para empezar la transferencia. Bloquear entonces la lengüeta de freno para fijar la posición del catéter en el soporte de transferencia y evitar que se mueva de esta posición inicial. El sistema ya estaría premontado.

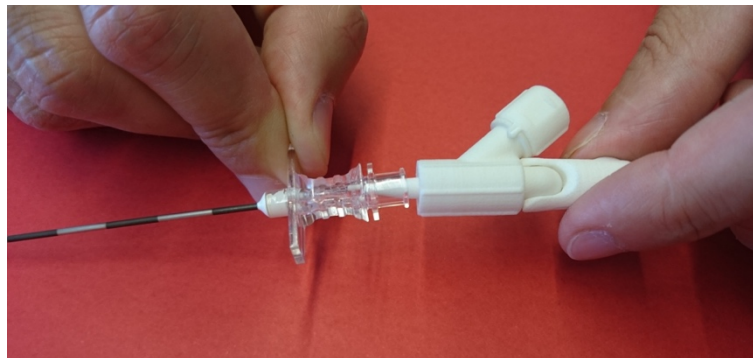


Figura 38. Embocado del soporte de transferencia a la boca de la aguja Tuohy

Los puntos 6, 7 y 8 de las instrucciones hacían referencia a la comprobación por parte del potencial fabricante o ensamblador de los kits de cómo funcionaba la transferencia del implante hacia la luz de la aguja Tuohy de 18 Gauge. Este paso no era requerido para el montaje del kit, pero se convino en recomendar realizarlo al menos una vez para comprender la forma de hacer avanzar el implante hacia el saco tecal.

1. Una vez premontado el sistema se rosca el soporte de transferencia a la parte proximal o boca de la aguja Tuohy de 18 Gauge mediante un acople universal

Luer Lock de forma que el soporte quede orientado hacia arriba como la apertura del bisel de la aguja. En ese momento, se libera el freno levantando la lengüeta dispuesta a tal fin.

2. Para transferir el implante se empuja el elemento introductor en su entrada proximal hacia el soporte de transferencia hasta que el tope trasero del catéter (tope sellado con Dermabond siguiendo el paso 1 de las presentes instrucciones) toque con la parte trasera del soporte de transferencia.
3. Comprobar la salida completa del implante y su apertura o despliegue distalmente al bisel de la aguja. Es en este momento cuando el operario del kit deberá tirar suavemente del hilo y el implante hará tope con el extremo final del catéter, quedando así el implante perpendicular a la dirección longitudinal de la aguja, listo para coaptar con la lesión dural que se pretende taponar.



Figura 39. Secuencia de salida y despliegue del implante y sutura por la punta de la aguja de Tuohy, tras lo que una retirada del hilo deja el implante apoyado en la punta de la aguja

4.5.3.2. Selección de membrana

No se apreciaron diferencias significativas a nivel subjetivo en el manejo de las membranas sintéticas o biológicas, lográndose en todos los casos un montaje correcto y rápido, sin incidencias. No obstante, dos de los cinco sets montados con intestino ovino presentaban fugas por defectos de la membrana presentes antes del montado en probable relación con la manipulación para extracción de la muestra. Esto condicionaba cierta fuga apreciable de suero fisiológico que hacía difícil mantener la tensión en la pared de la membrana a testar.

La sensación de avance de la aguja para perforar la membrana de látex y el intestino de oveja no difirió: en ambos casos se consiguió traspasar la membrana con la punta de la aguja Tuohy, no sin antes notar una cierta resistencia que promovía la percepción de un «pequeño estallido» tras penetrar en el continente del suero. En ambos grupos se observó una salida continua de suero a través del orificio.

En cuanto al tamaño del defecto una vez retirada la aguja (y tras la manipulación simulando una embocadura del soporte de transferencia con la aguja Tuohy), no se observaron diferencias significativas a nivel macroscópico. En ninguno de los casos se observaron desgarros apreciablemente más grandes en superficie que el del diámetro de la aguja Tuohy.

El investigador principal y el equipo de ingeniería coincidieron en que parecía una mejor opción para los siguientes test emplear la membrana sintética, por la fiabilidad en su manejo y la consistencia en la obtención de resultados que prometía.

4.5.3.3. Pruebas de inyección del adhesivo tisular

Según lo referido en el apartado 5.2.3., se siguieron cuatro pasos metodológicos, cuyos resultados se exponen a continuación:

1. Tras inyectar el adhesivo sobre el punto de la punción se observó la dificultad de colocarlo en el lugar exacto incluso en las condiciones favorables de este ensayo «al aire» con visibilidad completa de todo el trayecto de transición del sellante. El equipo entendía que en un caso real con los tejidos adyacentes presionando sobre la aguja la movilidad de la misma debería quedar reducida y este efecto se minimizaría.

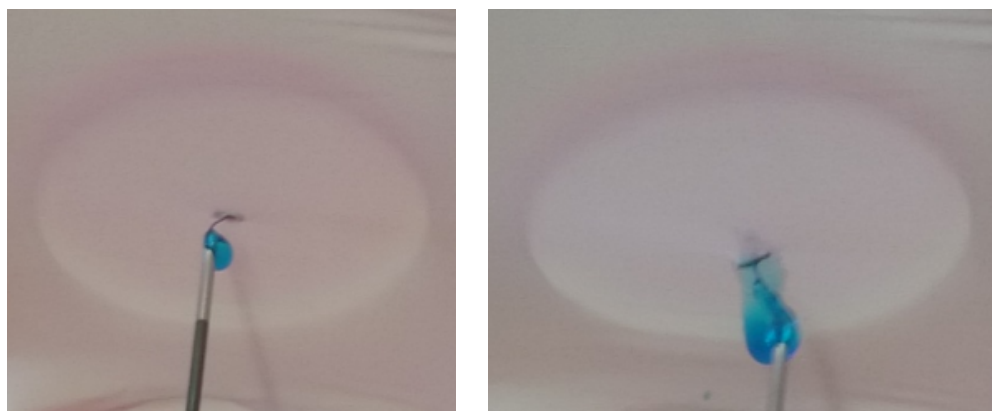


Figura 40. Adhesivo tisular sobre el punto de punción en montaje de membrana de látex

2. Durante la simulación de este punto de la prueba sucedió que, al tirar de la aguja, como el adhesivo ya llevaba varios segundos fraguado en el interior de la misma, el hilo no deslizó y arrastró tras de sí al implante que se salió del punto de punción. Esto sucedió dado que la tensión ejercida sobre el implante y sobre la membrana fue notablemente mayor a la ejercida con anterioridad cuando, tirando de forma manual sobre el hilo hasta que se percibía la tensión de la membrana, el implante no se salió ni desgarró la lámina de látex (como sí sucedió en el experimento en el que se aplicaba el sellante).
3. Durante las pruebas se observó que el material adhesivo adquiría cierta consistencia gelificando de forma correcta, con lo que el mezclado de los componentes se etiquetó como adecuado. Asimismo, se observó que, pasados unos segundos, dado que el adhesivo se expandía, empezaba a salir tanto por la punta como por la parte trasera e impregnaba todo el trayecto del dispositivo.
4. Si pasado un tiempo se intentaba inyectar de nuevo material sellante DuraSeal se observaba que el material había fraguado en el interior del soporte e impedía que se pudiese seguir inyectando más adhesivo. Esto suponía un problema pues obligaría a tener que controlar la cantidad de material adhesivo a inyectar y además a hacerlo en un espacio de tiempo limitado. También se comprobó en un caso la obstrucción de todo el conducto (luz de la aguja y soporte de transferencia) con material adhesivo pegado al hilo en el interior del soporte de transferencia y la aguja. Se comprobó si se podía extraer el hilo tirando del implante y se observó que, aunque el hilo no quedaba pegado al adhesivo, como se demostró en el ensayo anterior, sí había cierta fricción que dificultaba, aunque no impedía, la salida del hilo del dispositivo.

4.5.3.4. Pruebas de funcionalidad global sobre membrana sintética

En las pruebas realizadas sobre los cuatro montajes (dos punciones sobre guante relleno de suero y dos punciones sobre membrana suspendida en seco) no se apreciaron dificultades para la perforación de la membrana, para la conexión del soporte a la aguja Tuohy ni para la transferencia y avance del parche a través de la aguja. El conjunto parche-hilo llegó en los cuatro casos a desplegarse en el lado opuesto de la membrana, que simulaba el espacio intratecal.

En los dos test con montaje «húmedo» se observó que, puesto que el diámetro del hilo de sutura era inferior al de la punción realizada, al retirar la aguja Tuohy una vez desplegado el conjunto parche-hilo en el interior del guante, el suero brotaba libremente hacia el exterior del guante. En ese momento, el parche no estaba realizando presión alguna sobre la

pared interna de látex —que simulaba la capa aracnoides—, sino que quedaba libremente situado en el saco tecal simulado.

Ahora bien, un suave movimiento de tracción con una mano del conjunto parche-hilo por parte del operador desde el exterior del montaje, como el que estaría destinado a requerirse en condiciones reales, resultaba en la coaptación del implante sobre la membrana de látex en su cara interna y el consiguiente cese casi completo del flujo de suero.



Figura 41. Retirada de aguja dejando hilo e implante en el sitio de perforación en test de laboratorio sobre membrana -guante- de látex

De forma análoga, en los test «secos» sobre membrana de látex suspendida, tras el despliegue correcto del sistema de sellado dural una vez traspasada la membrana, el implante quedaba libremente situado. Con el mismo movimiento de tracción suave por parte del operador, el implante se retiraba hasta coaptar con la cara interna de la membrana de látex, proporcionando *de visu* un cierre de la perforación realizada con la aguja Tuohy.



Figura 42. Cierre de la perforación por el implante observado en los test sobre membrana de látex suspendida

4.5.4. Conclusiones

A fin de dejar listo el implante para su transferencia a la aguja de forma rápida y segura, el sistema desarrollado hasta la fecha constaba de un soporte de transferencia que llevaba montados el implante con el hilo y el introductor, listos para desbloquear y empujar una vez el soporte estuviera roscado sobre el extremo trasero de la aguja Tuohy mediante la conexión Luer Lock. Este premontaje debería ser realizado en la fase de producción del dispositivo y, en cualquier caso, debería llegar al personal sanitario al cual iría ulteriormente destinado el sistema de sellado listo para usar. El premontaje del implante y el introductor validados en esta fase ofrecieron resultados en el test sobre membrana sintética que se consideraron óptimos, esto es, que permitieron usar el kit de sellado sin incidencias.

En lo referente al uso y aplicabilidad del sellante sintético, la situación descrita en el apartado 5.3.3. podría explicarse por el hecho de que el adhesivo elegido (DuraSeal), al fraguar, se expande hasta un 50 % en volumen. Dado que la longitud del conjunto conformado por la aguja Tuohy y el soporte de transferencia es relativamente grande y con una luz estrecha, se podría impedir una expansión libre del material sellante fraguado, que ejercería una compresión sobre el hilo. Este hilo quedaría así atrapado en el interior de la luz del dispositivo. Dicha compresión sobre el hilo sería la causa del aumento de la fricción observada que dificultaría su salida del interior de la aguja.

Puesto que, como en previas fases del trabajo, se constató la no conveniencia de aplicar un sellante, en la fase de test sobre membrana sintética no se ejecutó el paso que se preveía y se describió en el apartado «4. Material y método». Además de ello, el equipo de ingeniería convino con el investigador principal en retirar de futuras versiones del soporte de transferencia la boquilla o agujero lateral destinado a la aplicación de un eventual sellante.

Por último, los test sobre membrana sintética permitieron entender el comportamiento previsible de un parche desplegado en el interior de un continente de líquido con cierta tensión como lo es el saco tecal humano. En la versión «húmeda» de las pruebas se observó que, lejos de empujar el implante desplegado hacia la pared interior del guante de látex — como sería deseable, puesto que la presión del líquido cefalorraquídeo podría colocar el implante en el sitio donde ejerciera un efecto de cierre—, el implante quedaba flotando en el interior del guante. No obstante, una muy ligera tracción por parte del operador del kit bastaba para promover una colocación óptima del parche en el interior del guante, esto es, en la inmediata vecindad de la brecha en el guante. Esta colocación permitió, de hecho, observar un cese casi absoluto del flujo de suero salino al exterior. Si bien serían necesarias más pruebas para confirmar que este mecanismo bastaría para sellar una eventual ruptura dural, el equipo decidió que este mecanismo de acción ofrecía opciones de funcionamiento en entorno real. Se coincidió en que el diseño del implante y su funcionamiento fueron correctos: se conseguía una transferencia adecuada desde el soporte a la aguja, y tras la salida por el extremo distal de esta última el parche se desplegó de forma correcta apoyándose en el elemento introductor y no en la membrana en primera instancia, por lo que no había de modificarse.

Pese a todo lo referido en el presente apartado, un análisis pormenorizado de los resultados de los ensayos permitió plantear una serie de dudas o aspectos mejorables que desglosamos a continuación como punto de partida para las sucesivas fases del trabajo de investigación y desarrollo:

En primer lugar, la fabricación del implante en materiales finales aportaría información del comportamiento real del mismo tanto a nivel mecánico como físico y permitiría evaluar el proceso de degradación del implante y la conservación de sus propiedades funcionales durante el tiempo en que se requiere que esté activo.

También se recalcó la necesidad de mejorar la usabilidad con una mano del soporte de transferencia, que debería adoptar una forma más parecida a una pistola aplicadora. Podría considerarse aprovechar su diseño para alojar o plegar el elemento introductor.

Por otra parte, el riesgo de que el nudo que unía el hilo al implante pudiera soltarse era inasumible ya que invalidaría la eficacia del sistema y pondría en riesgo la seguridad de un futuro paciente al perderse el control sobre la posición del implante. En caso de suceder durante la transferencia y quedar dentro de la aguja sin posibilidad de rescate, el proceso de aplicación de esta técnica quedaría anulado; mientras que, si se soltara con el implante en el interior del saco tecal, el riesgo de migración dentro del mismo sería elevado. El equipo del IBV apuntó que la fijación del parche al hilo debería realizarse por medios distintos a un nudo sobre el hilo y que deberían incluirse dentro del proceso de producción

del implante. La solución debería permitir fabricar el hilo y el implante de forma conjunta y solidaria o, al menos, evitar la dependencia de un nudo.

En otro orden de cosas, el investigador principal apuntó que el dispositivo introductor debería ser una cánula de mayor rigidez que el catéter usado hasta la presente fase del trabajo, para así permitir una mejor inserción del implante. Un sistema flexible como el que se había probado hasta la fecha no era práctico ni seguro, y en caso de trabarse ligeramente el implante en su tránsito del soporte a la aguja el catéter podría doblarse y la transferencia verse comprometida.

Deberían realizarse más pruebas con membranas de características similares a la duramadre humana para garantizar que la tensión ejercida sobre el hilo para la correcta colocación del implante tras la retirada de la aguja no produjese efectos nocivos como la rotura o el desgarrado de la membrana. Una posibilidad a estudio sería la realización de pruebas completas sobre simuladores sintéticos de punción epidural o incluso sobre membranas reales en pruebas con animales. Se podría valorar así qué nivel de tensión sería suficiente para la colocación del implante en posición y qué umbral no se debería superar por no comprometer la integridad de la membrana. Si al tirar del hilo una vez desplegado el parche intratecalmente el implante se saliese desgarrando la membrana, el daño causado sería irreparable y las consecuencias de una brecha mayor más críticas.

Asimismo, se debería evaluar si el tamaño del implante era el adecuado para la geometría del agujero que se produce en la punción de la duramadre y que referimos en la fase 1 del presente trabajo de investigación. En el modelo sintético probado en este proyecto las dimensiones del implante fueron suficientes para evitar su salida, pero se debería estudiar si se pueden o no extrapolar los resultados.

El uso de un adhesivo para la formación de un tope físico que sujetase el hilo desde el exterior de la duramadre (espacio epidural o tejidos dorsales a este) quedaba en entredicho tras las pruebas realizadas. Si el material debía tener capacidad de adherirse al hilo para sujetarlo y evitar que migrase en el saco tecal, debería poder aplicarse de forma que no entrara en contacto con el hilo hasta llegado el lugar deseado (espacio epidural periorificial), pues el modo hasta la fecha probado en que comparten espacio dentro de la aguja invalidaba el proceso.

Una alternativa que aprovechara el concepto desarrollado sería la aplicación de un adhesivo con un tiempo de fraguado mayor que permitiera una retirada segura de la aguja. Se debería garantizar en cualquier caso que el adhesivo, una vez curado, pegara al hilo y ejerciera la función de tope físico que evitase la migración del implante hacia el espacio intradural. Dados los resultados de las pruebas sobre membrana sintética en esta fase de estudio y el

historial de resultados de los test de aplicabilidad de la solución sellante, se decidió unánimemente descartar la vía de trabajo que incluyese cualquier otro sellante.

Otras alternativas de fijación del hilo por métodos mecánicos podrían ser objeto de estudio debido a que la opción del adhesivo no era viable. En opinión del equipo de ingeniería del IBV, la opción de emplear una sutura barbada podía cobrar fuerza porque cumplía con los requisitos que hasta la fecha se habían ido imponiendo por parte del grupo clínico:

- Aprovechaba la coaxialidad para plegarse en el mismo espacio de trabajo que el parche y avanzar junto a él.
- La disposición de las barbas o espículas permitiría una fijación que repartiría la carga sobre todas ellas y a lo largo del recorrido del hilo. Esto podría servir para mejorar la fijación del conjunto parche-hilo a estructuras como el ligamento amarillo o la musculatura paraespinal.
- Disponía de un perfil de biocompatibilidad y no histotoxicidad demostrado dado que existían soluciones en el mercado.
- Por la misma razón, se disponía de versiones de sutura reabsorbible ya comercializadas.
- Se componía de una sola pieza, sin depender de elementos de fijación o anclaje en el espacio epidural que requirieran articulaciones u otros despliegues.
- El avance de la sutura barbada a través de la aguja epidural no ofrecería resistencia se insertase esta con las espículas en la dirección en la que se insertara, puesto que la sutura estaría protegida por la pared de la aguja hasta su retirada, momento en el cual se «activaría» la solución.
- Era una solución económica que no requería desarrollos adicionales.

El equipo se emplazó en la siguiente fase del estudio a realizar pruebas de rendimiento que permitiesen adoptar o desechar esta línea de trabajo.

Una vez diseñado, fabricado y probado con prototipos funcionales el sistema de sellado de brechas durales desarrollado hasta la presente etapa, cabía destacar que, si bien los resultados de los ensayos no fueron del todo apropiados en algunos aspectos, en otros mostraron un comportamiento adecuado y tal vez más allá de lo esperado, dando un resultado global de la fase de trabajo satisfactorio.

El equipo de investigación consideró necesaria la adaptación del diseño para mejorar el rendimiento del sistema de sellado. Además, hubo consenso en que se debían mejorar las

condiciones de los ensayos, puesto que hasta la fecha nos fue imposible controlar la presión ejercida por el suero sobre las membranas a perforar.

4.6. Fase 6. Validación en entorno artificial estable del rendimiento del kit de sellado dural

Fruto de los resultados de las pruebas de funcionalidad efectuadas sobre el dispositivo desarrollado con anterioridad, surgió la necesidad de corregir o mejorar determinados aspectos del diseño del implante relacionados con el uso esperado del dispositivo. Asimismo, la adaptación del instrumental se consideraba necesaria dado que algunos de los supuestos adoptados en el proyecto anterior, como el uso de un material adhesivo para la fijación del implante, quedaron ya descartados para la presente validación y esto modifica, por tanto, el diseño del instrumental y su funcionamiento.

4.6.1. Objetivos

El objetivo principal de esta fase de trabajo fue llevar a cabo la validación del dispositivo de sellado dural desarrollado hasta la fecha en un entorno más realista. Para ello se plantea el desarrollo del mismo en dos fases:

- Fase I: Modificación del diseño del sistema de sellado dural.
- Fase II: Validación funcional del sistema de sellado dural.

Esto se tradujo en el establecimiento de los siguientes objetivos específicos:

- Adaptación y mejora del diseño actual desarrollado en el proyecto anterior.
- Validación del funcionamiento del instrumental asociado al dispositivo en condiciones simuladas que reprodujesen las condiciones de trabajo habitual.
- Validación del funcionamiento del dispositivo en un entorno que reprodujese las condiciones de presión fisiológica del líquido cefalorraquídeo.
- Validación en simulador de la capacidad del dispositivo de adoptar una posición estable y segura sobre la pared interna del saco tecal.

4.6.2. Material y método

La consecución de los anteriores objetivos se llevará a cabo a través de la realización de las siguientes tareas:

- Fase I (6.2.1.): Modificación del diseño del sistema de sellado dural y fabricación de kits:
 - Mejora del diseño del implante siguiendo las indicaciones del grupo clínico y de ingeniería expuestas en el último apartado.
 - Adaptación del diseño del instrumental.
 - Fabricación de prototipos funcionales de los componentes implantables.
 - Fabricación de prototipos del instrumental.
 - Elaboración de un recurso visual para facilitar la comprensión del uso del kit.
- Fase II (6.2.2.): Validación funcional del sistema de sellado dural:
 - Adquisición de un simulador de inyección epidural comercial.
 - Pruebas de validación de la transferencia y ajustes en consecuencia.
 - Pruebas de validación funcional del dispositivo.
 - Pruebas de validación del efecto de sellado y ajustes en consecuencia.
 - Pruebas de validación del nuevo sistema de fijación posterior.

4.6.2.1. Modificación del diseño y fabricación de kits

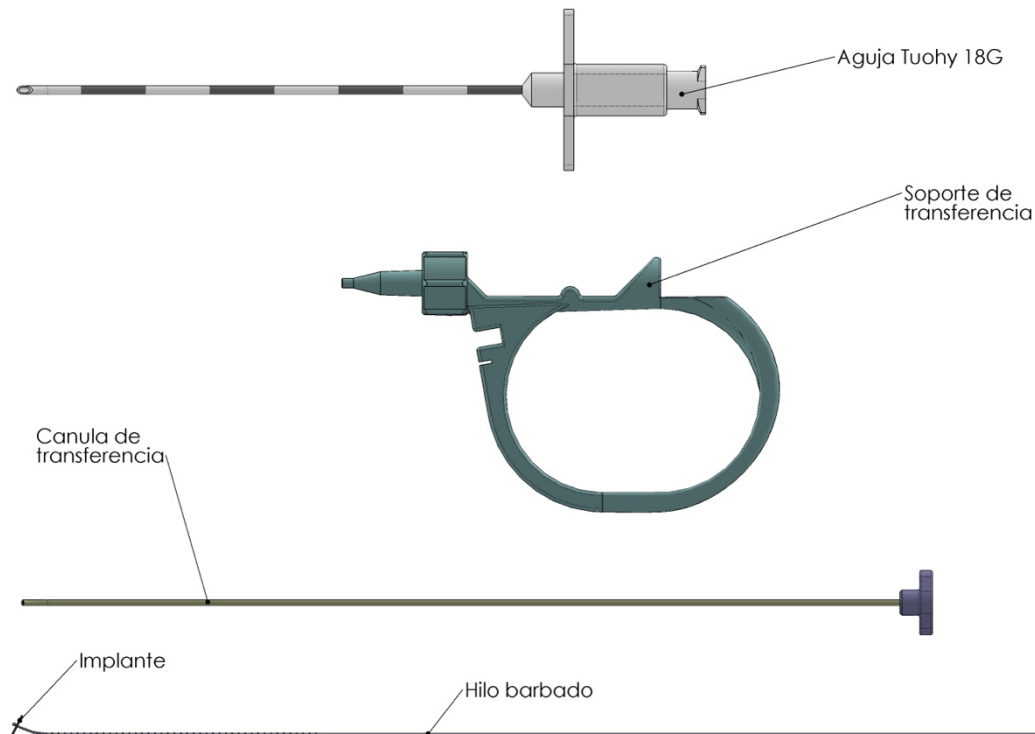


Figura 43. Elementos del sistema de sellado dural

A. Adaptación y mejora del diseño del implante

La parte implantable del dispositivo de sellado dural, tal y como quedó definida en el anterior desarrollo, estaba compuesta de los siguientes elementos:

- **Parche** que permitiese un sellado total o parcial de la punción.
- **Hilo** de guiado que permita la sujeción del implante y su control durante la transferencia y posterior colocación sobre la cara interior de la duramadre.

Uno de los aspectos que siempre generó más dudas y que no quedó resuelto en el desarrollo anterior era la posibilidad de que se produjese la migración intratecal del implante una vez colocado en su sitio de acción.

La solución a este problema pasaba por, en primer lugar, garantizar una buena fijación entre el hilo y el implante de forma que este último no se soltase y pudiese moverse de forma libre y descontrolada, y, en segundo lugar, disponer de un sistema de fijación

posterior que evitase que el hilo quedase suelto y el conjunto hilo + implante deslizase hacia el interior con las mismas consecuencias negativas.

Descartados el uso de nudos para la fijación implante-hilo y el de adhesivos para la fijación posterior, se optó por emplear medios mecánicos que garantizaran la fijación del implante *in situ*.

La solución propuesta consistía en sustituir el hilo de sutura actual por un hilo de sutura barbado que aportase esa fijación mecánica que se requería por medio de las barbas que presenta el hilo. Este tipo de hilo, utilizado en cirugía para el cierre de heridas sin la necesidad de atar nudos, permitiría al mismo anclarse a las estructuras anatómicas de la espalda (musculatura y ligamentos) de forma que evitase su migración distal y, dado que presentaría un tope físico en su extremo distal, evitaría que el implante se saliese del hilo y a su vez que se pudiera desplazar hacia el interior del saco tecal.



Figura 44. Detalle (modelado 3D) de la unión del implante con el hilo barbado

En esta fase del trabajo, el investigador principal realizó una búsqueda de soluciones entre las suturas comerciales que cumpliesen las características siguientes:

- disponibilidad inmediata,
- biocompatibilidad testada en humanos,
- calibre cercano a 4/0, e
- información disponible sobre su perfil de reabsorción o degradación, así como del perfil de pérdida de su fuerza tensora.

Para el proceso de adaptación del hilo de estabilización se partió de la idea inicial de utilizar una sutura reabsorbible comercial de diseño barbado según lo expuesto en la fase de trabajo anterior. Este diseño barbado montado en la orientación correcta junto con un tope físico en el extremo podría suponer el mecanismo de fijación posterior que impidiese que el

implante migrase al interior del saco tecal una vez colocado. Para la adaptación del hilo se desecharían el lazo y la aguja, se enhebraría por el agujero del centro del implante y se le practicaría el tope físico en el extremo del lado del implante. Dicho tope físico se realizó por deformación térmica sin contacto para que las propiedades mecánicas del hilo no se vieran comprometidas.



Figura 45. Visión lateral con microscopio electrónico a 50 aumentos de un hilo de sutura tras deformación térmica sin contacto en una de las pruebas realizadas

Visión lateral con microscopio electrónico a 50 aumentos de un hilo de sutura tras deformación térmica sin contacto en una de las pruebas realizadas

Tras la selección de la sutura, se realizaron una serie de pruebas adicionales de enhebrado y plegado del hilo sobre agujeros de diámetro conocido para definir con exactitud el diámetro del ojal que debía incluir el implante. Un diámetro insuficiente podría suponer un problema con el enhebrado del hilo durante el montaje, y un diámetro excesivo podría suponer una pérdida del implante si el tope se sale del ojal ante una posible situación de sobreten-sión del hilo.

Asimismo, se realizó el conformado del tope sobre la sutura elegida para comprobar la forma y tamaño del mismo que condicionarían la forma y ángulo del encaje en el diseño del implante visto en el apartado anterior. Fruto de estas pruebas surge el diseño final del ojal.

B. Adaptación del diseño del instrumental

El instrumental necesario para la correcta implantación del sistema de sellado dural quedó previamente definido como un dispositivo de transferencia formado por dos componentes diferenciados:

- **Soporte** de transferencia, sobre el que encajaría premontado el implante, listo para conectarse de forma rápida a la aguja epidural y ser usado.
- **Cánula** de transferencia, que empujaría al implante y lo transferiría del soporte a la cara interior de la duramadre a través de la aguja epidural.

El soporte de transferencia tenía dos funciones principales. La primera, servir de alojamiento del implante y de la cánula de transferencia constituyendo así el kit de sellado dural, listo para ser utilizado. La segunda, ser el elemento que conectase con la aguja y permitiese su aplicación transfiriendo el implante desde su interior y a través de la aguja hasta el interior del saco tecal, donde quedaría alojado en la cara interior de la duramadre-aracnoides.

Se realizó una lista de consideraciones que debían llevar a la reformulación del diseño del soporte de transferencia y el elemento o cánula de transferencia. El equipo de ingeniería del IBV y el investigador principal recopilaron las necesidades y las pusieron en común en dos sesiones de trabajo conjunto y correos electrónicos a demanda. Se tomaron como premisas para el diseño estos hechos:

- Quedó descartado el uso de sellante inyectado por un orificio lateral, por lo que no sería necesario contar con ningún apéndice ni aplicador en el soporte.
- La luz de la aguja Tuohy de 18 Gauge permanecería lógicamente invariable, pero seguía debiendo alojar tanto la sutura como la cánula de transferencia.
- Dado que el calibre de los hilos barbados que se pretendía emplear en adelante para asegurar la fijación correcta del implante era mayor al de las suturas no barbadas empleadas hasta el momento (Monosyn), la cánula de transferencia necesaria para la introducción del implante debería presentar un espesor de pared menor que la anterior.

- El soporte de transferencia debía contar con conexión Luer Lock de fácil roscado sobre el extremo proximal de la aguja Tuohy.
- El soporte de transferencia debía ser ligero y permitir su operabilidad con una única mano.
- Idealmente, la cánula de introducción tenía que ser flexible y poderse enrollar sobre el soporte de transferencia, para ser liberada de forma sencilla.
- Habría de buscarse una cánula de mayor rigidez que el catéter epidural probado hasta la fecha para permitir una mejor inserción del implante, pues el catéter podía doblarse y comprometer la transferencia. Para mejorar dicho aspecto se requería un material para la cánula que fuera **semirrígido**: con rigidez suficiente para que no se doblase durante la maniobra y fuera capaz de empujar al implante (esto es, ofrecer *pushability*), pero no tanta rigidez como para que no fuera capaz de deformarse en la salida curva de la aguja.

Dado que la idea del equipo era que el hilo de fiado pasase por el interior de la cánula, se requería una cánula de las siguientes dimensiones y características:

- **Diámetro exterior** entre 0,85-0,95 mm para que pasase por el interior de la aguja.
- **Diámetro interior** mayor que 0,5 mm para que pudiera pasar con holgura el hilo barbado por su interior.
- **Longitud** entre 150-200 mm para que fuera capaz de cubrir la longitud total del soporte de transferencia montado sobre la aguja epidural y permitiese guiar al implante hasta su extremo distal.
- De material biocompatible.
- Que permitiese pegar con algún tipo de adhesivo un tope en uno de sus extremos.

Se realizó una búsqueda de elementos comercializados que pudieran reunir dichas características y que pudieran adaptarse al dispositivo, pues la fabricación a medida de dicho elemento no era viable dentro del alcance de este proyecto. A los distintos materiales encontrados se les realizaron pruebas de validación para comprobar si cumplían o no con las especificaciones requeridas.

Se comprobó, entre otras cosas, si cumplían con los siguientes aspectos:

- El hilo barbado pasaba por el interior de la cánula con holgura.

- El elemento canulado pasaba sin dificultad por el interior de la aguja epidural, incluido el tramo final de la curva distal.
- Permitía ser deslizado sin atascarse a través del soporte y la aguja en su montaje conjunto.
- Era capaz de empujar un implante premontado en el soporte y realizar la transferencia a la aguja.

C. Fabricación de prototipos funcionales de los componentes implantables. Material y método

De cara a fabricar el implante en un material más aproximado a lo que podría ser el material final del mismo, se realizó la búsqueda de una lámina de PLA con un espesor de 0,2-0,3 mm que pudiera cortarse con la máquina de corte láser de que dispone el IBV.

Otra opción que se barajó fue la de fabricar la lámina de PLA con los medios disponibles en el IBV. Para ello se hizo uso de la máquina de impresión 3D con la tecnología de fusión de hilo FDM de la que dispone el centro y que permite la impresión de prototipos en PLA que, si bien no son ni material ni condiciones de fabricación óptimos, pudieran representar una buena aproximación al implante final.

En cuanto a la fabricación del hilo y su fijación al implante, se partió del hilo barbado descrito con anterioridad (V-Loc 90) al que se cercenó el extremo que incluía la aguja de sutura para disponer del extremo del hilo libre y enhebrarlo por el ojal del implante. Para la fijación del hilo al parche se optó por un tope mecánico obtenido mediante deformación térmica del extremo proximal del hilo de sutura tras su enhebrado en el implante.

D. Fabricación de prototipos del instrumental

La fabricación del soporte y de la pieza que hacía de tope en la cánula del sistema de transferencia se llevó a cabo con la máquina de fabricación aditiva disponible en el IBV que permite la fabricación de prototipos en sinterizado de poliamida (PA 2200).



Figura 46. PA 2200 de las instalaciones del IBV

La fabricación de la cánula de transferencia consistió en cortar los tubos de poliimida disponibles a la longitud adecuada para que el introductor empujase al implante justo tras salir por el extremo distal de la aguja de forma que no penetrase en exceso en el espacio intradural.

Una vez cortado, se fijó el tope trasero fabricado anteriormente en el extremo proximal de la cánula por medio de adhesivo de cianocrilato.

Después se trabajó entre el equipo de ingeniería del IBV y el investigador principal en un nuevo protocolo de montaje de kits completos para las pruebas de validación.

E. Creación de una infografía orientativa sobre el funcionamiento del kit. Material y método

El investigador principal redactó paso a paso el modo de aplicación de la solución diseñada teniendo en cuenta todos los avances que se habían realizado hasta la fecha y lo envió al equipo de ingeniería del IBV para que corroborasen su veracidad y realizasen una infografía de entre cinco y diez pasos. En ella se deberían plasmar todos los puntos de interés en la aplicación de la solución para facilitar una comprensión por parte de cualquier futuro aplicador del sistema.

4.6.2.2. Validación funcional del sistema de sellado dural

Una vez listo el kit de sellado dural, se llevó a cabo la validación de su funcionamiento en un modelo *in vitro*. Para ello se optó por el uso de un simulador de punción dural comercial, el cual reproduciese no solo la anatomía humana, sino también ciertos aspectos más funcionales como la resistencia de la duramadre o la simulación de la presión del líquido cefalorraquídeo.

A. Adquisición y adaptación de un simulador de punción epidural. Material y método

Para la elección del simulador de inyección epidural a utilizar en las pruebas de validación funcional se requería partir de una base en la que se definiese el simulador ideal. Esta definición vino dada por la necesidad específica de testar el comportamiento del kit de sellado dural y por la experiencia adquirida por el grupo de investigación hasta la fecha.

El grupo clínico y el equipo de ingeniería mantuvieron una reunión inicial, presencial, en las instalaciones del IBV. El grupo clínico estaba integrado por el investigador principal y un anestesta veterinario con experiencia en el campo de la experimentación en ovinos. Por parte del equipo de ingeniería, los mismos participantes que en las fases previas asistieron a la primera reunión y siguientes.

Estas fueron las características que por consenso se determinó que debía tener el simulador:

- Se requería poder simular el procedimiento de anestesia en neuroeje (raquianestesia) y ofrecer una resistencia realista de la duramadre-aracnoides, se avanzase hacia ella con o sin cánula de guiado.
- Debía contar con un simulador de saco dural lleno de líquido cefalorraquídeo con velocidad realista de salida de fluido gracias al ajuste de exceso de presión.
- Debía permitir la cateterización del espacio epidural.
- Se precisaba de un sistema cerrado de agua.
- Debía disponer de repuestos de cada pieza por si se requerían en sucesivas fases de prueba.
- Su limpieza y desinfección habían de ser sencillas.
- Su precio debía ser asequible.

Para reproducir las distintas estructuras anatómicas, el simulador debería contar con los siguientes elementos:

- Una pieza de silicona que emulase la piel del paciente.
- Un bloque de silicona o similar que representase los ligamentos y tejidos intervertebrales y ofreciese resistencia a ser perforado.
- Una pieza (plástica o de metal) que reprodujese las apófisis espinosas con su orientación anatómica.
- Un tubo o contenedor flexible conectado a un circuito de agua con exceso de presión que simulase el saco tecal.

Se realizó una búsqueda no sistemática en el mercado que llevó a cabo el equipo de ingeniería.

Tras la elección del simulador que había de adquirirse, se estudiaron sus instrucciones para obtener un protocolo de uso estándar y proponer las modificaciones necesarias que ayudasen a acercar su funcionamiento al deseable en los experimentos que se pretendía realizar.

Las posteriores adaptaciones del sistema se llevaron a cabo en las instalaciones del IBV según se relata en el apartado «5. Resultados».

B. Pruebas de validación de la transferencia y ajustes. Material y método

Se realizaron dos pruebas de transferencia del implante hacia una aguja epidural sobre modelo ovino, en cadáver. Se emplearon dos ovejas adultas, recién sacrificadas (según estándares de buenas prácticas y bienestar animal) en el Hospital Veterinario CEU-Cardenal Herrera. Las ovejas fueron sacrificadas tras servir a otros estudios, por lo que se obtuvo consentimiento por parte de los responsables de dichos estudios para emplear los cadáveres con fines de investigación. Cada prueba consistió en tres intentos de punción dural intencionada (medial, con la oveja en decúbito esternal y accediendo a través del espacio L6-S1), roscado y transferencia del kit premontado de sellado dural. Tras la perforación de la membrana dural con la aguja Tuohy de 18 Gauge y la comprobación de la salida de LCR, se roscó el extremo del soporte de transferencia a la conexión Luer Lock de la aguja epidural. Con el dedo pulgar de la mano derecha, se empujó la cánula introductora hasta notar el tope de esta (señal de que se había efectuado el despliegue del parche en el saco tecal). En ese momento se retiró todo el sistema. En este caso, se traccionó el hilo de sutura hasta notar su salida de forma intencionada (aplicando una fuerza de tracción excesiva) para valorar la fuerza de unión del hilo al implante, buscando después causas de fracaso de esta unión.

En función de los resultados, expuestos en el apartado correspondiente, se realizó un análisis detallado de los problemas y un ajuste del sistema de transferencia para asegurar su rendimiento en las fases de estudio *in vivo*.

C. Pruebas de validación funcional del dispositivo. Material y método

Si bien las pruebas realizadas en fases previas del presente trabajo de investigación mostraron un funcionamiento correcto del instrumental con una transferencia y posterior despliegue del implante adecuados, las condiciones en que se hicieron las pruebas y los cambios en el diseño del instrumental y del implante requerían validar de nuevo su funcionalidad.

Con el fin de garantizar la fiabilidad de la técnica de transferencia e implantación se plantearon las siguientes pruebas en un entorno más realista, teniendo en cuenta factores como la existencia de una presión de líquido adecuada en el interior del modelo y la existencia de un elemento que simulase las estructuras anatómicas posteriores y el efecto de estas sobre la estabilidad de la aguja una vez realizada la punción.

Se empleó el dispositivo de simulación de punciones epidurales 3B Scientific tras las modificaciones explicitadas en el apartado 4.6.3.2 de este trabajo.

Para poder observar el funcionamiento del dispositivo dentro del saco tecal una vez montados todos los elementos del simulador (tubo con membrana, bloque de silicona y piel), se contó con la incorporación al modelo de una cámara endoscópica impermeable con acceso al espacio que simulaba el saco tecal tanto por vía posterior como por vía interna a través de la apertura superior por donde se alimentaba de agua al sistema.



Figura 47. Montaje adaptado del simulador de punción epidural para la realización de pruebas de validación funcional

Una vez preparados el simulador y un kit de sellado epidural se procedió a la perforación de la membrana sintética montada en el simulador con una aguja epidural Tuohy de 18 Gauge. Se realizaron cinco test con membrana sintética y dos test con el montaje realizado con membrana cadavérica humana. Tras comprobar la fuga de líquido a través de la parte posterior de la aguja se ensambló el instrumental con el implante premontado y se hizo la transferencia del implante hasta que el tope de la cánula contactó con la parte trasera del soporte, momento en que teóricamente el implante había llegado al final de la aguja y se había desplegado en el interior del saco tecal. Se recogieron imágenes estáticas y videos del procedimiento para analizar el proceso de avance y despliegue del parche intratecalmente y para tomar decisiones en relación con posibles cambios en el sistema de montaje antes de los test en animal vivo. Se exponen las imágenes conseguidas y los resultados en el apartado correspondiente.

D. Pruebas de validación del efecto de sellado y ajustes. Material y método

Para valorar la capacidad de sellado del sistema, se reprodujo el montaje anterior del simulador adaptado y se dispuso de 20 muestras de membranas sintéticas de látex y otros tantos kits de sellado dural para realizar pruebas de punción y de medición de pérdida volumétrica en el modelo. Puesto que en las fechas de las pruebas iniciales no se disponía de la cánula definitiva para usar el hilo barbado, los ensayos se hicieron con la sutura Monosyn 4/0.

El ensayo fue planteado en tres fases:

- *Fase I.* Punción de la membrana sintética con la aguja epidural y retirada de la misma para medir el caudal de fuga durante dos minutos. La prueba se hizo sin el bloque de silicona trasero para facilitar el proceso de recogida del líquido fugado y poder observar directamente el proceso. Se realizaron siete repeticiones.
- *Fase II.* Punción de la membrana sintética en las condiciones anteriores, transferencia del implante al interior del tubo y retirada del instrumental. De esta forma el implante quedaba en el interior del conducto y el hilo quedaba suelto a través de la punción realizada. Se realizó de nuevo la prueba sin el bloque posterior de silicona y se midió el caudal perdido en cinco repeticiones.
- *Fase III.* Punción con el simulador completo, transferencia y retirada del instrumental más ligera tensión del hilo para que el implante quedase en posición y el hilo se quedase fijado al bloque de silicona que en esta subfase sí estaba incorporado. Se realizaron cinco repeticiones y se midió la pérdida de líquido tras retirar el bloque.

E. Pruebas de validación del nuevo sistema de fijación posterior. Material y método

Para valorar la funcionalidad del sistema de fijación posterior desarrollado, que basaba su funcionamiento en el efecto físico de las espículas del hilo barbado y su adherencia a los tejidos interespinosos, se realizó un montaje del simulador adaptado completo (con bloque posterior de silicona incluido) y se procedió a simular una punción accidental y la aplicación del kit de sellado dural. Dado que la obtención de la cánula definitiva que permitía el uso del hilo barbado no estuvo lista hasta las pruebas en que se valoraron las membranas dures de origen humano, fue en dichas pruebas en las que se validó el comportamiento del hilo barbado y del sistema de fijación posterior.

Una vez realizada la transferencia y colocación del implante *in situ* y retirado el instrumental, se aplicó una fuerza manual de tracción ligera al hilo de sutura hasta notar que el implante ofrecía cierta resistencia, señal de que este estaba colocado de forma correcta y apoyado sobre la cara interna del complejo meníngeo. Se realizaron cuatro repeticiones con cuatro kits diferentes.

4.6.3. Resultados

4.6.3.1. Modificación del diseño y fabricación de kits

A. Adaptación y mejora del diseño del implante. Resultados

En una primera búsqueda, se encontraron tres alternativas en el mercado que se disponen a continuación:




	V-Loc™ 90 Absorbable Device	V-Loc™ 180 Absorbable Device	V-Loc™ PBT Non-Absorbable Device
Tensile Strength	7 days, 90%; 14 days, 75%	7 days, 80%; 14 days, 75%; 21 days, 65%	Permanent
Absorption Profile	90-110 days	180 days	Permanent
Procedural Applications	Soft tissue approximation where support is required consistent with the absorption profile	Soft tissue approximation where support is required consistent with the absorption profile	Soft tissue approximation
Color	Undyed, violet 	Clear, green 	Blue 
Composition	Glycolide, dioxanone and trimethylene carbonate	Copolymer of glycolic acid and trimethylene carbonate	Polybutester
Indications	V-Loc™ 90 device and V-Loc™ 180 absorbable wound closure devices are indicated for soft tissue approximation where use of an absorbable suture is appropriate.		V-Loc™ PBT non-absorbable wound closure devices are indicated for soft tissue approximation.

Figura 48. Comparativa de características de las suturas V-Loc® consideradas. Extraído de yessfarma.com

El hilo barbado que se decidió utilizar en el presente estudio fue el V-Loc 90 Absorbable Device de la marca Covidien (Medtronic®). Se escogió trabajar con calibre 4/0 (1.5 metric) por cuestión de tamaño, pues un calibre 3/0 implicaría tener que practicar un ojal en el implante de mayor diámetro, y dado que el ancho del implante no podía crecer (al estar condicionado por el tamaño de la aguja en cuya luz se había de plegar), esto supondría una pérdida de resistencia mecánica del implante con el consiguiente riesgo de rotura del implante y de descontrol de las partes en el interior del saco tecal.

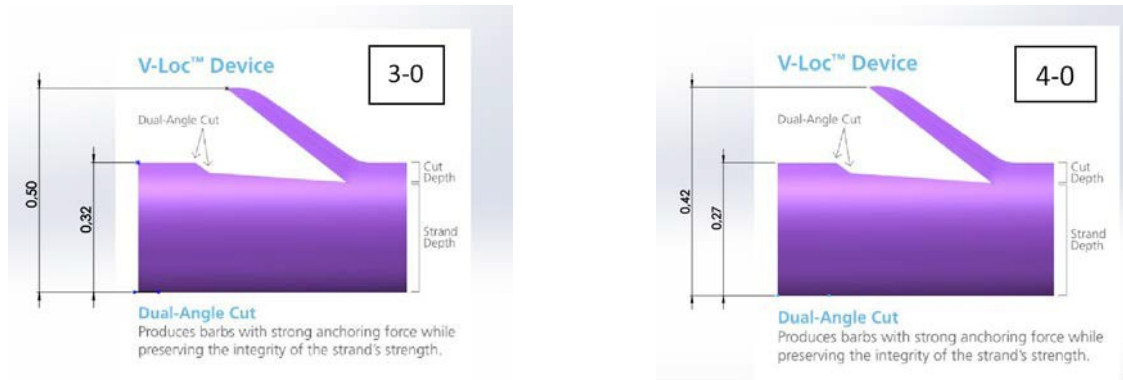


Figura 49. Detalle de las diferencias entre las suturas V-Loc 3-0 y 4-0 a efectos de diámetro

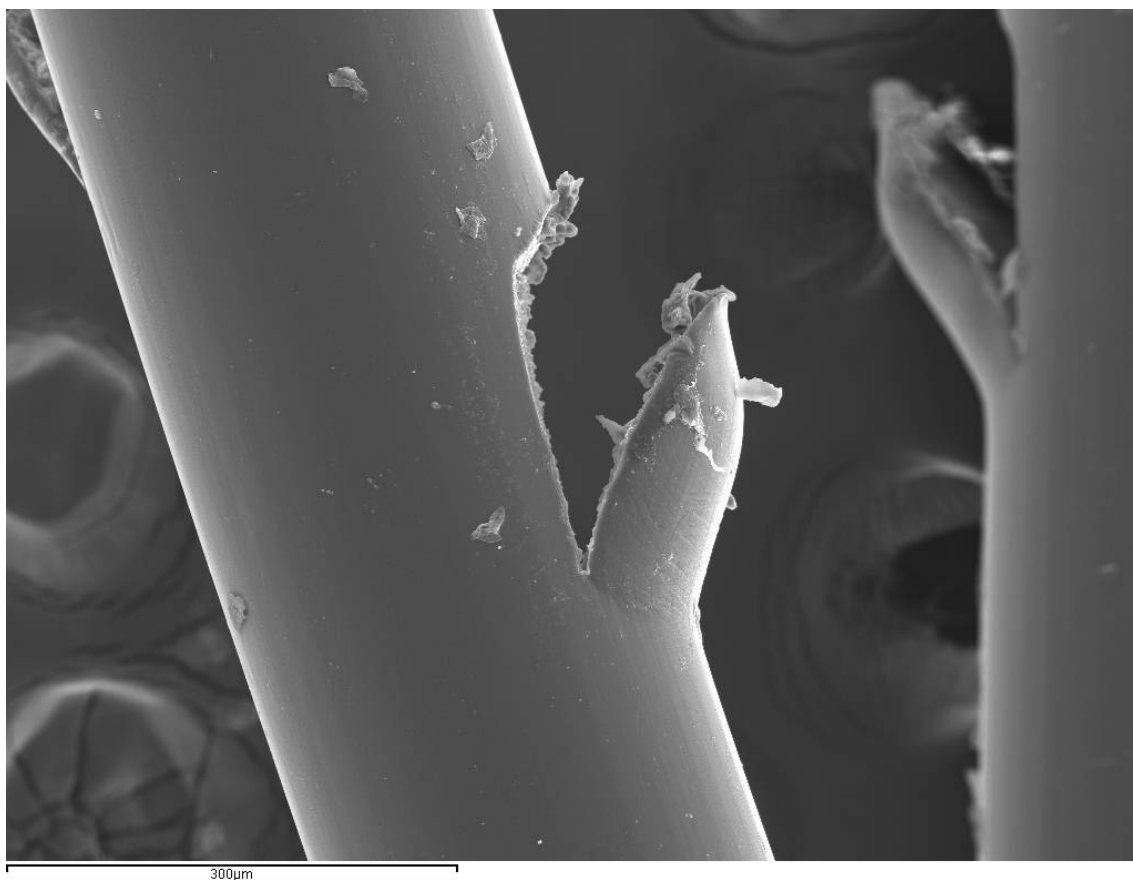


Figura 50. Imagen de microscopía electrónica a 150 aumentos del hilo barbado elegido para el montaje del kit, mostrando con detalle una de las espículas o barbas que le aportan agarre

Las dimensiones del implante quedaban condicionadas por esta elección. Se fabricaría un implante de similares medidas a las planteadas en fases anteriores del proyecto, si bien se requería un ligero aumento del diámetro del ojal debido a que, a pesar de estar ambos etiquetados comercialmente como 4/0, el calibre del núcleo del hilo barbado escogido era

mayor que el diámetro de la sutura monofilar Monosyn usada anteriormente, según se puede ver en la siguiente tabla comparativa.

Tabla 4. Comparativa de calibres entre tipos de sutura barbada considerados

Tipo de sutura	Monosyn – B. Braun 4/0 / 1.5 metric	V-Loc 90 – Covidien 3/0 / 2 metric	V-Loc 90 – Covidien 4/0 / 1.5 metric
Calibre teórico según USP (mm)	0,15-0,199	0,2-0,249	0,15-0,199
Calibre del hilo sin espículas (mm) (medición directa con calibre)	0,21	0,32	0,27
Dimensión total del hilo (mm) (medición aproximada con calibre)	0,21	0,5	0,42

El implante final quedaba por lo tanto definido con unas dimensiones de $3,5 \times 0,85$ mm, con un ojal central de diámetro de 0,3 mm y un espesor de material de 0,25 mm.

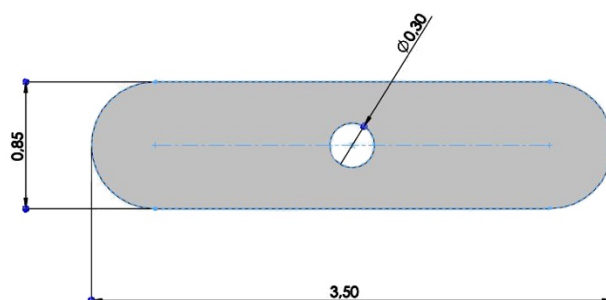


Figura 51. Medidas del implante diseñado

En una segunda búsqueda se encontraron soluciones de otros proveedores según se ve en la siguiente tabla; se probaron diferentes calibres y referencias de sutura para decidir cuál se adaptaba mejor a las necesidades de tamaño y funcionalidad del hilo y del tope conformado.

Tabla 5. Distintas opciones de sutura barbada probadas

N.º	Marca	Referencia	Modelo	Calibre	Longitud	Tipo	Resultado
1	Covidien	VLOCM003	V-Loc 90	4/0	15	Barbado	OK
2	Covidien	VLOCL003	V-Loc 180	4/0	15	Barbado	Descartada
3	Covidien	VLOCL013	V-Loc 180	4/0	30	Barbado	Descartada
4	MBA-QUILL	YA-2002Q	Monoderm	5/0	14 + 14	Barbado bidireccional	Descartada

La opción 1, probada ya en el prototipo anterior, si bien era una opción válida podía ser un poco corta en longitud si se pretendía que sobrara hilo por la parte posterior de la cánula de transferencia para poder tirar de él y por tanto del implante durante la transferencia.

La opción 2, de igual longitud y calibre teórico que la opción 1, se descartó por el hecho de tener un tiempo de degradación mayor, cosa que *a priori* no suponía ninguna ventaja, y por tener un calibre real ligeramente mayor que la opción 1. Este mayor tamaño suponía una mayor fricción del hilo dentro de la cánula que dificultaba el montaje de los componentes del kit. Adicionalmente, dicha fricción excesiva entre el hilo y la cánula podía suponer una salida accidental del implante del punto de punción o incluso la rotura de la duramadre durante la retirada del instrumental (ver paso 5).

La opción 3, similar a la 2 pero de mayor longitud, si bien descartada ya por el calibre como la opción anterior, sirvió para comprobar que una longitud mayor de sutura podía ser un problema a la hora de retirar el instrumental (ver paso 5). El hecho de tener las barbas en dirección opuesta a la salida de la cánula (ver pasos 5 y 6) suponía un punto de enganche entre las barbas y el extremo proximal de la cánula, produciendo un efecto similar al descrito anteriormente con la fricción del hilo y pudiendo comprometer la posición del implante sobre la pared anterior de la duramadre.

La opción 4 de calibre 5/0 se descartó por ser de un calibre insuficiente. El tamaño de las barbas daba un menor agarre y el tope conformado en su extremo para sujetar el implante no tenía suficiente tamaño y podía escurrirse por el ojal con una ligera tensión del hilo.

La sutura de la marca **Covidien**, modelo **V-Loc 90**, calibre **4/0** y longitud **15 mm** resultó, por tanto, ser la opción más adecuada para nuestros propósitos.

B. Adaptación del diseño del instrumental. Resultados

El soporte de transferencia del que se partía, si bien tenía un comportamiento adecuado en algunos test de validación, roscaba bien y permitía una transferencia correcta del implante, resultaba poco práctico de utilizar. El roscado del soporte sobre la aguja implicaba girar todo el kit alrededor de la aguja y esta maniobra a realizar con una mano mientras se sujetaba la aguja con la otra era poco ergonómica. Por ello se decidió centrar la adaptación de dicho elemento en el aspecto de la usabilidad, siempre que no restara funcionalidad.

El rediseño del soporte consistió en dividir el soporte monobloque inicial en dos partes: una base fija con una punta cónica que encaja sobre la aguja y que sirviese de alojamiento del implante y de la cánula, y una parte móvil, a modo de tuerca, que roscase sobre la aguja y que empujase la base hasta que el cono encajara en la aguja y quedaran las dos partes solidarias. Este diseño permitiría roscar el soporte a la aguja con el índice y el pulgar

mientras se sujetaba el soporte con los dedos corazón y anular sin necesidad de girar todo el kit, permitiendo una aplicación cómoda.

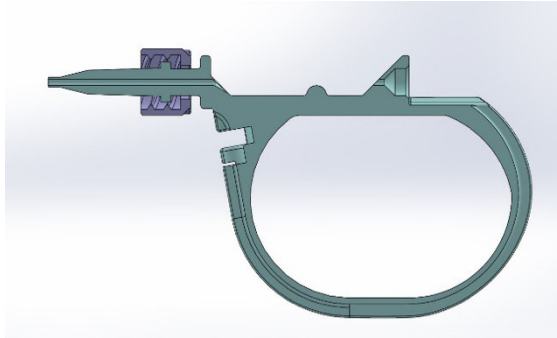


Figura 52. Rediseño del soporte de transferencia en dos partes mejorando la ergonomía



Figura 53. Soporte roscado sobre la aguja e inicio de la transferencia del implante

Para una transferencia correcta del implante, el soporte se roscaría sobre el terminal trasero de la aguja según lo descrito y, tras desanclar el tope trasero de la cánula, se empujaría esta con el dedo a través del soporte de forma que empujase consigo al implante premontado y se transfiriese al interior de la aguja. La transferencia continuaría hasta que el tope de la cánula colisionase con la parte trasera del soporte, síntoma de que la punta de la cánula ya habría llegado al final de la aguja y el implante debería haber salido al espacio tecal y haberse desplegado. En este punto se desenroscaría de nuevo el soporte y se retiraría.

El nuevo diseño del elemento de transferencia (soporte + cánula) preveía el uso de un elemento canulado más flexible que, montado sobre el dispositivo, permitía a su vez llevar premontado el implante + hilo en su interior de forma que quedase listo para su uso de forma rápida una vez se requiriese.

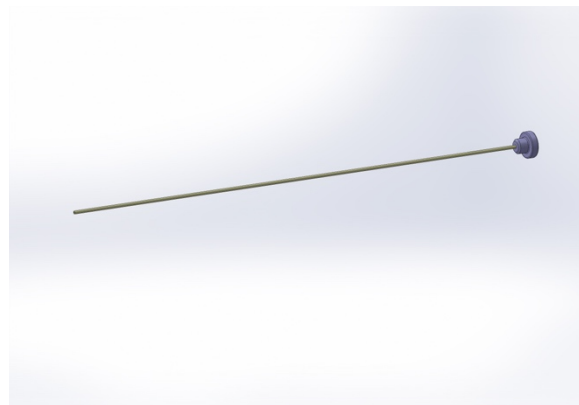
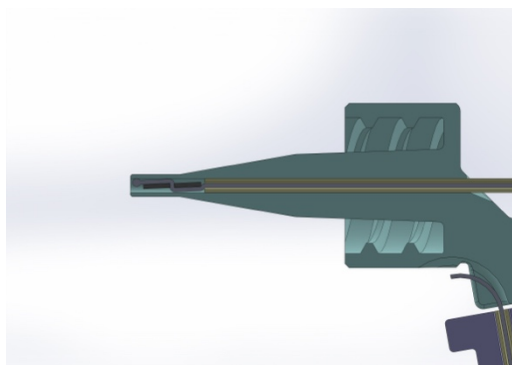


Figura 54. Izquierda. Detalle en visión con corte lateral del soporte de transferencia alojando plegados la cánula, el implante y el hilo barbado. Derecha: cánula de transferencia

El sistema diseñado se montaría sobre la parte trasera de la aguja, una vez detectada la punción accidental de la duramadre, y se procedería a la transferencia del implante hacia el interior del saco tecal. Para asegurar que el implante quedase bien colocado, el elemento canulado disponía de un tope trasero situado a una longitud invariable; de esta manera, el operador habría de empujar la cánula de transferencia hasta notar que el tope impidiese avanzar más, sinónimo de que el implante ya estaría en posición desplegada intratecalmente y no más allá de lo estrictamente requerido (evitando así potenciales daños neurológicos en cordones posteriores medulares). En ese momento, una ligera tracción del hilo haría que el implante quedase situado sobre la cara interna del complejo meníngeo.

El instrumental diseñado poseía una posición previa de premontado en la que el kit estaría listo para ser usado, pero el tope del elemento canulado estaba fijado sobre el propio soporte de forma que no se pudiera soltar espontáneamente. Una vez roscado el soporte sobre la aguja sería cuando se liberase de forma intencionada por parte del operador para poder realizar la transferencia deslizándola con el dedo sobre el resalte que poseía el soporte, haciendo avanzar a la misma hacia el interior de la aguja para hacer la transferencia.

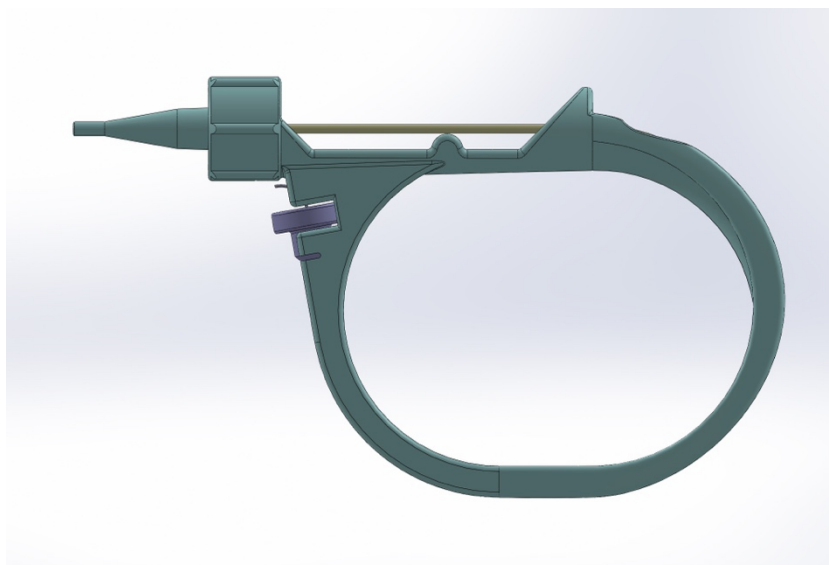


Figura 55. Modelado 3D del kit montado, visión lateral

En el proceso de búsqueda de materiales adecuados para la confección de la cánula de transferencia, se descartaron tanto materiales muy blandos que pudieran doblarse (como el catéter epidural usado hasta la fecha) como materiales demasiado rígidos (como cánulas metálicas, incapaces de realizar la transferencia hasta el final de la aguja por quedarse atascadas en la curvatura distal de la misma).

Si bien existen catéteres de uso médico con un diámetro exterior adecuado, como el que se utiliza con la misma aguja durante la aplicación de la anestesia epidural, dichos tubos suelen

tener paredes de mayor espesor y no cumplen con el diámetro interior suficiente para que pase el hilo de sutura. Otros tubos encontrados que cumplían con los dos requisitos dimensionales tenían el inconveniente de no tener suficiente consistencia para empujar al implante y se doblaban fácilmente.

La dificultad de encontrar un material adecuado para realizar la validación del sistema se incrementó por el hecho de que el diámetro exterior del hilo barbado es mayor que el del hilo monofilar, y, puesto que el tamaño de la aguja epidural era fijo, la cánula necesaria para la introducción del implante debía presentar un espesor de pared menor aún que el que se había requerido hasta la fecha. Realizadas pruebas de introducir el hilo barbado V-Loc 90 por la luz que dejaba el catéter epidural se comprobó que, aunque inicialmente entraba bien, cuando el tramo de hilo introducido superaba unos centímetros este se quedaba trabado y no avanzaba.

Los materiales testados y los motivos de su descarte/aceptación fueron los que se describen en el cuadro inferior:

N.º	Nombre comercial	Resultado validación
1	Catéter Perifix 20G	El diámetro interior es pequeño, el barbado no entra
2	Catéter Arteriofix 22G/80	Longitud insuficiente (80 mm) para cubrir aguja + soporte
3	Catéter Arteriofix 20G/160	El diámetro exterior es grande, no entra en la aguja
4	HHS Hollow tube	El diámetro interior es pequeño, el barbado se traba
5	Pebax 7233	El diámetro exterior es grande, no entra en la aguja
6	Pebax 72D	No tiene suficiente rigidez, se dobla al empujar
7	HDPE	No tiene suficiente rigidez, se dobla al empujar
8	PTFE	Material muy endeble, se dobla fácilmente
9	Polyimide	Cumple dimensiones y rigidez aparente

Tras la búsqueda de proveedores de *medical tubing* se encontró un tipo de tubos fabricados en poliimida que daban buen resultado a nivel dimensional y de *pushability*; ahora bien, la referencia inicial encontrada colapsaba ante un doblado excesivo, efecto *kink*, estrangulándose así la luz de paso del tubo. Tras contactar con el proveedor **Nordon Medical**, se encontró una referencia de tubo comercial (**Ref.: 142-0010**) que cumplía con todos los requisitos dimensionales y de funcionalidad al estar fabricado con varias capas de material. Así, el material elegido disponía de una malla trenzada interior que permitía el plegado sin colapsar, dos capas adyacentes de poliimida que le conferían *pushability* al tubo, una capa interior de teflón con bajo coeficiente de fricción para que deslizase el hilo barbado, y una capa exterior que permitía el pegado del tope.

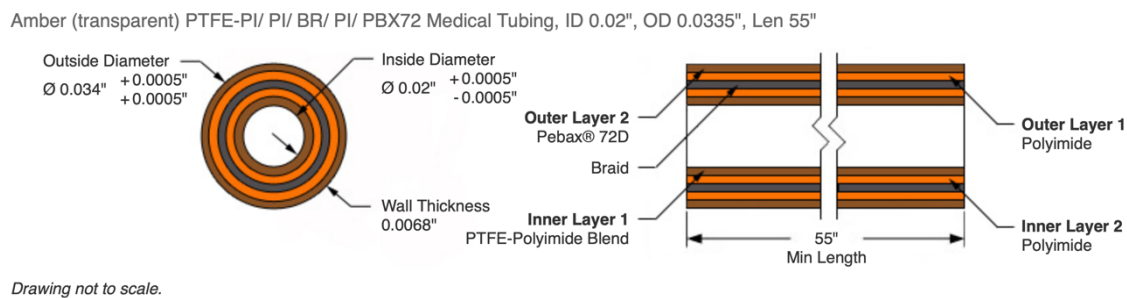


Figura 56. Sección del tubo elegido para conformar la cánula de transferencia. Extraída de < <https://www.nordsonmedical.com> >

Se calculó la longitud del tubo adecuada para que, una vez pegado el tope trasero sobre la cánula, supusiera un tope físico que marcara el final de la transferencia del dispositivo cuando la punta de la cánula asomase ligeramente por la punta curvada de la aguja, señal de que el implante ya estaba transferido por completo y quedaba libre para desplegarse en el interior del canal medular.

La muestra de material que cumplió con los requisitos para ser utilizada como cánula del dispositivo de transferencia tenía las siguientes características:

- Material: poliimida, de uso en catéteres y otros dispositivos médicos.
- Diámetro exterior de 0,813 mm: cabía holgadamente en la aguja por la que el catéter de 0,85 mm ya pasaba con facilidad.
- Diámetro interior de 0,66 mm: suficiente para que pasase sin problemas el hilo barbado de diámetro aproximado con espículas de 0,5 mm.
- Longitud mayor que 150 mm, que requería que se cortase para las pruebas.
- Rigidez suficiente para tener capacidad de empuje sin doblarse, definida como *pushability*.

El origen de las muestras de poliimida se remontó a la participación del investigador principal en un programa de mentoría del Massachusetts Institute of Technology. Uno de los mentores, el profesor Josh Tolkoff, fue quien remitió las muestras según especificaciones pasadas por el IBV.

C. Fabricación de prototipos funcionales de los componentes implantables. Resultados

La búsqueda entre opciones disponibles en el mercado de una lámina de PLA de espesor entre 0,2 y 0,3 mm no obtuvo un resultado válido. Los materiales comerciales encontrados, o bien tenían un espesor demasiado fino tipo film (0,05 mm) o eran demasiado gruesos (>1 mm), con lo que esta opción se descartó.

Tras varios intentos de ajustar los parámetros de fabricación para conseguir una lámina de espesor de 0,3 mm, el empleo de la tecnología disponible en el IBV para fabricar una lámina de PLA según lo referenciado en el apartado 6.2.1.3. arrojó resultados subóptimos: se obtuvieron resultados no del todo satisfactorios pues la lámina presentaba un aspecto irregular y un espesor de capa no uniforme que podrían condicionar el comportamiento mecánico del implante posteriormente cortado.

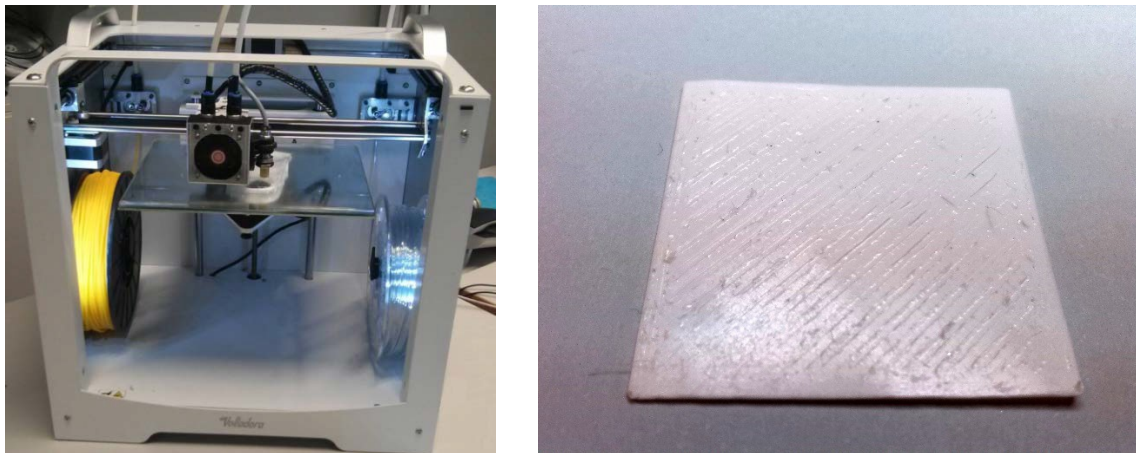


Figura 57. Fabricación de láminas de PLA para prototipado en instalaciones de IBV

En cualquier caso, el resultado obtenido se llevó a la máquina de corte láser para explorar las posibilidades de corte del material con dicha tecnología y el resultado obtenido tampoco fue óptimo. A pesar del ajuste controlado de la potencia y velocidad de corte de la máquina, las muestras obtenidas no presentaron la suficiente calidad como para plantearse su uso en las pruebas de validación.

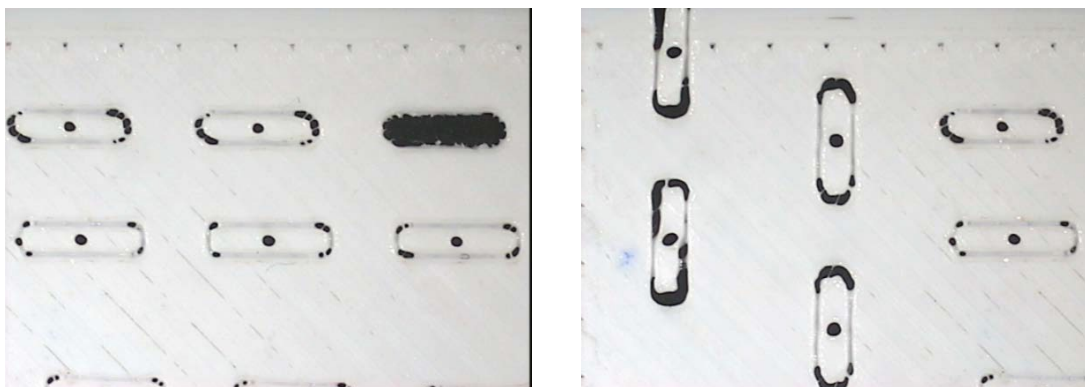


Figura 58. Pruebas de corte de implantes para prototipado en IBV

Es por ello que el implante a utilizar en las pruebas de validación se obtuvo como en fases anteriores del presente trabajo de investigación: a partir de una lámina de polipropileno de

espesor de 0,27 mm recortada por medio de la máquina de corte láser para adaptarla a las dimensiones requeridas.

No hubo incidencias en el pase del hilo por el ojal del implante. El hilo utilizado de longitud teórica de 15 cm quedó un tanto corto para cubrir la longitud de la aguja y el dispositivo de transferencia. El siguiente tamaño según catálogo, de 230 mm de longitud, probablemente hubiera sido más adecuado para las pruebas posteriores.

La zona de contacto entre el hilo barbado V-Loc 90 y el parche se pudo conformar sin incidencias: la deformación térmica generó un tope suficiente para evitar la salida del parche por su extremo distal. A pesar de no haber probado la resistencia mecánica de este montaje, dio la impresión de que la resistencia del implante a salirse del hilo era al menos igual, o incluso superior, a la resistencia proporcionada por el nudo usado en fases anteriores.



Figura 59. Detalle de la zona de contacto entre hilo barbado y parche tras deformación térmica

D. Fabricación de prototipos del instrumental. Resultados

Todas las piezas separadamente se pudieron confeccionar sin incidencias, quedando reflejadas en las imágenes que se adjuntan.

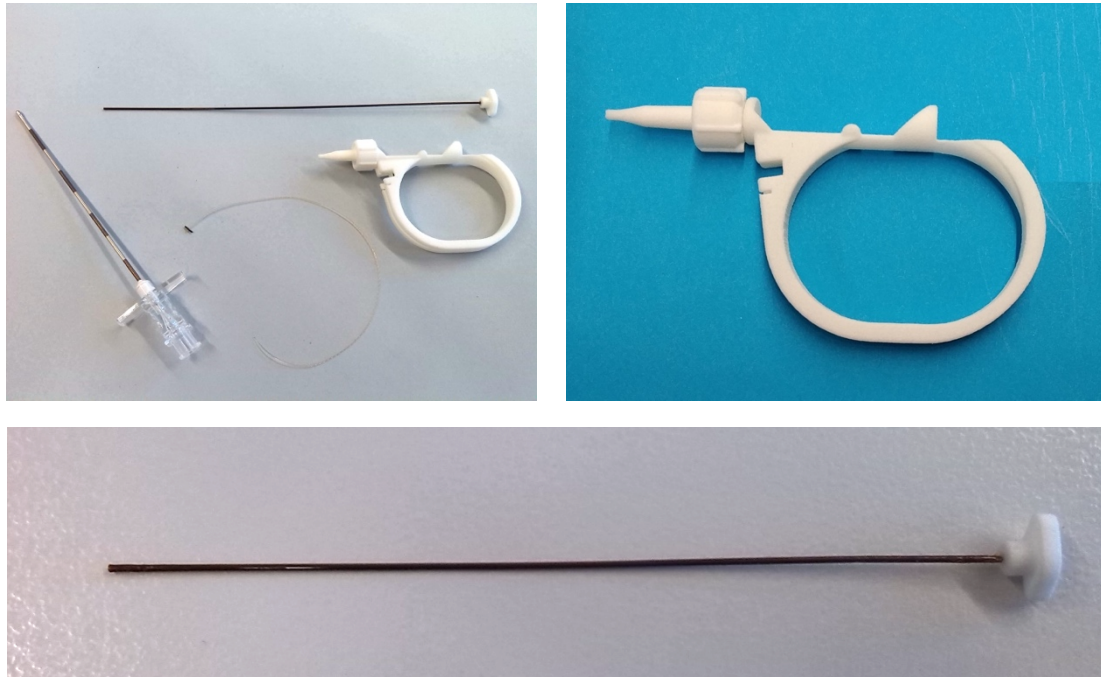


Figura 60. Elementos del kit prototipado

El protocolo de montaje del kit completo para dejarlo listo para las pruebas de validación quedó reflejado en los siguientes pasos:

- Pasar el extremo libre de la cánula de transferencia por la parte proximal del soporte de transferencia de forma que la punta de la misma asomase ligeramente por el extremo distal del soporte.
- Insertar el extremo libre del hilo barbado, preparado ya con el implante, por la punta de la cánula de transferencia. Introducir prácticamente todo el hilo a falta de dejar el extremo distal con el implante libre para que se pudiera manipular.
- Retirar ligeramente la cánula insertada en el soporte para dejar paso al montaje del implante en la punta del soporte de forma que quedase este premontado y listo para ser transferido cuando se empujase la cánula.
- A fin de que la cánula no se moviese accidentalmente durante la manipulación previa del kit y el implante se saliese de forma prematura, el tope trasero de la cánula debería colocarse en el alojamiento habilitado para la ocasión en el soporte de transferencia.

El resultado del seguimiento de estos pasos en material no estéril queda expuesto en la siguiente imagen.

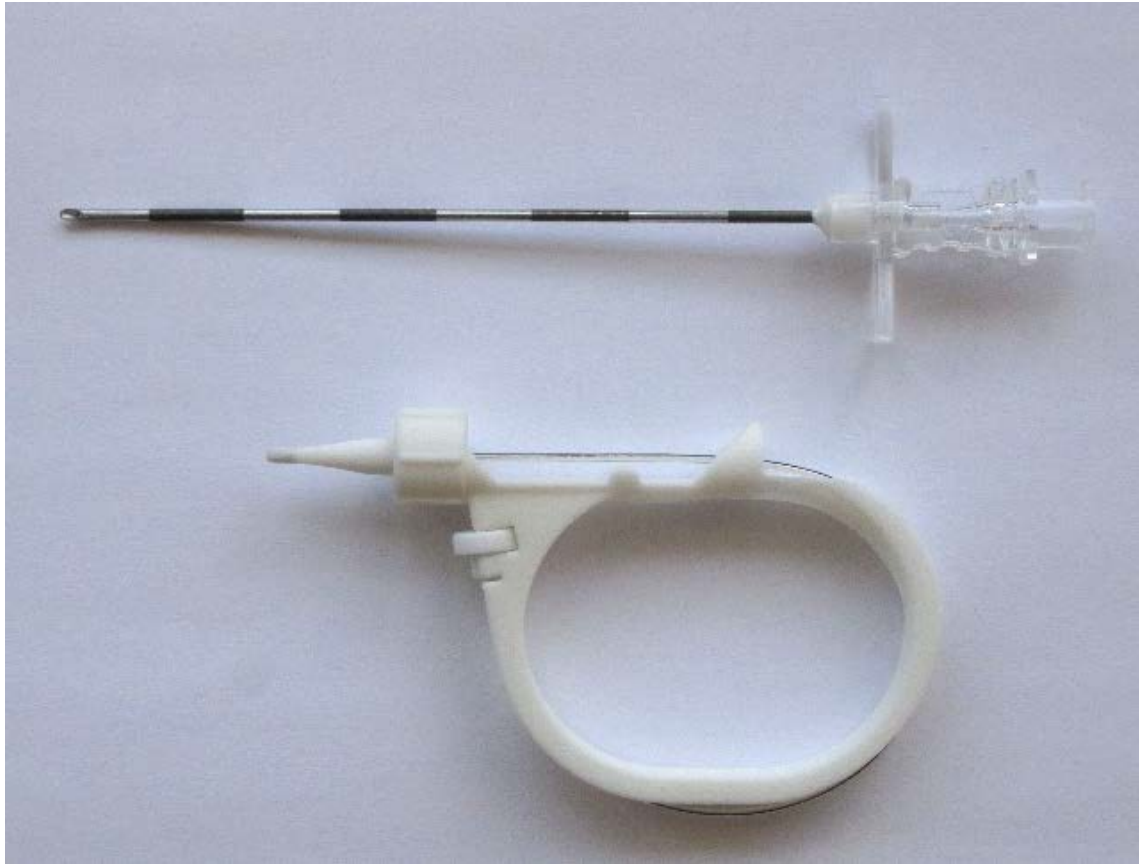


Figura 61. Kit montado y aguja Tuohy

E. Creación de una infografía orientativa sobre el funcionamiento del kit. Resultados

El resultado de esta tarea puede verse a continuación como una secuencia de 6 pasos a seguir en la aplicación en posteriores experimentos del kit diseñado y ensamblado.

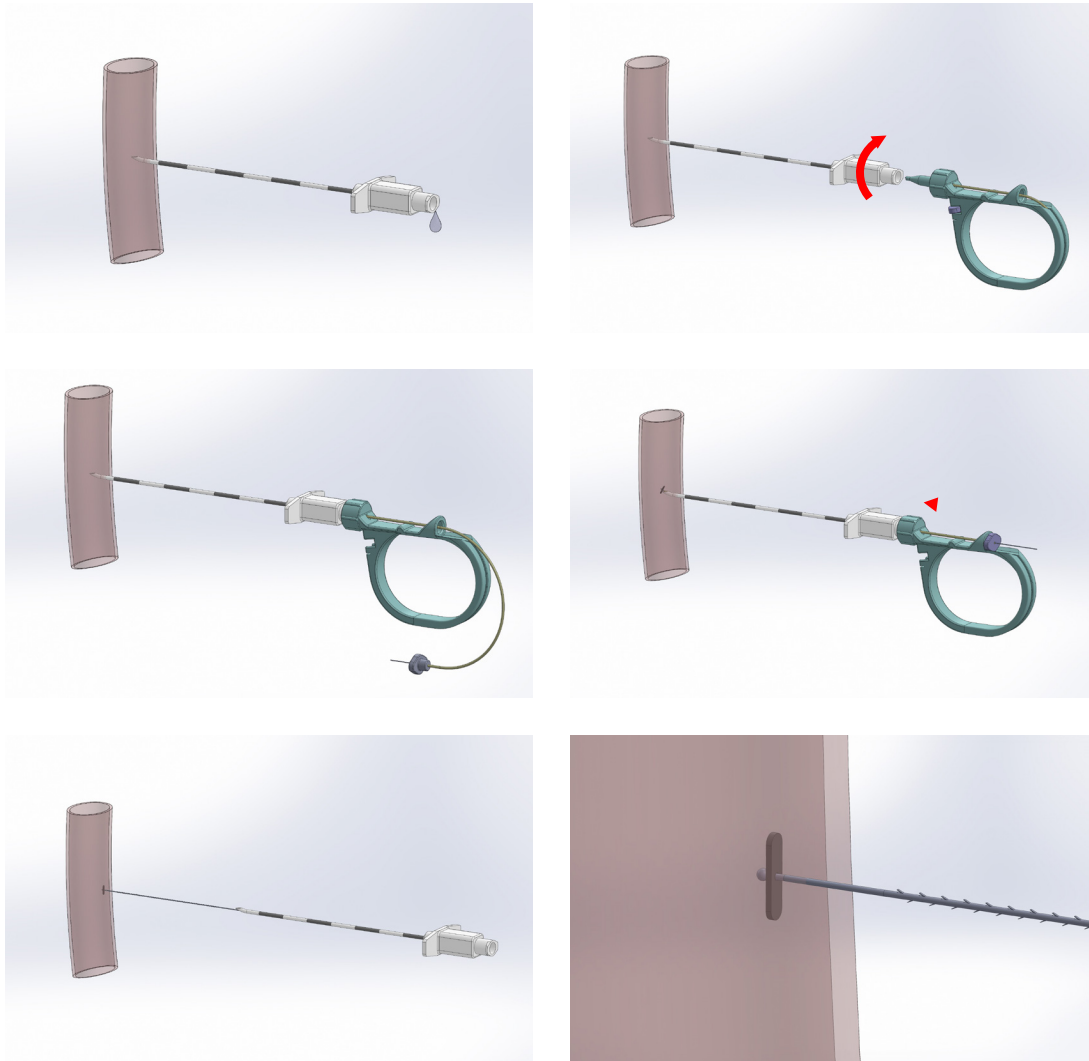


Figura 62. Secuencia de 6 pasos a seguir en la aplicación en posteriores experimentos del kit diseñado y ensamblado. Nota: Paso 1: detección de la punción accidental de la duramadre; paso 2: acoplamiento del sistema de sellado sobre la aguja; paso 3: liberación del tope de la cánula e inicio del proceso de transferencia; paso 4: transferencia y despliegue del implante; paso 5: retirada del instrumental; paso 6: posición final del implante sobre la cara anterior de la duramadre

4.6.3.2. Resultados de la validación funcional del sistema de sellado dural

A. Adquisición y adaptación de un simulador de punción epidural. Resultados

Se encontraron cuatro dispositivos comerciales analizando las funcionalidades de los mismos y su idoneidad para el tipo de pruebas que se desea realizar:

- Kyoto Kagaku modelo MW3.
- 3B Scientific modelo P61.
- LifeForm LF01036U.
- Limbs&Things modelo 61001.

Pueden consultarse sus especificaciones técnicas en el Anexo 6.

Descartados algunos modelos por aspectos como el hecho de no permitir el uso de agujas mayores que 20 Gauge, no poder controlar la presión del líquido que simula el LCR o ser demasiado complejo requiriendo alimentación eléctrica y procesos de calibración periódicos, se optó por adquirir el simulador que cumplió las especificaciones en mayor medida, el «maniquí de inyección epidural y espinal – Modelo P61» distribuido por 3B Scientific®.



Figura 63. Simulador P61 para punciones epidurales

El funcionamiento normal del simulador consistía básicamente en llenar el circuito de agua con un exceso de presión controlable y pinchar con la aguja Tuohy a través de la piel y el bloque de silicona. Al pretender simular una punción «húmeda» o una perforación accidental de la duramadre se debía atravesar también el tubo espinal ocasionando la

consecuente salida de líquido del interior de la aguja epidural, síntoma de que su punta estaría dentro del saco tecal artificial.

Tras adquirir un simulador y comprobar el normal funcionamiento del sistema, se observaron dos circunstancias que invalidaban el uso del simulador a efectos de la validación que se pretendía realizar en el estudio de investigación:

- Si bien se podía simular un cierto nivel de presión de LCR, este no se podía mantener en el tiempo por el hecho de disponer de un sistema de entrada de aire a un nivel por encima del tubo espinal. Si el proceso de sellado dural se alargaba en el tiempo, el dispositivo se vaciaba de líquido y por tanto no se podía demostrar la capacidad de sellado del sistema a validar.
- El tubo espinal se autosellaba cuando se retiraba la aguja. Esto implicaba no poder validar si el sistema de sellado dural era o no efectivo sobre un sistema que en el momento en que se retiraba la aguja ya no perdía líquido.

Dadas estas dos circunstancias relevantes, se decidió adaptar el simulador actual para resolver dichos problemas.

Para resolver el problema del tubo que se autosellaba se sustituyó este tubo por otro de material plástico de mayor consistencia al que se le había practicado un agujero y sobre el que se pegaba una membrana sintética que simularía la duramadre. Esta membrana se fijó por medio de un soporte plástico fabricado ex profeso que permitía una unión estanca del conjunto y que presentaba una ventana. Esta ventana facilitaba realizar la simulación de la punción dural sin el riesgo de que la membrana se desprendiese del tubo.

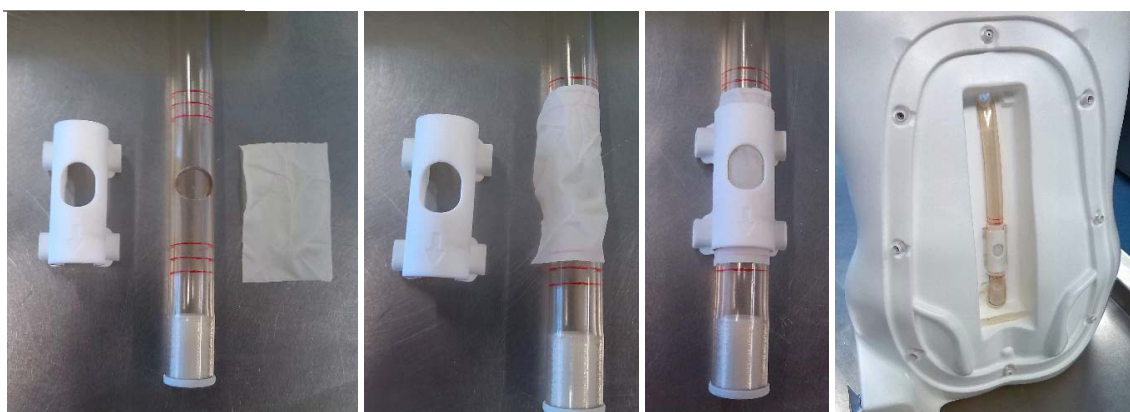


Figura 64. proceso de fabricación de la ventana para acople de membrana sintética destinada a pruebas de punción en simulador

La membrana sintética a utilizar para la simulación de la duramadre debía tener un comportamiento realista, permitiendo su perforación con una aguja epidural y presentando una

pérdida de líquido al retirar la aguja equivalente a la que se daría en una punción dural accidental con aguja Tuohy de 18 Gauge. Para poder disponer de un modelo que permitiera realizar la validación en condiciones realistas se habían de cumplir dos premisas: en primer lugar, que se pudiera mantener de forma constante una presión de LCR (agua, en este caso), y, por otra parte, que la membrana seleccionada tuviese un comportamiento frente a la punción similar a la duramadre.

Para mantener en el tiempo la presión del sistema se decidió alimentar con agua de forma continua el montaje del tubo adaptado en el simulador de manera que la pérdida de líquido producida a través de la punción se viese compensada por un aporte de agua mayor que la pérdida. Para garantizar que el nivel de presión se mantuviese constante y no se sobrepasase por el aporte continuo de agua, se efectuó un agujero en el tubo a una altura de 18 cm respecto de la zona de punción de forma que el agua, una vez alcanzado dicho nivel, salía por un tubo aliviadero y la presión por tanto se mantenía constante. Dicha altura suponía una presión de 180 mm de H₂O, valor que se encontraba dentro de un rango de presión del LCR considerado fisiológico. Según algunos autores [35] [36], la presión del LCR en postura de decúbito lateral puede variar dentro de un rango de valores de 60-180 mm de H₂O o entre valores de 50-150 mm de H₂O.

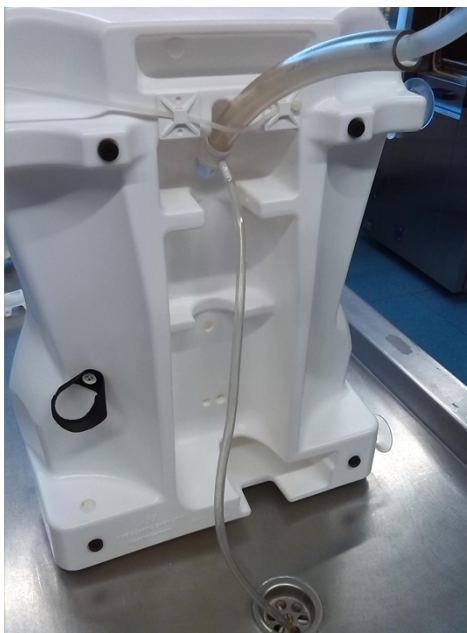


Figura 65. Detalle del montaje para mantenimiento de presión en la zona de punción

La otra necesidad a tener en cuenta para garantizar la idoneidad del montaje para ensayos subsiguientes consistía en asegurar un comportamiento de la membrana sintética similar al que ofrecía la duramadre en condiciones reales. Para ello, se realizó el montaje anterior y se procedió a montar en él membranas de diferentes materiales y perforarlas con una aguja

epidural Tuohy de 18 Gauge a fin de cuantificar la pérdida volumétrica de líquido a presión constante una vez retirada la aguja. Se probaron distintos materiales como el nitrilo, el látex, la parafina, silicona de diversos espesores e incluso una lámina de DuraGen®, solución comercial utilizada en la reparación de la duramadre, para valorar su idoneidad.

Tras la punción y retirada de la aguja en los distintos materiales se midió el volumen de pérdida y se calculó la tasa de fuga en ml/min. El material que tuvo una tasa de pérdida de volumen más próxima a valores fisiológicos obtenidos de bibliografía [37] fue un látex de espesor de 0,1 mm con una tasa de pérdida aproximada de 5 ml/min, por lo que fue elegido como material a utilizar en las pruebas de validación.

Una vez controlados los dos aspectos planteados con anterioridad, se disponía de un simulador adaptado listo para realizar las pruebas de validación pertinentes.

B. Pruebas de validación de la transferencia y ajustes. Resultados

En la primera prueba, los tres implantes aplicados sobre el montaje tras la punción dural se transfirieron bien y tras la retirada del instrumental quedaron aparentemente bien fijados, pues al tirar del hilo se notaba la tensión del implante sobre la pared dural. Para comprobar la correcta fijación se tiró del hilo hasta su fracaso y se pudo comprobar la estabilidad del tope del hilo pues el implante salió deformado, pero sin separarse del tope, síntoma de que la duramadre sintética ofreció resistencia suficiente para que el implante se deformara y que el tope aguantó sin romperse.

Durante la prueba se comprobó que la retirada del instrumental era mejor realizarla en dos pasos, primero desenroscando el soporte de la aguja y quitando soporte y cánula deslizando todo hacia atrás de forma suave para no tirar demasiado del hilo que quedaba anclado a la espalda al sacar la cánula, para, posteriormente en un segundo paso, retirar la aguja. Esto añade un punto de seguridad al proceso, pues si al sacar el soporte y la cánula se diera el caso de que saliese también el implante, por no haberse desplegado de forma correcta o por otros motivos, la aguja no habría perdido la referencia (su punta seguiría quedando intratecal) y se podría aplicar un segundo kit.

En una segunda prueba realizada en otra sesión los resultados fueron distintos. Tras la punción dural inicial se procedió a aplicar el kit de sellado, pero la transferencia del implante no se pudo realizar por problemas de atasco del implante en el paso desde la punta del soporte al alojamiento de la aguja. Tras tres fallos consecutivos se probó con otra aguja y también falló. Al final, de un total de nueve kits probados solo se consiguió la transferencia en cuatro de ellos.

Para analizar lo sucedido se reprodujo el proceso de aplicación en condiciones controladas, sobre montaje idéntico al empleado en el experimento anterior, sin oveja y con el mismo equipo médico que tuvo los problemas (con el investigador principal como ejecutor de la técnica en todos los casos). Se utilizaron kits nuevos fabricados y esterilizados en las mismas condiciones y otros en los que se alteraron algunas variables de fabricación y montaje de los mismos que llevan al límite el dispositivo e intentan forzar el fallo para detectar así la mayor cantidad posible de riesgos y buscarles soluciones antes de que apareciesen en una cirugía *in vivo*.

Fruto del análisis en detalle de dichas pruebas se detectaron cuatro posibles riesgos de fallo:

Riesgo 1: si durante la aplicación del kit sobre la aguja la tuerca del soporte no se roscaba hasta el final, la punta del soporte de transferencia no profundizaba lo suficiente y quedaba un hueco entre dicha punta y el alojamiento cónico de entrada a la aguja donde el implante podía llegar a desplegarse parcialmente. Si esto sucedía, el implante podría tender a desplegarse y perder el contacto trasero con la punta de la cánula que lo empujaba de forma que dicha cánula empujase desde el centro del implante con este girado, causando así el atasco del implante en dicho tramo.

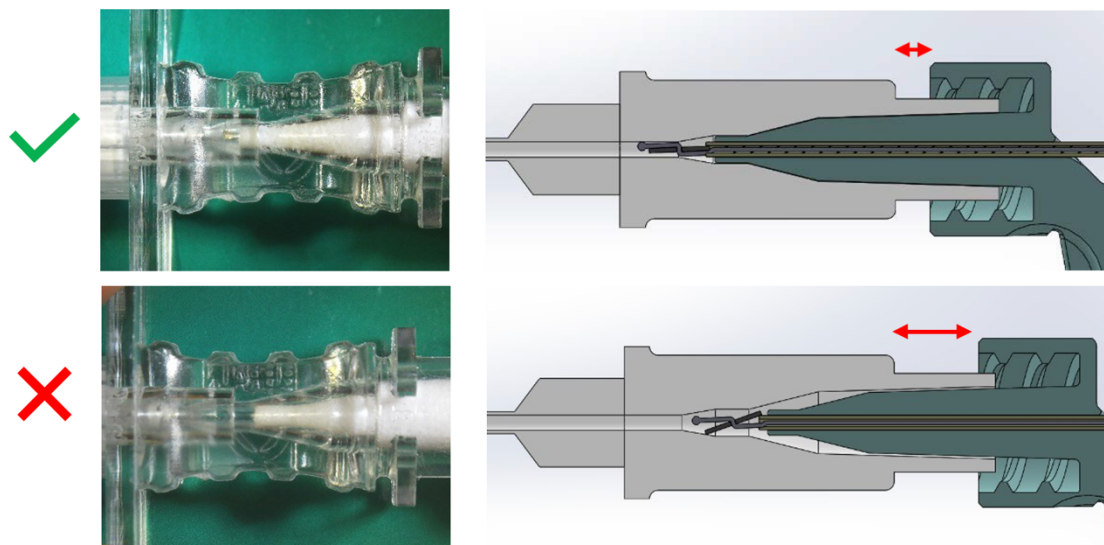


Figura 66. Montaje correcto/incorrecto del soporte de transferencia sobre la aguja

Riesgo 2: el kit de sellado dural estaba diseñado para una aguja tipo **Tuohy** de calibre **18 Gauge** de la marca B. Braun que se utiliza en muchas intervenciones de punción epidural. Si se utilizaba cualquier otra aguja, la longitud, calibre o forma del cono interior no garantizaban que el kit de sellado dural funcionase, por lo que no se debía utilizar ninguna aguja distinta a la prevista para la aplicación del kit.

Riesgo 3: si durante la fabricación del kit el tope que se conformaba en la punta del hilo de estabilización se realizaba de un tamaño superior a los 0,8 mm de diámetro, se corría el riesgo de que no pasase por la luz de la aguja y no se pudiera hacer la transferencia. Este tamaño de 0,8 mm era el mismo que tenía el parche de ancho y era el límite dimensional para un paso holgado por el interior de la aguja.

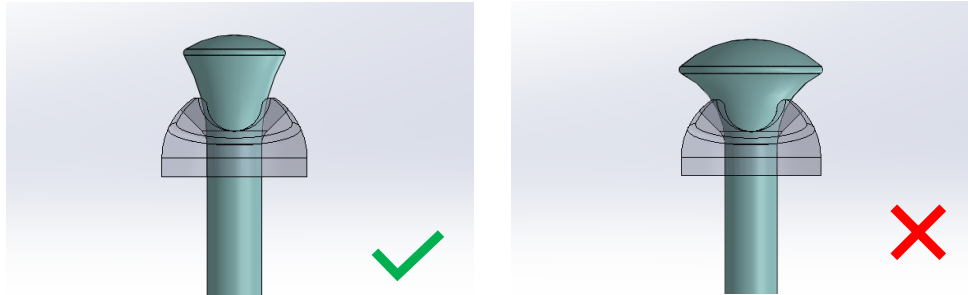


Figura 67. Tamaño de tope adecuado (izquierda) y excesivo (derecha)

Riesgo 4: si durante el premontaje del implante en la punta del soporte de transferencia el tope del hilo coincidía con el implante, el tamaño de ambos componentes superaba el diámetro de la luz de paso de la aguja y se corría el riesgo de que se atascasen al intentar pasar las dos partes a la vez.

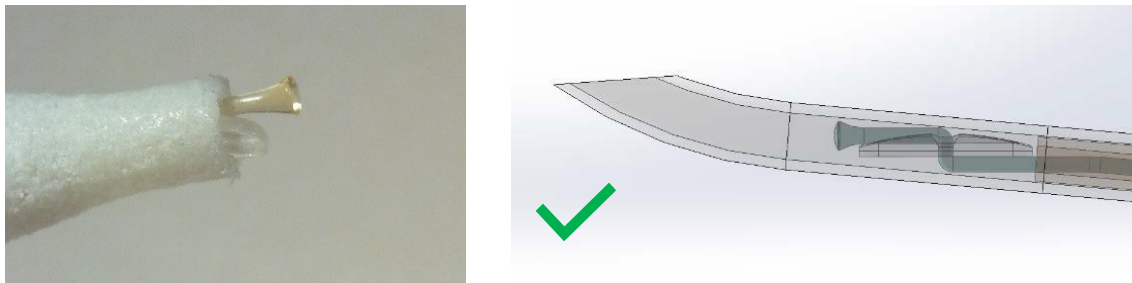


Figura 68. Montaje correcto

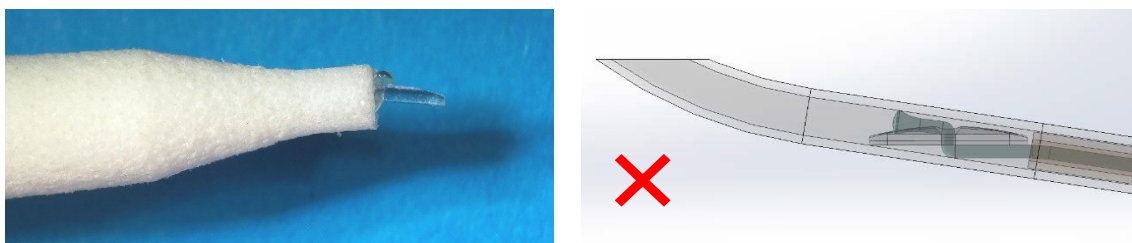


Figura 69. Montaje incorrecto

Tras el análisis de todos los riesgos detectados y el planteamiento de las soluciones (Tabla 6), se fabricó una nueva serie del kit siguiendo las recomendaciones de fabricación y montaje planteadas.

Esta nueva tanda de kits de sellado dural se llevó a irradiar según el método previamente validado y se entregó al equipo médico para que realizasen las pruebas *in vivo* con ovejas. Este proceso se explica en sucesivos apartados.

Tabla 6. Posibles riesgos de fallo y soluciones propuestas

	Riesgo	Tipo	Solución
1	Roscado insuficiente del soporte	Aplicación	Roscar el soporte hasta el final
2	Uso de aguja inadecuada	Concepto	Usar solo la aguja prevista
3	Tamaño excesivo del tope del hilo	Fabricación	Fabricar el tope <0,8 mm de diámetro
4	Montaje de hilo e implante solapados	Montaje	Montar de forma correcta el parche

C. Pruebas de validación funcional del dispositivo. Resultados

En las cinco intervenciones realizadas se comprobó que el proceso de transferencia se completó de forma correcta y la presión interior no afectó al funcionamiento normal y esperado del sistema.

Tras cinco repeticiones se pudo comprobar que, si la cánula no llegaba a introducirse hasta el final, se corría el riesgo de que el implante no saliese de la aguja. Si esto sucedía (se realizó a propósito en dos ocasiones), la retirada de la cánula daría lugar a una retirada completa del hilo + implante, derivando en un fallo del sistema debido al incorrecto bloqueo de la brecha dural.

Una forma de comprobar que el implante estaba bien desplegado era tirar del hilo de sutura una vez llegados al punto en que la cánula había entrado del todo. De esta forma, si el implante no se había desplegado, al tirar del hilo se podía sacar de la aguja en sentido inverso al de la transferencia y podríamos, una vez comprobado que el sistema había fallado, desechar dicho kit de sellado para, sin sacar la aguja de su lugar (con la perforación dural canalizada), repetir el proceso con un kit de sellado nuevo. Si al tirar del hilo en el punto anterior observábamos cierta resistencia y no había desplazamiento del hilo, podíamos suponer que el implante se había desplegado y estaba haciendo tope con el extremo distal de la cánula, momento en que se podría retirar el instrumental.

En las membranas durales de origen cadavérico humano, se realizaron nuevas pruebas en las que dichas muestras se montaron en el simulador adaptado según el procedimiento

mostrado en 4.6.3.2 y se ensayaron siguiendo el procedimiento anterior. En cuanto al proceso de transferencia y despliegue del sistema, el resultado fue similar al obtenido con la membrana sintética. Ahora bien, en cuanto al proceso de punción y a la resistencia aparente de penetración de ambas membranas sí se observaron diferencias. La resistencia que ofreció la membrana cadavérica a ser penetrada, al menos a nivel cualitativo, fue menor y presentó un recorrido de la aguja hasta conseguir atravesar la membrana sensiblemente más corto. Además, en el instante último antes de que la aguja perforase la membrana sintética, esta presentaba un efecto de estiramiento elástico o de «tienda de campaña» (Figura 70) que no se produjo con la membrana dural ensayada.

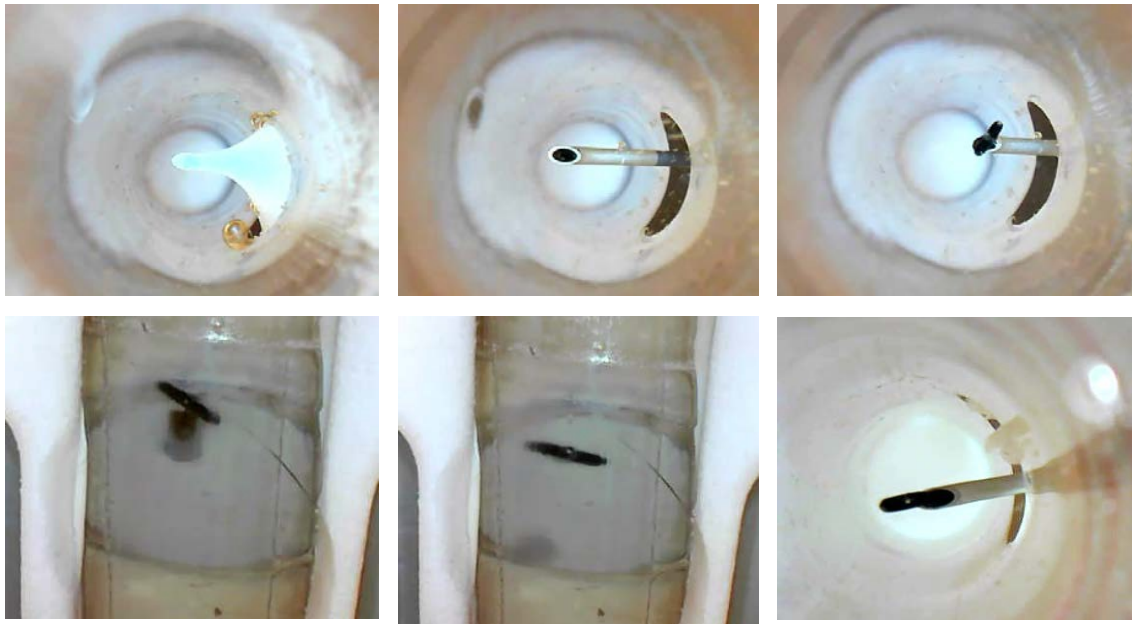


Figura 70. Secuencia de fotogramas obtenidos en la grabación de los ensayos sobre membrana sintética, mostrando la perforación (con efecto «tienda de campaña»), inserción de la aguja y posterior salida por su punta del parche. Nota: Se muestran tanto visiones desde arriba como las obtenidas desde detrás del montaje

D. Pruebas de validación del efecto de sellado y ajustes. Resultados



Figura 71. Secuencia de retirada de aguja y soporte de transferencia tras punción sobre membrana sintética

Los resultados obtenidos de las mediciones de pérdida de líquido en cada una de las fases se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Resultados obtenidos de las mediciones de pérdida de líquido en cada una de las fases

Prueba/repeticiones	Pérdida (ml/min)
Fase I (n = 7)	$11,36 \pm 9,27$
Fase II (n = 5)	$13,54 \pm 8,31$
Fase III (n = 5)	$9,86 \pm 6,36$

Si bien muestran cierta tendencia en el comportamiento del sistema, también muestran una gran variabilidad y a nivel cuantitativo no son significativos.

Ahora bien, a nivel cualitativo se pudieron apreciar ciertos comportamientos significativos dignos de reseñar.

Fase I. Se comprobó que la forma en que se montaba y se fijaba la membrana sobre el tubo con el soporte plástico podía afectar al resultado de las pruebas. Se comprobó que, si la membrana sintética quedaba muy tensa en la dirección longitudinal del tubo, como la punción de la aguja producía una apertura en la membrana perpendicular a la dirección de la tensión, esta se abría más de lo normal provocando pérdidas de volumen mayores. En cambio, si la membrana se montaba con tensión en la dirección paralela a la perforación, parecía que el sistema se cerraba y podía llegar a producir pérdidas de líquido de menor volumen. Siendo conscientes de tal circunstancia, se tomó especial cuidado en reproducir de manera fiel los pasos seguidos para realizar el montaje de cada una de las muestras a ensayar.

Fase II. Aunque los datos comparativos de pérdida de volumen entre las fases I y II no fueron significativos, sí se observaron ciertas diferencias a nivel cualitativo. La salida de líquido en la fase I tras la retirada de la aguja se produjo en la mayoría de los casos en forma de chorro. En cambio, en la fase II, en la que al retirar la aguja el hilo de sutura quedaba intercalado en la punción, la salida de líquido se producía fluyendo longitudinalmente como un régimen laminar a lo largo del hilo. Además, aunque solo sea a nivel cualitativo, parecía que el volumen de la pérdida pudiera ser mayor por el hecho de quedar el hilo abriendo el paso.

Una vez realizadas las mediciones, se probó a tirar del hilo de forma manual apreciándose de forma visual la disposición del sistema a mitigar la pérdida de líquido. En algunos casos se consiguió una orientación del implante que sellaba o reducía la fuga y, en otros, si la tensión era excesiva el implante podía llegar a salirse. Dado que el bloque de silicona no

estaba colocado y no existía un control adecuado de la tensión ejercida sobre el hilo, se desestimó realizar la medición de la pérdida de volumen en estas condiciones.

Fase III. A pesar de no disponer para las pruebas iniciales de la cánula con las dimensiones adecuadas que nos permitieran utilizar el hilo barbado, se realizaron las pruebas con el simulador completo usando hilo de sutura Monosyn 4/0 sujeto a un implante con las dimensiones definitivas y empujado por medio de un catéter epidural. En dichas pruebas se apreció que, aunque el hilo no era barbado, sí que ofrecía cierta resistencia a ser desplazado una vez insertado en el bloque LOR que simula las estructuras y tejidos interespinosos. En tales circunstancias se procedió a medir el volumen de pérdida de agua transcurridos dos minutos. Cabe destacar la dificultad de tener que retirar el bloque de forma rápida y controlada para parar o desviar la fuga de líquido posterior y no alterar así el resultado de la medición. En los resultados de la prueba, aunque no es concluyente ni significativa, se apreció una ligera disminución de pérdida de líquido.

4.6.3.3. Pruebas de validación del nuevo sistema de fijación posterior. Resultados

En los cuatro casos en los que se realizó la tracción del hilo de sutura barbada, no hubo ningún síntoma de que el complejo formado por hilo y parche se moviera ni que pudiera deslizarse. En ese momento se procedió a tirar del bloque de silicona desde fuera para comprobar si la adherencia del barbado al bloque era buena o no. Al realizar dicha maniobra, el barbado se mantuvo firmemente anclado al bloque, no deslizó y arrastró tras él al parche, provocando la rotura de la membrana dural.

4.6.4. Conclusiones

El diseño del **parche**, si bien no había cambiado demasiado respecto a diseños anteriores, siguió demostrando su correcto funcionamiento a pesar de sufrir un ajuste en el tamaño de su ojal para permitir ser enhebrado con el tipo de sutura barbada que conformaría las siguientes versiones del kit. El despliegue y apoyo sobre la punta de la aguja de este mismo parche fue satisfactorio en todos los casos de uso.

No obstante, una eventual corrección de longitud podría ser necesaria en caso de que el implante rozara con el cono medular o no taponara eficientemente el desgarró de una membrana dural-aracnoidea en condiciones reales. Para dicho ajuste dimensional se requerirían pruebas *in vivo* con modelos en las que estuvieran presentes todas las estructuras anatómicas y sus funcionalidades.

En cuanto al sistema de fijación posterior, el uso de la sutura barbada supuso un avance en el estado del proyecto, puesto que demostró su buen comportamiento en términos de

fijación a estructuras atravesadas y compatibilidad con el método de avance y despliegue del parche intratecalmente.

De esta fase de estudio puede concluirse que, si bien el kit no podía requerir futuros ajustes sobre elementos concretos para garantizar su fabricación en serie (siendo el caso, por ejemplo, del tope mecánico de la cánula de introducción), se encontraba listo para la fabricación y testado en modelo animal en pruebas *in vivo*.

A este respecto y en lo tocante al parche, se concluyó que el eventual material de confección debería, además de cumplir su principal cometido de efecto sellante de la brecha dural, exhibir un ritmo de degradación del material reabsorbible más alto que el del hilo de sutura elegido. De esta manera se evitaría que la sutura y sobre todo su tope perdiesen el efecto de fijación posterior y que el implante migrase indeseablemente para vagar libremente por el saco tecal. Este se señaló como un aspecto que el fabricante del sistema debería decidir pues, aunque se había apuntado la opción del ácido poliláctico (PLA) como material candidato para la fabricación del parche, existían otros materiales o mezclas de ellos (policaprolactona, ácido poliláctico/polglicólico, polidioxanona, etc.) con los que trabajan habitualmente los fabricantes de elementos biorreabsorbibles a la hora de definir, no solamente el grado de degradación, sino también sus propiedades mecánicas.

La elección de un fabricante que apoyase en el proceso de fabricación y ensamblaje de los kits a testar en futuros ensayos —ya en animal vivo— se perfilaba como la siguiente etapa del proyecto de investigación.

En cuanto a la validación global y funcional del sistema desarrollado, además de permitir dar por cumplido el objetivo de conseguir un nivel de simulación mucho más avanzado que en las fases anteriores, demostró que los resultados de desempeño del sistema, al menos a nivel cualitativo, eran esperanzadores. A fin de validar con mayor rigor el funcionamiento real del sistema de sellado dural se imponía la necesidad de diseñar ensayos *in vivo*.

Hemos de reseñar que, tras conseguir el material para poder fabricar las cánulas de transferencia que permitieran el uso del hilo barbado y dado que se consiguieron además las muestras de membrana dural biológica referidas con anterioridad, se plantearon nuevas pruebas de validación. Para dichas pruebas se reprodujo el montaje de la fase II anterior, pero esta vez con la membrana dural biológica y con el uso del barbado.

En una primera prueba se realizó la punción y la transferencia del sistema sin el bloque trasero para poder apreciar de forma visual el comportamiento de los nuevos elementos y se midió la pérdida de líquido producida por la punción con el hilo barbado suelto. En este caso y probablemente debido a la presión interior, el implante quedó colocado sobre la

pared interior de la duramadre en la zona de la punción y la fuga alcanzó una tasa de 4,25 ml/min.

Una vez realizada la primera medición se probó a tirar del hilo y se pudo comprobar que, con una ligera tensión del hilo, el volumen de la fuga se reducía considerablemente y se alcanzó una tasa de fuga de apenas 0,5 ml/min, próxima al sellado de la punción.

Tras las pruebas anteriores y dada la escasez de muestras disponibles se decidió obtener información extra de las muestras probando a tirar del hilo con fuerza para ver la resistencia a rotura de la membrana. La sensación fue buena, pues no se rompía fácilmente. En este caso concreto se salió el hilo del implante porque fallaba el tope del barbado antes de que se rompiese la membrana, quedando el implante en el espesor de la duramadre.

Se realizó un segundo intento de validación con el montaje completo descrito en la fase III, pero debido a la fricción del barbado con el bloque, al intentar acceder a la zona interior del tubo para recoger el líquido fugado y medirlo, el hilo tiró del implante desgarrando la membrana y provocando una fuga a chorro que impidió valorar si el volumen perdido se debió a dicha rotura de membrana o a la punción anterior.

4.7. Fase 7. Ajustes de diseño, elección del fabricante y fabricación de kits estériles para pruebas *in vivo*

4.7.1. Objetivos

El objetivo principal fue disponer de un set de al menos 50 kits de cierre de perforaciones durales: kits completos, montados y esterilizados para las pruebas en animal vivo.

Se persiguió asimismo el objetivo secundario de adaptar el diseño según el estado alcanzado hasta la fecha para facilitar el proceso de fabricación y ensamblaje.

4.7.2. Material y método

4.7.2.1. Modificaciones del parche implantable. Material y método

Puesto que el implante a fabricar por los métodos que se detallarán en siguientes apartados debía ser elaborado en material biocompatible y biorreabsorbible, el primer paso para adaptar su diseño consistió en contactar con la empresa OSCATech microinyección SL. Tras acordar con la empresa los posibles materiales a utilizar en la inyección de las piezas en base a las necesidades del presente estudio, se planteó un análisis de la forma y tamaño del

parche a fabricar y su idoneidad para reproducir dicha forma en un molde de microinyección.

El diseño de parche previo consistía en una sección plana de dimensiones de $3,5 \times 0,85$ mm y espesor de 0,25 mm, con un ojal central de 0,3 mm, tal y como se muestra en la Figura 67:

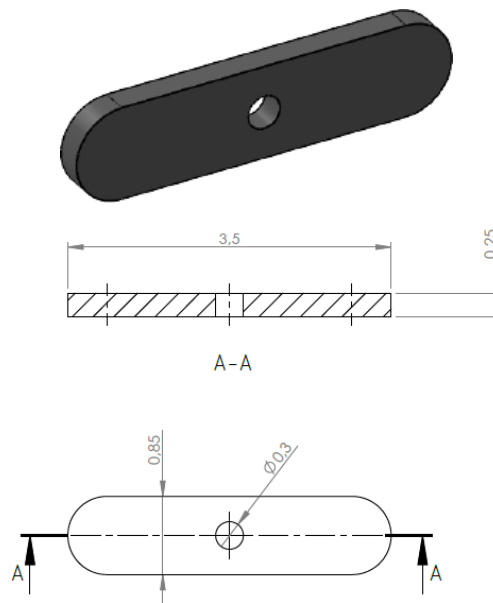


Figura 72. Diseño y dimensiones del parche inicial

El primer aspecto a mejorar en el diseño del implante consistió en aumentar la sección resistente en torno al agujero de paso del hilo de sutura para evitar la rotura del implante por dicho punto, puesto que en pruebas anteriores se pudo comprobar que era el punto más débil. La forma de aumentar dicha sección vino condicionada no solo por las posibilidades de fabricación inherentes al proceso de inyección, sino también por otros aspectos de la funcionalidad del dispositivo que se debían tener en cuenta, tales como:

- La forma que podía adoptar el parche dentro de la aguja durante su transferencia para que deslizase de forma correcta sin atascarse.
- El espacio que debía dejar libre la forma del implante para que el hilo quedase recogido longitudinalmente.
- La posición del implante respecto de la cánula de empuje dentro de la aguja para garantizar una correcta transferencia y despliegue posterior.

- La forma y lugar de encaje sobre el implante del tope físico del que disponía el extremo distal del hilo para que, una vez desplegado, quedase alojado de la forma menos invasiva posible dentro del saco tecal.

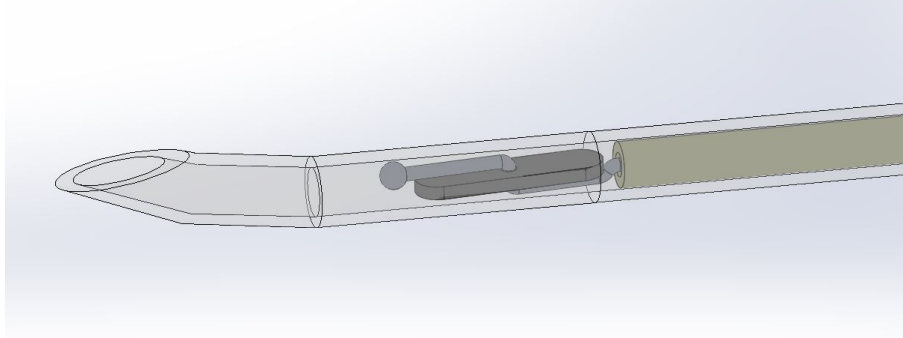


Figura 73. Detalle del proceso de transferencia y forma preliminar del implante

Teniendo en cuenta dichos aspectos funcionales y de adaptación al proceso de fabricación, el diseño del implante siguió un proceso iterativo hasta llegar a una versión definitiva acordada con el fabricante. A continuación, se describen gráficamente las iteraciones llevadas a cabo para la obtención del diseño final:



Figura 74. Implante base con una cara plana y otra redondeada por exigencias del molde

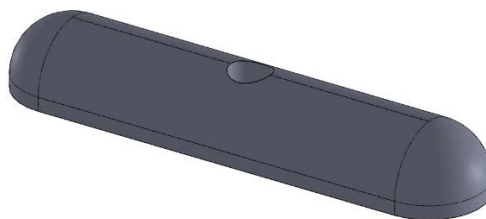


Figura 75. Implante recrecido por el centro para dar resistencia al entorno del ojal



Figura 76. Detalle del alojamiento cónico en torno al ojal para el encaje del tope del hilo



Figura 77. Rebaje longitudinal sobre el implante para el paso del hilo durante la transferencia

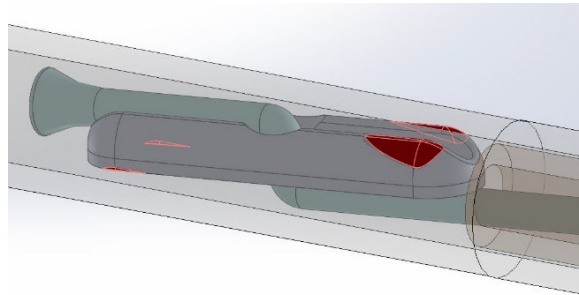


Figura 78. Detalle de interferencia detectada del implante con la aguja durante la transferencia

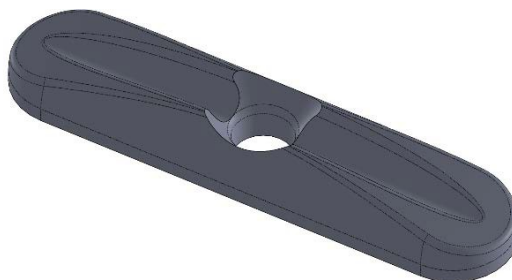


Figura 79. Versión definitiva con recorte curvado en los extremos para eliminar la interferencia

Las distintas versiones del parche se comprobaron en forma y tamaño para que su diseño permitiera una fijación segura del hilo de estabilización y una transferencia correcta del conjunto parche + hilo a través de la aguja y durante el despliegue final, dentro del saco

tecal. La última versión con el diámetro y la forma exacta del ojal se acabó de concretar de forma definitiva tras las pruebas de enhebrado y conformado del tope del hilo que se describen en el apartado 4.6.2.1 de este trabajo.

4.7.2.2. Fabricación, montaje y ensamblado de kits. Material y método

La preparación de los kits definitivos que se utilizaron en el proyecto incluyó las siguientes fases:

- Fabricación del parche de sellado.
- Adaptación del hilo de estabilización.
- Fabricación del soporte de transferencia.
- Adaptación de la cánula de transferencia.
- Montaje y envasado de los componentes que forman el kit de sellado.
- Esterilización.

A. Fabricación del parche de sellado. Material y método

Para la ejecución de esta fase del estudio se contó con la participación de OSCATech, empresa con dilatada experiencia en la fabricación de piezas por microinyección de plásticos para dispositivos médicos.

Dado que el diseño del implante fue consensuado desde el primer momento con el personal especializado de la empresa, la fabricación del molde y el proceso de inyección fueron responsabilidad de OSCATech.

Asimismo, se contó con el asesoramiento de OSCATech para la elección del material biocompatible y biorreabsorbible con que se hubo de inyectar el implante. Como primera aproximación se buscaba un material tipo ácido poliláctico (PLA), dadas sus propiedades mecánicas y su tasa de degradación analizadas en el proyecto anterior. Mas fueron la experiencia de OSCATech en este tipo de materiales y el conocimiento de su comportamiento a la hora de inyectar los que establecieron el material definitivo a utilizar. Los resultados de la elección y de la inyección de los 50 parches se muestran en el apartado 4.7.3.2.

Tras las pruebas preliminares de inyección, se pasó a inyectar las primeras piezas que se remitieron al IBV para su validación antes de realizar las siguientes tiradas. Se ejecutaron

pruebas con tres parches en el banco de pruebas del IBV para determinar si el hilo elegido –sutura barbada Covidien V-Loc 90– se enhebraba correctamente y si la transferencia del complejo hilo + implante era correcta hacia la aguja Tuohy de 18 Gauge.

B. Adaptación del hilo de estabilización. Material y método

Durante el proceso de diseño se seleccionó la referencia concreta de hilo de sutura barbada que se adaptaba a las necesidades del trabajo de investigación y se hicieron las primeras pruebas de conformado del tope, pues condicionaba la forma del alojamiento del mismo sobre el ojal del implante. Para la fabricación del hilo restaba confirmar que el diseño era correcto, que el proceso de conformado era seguro y repetible y que no comprometía las propiedades mecánicas ni de degradación del hilo de sutura.

Los pasos seguidos durante el proceso de fabricación del hilo fueron los siguientes:

- Cortar el lazo del extremo del hilo y enhebrar el cabo resultante por el agujero del implante por el lado de su cara plana.
- Una vez enhebrado, separar el implante de la punta del hilo y conformar el tope sobre dicho extremo acercando una punta de soldador limpia y caliente (400 °C), asegurándonos de que no había contacto para no contaminar ni quemar el hilo y que no se alterasen sus propiedades.
- Dejar enfriar.
- Cortar la aguja del otro extremo quedando el implante listo para montar sobre el soporte.

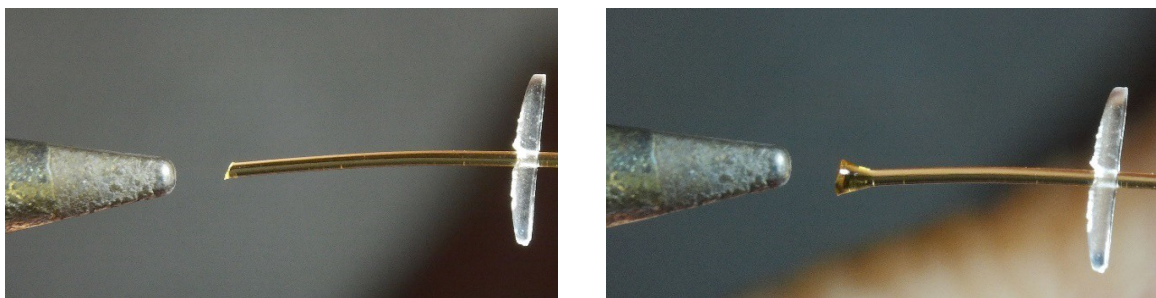


Figura 80. Conformado por calor del tope del hilo de estabilización

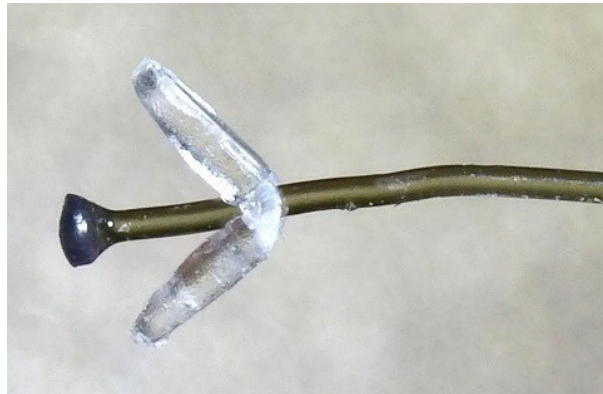


Figura 81. Prueba de resistencia del tope del hilo de estabilización

C. Fabricación del soporte de transferencia. Material y método

La fabricación del soporte de transferencia se realizó por métodos de fabricación aditiva de altas prestaciones. Para tal fin el IBV disponía de la tecnología de sinterizado selectivo láser (EOS Formiga P100), a partir de la cual era factible conseguir componentes en materiales completamente funcionales (poliamida PA 2200) y biocompatibles (ISO 10993-1:2009). Esta tecnología de fabricación por capas permite fabricar piezas contenidas o encajadas unas dentro de otras como se requerían en el presente trabajo, siempre que se deje espacio suficiente para evacuar el polvo del material de fabricación no polimerizado por el láser. Se empleó el EOS FORMIGA P100 para la adición de capas que obedeció al *input* en forma de plano 3D que se le dio a la máquina.

D. Adaptación de la cánula de transferencia. Material y método

La cánula de transferencia constaba de dos partes: por un lado, el tubo de uso médico comercial que se eligió durante el proceso de diseño y, por otro, un tope trasero fabricado por sinterizado, al igual que el soporte de transferencia. Este tope trasero serviría para mantener la cánula bloqueada sobre el soporte hasta el momento de su uso y como tope físico que indicase el final de la transferencia del implante.

Para la fabricación de las cánulas de transferencia destinadas a los procesos de pruebas de histocompatibilidad y rendimiento *in vivo* se emplearon:

- Para constituir el cuerpo de la cánula, tubos de poliimida de 0,813 mm de diámetro exterior (ref. 142-0010, Nordon Medical).
- Para conformar el tope físico, poliamida PA 2200.

Se cortó el tubo a la longitud deseada más un pequeño margen (total: 150 mm) que permitiese pegar el tope sobre el extremo final evitando que el adhesivo entre en el interior del

tubo. Para el pegado del tope al tubo se utilizó un adhesivo de cianocrilato, en concreto la referencia Loctite 4011, de aplicación para el pegado de instrumentos médicos desechables y que además permite la esterilización.

Una vez seco este conglomerado formado por los tubos, el tope y el cianocrilato, se cortaron a ras dejando una longitud total de 147 mm. Dado que el tope marcaba el final de la transferencia del implante coincidente con la salida del implante por el final de la aguja, la posición del tope y la longitud de la cánula eran clave para que el implante salga lo suficiente para poder desplegarse, pero no más de lo debido para que no permitiese un avance excesivo del parche desplegado intratecalmente que pudiera ocasionar un roce en los cordones posteriores de la médula espinal.

E. Montaje y envasado de los componentes que forman el kit de sellado. Material y método

Se realizó el montaje de los distintos componentes, implante y cánula sobre el soporte de transferencia, así como el envasado de los kits se realizó en las condiciones adecuadas para ser utilizados, previo proceso pertinente de esterilización, en los estudios de seguridad biológica y los estudios *in vivo*. En esta fase del trabajo se fabricaron kits suficientes para poder llevar a cabo los ensayos de seguridad biológica y los estudios de rendimiento *in vivo* que se detallan en subsiguientes fases de la memoria. El total de kits necesarios se estimó en 50 unidades.

El montaje de los kits constó de los siguientes pasos:

- Conformado del implante reabsorbible

El montaje del implante formado por la unión del parche con el hilo de estabilización a través de un tope está descrito con detalle en el apartado 4.5.3.1.

Dado que tanto el hilo como el parche estaban fabricados en materiales reabsorbibles, se decidió realizar el montaje de este conjunto justo antes del montaje y envasado de los kits y evitar dejarlos premontados mucho tiempo al aire o en ambientes húmedos que pudieran acelerar el proceso de degradación natural de los componentes. Por esto y para evitar la contaminación del implante con elementos extraños, el montaje se llevó a cabo con guantes estériles y bajo el efecto de una campana de extracción de gases.



Figura 82. Mesa de montaje

- Montaje preliminar de la cánula

Antes del montaje del implante, se montó la cánula sobre el soporte de transferencia haciendo pasar su extremo libre sobre los agujeros traseros de que disponía el soporte.

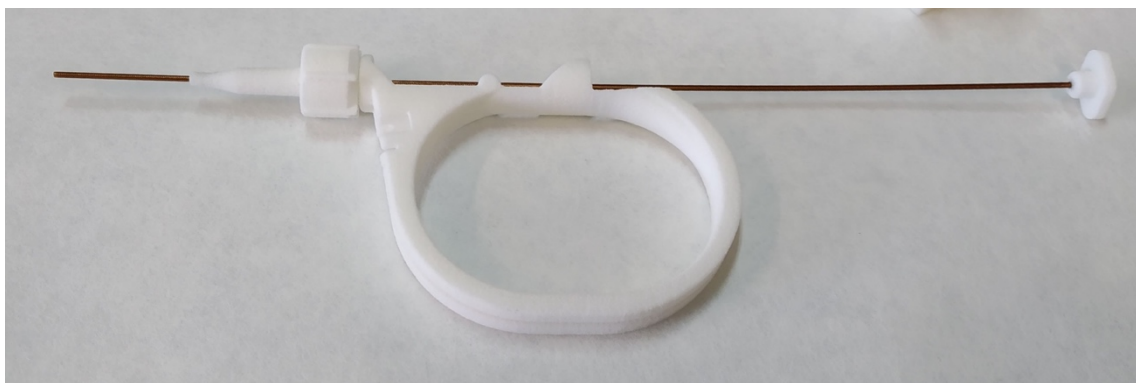


Figura 83. Montaje de la cánula sobre el soporte

- Montaje del hilo barbado en la cánula

Una vez sobresalía el extremo de la cánula por la punta cónica del soporte, se introducía el cabo libre del hilo con el implante en el interior de la cánula de transferencia prácticamente en su totalidad.

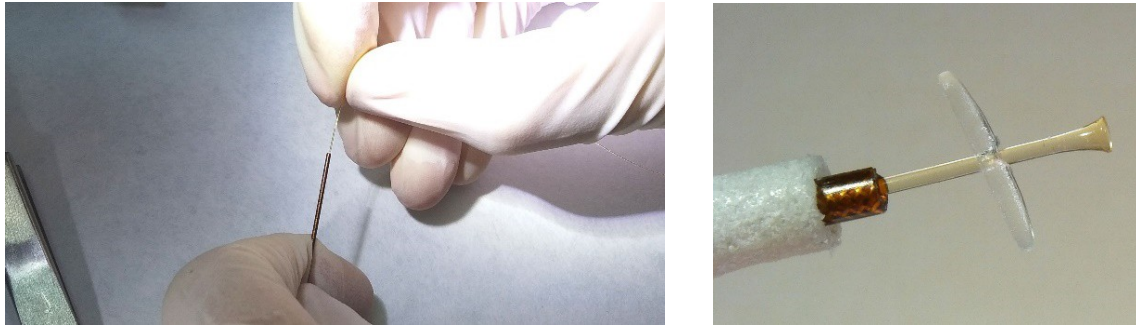


Figura 84. Montaje del hilo en la cánula

- Montaje del implante sobre el soporte

Para el montaje del implante se dobló el hilo barbado colocando el parche en posición longitudinal para poder introducir ambos en el interior de la punta cónica del soporte de transferencia, donde debían quedar alojados hasta el momento de su utilización. Se tuvo precaución de dejar el parche en una posición adecuada que permitiese el despliegue correcto del implante tras su salida por la punta de la aguja.

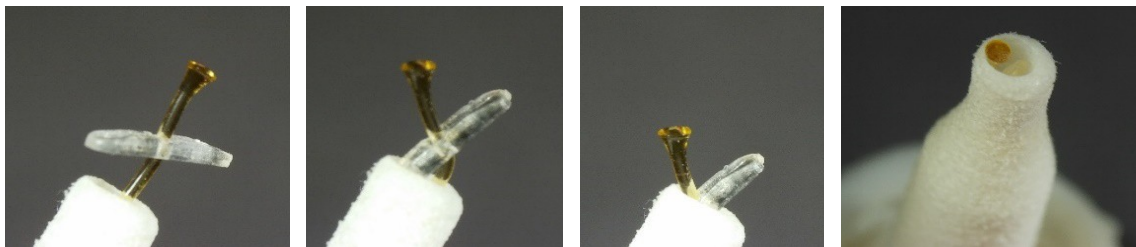


Figura 85. Montaje del implante sobre el soporte

- Bloqueo de la cánula sobre el soporte

Tras el montaje del implante restaba colocar la cánula alrededor del soporte y fijar su tope trasero sobre la pestaña que posee el soporte de forma que quede bloqueada. De esta manera, la cánula no podría empujar el implante accidentalmente si no se liberaba dicho bloqueo hasta el momento de aplicación del kit, cuando se liberaría para realizar la transferencia.

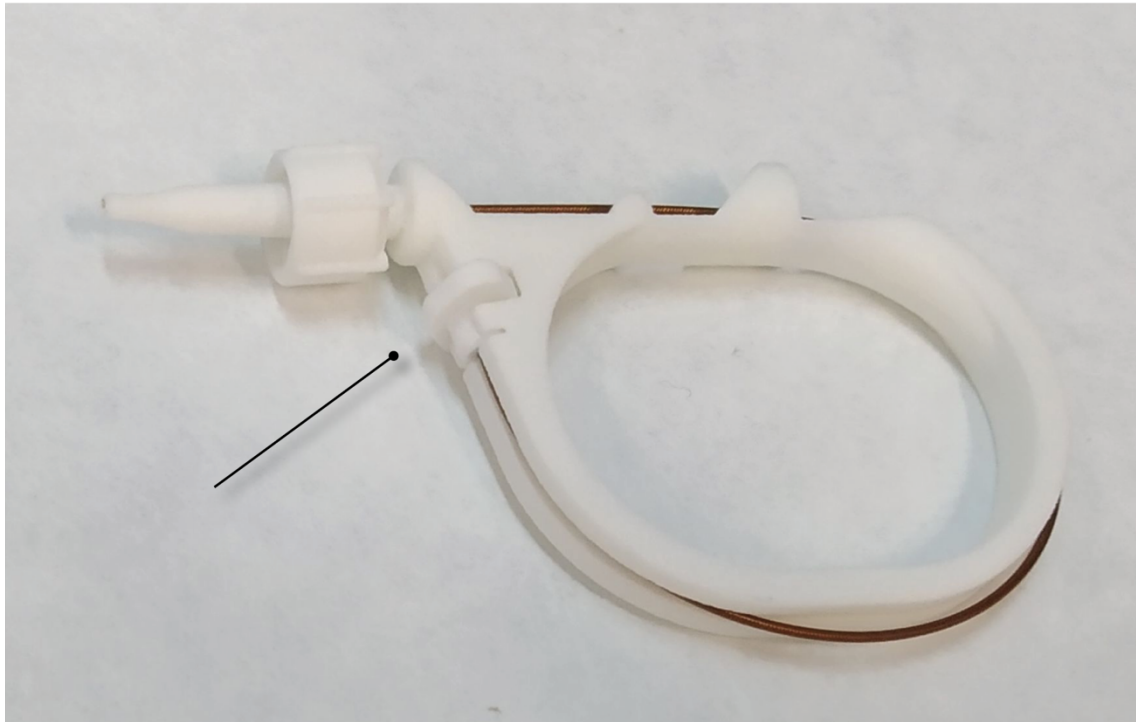


Figura 86. Bloqueo de la cánula de transferencia

- Empaquetado

Una vez montados los kits se envasaron en bolsas individuales y estas a su vez en bolsas más grandes para garantizar la estanqueidad del envase primario, tanto durante su manipulación en el proceso de esterilización como en el transporte hasta su utilización prevista.

F. Esterilización de los kits. Material y método

Para la esterilización de los kits se subcontrataron los servicios de **IONISOS Ibérica**, empresa especializada en la esterilización por irradiación de dispositivos de uso médico. El tratamiento realizado consistió en la irradiación por haz de electrones (eBeam) con una dosis superficial de 25 kGy sobre los envases que contenían los kits.

La forma de comprobar que la dosis irradiada fue suficiente para conseguir un nivel de esterilización adecuado para no causar reacciones sobre los animales durante las cirugías previstas fue someter a una muestra representativa, nueve kits completos fabricados y esterilizados, a unos ensayos de seguridad biológica, descritos en siguientes apartados del trabajo actual.

Por otra parte, además de valorar la correcta esterilización, se sometió a un *pack* de dos kits completos a una prueba de funcionamiento sobre fantoma (como el descrito en el apartado

4.6.3.2) en la que se verificó si se producía algún cambio sustancial en la apariencia, facilidad de manipulación y rendimiento del kit completo.

Tras la esterilización, los kits destinados a ser empleados en pruebas de histocompatibilidad, citotoxicidad y rendimiento *in vivo* fueron vueltos a empaquetar.

4.7.3. Resultados

4.7.3.1. Modificaciones del parche implantable. Resultados

Se muestra en la siguiente figura el resultado del diseño del parche según lo expuesto en el apartado 4.6.2.1.

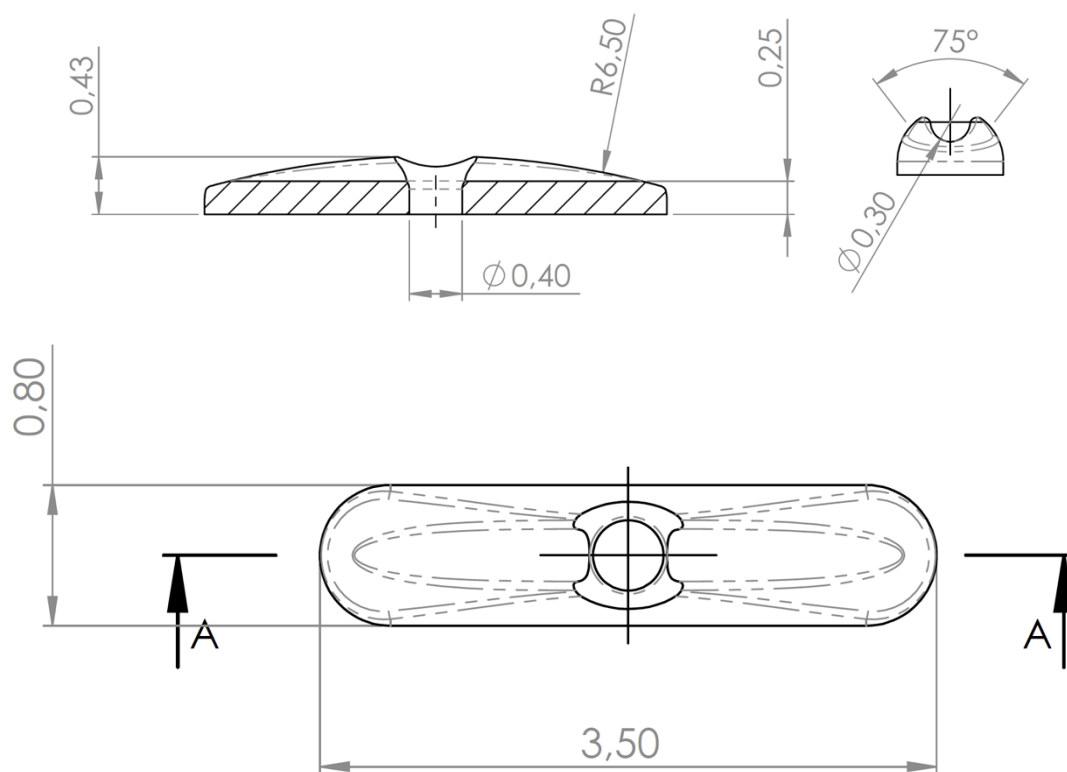


Figura 87. Diseño definitivo del implante

4.7.3.2. Fabricación, montaje y ensamblado de kits. Resultados

A. Fabricación del parche de sellado. Resultados

El material elegido fue el copolímero Poly (L-lactide-co-D, L-lactide) (PLDLA).

Se recibieron 50 unidades de parche de sellado dural en el material elegido. A nivel dimensional se comprobó que el implante estaba dentro de las tolerancias de fabricación exigidas en cuanto a tamaño y diámetro del ojal. A nivel funcional se comprobó que se podía enhebrar el hilo de forma correcta y que, tras montar ambos elementos (parche e hilo) sobre el soporte, se conseguía una transferencia correcta del soporte a la aguja durante el tránsito y a la salida por la punta curvada de la aguja, permitiendo el despliegue del implante a la salida de la misma.

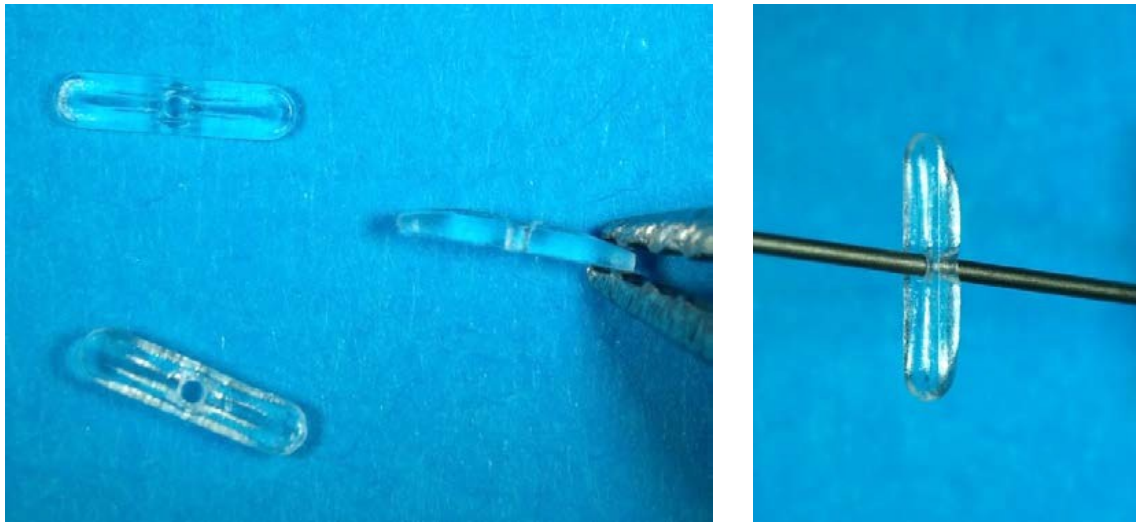


Figura 88. Primeras muestras del implante. Análisis dimensional



Figura 89. Análisis funcional. Pruebas de enhebrado, transferencia y despliegue del implante

B. Adaptación del hilo de estabilización. Resultados

Una vez realizado el tope se comprobó que el tamaño del mismo era el adecuado y que el proceso de conformado por calor no restaba propiedades al hilo. Ante una situación de tensión sobre el hilo, el tope no debe desprenderse del hilo ni deformarse dejando de cumplir su función de sujeción del implante. Para ello se bloqueó el implante por las alas y se

tiró del hilo por medios mecánicos hasta el fracaso del sistema. Se pudo comprobar que el tope se mantuvo estable y que, ante cargas superiores a las que está previsto someter al sistema, antes se deformaba el implante que el tope.

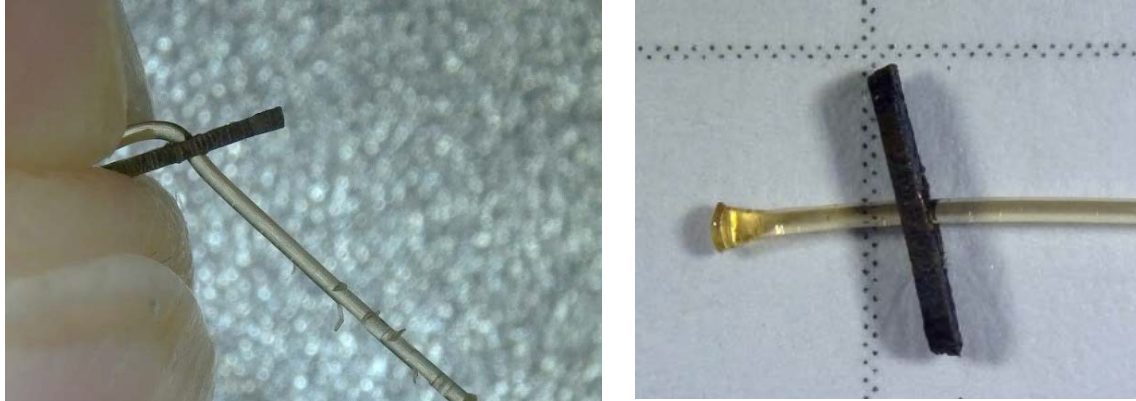


Figura 90. Pruebas de enhebrado, pliegue y conformado del tope realizadas sobre la sutura

C. Fabricación del soporte de transferencia. Resultados

Se obtuvieron 50 soportes de transferencia fabricados en poliamida PA 2200.

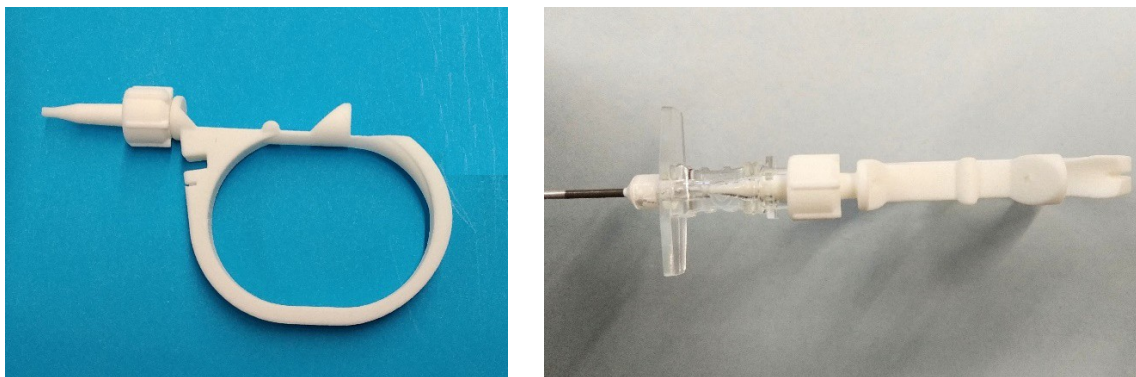


Figura 91. Soporte de transferencia fabricado y montado sobre la aguja

El soporte, como ya se explicó en fases previas de este trabajo de investigación, quedó formado por dos piezas: una base fija y otra móvil que actuaría a modo de tuerca. Estaba destinado a permitir que, tras encarar la punta de la base sobre el terminal de la aguja, se girase la parte móvil que al roscar empujaría a la base y realizaría el encaje de los conos de la base y la aguja. El encaje congruente de estas dos piezas era clave para que la transferencia del implante desde la base a la aguja se realizase de forma correcta y sin desplegarse.

D. Adaptación de la cánula de transferencia. Resultados

No hubo incidencias durante el proceso de fabricación del tope trasero, del corte de los tubos de poliimida, de la fijación del tope a estos últimos ni del fraguado del pegamento de cianocrilato escogido. Se fabricaron 55 unidades de cánulas de transferencia en total para posteriores test.

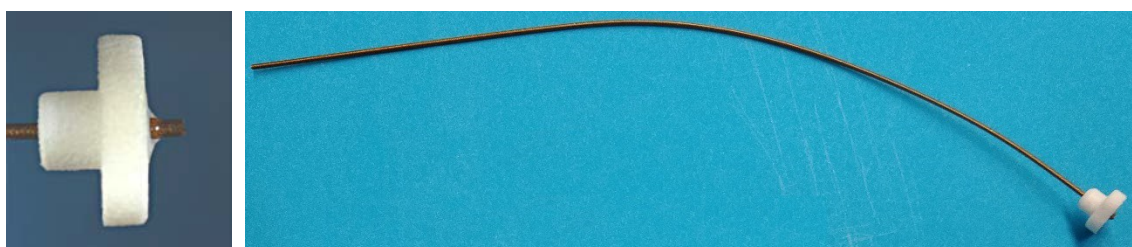


Figura 92. Resultado de la fabricación de las cánulas de transferencia

E. Montaje y envasado de los componentes que forman el kit de sellado. Resultados

Se obtuvieron, siguiendo los pasos descritos en el apartado 4.7.2.2., un total de 50 kits listos para su utilización.



Figura 93. Envasado y etiquetado de los kits

F. Esterilización de los kits. Resultados

La irradiación esterilizante de los kits se produjo sin incidencias. En las pruebas de funcionamiento, a nivel mecánico, ni el tope del hilo ni el tope trasero de la cánula de transferencia presentaron síntomas de comportamiento diferentes a los mostrados antes del tratamiento de irradiación. El implante tras la irradiación tampoco presentó alteraciones dimensionales y la transferencia se pudo realizar de forma correcta.

4.7.4. Conclusiones

Durante la presente fase del trabajo de investigación no se detectaron problemas relevantes que pusieran en riesgo la consecución de los objetivos reflejados en el apartado 4.7.1. La adaptación del diseño para facilitar el ensamblaje en momentos en que se necesitaran más kits disponibles para test fue sencilla y bebió de los resultados y experiencia ya reflejados en fases anteriores de este estudio.

Sin embargo, antes de proceder a la implantación y estudio del rendimiento de los kits de sellado dural en animales (fase 9 del presente estudio de investigación), se consideró preceptivo someter a los componentes del kit a un exhaustivo análisis de cito e histotoxicidad. Esto fue decidido así porque las pruebas de citotoxicidad permiten evaluar la capacidad del prototipo para interactuar con las células del organismo de manera segura, identificando cualquier posible toxicidad que pueda surgir como resultado de la exposición celular directa. Este aspecto fue considerado crucial para garantizar que el dispositivo no causase daño celular o inflamación en el sitio de implantación. Estas pruebas son un paso fundamental en la evaluación de la seguridad y eficacia de un prototipo antes de su aplicación en estudios con animales, garantizando tanto la protección de los sujetos de prueba como la integridad de los resultados de la investigación.

4.8. Fase 8. Pruebas de citotoxicidad

4.8.1. Objetivos

Asegurar que ni los materiales ni los procesos de fabricación y manipulación utilizados para la fabricación de los kits dieran lugar a una reacción aguda en el tejido hospedador durante la siguiente fase de experimentación animal.

4.8.2. Material y métodos

Se llevaron a cabo dos estudios:

- Estudio de citotoxicidad por extracción según ISO 10993-5:2009. Esta norma describe los métodos de ensayo que permiten evaluar la citotoxicidad *in vitro* de productos sanitarios mediante la incubación de células de cultivo, directamente o por difusión. Así se determina la respuesta biológica de las células de mamífero *in vitro*, utilizando parámetros biológicos adecuados.
- Estudio de toxicidad sistémica aguda en dos extractos según ISO 10993-11:2017. La toxicidad sistémica es un efecto adverso potencial de la utilización de productos

sanitarios. Los efectos generalizados, así como los efectos sobre órganos y sistemas de órganos, se pueden deber a la absorción, distribución y metabolismo de los lixiviados del producto o de sus materiales en partes del cuerpo con las que no están en contacto directo. Esta norma aborda la evaluación de la toxicidad sistémica generalizada, no la toxicidad de ningún órgano o sistema de un órgano diana específico, aunque estos efectos pueden ser debidos a la absorción y distribución sistémica de agentes tóxicos.

Estos estudios se realizaron sobre nueve kits completos debidamente empaquetados y esterilizados tal y como se describió en la fase anterior del presente trabajo de investigación. Se eligió el modelo de ratón para esta prueba debido a la recomendación de la ISO 10993-11, edición presente al inicio de los experimentos.

Antes de ser utilizados en este estudio, los animales fueron mantenidos en cuarentena durante cinco días. Durante este período, fueron observados diariamente por un veterinario. Al final de la semana de cuarentena, los animales fueron examinados cuidadosamente para evaluar su idoneidad para el estudio. Los animales usados para esta investigación fueron seleccionados al azar de entre aquellos que eran adecuados y estaban disponibles en ese momento. Los animales fueron alojados de acuerdo con el procedimiento interno en una habitación iluminada con lámparas fluorescentes durante doce horas al día. La temperatura ambiente y la humedad se regulaban mediante un sistema de climatización y se monitoreaban continuamente, con registros de las condiciones de alojamiento conservados en los archivos de Eurofins Biolab Srl. Además, las jaulas y la habitación de alojamiento se limpiaban antes de acomodar a los animales y se desinfectaban periódicamente. En cuanto a la alimentación, los animales se alimentaron con una dieta completa de pellets estándar suministrada por el criador autorizado. El suministro de agua se realizaba con agua filtrada del grifo de la red local, suministrada de manera *ad libitum* a través de un sistema de abastecimiento de agua automático.

Para realizar la prueba de **citotoxicidad *in vitro***, se detalla en el Anexo 5 la metodología empleada. En dicho anexo también se especifican detalles de la metodología referentes a las condiciones y normas seguidas en lo tocante a bienestar animal durante los ensayos.

Para realizar la prueba de toxicidad sistémica, de acuerdo con la norma ISO 10993-12, se prepararon dos extractos de la muestra de prueba, uno en un vehículo no polar, aceite de semilla de algodón, y otro en un vehículo polar, solución de cloruro de sodio (0,9 %), sumergiendo el dispositivo en el solvente correspondiente para alcanzar una relación superficie/volumen de $6 \text{ cm}^2/\text{ml}$, e incubando a una temperatura de $(50 \pm 2) ^\circ\text{C}$ durante un período de (72 ± 2) horas en condiciones dinámicas (agitador orbital).

Se inyectaron intravenosamente 50 ml/kg del extracto de la muestra de prueba en solución de cloruro de sodio a un grupo de cinco ratones (grupo tratado), y se inyectaron intraperitonealmente 50 ml/kg del extracto de la muestra de prueba en aceite de semilla de algodón a otro grupo de cinco ratones (grupo tratado). La solución de cloruro de sodio y el aceite de semilla de algodón se inyectaron de la misma manera en otros dos grupos utilizados como control. La velocidad de inyección no superó los 2 ml/min.

Los animales fueron observados inmediatamente después de la inyección y luego a las 4, 24, 48 y 72 horas. Se registraron signos clínicos, efectos sistémicos y mortalidad (si la hubiera). El peso corporal se midió justo antes de las inyecciones, y luego a las 24, 48 y 72 horas después de las inyecciones.

Se registraron eventuales signos clínicos (hora de inicio, grado y duración) y/o eventuales mortalidades para cada animal. Los animales fueron observados en busca de los siguientes efectos sistémicos: temblores, erizamiento del pelo, diarrea, dolor abdominal, sialorrea, estado de depresión del sensorio, estado de excitación, polipnea, hipopnea, taquicardia, cianosis, ataxia, convulsiones, sangrado nasal. También se registraron otros signos clínicos descritos en la norma ISO 10993-11, anexo C (si estaban presentes).

De cara a una posterior interpretación de resultados, se definió que las condiciones de prueba se cumplían si ninguno de los animales tratados con el extracto de la muestra mostraba una reactividad biológica significativamente mayor que el grupo de control. Si alguno de los animales tratados con la muestra mostrase signos leves de reactividad biológica y no más de un animal presentase síntomas graves de reactividad biológica o muriese, la prueba debería repetirse utilizando grupos de diez ratones. Las condiciones de la prueba repetida se cumplirían si durante el período de observación ninguno de los animales tratados con el extracto de la muestra mostrara una reactividad biológica mayor que los animales tratados con el control. Si dos o más ratones muriesen, si dos o más ratones mostrasen síntomas anormales como convulsiones o debilidad, o si la pérdida de peso fuera mayor al 10 % en tres o más animales, los kits de prueba no cumplirían con los requisitos de la prueba.

4.8.3. Resultados

No se observaron signos ni síntomas de toxicidad en ninguno de los animales de experimentación durante el tiempo de ensayo. Tampoco se observó mortalidad en ninguno de los animales durante el tiempo de ensayo. Los incrementos en peso en los animales tratados durante la duración del ensayo estuvieron dentro del rango de normalidad de acuerdo a su especie y sexo.

Con el fin de no convertir en un reporte excesivamente técnico este apartado, los resultados de la prueba de toxicidad *in vitro* se muestran en el Anexo 5.

4.8.4. Conclusiones

Sobre la base de los resultados, interpretados de acuerdo con la norma ISO 10993-11:2017, se pudo afirmar que los kits de sellado dural diseñados y ensamblados no causaban síntomas tóxicos y cumplieron con los requisitos de la prueba, según los criterios de aceptación establecidos en las correspondientes normas ISO antes mencionadas.

Se dio por válida la premisa de que podían ser empleados en subsiguientes fases de experimentación que incluyeran el uso de animales mamíferos vivos sin comprometer la validez de los resultados o poner en peligro el devenir de los ensayos por una posible reacción citotóxica aguda.

4.9. Fase 9. Validación *in vivo*

4.9.1. Objetivos

El objetivo de esta fase del trabajo de investigación fue evaluar la capacidad que el kit de sellado de perforaciones durales tenía de detener la fuga de LCR generada intencionadamente en ovejas.

4.9.2. Material y método

Esta fase del trabajo fue aprobada por la Dirección General de Ganadería de la Generalitat Valenciana (España; código 2018/VSC/PEA/0188 tipo 2) después de la recomendación del Comité de Ética para Experimentación Animal de la Universidad CEU-Cardenal Herrera (Valencia, España).

4.9.2.1. Punción dural intencional

46 ovejas adultas (*Ovis orientalis aries*) de ambos sexos fueron asignadas al azar a uno de dos grupos: los animales del grupo 1 ($n = 23$) recibieron una punción lumbar pero no fueron tratados con el dispositivo de sellado y actuaron como controles, mientras que aquellos en el grupo 2 ($n = 23$; el grupo de estudio) recibieron una punción lumbar y fueron tratados con el dispositivo de sellado a través de la aguja epidural Tuohy. La asignación de grupos fue aleatorizada mediante códigos extraídos de un sobre sellado. Los sobres se abrieron inmediatamente antes de comenzar el procedimiento para revelar la aleatorización de cada animal.

4.9.2.2. Protocolo clínico

Después de cateterizar la vena cefálica anterior y sedar a los animales con dexmedetomidina intravenosa (10 µg/kg), el sitio de punción se preparó afeitando el área lumbar y luego desinfectándola con clorhexidina alcohólica. La anestesia general se indujo con propofol intravenoso (3 mg/kg) y se mantuvo con administración endotraqueal de sevoflurano suministrado a través de ventilación mecánica en circuito cerrado con mezcla de aire y oxígeno al 50 % FiO₂. Se aplicaron monitores de rutina y los animales se mantuvieron normotérmicos, normocápnicos, normóxicos y hemodinámicamente estables durante todo el experimento.

Después de colocar al animal en posición esternal, se realizó una punción lumbar en la línea media en el espacio transicional lumbosacro (L6-S1) con una aguja epidural Tuohy de calibre 18 Gauge (Perican®, B. Braun, Melsungen, Alemania).

En un estudio preliminar se evaluaron diferentes opciones en cinco cadáveres frescos de ovejas para obtener el espacio intervertebral óptimo para realizar la punción, teniendo en cuenta la fácil identificación y angulación comparable a la utilizada en seres humanos. El líquido cefalorraquídeo se observó de manera consistente en el buje de la aguja en cada espécimen cuando se realizó una punción a nivel L6-S1.

La aguja se pasó a través de los ligamentos amarillos y se avanzó hasta que apareció el líquido cefalorraquídeo. En este punto, se inyectaron 0,4 ml/kg de contraste radiopaco de ioversol (Optiray 320, Guerbet, Villepinte, Francia) a través de la aguja.

Después de detectar la fuga de líquido cefalorraquídeo y de inyectar el contraste, insertamos el sistema de sellado en los animales del grupo de estudio (grupo 2) de acuerdo con el método descrito a continuación, y luego se retiró la aguja Tuohy. En el grupo de control, después de la inyección de contraste, esperamos un total de dos segundos antes de retirar la aguja Tuohy. Dos segundos fue el tiempo promedio necesario para insertar el kit de sellado en la parte proximal de la aguja Tuohy, calculado en varias series de implantación del kit en modelos sintéticos.



Figura 94. Implante desplegado después de que la cánula flexometálica se haya avanzado a través de la aguja Tuohy para desplazar el parche plegado y el hilo dentado hacia el espacio subaracnoideo. Nota: a: el extremo terminal del hilo dentado ha sido modificado para que sea más ancho en diámetro que el orificio en el parche para anclarlo al parche; b: el primer milímetro del hilo carece de púas; c: implante; d: cánula posicionada en la punta de la aguja Tuohy.

A. Técnica utilizada para colocar el dispositivo

Después de inyectar el medio de contraste, el extremo proximal del soporte de transferencia se conectó mediante una conexión universal Luer Lock a la aguja Tuohy (Figura 28).

El aplicador contenía el parche de sellado dural plegado y el hilo dentado dentro del canal cerca de su punta. Luego se avanzó la cánula flexometálica a través del aplicador. La cánula empujó el implante plegado y el hilo dentado a través del orificio interno de la aguja Tuohy hasta que el implante pasó por la punta de la aguja hacia el espacio subaracnoideo, sostenido por el hilo, donde se desplegó. Este paso coincidió con la inserción completa de la cánula flexometálica, que se detuvo en el cubo de la aguja. En todos los casos se debía asegurar un avance completo de la cánula flexometálica hasta que se detuviera por el choque de un tope incluido en el aplicador. Esta parada evitaba que la cánula flexometálica entrara en el espacio subaracnoideo. La cánula flexometálica era un tubo hueco que acomodaba toda la longitud del hilo unidireccional dentado. El hilo dentado quedaba libre dentro de la cánula, y el diámetro interno de la cánula permitía que las púas del hilo estuvieran libres para que pudieran moverse cuando se retirase la cánula.



Figura 95. Ensayos in vivo en oveja anestesiada en las instalaciones del Hospital Veterinario CEU-Cardenal Herrera

El implante aplicado tenía una forma rectangular con un orificio en su centro según lo ya expuesto en anteriores fases del trabajo. El hilo dentado y el implante no estaban unidos, eran dos piezas independientes. El primer milímetro del hilo no tenía púas, y su extremo estaba dentado de tal manera que tenía un diámetro mayor que el hilo, de modo que no pudiera deslizarse a través del orificio del parche. Cuando el complejo hilo + parche se cargaba en la aguja Tuohy, las púas se posicionaban de manera que, después de desplegarse, la tracción aplicada al hilo fijase el implante a la superficie interna de la aracnoides.

Después de avanzar el parche dentro del saco dural, se retiraron la guía flexometálica, el aplicador y la aguja epidural (en ese orden), dejando el parche en el interior del saco dural. Cuando se retiró la aguja, el hilo se encontraba en el mismo lugar que ocupaba originalmente la aguja. Por esta razón, la tracción hacia fuera de la sutura de hilo dentada aseguraba que el implante permanecería en su lugar en el sitio de la punción dural.

Se aplicó una ligera tensión a la porción del hilo que sobresalía a través de la piel para forzar que el parche se ajustara firmemente contra la capa aracnoidea (superficie interna del saco dural). Luego se cortó en la piel y se replegó en el tejido subcutáneo para evitar infecciones.

B. Estudio de tomografía axial computarizada (TAC)

Después de la punción dural en ambos grupos y la colocación del implante en el grupo de estudio, realizamos escaneos helicoidales de TAC con 16 cortes (Brivo CT385, GE Hangwei Medical Systems Co., Ltd., Beijing, China) con cortes longitudinales y transversales y un área de escaneo que iba desde los segmentos torácicos hasta la región coccígea. El grosor de los cortes de TAC se estableció en 10 mm. Después de la técnica de parche, la imagen de TAC y la verificación del escaneo por un radiólogo veterinario, se sacrificaron los animales de estudio.

C. Análisis de imágenes de TAC

Las imágenes obtenidas de los escaneos de TAC en formato de imagen y comunicación digital se utilizaron para analizar la fuga de líquido cefalorraquídeo en el área de punción con el *software* Mimics® Research (versión 17.0, Materialize, Bélgica) mediante el siguiente procedimiento (Figura 96):

1. Segmentación del líquido de contraste: la segmentación (división de la imagen digital en múltiples segmentos) se utilizó para simplificar una imagen compleja en algo más fácil de analizar. La segmentación del contraste radiopaco nos dio una imagen clara de la masa total de líquido.
2. Segmentación del hueso: el mismo proceso se llevó a cabo en las imágenes de las estructuras óseas.
3. Definición de la región de interés (ROI, del inglés *region of interest*): para definir la ROI, se ubicaron las vértebras L6 y S1, se midió la altura de la vértebra L6 y se extendió la ROI hasta S1, un nivel equivalente a la mitad de la altura de L6, incluyendo el espacio subaracnoideo y epidural y el canal foraminal.
4. Segmentación del líquido de contraste en la ROI (cantidad de líquido total encontrado dentro de la ROI): este proceso nos dio una visión clara de la cantidad total de contraste radiopaco asignado en la ROI.
5. Dentro de la ROI, selección y cuantificación del fluido de contraste identificado en el área epidural (es decir, el volumen de líquido encontrado fuera del saco dural).
6. Cálculo de la proporción de fluido de contraste encontrado en el área epidural con respecto a la cantidad total de líquido encontrado en la ROI expresado como un porcentaje, de la siguiente manera:

$$\text{Volumen epidural / Volumen ROI (\%)} = (\text{Volumen de contraste epidural}) / (\text{Volumen de contraste ROI}) \times 100$$

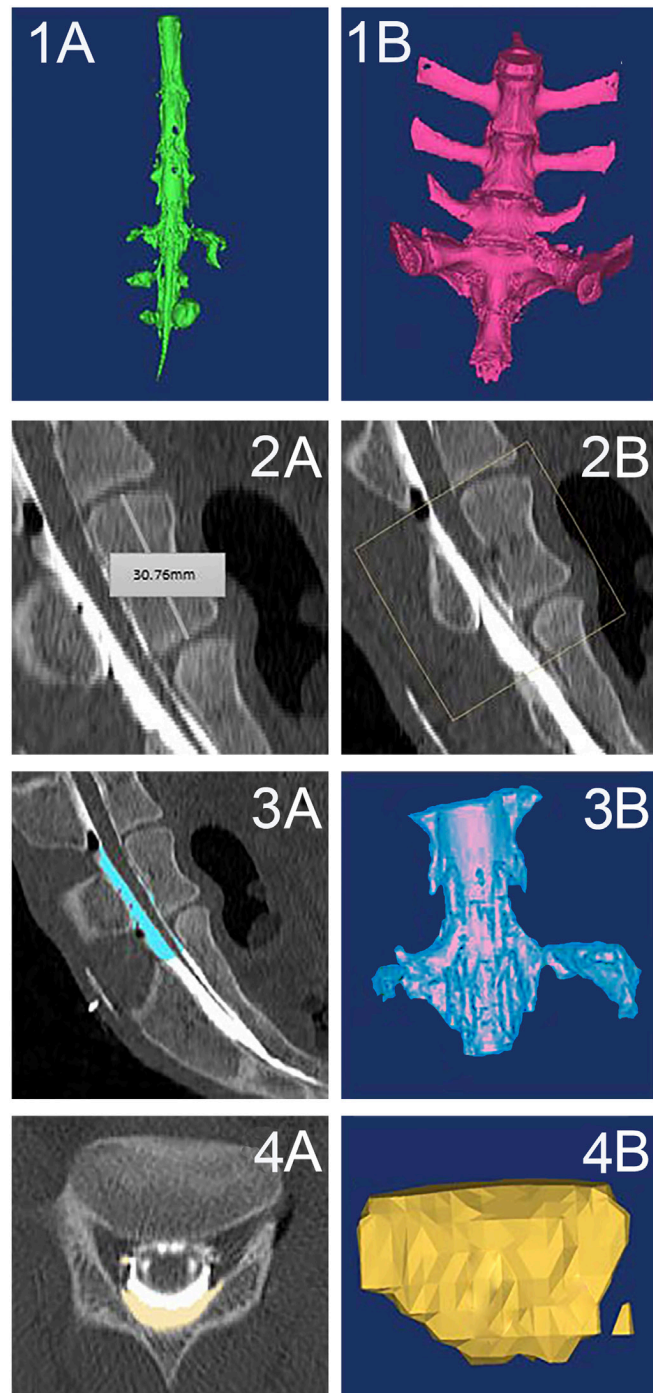


Figura 96. Análisis del procedimiento utilizado. Nota: (1A): reconstrucción en 3D de todo el líquido de contraste visto en el estudio de TC (vista anteroposterior); (1B): reconstrucción en 3D de los elementos óseos en la región lumbosacra (vista anteroposterior); (2A) y (2B): delimitación de la región de interés (ROI) (vista sagital); (3A) y (3B): identificación del líquido de contraste en la ROI en color azul claro mostrando la vista sagital y la reconstrucción en 3D en vista anteroposterior, respectivamente; (4A) y (4B): dentro de la ROI, selección y cuantificación del contraste en el área epidural en amarillo. (4A) muestra una sección transversal de TC y el contraste epidural está marcado en amarillo. Material suplementario en línea y (4B) muestran una sección transversal axial y una vista anteroposterior de la reconstrucción en 3D del contraste epidural en la ROI, también marcado en amarillo, respectivamente. El color en la superficie de las imágenes fue modificado utilizando Adobe Photoshop (Adobe, San José, California, Estados Unidos). La textura se mantuvo y se agregó color para facilitar la comprensión de las imágenes

D. Análisis estadístico

Este fue un estudio aleatorizado y a ciegas en el que los datos de los animales de cada grupo fueron codificados. La persona que evaluó las imágenes de TAC y midió las variables no sabía a qué grupo pertenecía cada animal. Los códigos asignados a los animales se expusieron solo después de que se completara el análisis estadístico.

El estudio estadístico se realizó utilizando el *software* estadístico R (versión 6.3.4). El tamaño del efecto se calculó con la función `pwr.t2n.test` del paquete `pwr9` para grupos de diferentes tamaños de muestra ($n_1 = 20$; $n_2 = 23$). El error alfa se estableció en 0,05, el error beta fue 0,8 y se consideró la hipótesis alternativa «mayor que». Se obtuvo un tamaño de efecto de 0,77. La normalidad del peso y la edad de los animales se verificó con una prueba de Shapiro-Wilk utilizando la función `Shapiro test` del paquete `stats` de R.8. Finalmente, se realizó una prueba robusta para comparar estos dos grupos independientes utilizando la función `medpb2 cut medians` del paquete `WRS2`.10. Consideramos que las diferencias estadísticas estaban definidas como $P < 0,05$. Los datos se presentan numéricamente como las medianas (mínimo a máximo) y gráficamente como las medianas, rangos intercuartiles y mínimos y máximos.

E. Microscopía electrónica de barrido

El implante, el hilo dentado y ambos montados se estudiaron mediante microscopía electrónica de barrido.

4.9.3. Resultados

La técnica de colocación del implante se realizó sin dificultades y en menos de 30 segundos en todos los casos, excepto en dos instancias en las que tuvimos que reiniciar la colocación porque el implante quedó atascado dentro de la aguja Tuohy. Este problema ocurrió porque el parche no estaba correctamente plegado dentro del elemento de transferencia. Los parches fueron reemplazados y los procedimientos se realizaron sin incidentes adicionales. Siguiendo el consejo del radiólogo, excluimos tres casos del análisis estadístico debido a la baja calidad de las imágenes de TAC. Estos tres animales pertenecían al grupo 1, que no recibió un implante. El peso medio (\pm desviación estándar) de todos los animales fue de 42 ± 11 kg y su edad media fue de $3,0 \pm 0,5$ años.

El volumen de contraste epidural fue menor en el grupo de estudio en comparación con el grupo de control (1,4 vs. 1,0 ml, $P = 0,008$, respectivamente). La mediana de la relación EPIDURAL/ROI fue menor en el grupo de estudio (grupo de estudio = 29; grupo de control = 46; $P = 0,013$; IC del 95 % $[-27, -3,5]$); en términos relativos, se detectó un 37 % menos de material de contraste fuera del espacio epidural en el grupo de estudio.

Los valores de ROI no fueron diferentes entre los dos grupos (3,4 vs. 3,2 ml, $P = 0,44$). No hubo diferencia estadística entre los volúmenes totales de líquido cefalorraquídeo encontrados en el mismo nivel del saco dural, representado por la suma del líquido cefalorraquídeo encontrado dentro del espacio subaracnoideo más el espacio epidural y los canales foraminales.

Estos resultados se presentan en la Tabla 8 y la Figura 96.

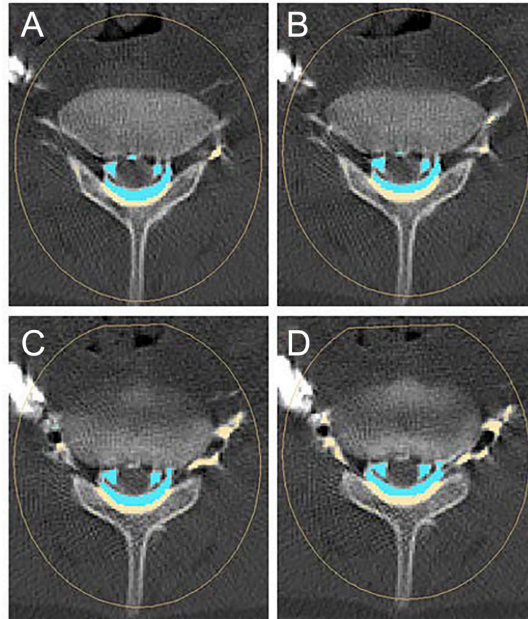


Figura 97. Vista transversal de la TC. Nota: Secuencia de imágenes de la tomografía computarizada, como ejemplo de cuatro cortes consecutivos (de craneal a caudal) en los que se segmentaron los contrastes epidural e intratecal. Seguimos el principio de la continuidad de las estructuras para segmentar el fluido de contraste en el área epidural (el azul corresponde al medio de contraste dentro del espacio subaracnoideo y el amarillo representa el espacio epidural lleno de grasa epidural). Los colores en la superficie de las imágenes fueron modificados utilizando Adobe Photoshop (Adobe, San José, California, Estados Unidos). Se mantuvo la textura y se añadió color para facilitar la comprensión de las imágenes

Tabla 8. Comparativa de fugas epidurales en función del tratamiento asignado*

Variable	Gr sin implante	Gr con implante	Valor P†‡	95 % CI
Tamaño de la muestra, n	23	23		
EPIDURAL, mediana (rango) en ml	1,4 (0,4-3,2)	1,0 (0,2-1,9)	0,01	–1,02 a –0,02
ROI, mediana (rango) en ml	3,4 (1,7-4,7)	3,2 (2,0-4,8)	0,44	–0,97 a 0,37
EPIDURAL/ROI en porcentaje	46 (18-84)	29 (10-69)	0,01	–27,0 a –3,5

Nota: EPIDURAL: el volumen de líquido de contraste (en mililitros) encontrado en el área epidural; ROI: el volumen total de líquido de contraste (en mililitros) encontrado en la región de interés, medido en las vértebras L6 y S1, incluyendo el líquido contenido en el espacio subaracnoideo, espacio epidural y canal foraminal; EPIDURAL/ROI: el porcentaje de líquido de contraste encontrado en el área epidural en relación con la cantidad total de líquido encontrado en la ROI. Un porcentaje más alto implica que proporcionalmente más contraste ha filtrado hacia el espacio epidural.

* Medianas, mínimos y máximos, valores de p y CIs del 95 % de las variables estudiadas.

† Los valores de p comparan grupos con y sin implante.

‡ Prueba medpb2 utilizada para comparar medianas de dos muestras independientes utilizando un método de *bootstrap* de percentiles.

EPIDURAL: el volumen total de contraste y los volúmenes en el espacio epidural; ROI: región de interés.

Las muestras, una vez sacrificados los animales, se analizaron durante la disección y posteriormente cuando se realizó el estudio microscópico. No se encontraron hemorragias subdurales o intratecales traumáticas.

4.9.4. Conclusiones

Tras todas las fases de desarrollo mostradas en el presente trabajo de investigación, en la fase 9 hemos introducido un dispositivo pequeño, reabsorbible y biocompatible que reduce eficazmente el flujo a través de orificios de punción iatrogénicos realizados por una aguja Tuohy de 18 Gauge en la duramadre de ovejas. Entre sus posibles ventajas se encuentra la inmediatez de la solución, es decir, su aplicación en el momento en que se detecta la punción dural accidental, así como la simplicidad de su diseño. Este modelo animal representa un primer paso hacia la validación de este nuevo método y los elementos utilizados en él, con miras a una posible futura evaluación mediante cohortes a través de ensayos clínicos controlados aleatorios en humanos, y tal vez mediante modificaciones en el tamaño o el diseño del dispositivo para otros escenarios clínicos futuros que aún no se han identificado y que puedan surgir debido a perforaciones en otras membranas.

5. Discusión

La cefalea pospunción dural es una complicación reconocida. En el campo de la analgesia epidural y probablemente motivada por el diámetro externo de la aguja habitualmente empleada, la rotura accidental de la capa formada por la duramadre y la lámina aracnoidea tiene altas probabilidades [38] de suponer la aparición del cuadro de CPPD al cabo de horas o días.

Esta patología sigue despertando el interés de la comunidad científica, que plantea dudas sobre el origen fisiopatológico del problema clínico, pero, sobre todo, se ve incapaz de abogar por el uso rutinario de un tratamiento específico del cuadro, sea terapéutico o profiláctico. Prueba de ello es la permanente aparición de nuevas propuestas terapéuticas en la literatura científica.

La necesidad de encontrar mejores soluciones al problema clínico se acentúa por la tendencia alcista [39] del uso de la técnica epidural. Esto es así por tres principales motivos. En primer lugar, por haberse consolidado como la técnica analgésica de referencia en el manejo del trabajo de parto. En segundo término, porque sigue teniendo un papel en la consecución de analgesia perioperatoria en otro tipo de actos médico-quirúrgicos (cirugía abdominal, cirugía ortopédica o traumatológica, vascular y torácica, entre otras). Por último, por la creciente incidencia de cuadros de dolor subagudo o crónico que requieren el uso de técnicas intervencionistas, entre las cuales el abordaje epidural cumple un papel relevante en el manejo de cervicobraquialgias y lumbociatalgias.

Sea como fuere, una técnica que intente la canalización del espacio epidural y que acabe por un fallo procedimental en la rotura de la duramadre y la lámina aracnoides promoverá la salida de LCR a su través en casi la totalidad de los casos.

El LCR se produce principalmente en los plexos coroideos a un ritmo de aproximadamente 0,35 ml/min, lo que equivale a alrededor de 500 ml por día. La mayor parte de este LCR se reabsorbe en el sistema venoso a través de las vellosidades aracnoideas en la superficie cerebral, hasta a un ritmo de 1,5 ml/min ante aumentos bruscos de la presión intracraneal (las vesículas aracnoideas se abren entre presiones de 100 a 300 mm H₂O aproximadamente). Se estima que el volumen total de LCR en el cuerpo es de alrededor de 250 ml [40], con aproximadamente un 30 % de este volumen fuera del cráneo; en algunos estudios se reportan volúmenes craneales (intra y extraventricular) de entre 175 y 185 ml, y volúmenes espinales de entre 75 y 85 ml [40] [41] [42] [43]. En posición de decúbito, las presiones intracraneal y lumbar se igualan y suelen oscilar entre 6 y 18 cm de agua. Sin embargo, en posición vertical, estas presiones divergen, con la presión intracraneal volviéndose negativa y la presión lumbar alcanzando valores de 40-50 cm de agua, algo mayores en el caso de algunas pacientes embarazadas.

Siguiendo la teoría de Monro-Kellie [44], se establece una relación inversa entre el volumen del líquido cefalorraquídeo y el volumen de sangre intracraneal, como se evidencia en la vasodilatación que ocurre en situaciones de depleción de LCR [45] [46]. La CPPD se origina debido a una disminución de la presión en el LCR al fluir a través del orificio que se forma cuando la aguja epidural atraviesa accidentalmente la duramadre.

De acuerdo con Klunkle y Woolf [47], la presión intracraneal disminuye con la pérdida de tan solo 15 ml de LCR. Sin embargo, la relación entre la presión de apertura del LCR y la aparición del cuadro de CPPD es incierta; algunos pacientes no experimentan cefalea a pesar de perder una cantidad significativa de LCR, mientras que otros desarrollan cefaleas intensas con pérdidas pequeñas de LCR [43].

En la mayoría de los entornos clínicos, y según la Sociedad Americana de Anestesiología [48], el manejo conservador en forma de terapia de apoyo incluye reposo en cama, rehidratación, fajas abdominales, cafeína oral y analgésicos (antiinflamatorios no esteroides, aspirina, paracetamol y opioides orales como la oxicodona) durante las primeras 24-48 horas.

En casos resistentes a este abordaje conservador puede requerirse una terapia de segunda línea. Dentro del arsenal terapéutico contra la CPPD existen multitud de intervenciones, farmacológicas (como el uso de metilxantinas orales, de lo que se hablará más adelante) y técnicas. En relación a estas últimas, una de las opciones técnicas que parece demostrar efectividad en el tratamiento de casos de CPPD que no responden a manejo conservador es el bloqueo ecoguiado bilateral del nervio occipital mayor [49].

La administración de sustancias en el espacio epidural podría, en teoría, restablecer la presión intracraneal y aliviar la cefalea al cerrar el orificio dural y al afectar la presión subaracnoidea. En un modelo animal, Kroin *et al.* [50] demostraron que soluciones salinas fisiológicas o coloides tienen un efecto más leve y temporal en comparación con la aplicación de sangre autóloga en el lugar de perforación dural. Además, este efecto es aún menor cuando se administran alejadas del lugar de punción o en animales previamente sometidos a laminectomía.

En cuanto al parche epidural con sangre autóloga, conocido como parche hemático (PH), los estudios indican que su eficacia varía entre el 61 % y el 75 %, con una tasa de fallos aproximada del 40 % [51]. Específicamente en pacientes obstétricas, el porcentaje de fallos en la terapia para lograr un alivio completo del dolor puede ser del 65-75 %, lo que resulta en una cefalea residual en estos casos. Además, se ha observado que la tasa de recaídas después de un resultado exitoso puede alcanzar el 71 % en algunas series [52].

La realización de un PH, en todo caso, no ha demostrado ser inocua. No es despreciable el riesgo de punción dural accidental repetida en el contexto de intento de aplicación de PH,

esto es, un nuevo fallo procedimental que puede condenar al paciente a sufrir un cuadro agravado y rebelde de CPPD [53]. Además de este riesgo, un estudio comparativo reciente entre pacientes que recibieron ($n = 647$) PH tras una punción dural accidental y pacientes que no lo recibieron ($n = 354$) reportó una incidencia mayor de necesidad de analgésicos, dolor de cabeza y dolor lumbar a los tres meses de seguimiento en pacientes sometidos a la realización de PH [54].

Si bien se han empleado en casos aislados sistemas adhesivos de fibrina (testados en otros escenarios clínicos) para intentar realizar un sellado mecánico de la perforación, hasta la fecha, el parche de fibrina epidural no ha sido sometido a un ensayo clínico controlado ni ha sido comparado con el PH. No obstante, se ha comprobado su eficacia en casos aislados de fistulas de LCR de alto flujo y en situaciones refractarias, según estudios previos.

5.1. Tratamiento vs. profilaxis

Hemos abordado el manejo del problema desde un punto de vista paliativo, esto es, asumiendo que el momento óptimo para tomar medidas activas contra la cefalea es aquel en que esta ya ha debutado. Este manejo de *wait and see* ha sido criticado por algunos autores [55], alegando que es posible realizar acciones profilácticas que atenúen el impacto fisiopatológico de la brecha dural y, por lo tanto, ayuden a minimizar las probabilidades de que el paciente debute con un cuadro de CPPD o que, si este aparece, sea grave.

A nivel farmacológico, solamente la administración de morfina epidural, análogos de la hormona ACTH y algunas metilxantinas habían demostrado hasta hace poco tener alguna eficacia preventiva contra la CPPD [56]. No obstante, recientemente Barati-Boldaji *et al.* publicaron una revisión sistemática en la que concluían que tanto la aminofilina como la teofilina tenían efectos terapéuticos y ayudaban a mitigar la intensidad de la CPPD, pero su administración no demostró poseer ningún efecto profiláctico [57].

También con fines profilácticos se han intentado establecer rutinas de tratamiento intervencionista. Una de las actuaciones que clásicamente parecía ser capaz de reducir la incidencia de aparición de CPPD tras una punción con aguja tipo Tuohy era la de dejar un catéter epidural convencional atravesando el complejo duramadre-aracnoides, esto es, dejar el catéter intratecal. Esta práctica, que basaba su uso en la capacidad de un catéter de tapar el orificio dural limitando de esta manera la salida del líquido cefalorraquídeo [58], no obstante, ha quedado recientemente en entredicho tras la publicación de diversos metaanálisis que cuestionan sus beneficios reales [59].

Por último, algunos autores han sugerido la realización rutinaria de un PH tras detectar la perforación dural accidental y antes de que se establezca el cuadro de CPPD. Sin embargo,

esta práctica no tiene una justificación hoy en día [60]. Los efectos adversos comunes de un PH incluyen cefalea, dolor de espalda, dolor de cuello, irritación radicular debido a subproductos sanguíneos y una leve reacción febril. Por lo general, estos efectos son leves y transitorios. Se informa que la incidencia de dolor de espalda después de la EBP es de aproximadamente el 80 %, y en la mayoría de los casos se resuelve en un plazo de cuatro semanas. Se cree que es una consecuencia del aumento de la presión dentro del canal espinal como resultado de la inyección de sangre [61]. También se han descrito síntomas radiculares que pueden estar relacionados con la irritación de las raíces nerviosas debido a los subproductos hemolíticos de la sangre inyectada [61] [62]. Una complicación importante experimentada por muchos pacientes después del cierre exitoso de una fuga de líquido cefalorraquídeo es la hipertensión intracraneal de rebote. Causado por un aumento en la presión del líquido cefalorraquídeo, este fenómeno se caracteriza por el desarrollo de un nuevo fenotipo de cefalea poco tiempo después del cierre del sitio de fuga mediante PH o cirugía. Las cefaleas asociadas a este rebote son, en su mayoría, más intensas al estar acostado y pueden cambiar de ubicación en comparación con el síndrome de hipotensión intracraneal que motiva la aparición de la clásica CPPD. A menudo ocurren en la región frontal o periorbital, mientras que las cefaleas occipitales son típicas del SIH. Los síntomas pueden desarrollarse rápidamente después del PH o a lo largo de días o semanas. El tratamiento generalmente consiste en acetazolamida o topiramato [63]. Si los síntomas son graves, la punción lumbar terapéutica puede ayudar a aliviarlos de inmediato. La cefalea por hipertensión intracraneal de rebote es bastante común, aunque generalmente no es grave y puede resolverse en varios días en muchos casos [63].

Se han reportado efectos adversos raros de la realización de un PH, como aracnoiditis adhesiva crónica, hematoma subdural o espinal, convulsiones, trombosis del seno venoso cerebral, bradicardia transitoria, infección, hemorragia intracerebral, parálisis del nervio facial, trastornos visuales, incontinencia, monoplejía, isquemia cerebral, síndrome de cauda equina, neumoencéfalo, formación de una masa epidural calcificada y cicatrización del espacio epidural con distorsión de la anatomía epidural [62] [64] [65] [66]. Además de esto, para realizar una técnica de PH de forma certera y minimizar la probabilidad de fallo, algunos autores recomiendan el uso rutinario de rayos X.

Este corolario de potenciales problemas, como hemos avanzado, no motiva a establecer como rutinario el uso de la sangre autóloga como taponador de la brecha dural accidental.

Esa falta de opciones profilácticas motivó el inicio y desarrollo del trabajo que aquí exponemos.

5.2. Las características de la lesión a taponar

Los resultados del presente trabajo de investigación han sido desplegados secuencialmente. En la fase 1 (llamada «Experimento en modelo ovino in vivo. Perforación dural y seguimiento de su cierre espontáneo», página 51) se explica el estudio llevado a cabo sobre duramadre ovina que, tras ser perforada intencionadamente con agujas de tipo Tuohy de 18 Gauge, se estudió en diversos grupos de ovejas sacrificadas en tres momentos distintos.

Los resultados obtenidos demuestran no solamente la morfología del agujero de punción dural con aguja tipo Tuohy en oveja viva, también apuntan a que el proceso de cicatrización de dicha perforación no es lineal, sino que sigue un patrón logarítmico.

Hasta ahora, se había aceptado generalmente, basándose en fundamentos clínicos tras la recuperación natural de la CPPD, que el cierre de estos orificios de punción era un proceso lineal si, de hecho, la fuga de líquido cefalorraquídeo y la hipotensión intracraneal son la teoría correcta detrás de la génesis de la CPPD. Extrapolando a partir de este patrón logarítmico de cierre de orificios de punción y sus circunferencias, se deduce que el proceso de cierre probablemente llevará mucho tiempo si continuamos las líneas de gráficos logarítmicos, que se han aplanado más allá de los siete días de este estudio. No sabemos cuánto tiempo llevará alcanzar el cierre completo *in vivo*, pero los resultados de la fase de investigación apuntan a que no se trata de un proceso lineal y se deberá realizar un estudio de seguimiento para determinar esto, es decir, extender las líneas de gráficos más allá de los siete días. Además, sería interesante postular una teoría diferente o complementaria a la hipótesis basada puramente en la fuga de líquido cefalorraquídeo y la hipotensión intracraneal como patogénesis de la CPPD.

Sabemos gracias a estudios previos que, cuando la punta de una aguja Tuohy penetra en la duramadre *post mortem* [67] [68], los fragmentos dentados en el borde de la lesión tienden a plegarse hacia dentro y, tan pronto como se retira la aguja, los bordes de la lesión tienden a retraerse debido a las propiedades elásticas de la duramadre. La morfología del orificio de punción creado *ante mortem* no difirió de la de los orificios de punción creados *post mortem* en nuestros estudios anteriores [10] [11] [12]. Como se postuló en ese momento, estos hallazgos pueden favorecer el retorno de los bordes dentados a su posición original, mejorando el cierre del orificio de punción dural. De manera similar, la forma de la lesión producida por las agujas Tuohy no fue circular, sino que se pudo observar como una imagen geométrica similar a un óvalo o una elipse o una «luna creciente», similar a las lesiones creadas por una aguja espinal tipo Quincke en estudios previos [10] [11] [12], pero de mayor tamaño [9] [67]. Las lesiones pueden someterse a un proceso de reorganización con la aproximación de los bordes debido muy probablemente a sus propiedades viscoelásticas

[69]. Se deben considerar dos componentes: una lesión dural resultante de la perforación de varias láminas de la duramadre y la perforación de la capa aracnoidea [10].

También sabemos a partir de estudios previos que la visualización del orificio de punción desde el lado aracnoideo interno a través del orificio nos permitió observar el cierre parcial o incluso completo de las láminas durales internas [10]. Sin embargo, se observó un tipo diferente de cierre de cada lesión de lámina dural debido a que la duramadre está formada por múltiples láminas durales concéntricas [10]. Esto no se observó en los modelos vivos utilizados para el presente estudio.

La duramadre es una estructura permeable que contiene principalmente fibras de colágeno y algunas fibras elásticas. Además, tiene escasos fibroblastos, macrófagos, mastocitos y células plasmáticas [15] [70]. Las fibras forman una trama que proporciona resistencia mecánica a todo el saco dural, y hay aproximadamente 80 láminas concéntricas que juntas forman el espesor de la duramadre [15] [70]. La capa aracnoidea, por otro lado, es más importante para el cierre del orificio de punción dural porque las células aracnoideas se adhieren firmemente entre sí mediante uniones de membrana especializadas (*tight junctions*) [10] [71] [72]. Estas forman una barrera meníngea importante para el saco dural con propiedades semipermeables. A diferencia de la duramadre, la lámina aracnoidea no tiene direccionalidad en sus fibras. Por lo tanto, la lámina aracnoidea es de mayor importancia para el efecto de barrera y el cierre de lesiones de las meninges que la duramadre [10] [71] [72].

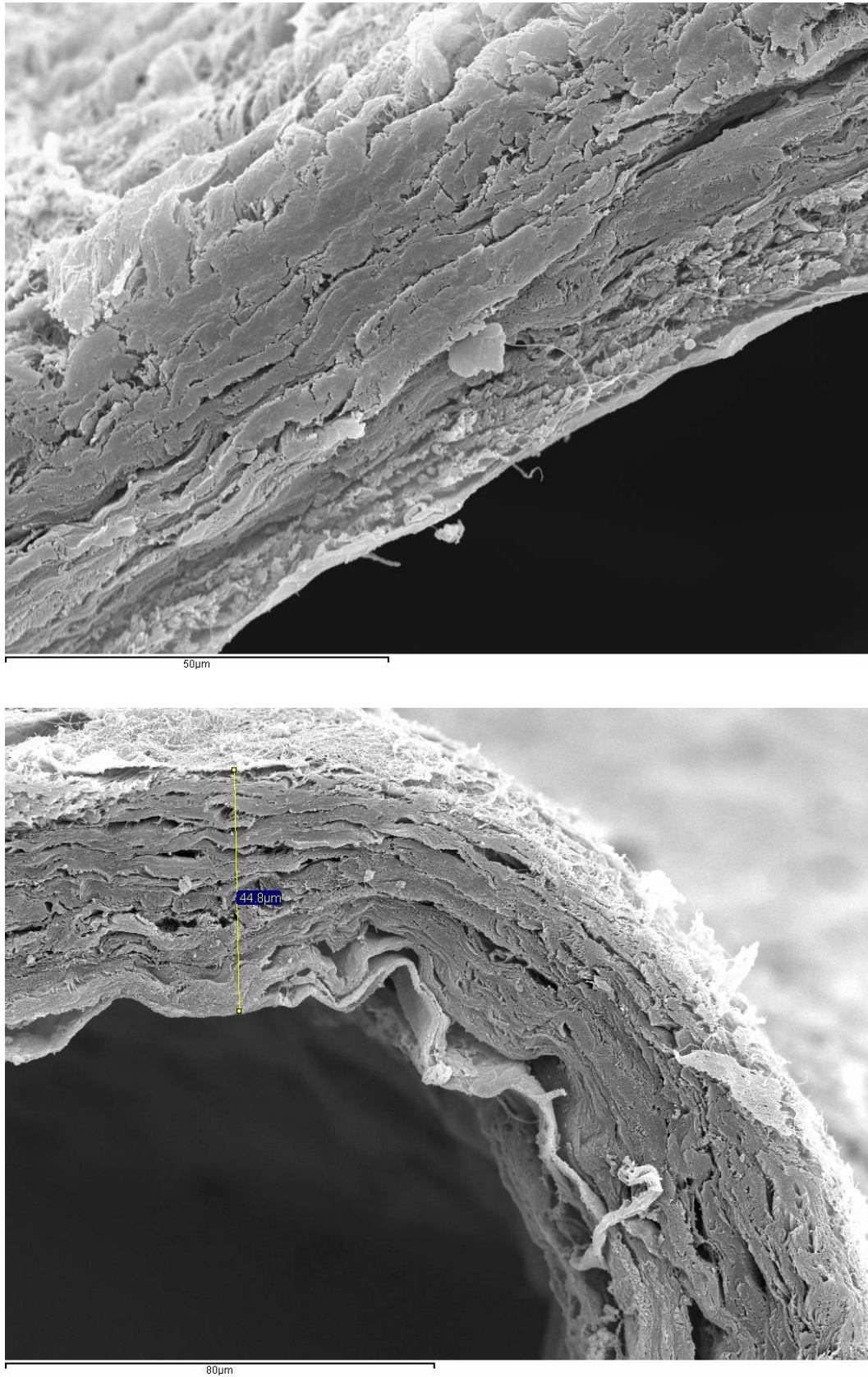


Figura 98. imágenes obtenidas por microscopía electrónica mostrando un corte del espesor de la membrana duramadre-aracnoides. Cortesía del Prof, MA Reina

Al visualizar las lesiones en diferentes momentos, el área decreciente encontrada en los primeros minutos y horas después de la punción muestra una rápida reducción en el tamaño de la lesión. Esto podría deberse a las propiedades viscoelásticas de las membranas y podría explicarse por el proceso inflamatorio y el proceso temprano de fibrosis. Después de tres días, es probable que el proceso de fibrosis domine.

En el séptimo día, nuestro estudio demostró que la lesión solo está cerrada en aproximadamente un 50 %; sin embargo, en la práctica clínica, la CPPD generalmente ha desaparecido en este momento. Antes de este estudio, se asumía que la desaparición de la CPPD se debía al cierre natural y completo del orificio de punción y a la homeostasis alcanzada en la presión del líquido cefalorraquídeo. Incluso se postuló la teoría de «parche epidural de sangre», que suponía un «parche» del orificio de punción. No existía evidencia experimental para esto en ese momento y se asumía puramente por fundamentos clínicos que el cierre debía ser inmediato debido a «parches de sangre», o lineal porque la CPPD generalmente desaparecía en la mayoría de los casos después de cinco a siete días [73] [74] [75].

A la hora de conceptualizar un posible implante de sellado mecánico de la perforación dural, estos hallazgos tienen interés. Permiten tener una base para proponer un implante que permanezca en el sitio de la lesión durante más tiempo del que esta tarda en cerrarse de manera natural. Dicho de otro modo, el tiempo de reabsorción de un hipotético cuerpo de implante de sellado no habría de ser menor de siete días. Si bien es cierto que no se condujeron estudios que evaluaran microscópicamente el grado de cierre natural de la perforación más allá de esos siete días (lo que no permite conocer en qué momento queda totalmente cerrada), es razonable pensar que los biomateriales de uso médico en el mercado pueden cumplir las exigencias que impone el problema clínico.

El material elegido para fabricar el implante fue el copolímero Poly (L-lactide-co-D, L-lactide). Ha sido probado en varios campos de diagnóstico y terapia médica. Su biocompatibilidad, degradación y perfil de excreción lo convierten en uno de los materiales más confiables y probados, y está aprobado por la Food and Drug Administration de Estados Unidos. Tras las fases de rediseño que hemos expuesto y detallado en el trabajo y una vez dada por buena la forma del implante a testar en modelo ovino vivo, todo el kit pasó pruebas de citotoxicidad e histocompatibilidad realizadas en roedores (ver anexos 3 y 4).

Estudios de lesiones durales causadas por diferentes agujas han demostrado que el cierre de la lesión ocurre de forma independiente en la duramadre y la capa aracnoidea. El cierre es más rápido en la duramadre debido al efecto de sus fibras elásticas. Es más lento en la capa aracnoidea porque el cierre requiere reparación celular. En un entorno clínico, el implante que describimos se colocaría segundos o minutos después de la generación de la lesión, por lo que la pérdida de LCR se compensaría con la producción normal de LCR.

El dispositivo que desarrollamos y testamos contenía un implante de ácido poliláctico minúsculo con una configuración específica que le permitía desplegarse una vez que salía de la punta de la aguja Tuohy. Las iteraciones en diseño, fruto de los experimentos reflejados en el presente trabajo, fueron encaminadas a maximizar las probabilidades de que el parche permaneciese dentro del saco dural y bloquease la brecha creada por la aguja de punción epidural, aprovechando el hecho de que cuando se produjo la pérdida de LCR la aguja ya estaba en posición en el sitio de la perforación. Este hecho es capital a la hora de entender los esfuerzos del grupo de investigación: hasta la fecha, todas las soluciones intervencionistas encaminadas a solucionar el problema de la CPPD lo han hecho aplicando la solución después de la aparición del problema. El dispositivo que se presenta en este trabajo aprovecha la ventana de oportunidad técnica-clínica única que supone la permanencia de la punta de la aguja Tuohy en la interfase epidural-intratecal. Durante un breve lapso de tiempo, quien realiza la técnica y perfora accidentalmente la duramadre-aracnoides sostiene la aguja con una o con las dos manos en esa posición de «fallo». Es el único momento durante el proceso en el que se tiene la certeza absoluta de mantener la brecha canalizada. Por ese motivo, se propone una solución preventiva que consiste en aprovechar esta oportunidad para insertar el dispositivo de bloqueo de salida del LCR.

Dado que la aguja de 18 Gauge en el kit estándar tiene un diámetro externo e interno de 1,3 y 1,1 mm, respectivamente, puede alojar y permitir el paso del implante al interior del saco dural para tapar la lesión. Además, la retracción rápida en el diámetro de la lesión, hasta un 80 % en los minutos posteriores a su generación, podría facilitar que el área superficial del implante superase la de la lesión.

Tras afinar en sucesivas fases de desarrollo la forma y función del kit de sellado, la propuesta es la de una técnica relativamente fácil de dominar. En un hipotético entorno clínico, una vez que hubiese ocurrido la lesión en la duramadre y apareciese la fuga de LCR a través del extremo proximal de la aguja epidural, el estilete de la aguja Tuohy se reintroduciría dentro de la aguja epidural para evitar más pérdida de LCR, mientras que un asistente abriría el kit. Mientras se sujetase la aguja con una mano, el sistema podría insertarse y dar paso a la retirada del resto de componentes —soporte de transferencia, elemento o guía introductora y aguja epidural—.

Cualquier técnica sobre el neuroeje ha de suscitar preocupaciones por la seguridad del paciente. Este caso no es una excepción, puesto que el procedimiento de cierre de la perforación dural implica la manipulación de estiletes, introductores y el propio implante para el despliegue de este último a nivel intratecal. El riesgo inasumible es el de lesión medular. El diseño romo tanto de la superficie del implante como de la punta del hilo barbado (tope mecánico creado por calentamiento) (Figura 99 y Figura 100) es muy poco probable que

lesione la médula espinal o las raíces de la cauda equina. Lo mismo ocurre con la punta roma de la guía o estilete flexometálico.

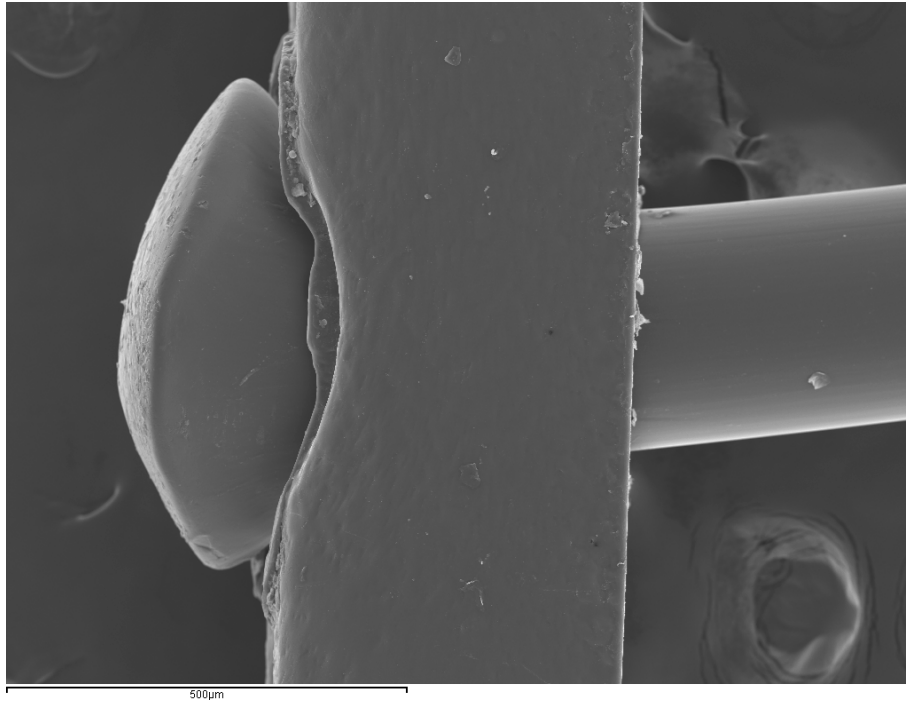


Figura 99. Visión lateral a 100 aumentos del tope termodilatado del hilo de sutura acoplado a la superficie del implante (microscopio electrónico)

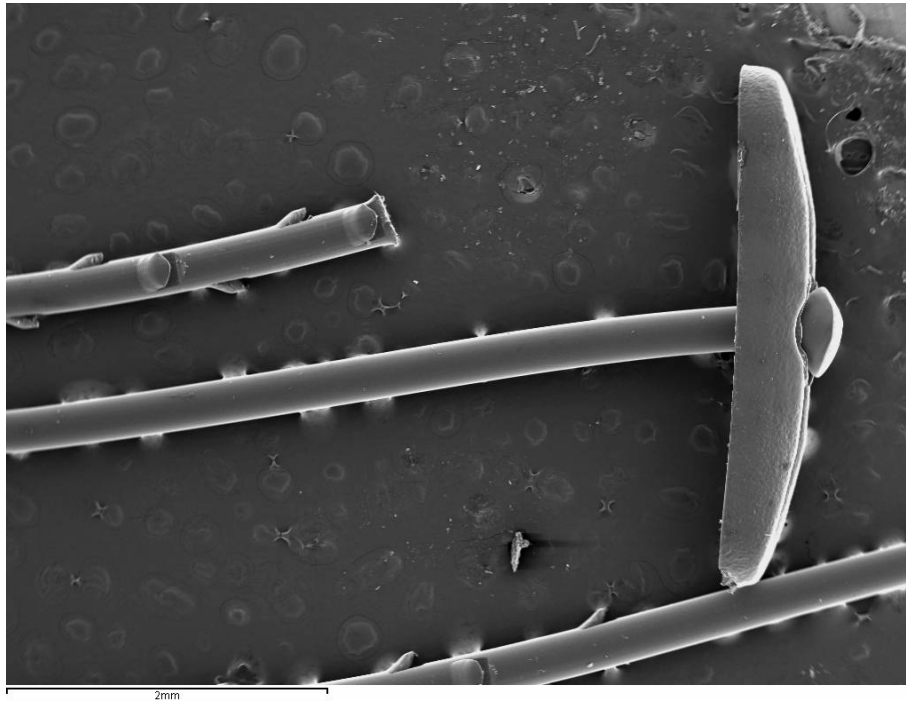


Figura 100. Visión lateral a 20 aumentos del implante mostrando su cara redondeada que ha de quedar mirando a la médula espinal cuando se despliega en el espacio subaracnoideo (microscopio electrónico)

Sin embargo, se realizan una gran cantidad de técnicas epidurales en la columna lumbar y, en el nivel metamérico en el que se aborda la cateterización del espacio epidural, generalmente no encontramos médula espinal. Además, el primer milímetro de la aguja Tuohy se encuentra dentro del espacio subaracnoideo después de la pérdida accidental de LCR, por lo que el introductor no entra en contacto con los bordes de la lesión de la duramadre que están protegidos por la superficie externa de la aguja. El implante está diseñado para abrirse siempre dentro del saco relleno de LCR; además, los movimientos del introductor y el implante no agrandan el tamaño de la lesión. La pérdida inicial de LCR garantiza que el implante se colocará dentro del espacio subaracnoideo y se extraerá desde el interior hacia el exterior, sellando la lesión de la duramadre.

El experimento relatado en la fase 9 del presente trabajo puso fin a todo el proceso de conceptualización, iteración, testado y fabricación para validación *in vivo*. El modelo elegido fue el ovino adulto por la facilidad en el manejo de los animales, especialmente en los períodos posimplantación y educación anestésica [76] [77], en los que un modelo como el porcino podría haber puesto en riesgo la integridad del implante (exigiendo la estabilización individual de los animales para que evitasen comerse o contaminar los apósitos de otros especímenes). El manejo anestésico incluyó la inducción de una anestesia general en base a los conocimientos del equipo de veterinaria, que aconsejó esta modalidad con una doble finalidad. Por un lado, se perseguía la inmovilidad del animal durante el proceso de

implante y estudio con TC. Por otro lado, la colocación de una sonda ruminal bajo anestesia general podría evitar un timpanismo de rápida instauración que podría poner en riesgo al animal y al experimento: una presencia anómala de gas en el intestino de la oveja que hubiese complicado la obtención de imágenes con TC, así como generado un potencial efecto depresor tanto respiratorio —con consiguiente riesgo de aspiración bronquial y neumonía— como cardiovascular [78] [79]. La elección del modelo, del tipo de anestesia y del protocolo de manejo parece acertada.



Figura 101. Doctora Mireia García Rosselló, al fondo, realizando la intubación del rumen en un espécimen anestesiado durante la fase 9 del estudio

La implantación del dispositivo en los casos de estudio experimental *in vivo* se realizó sin incidencias. Todos los procedimientos requirieron menos de 30 segundos salvo dos: en ambos casos se tuvo que emplear un sistema de sellado nuevo, ya que el parche no había quedado plegado correctamente dentro del soporte de transferencia. Este problema, a juicio del equipo de experimentación, no supone un riesgo analizable ahora mismo: los

prototipos se realizaron individualmente y fueron ensamblados con procesos semiautomáticos que, en una eventual fabricación en serie e industrializada, corregirían cualquier defecto de plegado o detectarían en control de calidad un defecto antes de comercializar el kit.

El proceso técnico —punción y colocación del implante— llevado a cabo transcurrió sin incidencias. Como se ha reportado en el apartado de resultados de la fase 9 del estudio tras la valoración de imágenes obtenidas por TC, se detectó una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos (perforación + implante y perforación sin implante): la mediana de la relación EPIDURAL/ROI (esto es, el volumen de contraste existente en el espacio epidural dividido entre el volumen de contraste total en la región de interés) en el momento de realizar el TC fue menor en el grupo en el que se selló la perforación con un implante. Existió un decremento relativo del 37 % de contraste epidural en el grupo tratado con implante. Es importante apuntar que los valores totales en las ROI en ambos grupos no fueron diferentes, lo que habla a favor de una uniformidad de volumen de contraste inyectado.

Debido a que el volumen epidural y el volumen total de contraste administrado variaron entre los animales individuales dependiendo de su peso, utilizamos la relación EPIDURAL/ROI como la principal variable de estudio para estandarizar nuestras medidas. Sin embargo, el contraste intratecal puede distribuirse de forma craneal o caudal más allá del área delimitada en la proximidad inmediata del sitio de punción. La cantidad de medio de contraste dentro y fuera del espacio epidural es una métrica que considera la variabilidad entre cada animal causada en parte por la migración ventral hacia el canal foraminal.

En condiciones normales, es probable que la cantidad de LCR que se filtra más allá del implante sea incluso menor que la observada en nuestros resultados, considerando que este método experimental produjo un aumento en la presión de LCR más allá de lo normal después de inyectar una solución de ioversol de 0,4 ml/kg.

Si en un futurible caso de uso clínico del kit se requiere otro abordaje al espacio epidural (nueva punción), la presencia del implante no impide realizar la técnica en un espacio intervertebral diferente, de manera similar a lo que sucedería en lesiones dures no tratadas.

Los signos clínicos de hipotensión intracraneal típicamente aparecen después de 24 horas. En la muestra de ovejas intervenidas en nuestro experimento no se encontraron datos durante la monitorización posprocedimental que sugiriesen la presencia de dolor o *discomfort*. Parece razonable especular que esto ocurre porque el volumen filtrado acumulado es relativamente grande en ese momento. Sin embargo, los estudios de Reina *et al.* [10] [11] [12] [15] sobre volúmenes filtrados son quizás más apropiados, ya que demuestran, al igual que el estudio actual, que, en los primeros minutos después de la pérdida accidental de LCR,

la filtración de LCR es máxima antes de la contracción de las fibras elásticas de la duramadre que reducen el tamaño del orificio de punción.

Existen numerosas patentes consultables en las bases de datos públicas que definen métodos y dispositivos para el cierre percutáneo de fistulas [80], de roturas accidentales o intencionadas de vasos sanguíneos [81] y otras paredes [82] de vísceras y cavidades. También podemos encontrar publicadas patentes que protegen el uso de dispositivos para el cierre de brechas durales o durotomías [83] (normalmente quirúrgicas). Si bien en el caso de las primeras la forma de operar a través de agujas o cánulas puede llegar a ser similar, el caso de uso y el mecanismo de cierre propuesto difieren, y los elementos que componen el dispositivo son notablemente diferentes. En cuanto a la segunda categoría, la de dispositivos quirúrgicos o sellantes sintéticos-biológicos para el cierre de perforaciones durales, la metodología para aplicarlos difiere lo suficiente para afirmar que, a fecha de la publicación de este trabajo, no se encuentran propuestas publicadas que semejen lo que estamos probando.

5.3. Limitaciones del estudio

Este estudio presenta numerosas limitaciones. Intentamos recogerlas siguiendo un orden paralelo al de exposición de sus sucesivas fases.

En primer lugar, no se respetó la secuencia lógica de actuación para el diseño de un implante destinado a sellar una perforación dural, puesto que el estudio *post mortem* en animales (fase 1) de la lesión se realizó sobre los mismos especímenes que el estudio de la función sellante del kit diseñado. Esto fue así por motivos de responsabilidad ética.

Con respecto a la fase 1 del trabajo, una limitación remarcable es que no hay un tiempo cero disponible. En el tiempo cero, aún no se había iniciado ningún proceso de cierre, ya fuera viscoelástico o mediado por el efecto de inflamación y fibrosis. Una limitación adicional es que el estudio se terminó después de siete días de evolución postpunción. Ahora nos damos cuenta de que esta finalización fue prematura, pero no anticipamos la naturaleza logarítmica del proceso de curación de la lesión. Los futuros estudios deben extenderse durante períodos de tiempo más largos y también deben incluir mediciones sin restricciones del flujo sanguíneo cerebral y la presión intracraneal. El hecho de que este estudio *in vivo* se realizara en un modelo animal puede considerarse una limitación. La elección del modelo ovino se basó en la similitud del comportamiento biológico entre los mamíferos y [84] en el tamaño corporal igual entre ovejas y humanos en relación con el tamaño de la aguja. Esto puede ser una limitación debido a la obvia diferencia de postura (erguida vs. cuadrupedia) con respecto a los humanos. La facilidad de la punción lumbar en el área lumbar elegida y la docilidad del animal para el manejo y alojamiento hicieron de las ovejas

una elección obvia, como ya se ha explicado. Revisando estudios [85] que exponen las características de la duramadre de ratas, conejos, perros, cerdos y ovejas, comparamos sus características microscópicas con la duramadre humana que habíamos estudiado previamente; decidimos que la oveja era el modelo animal más adecuado para este proyecto. En estudios realizados por el Prof. Reina [15] se estudiaron muestras de duramadre tomadas sin criopreservar y criopreservadas por microscopía electrónica de barrido, y no encontramos ninguna diferencia estructural en los niveles de magnificación que se utilizaron.

También en la fase 1 puede constituir un sesgo en el estudio de observación microscópica de la duramadre el hecho de que los animales hubiesen sido sometidos, antes de su sacrificio y posterior análisis morfológico, a una inyección intratecal de contraste radiopaco. Desconocemos el efecto de dicho contraste, en las cantidades y concentración administradas, sobre el proceso de regeneración tisular del complejo formado por la aracnoides y la duramadre en ovejas.

El procesamiento de las muestras de duramadre, una vez enviadas debidamente preservadas al Centro Nacional de Microscopía Electrónica de Madrid, no supuso un reto. No obstante, la obtención de la duramadre aislada para su preparación y envío sí que constituyó un reto que puso en ocasiones en riesgo el estudio. Tras algunas pruebas en piezas de animal congelado se determinó que el método más adecuado para la consecución de piezas anatómicas incluía la congelación, el despiece y posterior fresado de hueso hasta obtener un segmento medular y de saco que diseccionar (Figura 102).



Figura 102. Trabajos de disección llevados a cabo durante la fase de obtención de muestras para estudio microscópico. Nota: Se muestra un corte en el que se visualiza la médula espinal y el canal medular, con elementos óseos y músculos

En relación con las sucesivas fases expuestas en el trabajo, remarcamos como limitación la no disponibilidad de más de tres opciones de diseño. Desconocemos si prolongar la fase de conceptualización de soluciones mecánicas hubiese aportado una mejor solución al problema.

De la misma manera, la variedad de materiales candidatos a componer el cuerpo del implante era finita y muy condicionada por la disponibilidad relativamente rápida de *stock* de dichos materiales para ensayos y *bench testing*. En un escenario ideal, podría haber sido provechoso demorar la definición de las características mecánicas del implante hasta la obtención de un copolímero hecho a medida del problema a resolver. Esto, no obstante, hubiese consumido tiempo y recursos de los que no se disponía, sin garantizar que el resultado final variase ostensiblemente ni a favor de un hipotético material compuesto ex profeso. Además, la llevada al mercado de un material nuevo precisaría recorrer una serie de costosos procesos de validación que pondrían en riesgo el éxito del proyecto, nuevamente sin garantizar una mejora en el rendimiento del kit.

En varias fases del estudio se trabajó con la hipótesis de que un cianocrilato u otro tipo de sellante aplicado a través de la aguja epidural podría mejorar la capacidad de adherencia del parche o el cierre de la perforación. Esta hipótesis, debido al mal rendimiento de los

sellantes en casi todos los ensayos y test *in vitro*, no se pudo validar en condiciones realistas, esto es, en contacto con tejido vivo, donde gracias a las condiciones de acidez y temperatura puede desplegarse el potencial del sellante. No obstante, el fraguado intraaguja hubiese puesto en riesgo la técnica.

Algunas de las fases de estudio incluyeron las pruebas sobre membrana sintética del kit desarrollado, y eso constituye una limitación porque haberlo hecho en membrana humana podría haber aportado conocimiento sobre la viscoelasticidad de la duramadre y sobre el rendimiento del parche. Sea como fuere, algunas pruebas aisladas sobre membrana de cadáver no fueron satisfactorias por la friabilidad de un tejido congelado y descongelado, lo que nos pareció que podría poner en riesgo la validación realista del kit. En estas fases de test de laboratorio no se contó con un caudalímetro para analizar al detalle la diferencia entre flujo de suero salino drenado en fantasmas a los que se aplicaba el kit y fantasmas no tratados.

En la confección de los kits definitivos o kits para estudio *in vivo* se realizaron varios procesos, reflejados en la memoria de trabajo. El proceso global de producción de la tirada de kits a validar no fue automatizado ni industrializado, por lo que en sí esta manualidad constituye una limitación del presente trabajo. Es especialmente relevante el paso de termilatación de la punta de la sutura barbada para confeccionar el tope mecánico del implante con el hilo que previamente se había enhebrado a su través. Esto ha dado pie a distintos tipos de tope, si bien es cierto que un posterior análisis microscópico no ha revelado notables diferencias en tamaño y en todos los casos el tope ha sido efectivo.

Por otra parte, en este mismo proceso de confección y ensamblaje de los kits se decidió usar suturas disponibles en el mercado que dispusieran de barbas o espículas (hilo barbado V-Loc, Covidien). Esto ha obligado a la asunción de una determinada distancia entre espículas, no modificable, que desconocemos si pudiera haberse optimizado en el caso de optar por confeccionar a medida la sutura barbada. Globalmente, no obstante, el equipo considera que la capacidad de fijación a estructuras periaxiales del hilo espiculado ha sido óptima (lo cual es lógico por el fin quirúrgico con el que fue diseñada) y no es necesario cambiar las características del hilo. Lo mismo es aplicable a su tiempo de degradación: se espera que gran parte de la sutura haya sido reabsorbida a los 90 días de su implantación, lo cual parece adecuado dado el contexto clínico de la CPPD. Pero no hay que olvidar que en esta investigación no se estudió la relación tejido-implante más allá de los siete días. Es, pues, una limitación extensible también al cuerpo del implante, cuya permanencia y tasa de degradación en condiciones reales habrá de estudiarse en futuros estudios.

En cuanto a la fase 9 (estudio *in vivo* de la funcionalidad mecánica del kit de sellado), son varios los puntos que limitan el trabajo. Debemos enfatizar que se espera que el implante

permanezca en su lugar debido a la tracción del hilo sintético con púas. Después de retirar la aguja, este hilo quedará anclado en los ligamentos espinales, evitando que el implante se mueva. La permanencia del implante más allá del tiempo de estudio no pudo ser comprobada; la limitación del tiempo de estudio en esta fase 9, condicionada por la complejidad de estabular y mantener los animales, puede haber supuesto una merma en la calidad de los datos clínicos obtenidos.

El modelo animal elegido no se considera un fallo o limitación del estudio. No obstante, queda claro que los modelos de dolor en rumiantes [86] [87] de los que se podía disponer en el momento del ensayo eran subóptimos, por lo que, más allá de la monitorización clínica con visitas cada doce horas en estabulario (que no arrojaron datos sugestivos de un proceso de cefalea establecido en ninguno de los dos grupos), quedó descartada la realización de un seguimiento clínico que determinase si el kit prevenía de la aparición de una cefalea en las ovejas. Esto se explica por el hecho de que ni siquiera queda claro si el proceso fisiopatológico que desencadena una CPPD en humanos genera la misma reacción en otras especies. Además, pese a que se demostró una reducción significativa en la filtración de LCR después de la aplicación del parche en este modelo animal, debido a que los humanos tienen una postura erguida y, por lo tanto, diferentes presiones de LCR, aún queda por demostrar si este dispositivo limita efectivamente la filtración de LCR en sujetos humanos y si esta reducción en la filtración de LCR disminuirá la incidencia o gravedad de la CPPD.

Hay varios factores en la distribución observada de LCR en el espacio epidural en ovejas que no se abordan en nuestro estudio actual y que podrían considerarse como limitaciones. En primer lugar, el presente estudio muestra los resultados del cierre de la duramadre dos minutos después de la punción. No sabemos el efecto si el implante permanece hasta su reabsorción. Según los estudios microscópicos, podría ser aceptable suponer que la retracción inmediata de los bordes de la lesión después de una lesión aguda del tejido de la duramadre facilita una reducción inicial en la filtración de LCR, después de lo cual el volumen de filtración tendería a disminuir hasta que la perforación haya cicatrizado por completo. No sabemos si la reducción de la filtración de líquido desde el saco de la duramadre hacia el espacio epidural contenido por el parche ayudará a acelerar la recuperación del paciente o si algún efecto podría atribuirse al potencial del parche para facilitar la curación alrededor del cuerpo extraño, o a sus efectos mecánicos. Además, se desconoce si la irritación del implante en los bordes de la lesión podría estimular mecanismos inflamatorios locales que favorezcan una fibrosis más rápida y un sellado completo de la lesión. Se requerirán investigaciones futuras para aclarar estas y otras incertidumbres con respecto al uso de este dispositivo. No obstante, algunas de las imágenes de la interfase implante-duramadre obtenidas con microscopio electrónico muestran una escasa reacción inflamatoria a su alrededor.

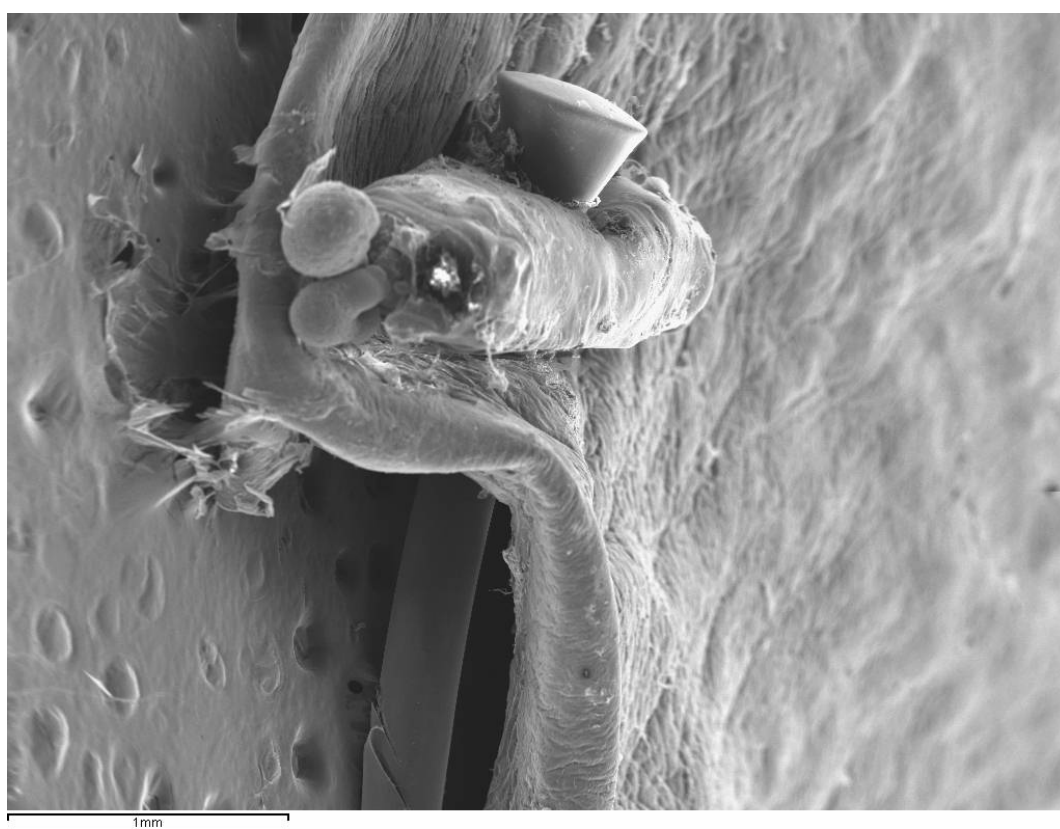
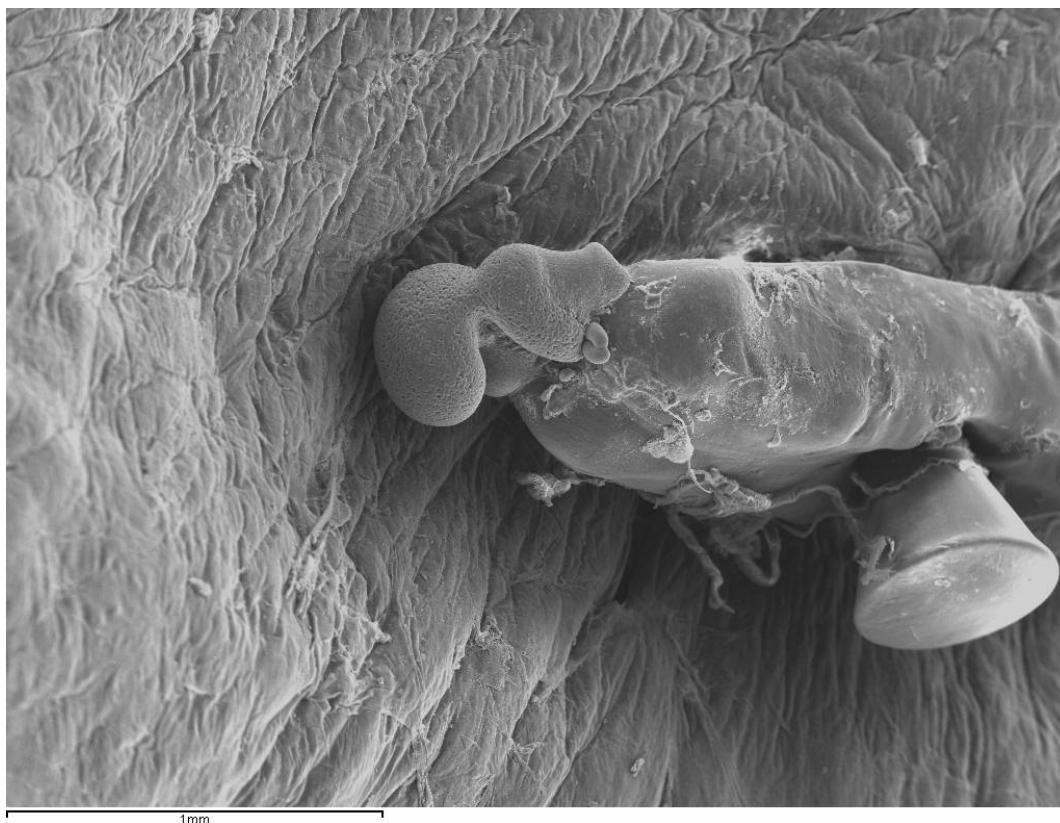


Figura 103. Visión microscópica mediante técnica de barrido a 30 aumentos. Nota: Corte lateral de membrana dural-aracnoidea mostrando la interfase membrana-implante

Dado que los resultados se obtuvieron con una aguja Tuohy de 18 Gauge, utilizada en el nivel vertebral L6-S1, las conclusiones solo son aplicables a este tipo de aguja y nivel vertebral lumbar; se requerirán estudios futuros con otros tipos y tamaños de agujas epidurales y equipos de introducción.

Finalmente, debido a que no todos los pacientes desarrollan CPPD después de la pérdida accidental de LCR, aún queda por debatir después de una investigación adicional si es éticamente aceptable o factible colocar un dispositivo con complicaciones y costos potenciales en el 100 % de los pacientes para una condición (CPPD) que ocurre en menos del 100 % de los pacientes. Los escenarios clínicos en los que se utilice este dispositivo o sus posibles futuras modificaciones dictarán la respuesta a esta pregunta.

5.4. Potenciales mejoras

Quedamos globalmente satisfechos del esfuerzo realizado para investigar si existe una potencial área de mejora en la prevención de la CPPD en pacientes que han sufrido una punción dural accidental con aguja Tuohy.

Aun así, la autoevaluación es un componente esencial de un enfoque científico riguroso. La realización de una autocrítica refleja nuestra profunda preocupación por la calidad y la integridad de este estudio. Es por ello que aquí exponemos las reflexiones críticas y las modificaciones que se implementarían si se repitiera el estudio, con el objetivo de mejorar aún más la validez y la relevancia de los resultados.

En primer lugar, creemos que hubiese sido procedente realizar un estudio con un tiempo de supervivencia de los animales mayor, para detectar posibles complicaciones a corto plazo de la implantación del dispositivo y, a su vez, estudiar con mayor precisión el proceso de cierre natural de las perforaciones practicadas.

Por otra parte, creemos que podría haber aportado información de valor un estudio con agujas Tuohy de diferente calibre, en concreto de 16 Gauge. Esto es así porque en la práctica clínica no solamente se emplean las testadas agujas de 18 Gauge. Combinar punciones con ambas agujas podría validar la hipótesis de que el kit diseñado no necesita ser adaptado en tamaño cuando se empleen agujas de diferente calibre, esto es, que se trata de un kit epidural universal.

Por último, a pesar de haber realizado estudios de citotoxicidad en roedores (ver Anexo 5), creemos que podría haber aportado información valiosa la realización de análisis de patrones de inflamación sistémica (control analítico sanguíneo con reactantes de fase aguda) a las ovejas a las horas y días de la implantación para determinar si el implante suscitaba una

reacción inflamatoria que podría condicionar la seguridad en pacientes en posteriores fases de estudio.

Este estudio representa un primer paso en la propuesta de un nuevo método para prevenir o reducir la CPPD utilizando la misma aguja con la que ocurrió la perforación del saco de la duramadre. El efecto de este implante a corto plazo ha sido evaluado y se necesitarán estudios futuros para evaluar su efecto a medio y largo plazo y su seguridad.

El uso de un implante biológicamente compatible e inerte podría representar un método para prevenir la pérdida de LCR y, por lo tanto, tal vez la CPPD. Se requieren más estudios en cohortes humanas y ensayos controlados aleatorios para confirmar esto. Aunque la pérdida de LCR accidental se utilizó convenientemente (y se demostró que fue efectiva) para este estudio, en el futuro podría utilizarse en escenarios análogos aún no reconocidos, definidos e identificados, como punciones vasculares, urinarias o pleurales, entre otras, donde un sellado temprano y eficiente inmediatamente después de la punción puede ser clínicamente ventajoso.

Conclusiones

PRIMERA

Desarrollamos el primer modelo animal para evaluar microscópicamente, de forma dinámica e *in vivo*, el cierre de las lesiones de la membrana duramadre-aracnoides tras el sacrificio 24, 48 y 168 horas después de la punción dural intencionada con una aguja epidural Tuohy de uso habitual en la práctica clínica.

SEGUNDA

Observamos que el cierre del área de la lesión duramadre-aracnoidea no sigue un curso lineal, sino uno de tipo semilogarítmico, siendo más rápido en las primeras horas para luego decelerar; no se observó un cierre completo a las 168 horas (siete días).

TERCERA

Dedujimos que es probable que en el humano tampoco se cierre completamente la lesión de la duramadre-aracnoides a los siete días como hasta ahora se pensaba en base al curso clínico de la CPPD, sino que, en ese tiempo, el cierre aún incompleto sea suficiente para que la pérdida de LCR pueda ser compensada por la fabricación endógena de este líquido.

CUARTA

Diseñamos los prototipos de un parche sintético autodesplegable y reabsorbible para promover un cierre del orificio del saco dural mediante su aplicación con abordaje percutáneo a través de la misma aguja que produjo dicha perforación. Desarrollamos varias versiones hasta alcanzar la más avanzada, que se usó para continuar las posteriores fases de prueba en modelo animal.

QUINTA

Comprobamos de forma experimental en laboratorio en modelo murino la biocompatibilidad y no citotoxicidad del dispositivo desarrollado, en cuya fabricación se emplearon copolímeros de uso aprobado en el mercado.

SEXTA

Diseñamos y desarrollamos el proceso de fabricación y control de calidad de este dispositivo, que se empleó para fabricar las unidades usadas posteriormente en modelo animal.

SÉPTIMA

Generamos un modelo de punción lumbar en modelo animal (ovino) con aguja epidural de 18 Gauge y de inserción percutánea en condiciones de esterilidad de este dispositivo de sellado.

OCTAVA

Evaluamos la eficacia y efectividad de la colocación de este dispositivo midiendo la fuga de LCR hacia el espacio epidural mediante control de imágenes obtenidas por TAC y el análisis matemático de las áreas de interés. Para ello se empleó un grupo de ovejas que recibió el tratamiento y otro grupo control en el que se realizó la punción lumbar sin después tomar ninguna medida.

NOVENA

Completamos la fase animal del estudio de validez del uso de este dispositivo en la que demostramos su eficacia y efectividad para disminuir la fuga de LCR postpunción dural, abriendo el camino para una futura fase de ensayo en humanos.

Bibliografía

1. Gogarten W, van Aken H. A century of regional analgesia in obstetrics. *Anesth Analg*. 2000; 91(4): 773-5.
2. Brill S, Gurman GM, Fisher A. A history of neuraxial administration of local analgesics and opioids. *Eur J Anaesthesiol*. 2003; 20(9): 682-9
3. Edwards ML, Jackson AD. The Historical Development of Obstetric Anesthesia and Its Contributions to Perinatology. *Am J Perinatol*. 2017; 34(3): 211-6.
4. Toledano RD, Tsen LC. Epidural Catheter Design. *Anesthesiology*. 2014; 121(1): 9-17.
5. Kwak KH. Postdural puncture headache. *Korean J Anesthesiol*. 2017; 70(2): 136-43.
6. Sinikoglu NS, Yeter H, Gumus F, Belli E, Alagol A, Turan N. Reinsertion of the stylet does not affect incidence of post dural puncture headaches (CPPD) after spinal anesthesia. *Braz J Anesthesiol*. 2013; 63(2): 188-92.
7. Thakur S, Sharma A, Kaushal S, Sharma A, Sharma N, Thakur PS. Incidence and Risk Factors of 'Postdural Puncture Headache' in Women Undergoing Cesarean Delivery under Spinal Anesthesia with 26G Quincke Spinal Needle, Experience of Medical College in Rural Settings in India 2019: A Prospective Cohort Study Design. *J Pharm Bioallied Sci*. 2022; 14(Suppl 1): S209-S13.
8. López A, Reina MA, Machés F, De Leon Casasola O, De Andrés JA, García Trapero J. Electron microscopy in quality control of equipment used in regional anesthesia. *Tech Reg Anesth Pain Manag*. 2002; 6(4): 172-9.
9. Van Zundert AAJ, Reina MA, Lee RA. Prevention of post-dural puncture headache (CPPD) in parturients. Contributions from experimental research. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2013; 57(7): 947-9.
10. Reina MA, Puigdel·l·ivol-Sánchez A, Gatt SP, De Andrés JA, Prats-Galino A, van Zundert A. Electron Microscopy of Dural and Arachnoid Disruptions After Subarachnoid Block. *Reg Anesth Pain Med*. 2017; 42(6): 709-18.
11. Reina MA, López A, Badorrey V, De Andres JA, Martín S. Dura-arachnoids lesions produced by 22G Quincke spinal needles during a lumbar puncture. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004; 75(6): 893-7.
12. Reina MA, De León Casasola OA, López A, De Andrés JA, Martín S, Mora M. An in vitro study of dural lesions produced by 25 Gauge Quincke and Whitacre needles evaluated by Scanning electron microscopy. *Reg Anesth Pain Med*. 2000; 25(4): 393-402.
13. Reina MA, López A, De Andrés JA, Dittmann M, Cascales M, Del Caño MC, Daneri J, Zambrano O. Estudio en cadáveres mediante microscopia electrónica de barrido de la lesión dural producida por la aguja Whitacre y Quincke. *Rev Esp Anesthesiol Reanim*. 1997; 44(10): 56-61.
14. Dittmann M, Reina MA, López A. Neue ergebnisse bei der darstellung der dura mater spinalis mittles rasterelektronenmikroskopie. *Anaesthesist*. 1998; 47: 409-13.

15. Reina MA, Dittmann M, López A, van Zundert A. New Perspectives in the Microscopic Structure of Human Dura Mater in the dorso lumbar region. *Reg Anesth.* 1997; 22(2): 161-6.
16. Reina MA, López A, De Andrés JA. Variación del espesor de la duramadre humana. *Rev Esp Anesthesiol Reanim.* 1999; 46: 344-9.
17. Reina MA, López A, Dittmann M, De Andrés JA. Análisis de la superficie externa e interna de la Duramadre Humana por microscopía electrónica de barrido. *Rev Esp Anesthesiol Reanim* 1996; 43: 130-4.
18. Reina MA, López A, Dittmann M, De Andrés JA. Análisis estructural del espesor de la duramadre humana por microscopía electrónica de barrido. *Rev Esp Anesthesiol Reanim* 1996; 43: 135-7.
19. Reina MA, Pulido P, López A. El saco dural humano. *Rev Arg Anesthesiol* 2007; 65(3): 167-84.
20. Reina MA, A.Prats-Galino A, Sola RG, Puigdemívol-Sánchez A, Arriazu Navarro R, De Andrés JÁ. Morfología de la lámina aracnoidea espinal humana. Barrera que limita la permeabilidad del saco dural. *Rev Esp Anesthesiol Reanim.* 2010; 57: 486-92.
21. Reina MA, Villanueva MC, López A. Aracnoides trabecular, piamadre espinal humana y anestesia subaracnoidea. *Rev Arg Anesthesiol.* 2008; 66(2): 111-33.
22. Barad M, Carroll I, Reina MA, Ansari J, Flood P. Did she have an epidural? The long-term consequences of post-partum headache and the role of unintended dural puncture. *Headache.* 2021; 61(9): 1314-23.
23. Reina MA, Benito-León J, López A. Profilaxis del síndrome de hipotensión intracraneal y cefalea pospunción lumbar. *Neurología.* 2002; 17: 347-9.
24. Benito-León J, Reina MA, Álvarez-Linera J. El síndrome de hipotensión intracraneana. *Neurología.* 2001; 16(9): 418-26.
25. Reina MA, Castedo J, López A. Cefalea pospunción dural. Ultraestructura de las lesiones durales y agujas espinales usadas en las punciones lumbares. *Rev Arg Anesthesiol.* 2008; 66(1): 6-26.
26. Reina MA, Álvarez-Linera J, López A, Benito-León J, De Andrés JA, Sola RG. Aportaciones de la resonancia magnética en la cefalea pospunción dural y en pacientes que cursan con hipotensión de líquido cefalorraquídeo. *Rev Esp Anesthesiol Reanim.* 2002; 49: 89-100.
27. Comité de clasificación de la cefalea de la Sociedad Internacional de Cefaleas (IHS). *Cephalalgia.* 2018; 38(1): 1-211. Doi: 10.1177/0333102417738202.
28. Reina MA, López A, Benito-Leon J, Pulido P, María F. Hematoma subdural intracraneal y espinal, una complicación poco común de la anestesia epidural y subaracnoidea. *Rev Esp Anesthesiol Reanim.* 2004; 51(1): 28-39.
29. Hannerz J, Ericson K, Bro SkejòHP. MR imaging with gadolinium in patients with and without post-lumbar puncture headache. *Acta Radiol.* 1999; 40(2): 135-41.

30. Bakshi R, Mechtler LL, Kamran S, Gosy E, Bates VE, Kinkel PR, Kinkel WR. MRI findings in lumbar puncture headache syndrome: abnormal dural-meningeal and dural venous sinus enhancement. *Clin Imaging*. 1999; 23(2): 73-6.
31. Pannullo SC, Reich JB, Krol G, Deck MD, Posner JB. MRI changes in intracranial hypotension. *Neurology*. 1993; 43(5): 919-26.
32. Ljubisavljevic S, Trajkovic JZ, Ignjatovic A, Stojanov A. Parameters Related to Lumbar Puncture Do not Affect Occurrence of Postdural Puncture Headache but Might Influence Its Clinical Phenotype. *World Neurosurg*. 2020; 133: e540-50.
33. Levine DN, Rapalino O. The pathophysiology of lumbar puncture headache. *J Neurol Sci*. 2001; 192(1-2): 1-8.
34. Reina MA, López-García A, Dittmann M, de Andrés JA. Análisis estructural del espesor de la duramadre humana mediante microscopia electrónica de barrido [Structural analysis of the thickness of human dura mater with scanning electron microscopy]. *Rev Esp Anesthesiol Reanim*. 1996; 43(4): 135-7.
35. Pedersen SH, Andresen M, Lilja-Cyron A, Petersen LG, Juhler M. Lumbar puncture position influences intracranial pressure. *Acta Neurochir (Wien)*. 2021; 163(7): 1997-2004.
36. Chakravarthy PK, Chandy TT, Singh G. Placement of lumbar subarachnoid drain in the sitting position: A technical difficulty. *J Neurosurg Anesthesiol*. 2015; 27(1): 79.
37. Lavigne P, Wang EW, Gardner PA, Snyderman CH. From Research to Clinical Practice: Long-term impact of randomized clinical trial examining the effect of lumbar drains on cerebrospinal fluid leak rates following endonasal skull base surgery. *J Neurol Surg B Skull Base*. 2021; 83(4): 339-42.
38. Tubben RE, Jain S, Murphy PB. Epidural Blood Patch. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023-. PMID: 29493961.
39. Lam KK, Leung MKM, Irwin MG. Labour analgesia: update and literature review. *Hong Kong Med J*. 2020; 26(5): 413-420.
40. Prats-Galino A, Reina MA, Puigdemívol-Sánchez A, Juanes Méndez JA, De Andrés JA, Collier CB. Cerebrospinal fluid volume and nerve root vulnerability during lumbar puncture or spinal anaesthesia at different vertebral levels. *Anaesth Intensive Care*. 2012; 40: 643-7.
41. Edsbagge M, Starck G, Zetterberg H, Ziegelitz D, Wikkelso C. Spinal cerebrospinal fluid volume in healthy elderly individuals. *Clin Anat*. 2011; 24(6): 733-40.
42. Alperin N, Bagci AM, Lee SH, Lam BL. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2016; 37(10):1957-63.
43. Levi Chazen J., Dyke JP, Holt RW, Horky L, Pauplis RA, Hesterman JY, Mozley DP, Verma A. Automated segmentation of MR imaging to determine normative central nervous system cerebrospinal fluid volumes in healthy volunteers. *Clin Imaging*. 2017; 43: 132-5.
44. Mokri B. The Monro-Kellie hypothesis: applications in CSF volumen depletion. *Neurology*. 2001; 56(12): 1746-8.

45. Schezer PH. Post-spinal anesthesia headache treated with caffeine. Part II: Intracranial vascular distensión, a key factor. *Curr Ther Res.* 1979; 28: 440-8.
46. Boezaart AP. Effects of cerebrospinal fluid loss and epidural blood patch on cerebral blood flow in swine. *Reg Anaesth Pain Med.* 2001; 26(5): 401-6.
47. Bezov D, Lipton R, Ashina S. Post-dural puncture headache: Part I - Diagnosis, epidemiology, etiology and pathophysiology. Prevention, management, and prognosis. *Headache.* 2010; 50(7): 1144-52.
48. Committee of Origin: Obstetric Anesthesia. Statement on Post-Dural Puncture Headache Management. <https://www.asahq.org/standards-and-practice-parameters/statement-on-post-dural-puncture-headache-management#:~:text=Conservative%20management%20in%20the%20form,a%20therapeutic%20epidural%20blood%20patch%20>
49. Azzi A, Saliba E, Stephan JC, Saba H, Hallit S, Chamandi S. Correlates of post-dural puncture headache and efficacy of different treatment options: a monocentric retrospective study. *Br J Pain.* 2022; 16(2): 228-36.
50. Kroin JS, Nagalla SN, Buvanendran A, McCarthy RJ, Tuman KJ, Ivankovich AD. The mechanisms of intracranial pressure modulation by epidural and other injectates in a postural puncture rat model. *Anesth Analg.* 2002; 95(2): 423-9.
51. Ho K-Y, Jan TJ. Management of persistent post-dural puncture headache after repeated epidural blood patch. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2007; 51(5): 633-6.
52. Costigan SN, Sprigge JS. Dural puncture: the patient's perspective. A patient survey of cases at a DGH maternity unit 1983- 1993. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1996; 40(6): 710-4.
53. Broom MA. Accidental dural puncture during epidural blood patch: a narrative review. *Int J Obstet Anesth.* 2023; 55: 103900.
54. Gupta A, von Heymann C, Magnuson A, Alahuhta S, Fernando R, Van de Velde M, Mercier FJ, Schyns-van den Berg AMJV; EPiMAP collaborators. Management practices for postdural puncture headache in obstetrics: a prospective, international, cohort study. *Br J Anaesth.* 2020; 125(6): 1045-55.
55. Kontinen V, Hiekkanen T. Treatment of post dural puncture headache: To patch or not to patch? *Scand J Pain.* 2014; 5: 167-9.
56. Basurto Ona X, Uriona Tuma SM, Martínez García L, Solà I, Bonfill Cosp X. Drug therapy for preventing post-dural puncture headache. *Cochrane Database Syst Rev.* 28(2); 2013: CD001792.
57. Barati-Boldaji R, Shojaei-Zarghani S, Mehrabi M, Amini A, Safarpour AR. Post-dural puncture headache prevention and treatment with aminophylline or theophylline: a systematic review and meta-analysis. *Anesth Pain Med (Seoul).* 2023; 18(2): 177-89.
58. Cohen S, Amar D, Pantuck EJ, Singer N, Divon M. Decreased incidence of headache after accidental dural puncture in caesarean delivery patients receiving continuous post-operative intrathecal analgesia. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1994; 38(7): 716-8.

59. Heesen M, Hilber N, Rijs K, van der Marel C, Rossaint R, Schäffer L, Klimek M. Intrathecal catheterisation after observed accidental dural puncture in labouring women: update of a meta-analysis and a trial-sequential analysis. *Int J Obstet Anesth.* 2020; 41: 71-82.
60. Shin HY. Recent update on epidural blood patch. *Anesth Pain Med (Seoul).* 2022; 17(1): 12-23.
61. Russell R, Laxton C, Lucas DN, Niewiarowski J, Scrutton M, Stocks G. Treatment of obstetric post-dural puncture headache. Part 2: epidural blood patch. *Int J Obstet Anesth.* 2019; 38: 104-18.
62. Gaiser RR. Postdural puncture headache: an evidence-based approach. *Anesthesiol Clin.* 2017; 35(1): 157-67.
63. Kranz PG, Malinzak MD, Amrhein TJ, Gray L. Update on the diagnosis and treatment of spontaneous intracranial hypotension. *Curr Pain Headache Rep.* 2017; 21(8): 37.
64. Ferrante E, Trimboli M, Rubino F. Spontaneous intracranial hypotension: review and expert opinion. *Acta Neurol Belg.* 2020; 120(1): 9-18.
65. Davidson B, Nassiri F, Mansouri A, Badhiwala JH, Witiw CD, Shamji MF, et al. Spontaneous intracranial hypotension: a review and introduction of an algorithm for management. *World Neurosurg.* 2017; 101: 343-9.
66. Rettenmaier LA, Park BJ, Holland MT, Hamade YJ, Garg S, Rastogi R, et al. Value of targeted epidural blood patch and management of subdural hematoma in spontaneous intracranial hypotension: case report and review of the literature. *World Neurosurg.* 2017; 97: 27-38.
67. Reina MA, Castedo J, López A. Postdural puncture headache. Ultrastructure of dural lesions and spinal needles used to perform lumbar punctures. *Rev Arg Anesthesiol.* 2008; 66: 6-26.
68. Angle PJ, Kronberg JE, Thompson DE, Ackerley C, Szalai JP, Duffin J, Faure P. Dural tissue trauma and cerebrospinal fluid leak after epidural needle puncture: effect of needle design, angle, and bevel orientation *Anesthesiology* 2003; 99(6): 1376-82.
69. [Patin DJ](#), [Eckstein EC](#), [Harum K](#), [Pallares VS](#). Anatomic and biomechanical properties of human lumbar dura mater. *Anesth Analg* 1993; 76(3): 535-40.
70. Reina MA, López A, Dittmann M, De Andrés JA. Structural analyze of human dura mater under scanning electron microscopy. *Rev Esp Anesthesiol Reanim* 1996; 43(4): 135-7.
71. Reina MA, Prats-Galino A, Sola RG, Puigdemívol-Sánchez A, Arriazu-Navarro R, De Andrés JA. Structure of the arachnoid layer of the human spinal meninges: a barrier that regulates dural sac permeability. *Rev Esp Anesthesiol Reanim* 2010; 57(8): 486-92.
72. Reina MA, Pulido P, García De Sola R. Ultrastructure of spinal arachnoid layer. In: Reina MA. *Atlas of functional anatomy of regional anesthesia and pain medicine.* New York: Springer; 2015. p.435-54.
73. Candido KD, Stevens RA. Post-dural puncture headache: pathophysiology, prevention and treatment. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2003; 17(3): 451-69.

74. Turnbull DK, Shepherd DB. Post-dural puncture headache: pathogenesis, prevention and treatment. *Br J Anaesth*. 2003; 91(5): 718-29.
75. Davignon KR, Dennehy KC. Update on Postdural Puncture Headache. *Int Anesthesiol Clin*. 2002; 40(4): 89-102.
76. Moraes VJ, Madureira KM, Bittencourt RF, Duarte Iwassa CH, Barbosa VF. Postoperative pain management in a sheep using continuous epidural morphine. *Acta Sci Vet*. 2018; 46(1): 254.
77. Edmondson MA. Local, regional, and spinal anesthesia in ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 2016; 32(3): 535-52.
78. Viscasillas J, Alonso-Iñigo JM, Gutiérrez-Bautista A, Casañ Pallardó M, Redondo JI. Description of ovine model for testing ventilator prototypes in the COVID-19 pandemic. *Rev Esp Anesthesiol Reanim (Engl Ed)*. 2020; 68(10): 592-6.
79. Ajadi, RA. Influence of Tramadol on Anaesthetic Indices and Physiological Parameters of Epidural Lignocaine in West African Dwarf Sheep Undergoing Laparo-Ovariectomy. *Niger J Physiol Sci*. 2017; 32(2): 165-70.
80. Mavani A, Fong K, Maier NC, Hu D, Pinto M. Implantable fistula closure device. Estados Unidos; US20100082056A1, 2009.
81. Pipenhagen CA, Fiehler WR, Gardner MK, Jacobsen JL. Vascular closure device having an improved plug. Estados Unidos, US8840640B2, 2007.
82. Green S, Fairman B, Brodt H, Boger D. Closure Device. Estados Unidos, EP3278740A1, 2018.
83. Sansur C, Ludwig SC. Dural repair device and method of use. Estados Unidos, WO2019055551A1, 2018.
84. Scheerlinck JP, Snibson KJ, Bowles VM, Sutton P. Biomedical applications of sheep models: from asthma to vaccines. *Trends Biotechnol*. 2008; 26(5): 259-66.
85. Kinaci A, Bergmann W, Bleys RL, van der Zwan A, van Doormaal TP. Histologic Comparison of the Dura Mater among Species. *Comp Med*. 2020; 70(2): 170-5.
86. McLennan KM, Rebelo CJR, Corke MJ, Holmes MA, Leach MC, Constantino-Casas F. Development of a facial expression scale using footrot and mastitis as models of pain in sheep. *Appl Anim Behav Sci*. 2016; 176: 19-26.
87. Häger C, Biernot S, Buettner M, Glage S, Keubler LM, Held N, Bleich EM, Otto K, Müller CW, Decker S, Talbot SR, Bleich A. The Sheep Grimace Scale as an indicator of post-operative distress and pain in laboratory sheep. *PLoS One*. 2017; 12(4): e0175839.

Anexos

Anexo 1. Artículos publicados

García-Vitoria C, García -Roselló M, Redondo JI, Gutiérrez-Bautista AJ, De Andres J, Boezaart A, Vicente-Montaña A, Reina MA. Morphology of antemortem dural puncture healing: an ex vivo sheep study. Reg Anesth Pain Med. 2021; 0: 1-3. doi:10.1136/rapm-2021-102867

García-Vitoria C, García -Roselló M, Reina MA, De Andres J, Gutiérrez-Bautista AJ, Esteve V, Boezaart A, Redondo JI. Validation of a bioabsorbable device that seals perforations after Tuohy needle dural puncture in an ovine model. Reg Anesth Pain Med. 2021; 0: 1-8. doi:10.1136/rapm-2020-102225

Anexo 1.1. Morphology of antemortem dural puncture healing: an ex vivo sheep study

Research report

Morphology of antemortem dural puncture healing: an ex vivo sheep study

Carles García-Vitoria,¹ Mireia García -Roselló,² Jose I Redondo,²
Álvaro Jesús Gutiérrez-Bautista,² Jose De Andres,³ Andre Boezaart^{4,5,6} ,^{4,5,6}
Ana Vicente-Montaña,⁷ Miguel A Reina^{4,8,9}

► Additional supplemental material is published online only. To view, please visit the journal online (<http://dx.doi.org/10.1136/rapm-2021-102867>).

For numbered affiliations see end of article.

Correspondence to

Dr Carles García-Vitoria, Anesthesiology and Pain Management, Hospital Intermutual de Levante, San Antonio de Benagéber 46184, Valencia, Spain; carlesgvitoria@gmail.com

Received 11 May 2021
Accepted 30 June 2021

INTRODUCTION

Closure of holes caused by unintentional puncture of the dural sac with a relatively large-bore Tuohy needle is thought to be a linear process over a relatively short time. Scientists believe that cerebrospinal fluid (CSF) leakage through the puncture hole is responsible for intracranial hypotension, which in turn may be responsible for postdural puncture headache (PDPH).¹

Our objective was to study the rate and mode of natural closure of such dural puncture holes in an ex vivo sheep model at 1, 3, and 7 days after intentional dural puncture.

METHODS

We randomly assigned 27 adult sheep (*Ovis aries*) to one of three groups and performed an intentional dural puncture at the lumbosacral transition space between the sixth lumbar and first sacral vertebrae (L6/S1)² on each animal. Animals were under general anesthesia in the sternal position. We used an 18-gauge Tuohy epidural needle (Perican, B. Braun, Melsungen, Germany). After observing CSF flow, we removed the Tuohy needle and placed a metal surgical staple in the skin next to the skin puncture hole to mark the site for future dissection and obtaining samples. The animals were euthanized after 1 day (group 1), 3 days (group 2), and 7 days (group 3).

After full recovery from general anesthesia, the sheep were housed following international animal welfare standards. After the animals were euthanized, they were immediately refrigerated at

−20°C (Zanotti freezing chamber, Zanotti s.p.A, Pegognaga, Milano, Italy) for 72 hours.²

The frozen animals were prepared such that the samples contained only the area of interest. The dural sacs were extracted without damaging them and immediately immersed in 2.5% glutaraldehyde with phosphate solution buffered. The inner subarachnoid surfaces of the samples were studied with a JSM 6400 Scanning Electron Microscope (JEOL Corporation, Tokyo, Japan) as previously described.^{3,4}

The areas and circumferences of the puncture hole lesions were measured using Adobe Photoshop and ImageJ V.1.46a (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>) software. The characteristics of the edges of the lesions on the arachnoid mater and disrupted dural laminas were studied. We describe the statistical analysis in the online supplemental text.

RESULTS

Twenty-four lesions were suitable for the study. Table 1 shows the demographic data, the areas, and the circumference measurements of arachnoid puncture holes. Figure 1 depicts the arachnoid lesions. The lesions in all cases consisted of a dural lesion superimposed on an arachnoid lesion. Closure of the area and circumference over time exhibited a logarithmic pattern (figure 2; estimate, −0.14; SE, 0.055; t value, −2.54; p=0.02 and estimate, −0.065; SE, 0.025; t value, −2.61; p=0.017, respectively).

Areas were smaller on days 3 and 7 than on day 1 (day 1, 1.77 mm²; day 3, 0.58 mm² (p=0.027;

Table 1 Demographic data and area and circumference measurement over time

	Day 1 n=9	Day 3 n=9	Day 7 n=6	Overall n=24
Sex				
Woman	8 (88.9%)	8 (88.9%)	4 (66.6%)	20 (83.3%)
Man	1 (11.1%)	1 (11.1%)	2 (33.3%)	4 (16.6%)
Weight				
Median (min, max)	37.0 (30.0, 48.0)	39.0 (30.0, 57.0)	30.0 (24.0, 46.0)	38.5 (24.0, 54.0)
Area (mm²)				
Median (min, max)	1.77 (0.338, 4.24)	0.589 (0.443, 1.15)	0.470 (0.338, 1.38)	
Circumference (mm)				
Median (min, max)	5.59 (2.96, 8.46)	3.50 (3.27, 5.39)	3.25 (2.43, 4.74)	



© American Society of Regional Anesthesia & Pain Medicine 2021. No commercial re-use. See rights and permissions. Published by BMJ.

To cite: García-Vitoria C, García -Roselló M, Redondo JI, et al. *Reg Anesth Pain Med* Epub ahead of print: [please include Day Month Year]. doi:10.1136/rapm-2021-102867



Research report

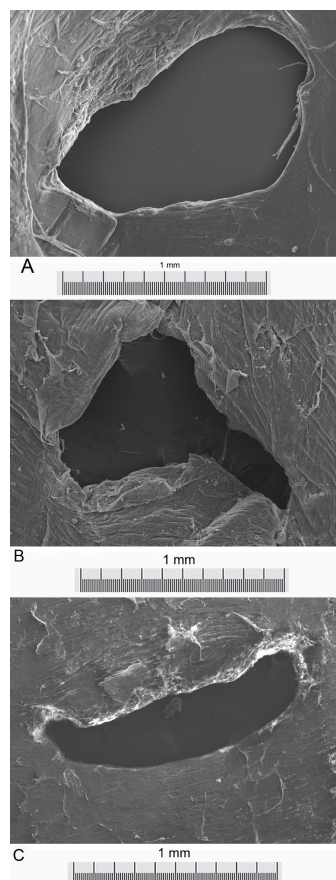


Figure 1 Dural sac lesion seen from the internal surface (arachnoid layer) performed with an 18-gauge Tuohy needle. (A) 1 day after lumbar puncture. (B) 3 days after lumbar puncture. (C) 7 days after lumbar puncture. Scanning electron microscopy was used to study the samples. Magnification: A, B, and C = $\times 70$.

95% CI 0.07 to 1.08); day 7, 0.47 mm² ($p=0.027$; 95% CI: 0.08 to 1.84)). No differences between days 3 and 7 were observed ($p=0.743$; 95% CI -0.55 to 0.66). The areas of the puncture holes were 66.7% and 73.5% smaller on days 3 and 7 than those on day 1. However, there were no differences in circumference between days 1, 3, and 7 (day 1, 5.59 mm; day 3, 3.5 mm ($p=0.09$, 95% CI -0.34 to 3.4); day 7, 3.25 mm ($p=0.09$; 95% CI -0.43 to 3.9)). There were also no differences between days 3 and 7 ($p=0.65$; 95% CI -1.7 to 2.2).

By analyzing the characteristics of the lesions, we observed that the bevel on Tuohy spinal needles produced a small cutting lesion of the dura–arachnoid complex. As the tip advanced, the Tuohy needles produced a precise “clean” cut with limited damage to the dura and arachnoid maters. The tip of the needle appeared to fold the cut tissue inward toward the arachnoid layer, so that

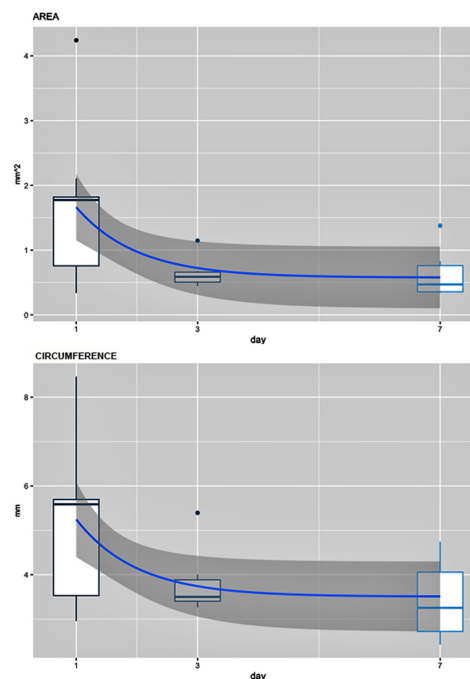


Figure 2 Area and circumference. Median, range, and outliers in days 1, 3, and 7 and logarithmic fit (blue line; gray area represents 95% CI).

dural and arachnoid lesions produced a “crescent moon” shape resembling the letters “U” or “V,” as well as a geometrical image resembling an oval or ellipse.

DISCUSSION

The current study showed that the healing process in a dura–arachnoid lesion produced by a Tuohy needle is not linear as expected, but rather a logarithmic process over time. The sheep model is the most relevant animal model concerning tissue regeneration and wound healing for preclinical human studies.⁵ We continued the study for only 7 days because we fully expected to find a nearly healed lesion following the natural clinical course of PDPH. However, we found only approximately 65% closure of the puncture holes. Extrapolating from this logarithmic pattern of the closure of puncture holes, we deduce that the closure process will likely take a long time because the logarithmic graph lines almost flatten beyond 7 days.⁶ Immediately following needle withdrawal, the edges of the lesion tended to retract due to the viscoelastic properties of the dura mater.⁷ Subsequently, it is most likely fibrosis that contributes to closure, which is a much longer process.

The healing of the needle injury to the dura thus followed an inverse logarithmic mathematical model rather than the expected linear pattern.

Author affiliations

¹Department of Anesthesiology, Hospital Intermedial de Levante, Valencia, Spain

Research report

²Departamento de Medicina y Cirugía Animal, Facultad de Veterinaria, Hospital Clínico Veterinario, Universidad Cardenal Herrera-CEU, CEU Universities, Valencia, Spain

³Valencia University Medical School Anesthesia Unit-Surgical Specialties Department, Department of Anesthesiology, Critical Care and Pain Management, General University Hospital, Valencia, Spain

⁴Division of Acute and Perioperative Pain Medicine, Department of Anesthesiology, University of Florida College of Medicine, Gainesville, Gainesville, Florida, USA

⁵Alon P Winnie Research Institute, Still Bay, Western Province, South Africa

⁶Lumina Pain Medicine Collaborative, Surrey, UK

⁷National Center for Electron Microscopy ICTS, Madrid, Spain. Department of Human Anatomy, Francisco Vitoria University, Madrid, Spain

⁸CEU-San Pablo University School of Medicine, Madrid, Spain

⁹Department of Anesthesiology, Madrid-Montepríncipe University Hospital, Madrid, Spain

Acknowledgements The authors sincerely thank Corey Astrom, ELS, and Leah Buletti of the University of Florida, Gainesville, Florida, USA, for their help with the preparation of this manuscript. This work was accomplished in the doctorate program framework of Valencia University by CG-V.

Contributors The following authors contributed to the design, conduct, and reporting of the results: CG-V, IRJ, MG-R, AJG-B, JDA, AB, and MAR. In addition, IRJ was responsible for the statistical analyses. Data collection was performed by CC-V and MAR.

Funding Support was provided by the Fondo Investigación Sanitaria—Instituto Carlos III (project no. DTS17/00053) and by the European Society of Regional Anaesthesia (research grant no. 2018).

Competing interests None declared.

Patient consent for publication Not required.

Ethics approval General Directorate of Livestock of the Generalitat Valenciana (Spain; code 2018/VSC/PEA/0188 type 2) and Ethics Committee for Animal Experimentation at the CEU Cardenal Herrera University (Valencia, Spain).

Provenance and peer review Not commissioned; externally peer reviewed.

ORCID iD

Andre Boezaart <http://orcid.org/0000-0002-1221-1214>

REFERENCES

- Candido KD, Stevens RA. Post-dural puncture headache: pathophysiology, prevention and treatment. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2003;17:451–69.
- García-Vitoria C, García-Roselló M, Reina MA, et al. Validation of a bioabsorbable device that seals perforations after Tuohy needle dural puncture in an ovine model. *Reg Anesth Pain Med* 2021;46:389–96.
- Reina Met al. An in vitro study of dural lesions produced by 25-gauge Quincke and Whitacre needles evaluated by scanning electron microscopy. *Reg Anesth Pain Med* 2000;25:393–402.
- Reina MA, Puigdelví-Sánchez A, Gatt SP, et al. Electron microscopy of dural and arachnoid disruptions after subarachnoid block. *Reg Anesth Pain Med* 2017;42:709–18.
- Diogo CC, Camassa JA, Pereira JE, et al. The use of sheep as a model for studying peripheral nerve regeneration following nerve injury: review of the literature. *Neurol Res* 2017;39:926–39.
- Vidal A, Mendieta Zerón H, Giacaman I, et al. A simple mathematical model for wound closure evaluation. *J Am Coll Clin Wound Spec* 2015;7:40–9.
- Patin DJ, Eckstein EC, Harum K, et al. Anatomic and biomechanical properties of human lumbar dura mater. *Anesth Analg* 1993;76:535–40.

Anexo. 1.2. Validation of a bioabsorbable device that seals perforations after Tuohy needle dural puncture in an ovine model

Original research

Validation of a bioabsorbable device that seals perforations after Tuohy needle dural puncture in an ovine model

Carles García-Vitoria,¹ Mireia García-Roselló,² Miguel A Reina,^{3,4,5} Jose De Andres,^{6,7} Álvaro Jesús Gutiérrez-Bautista,² Vicente Esteve,² Andre Boezaart^{5,8},
Jose I Redondo⁹

► Additional material is published online only. To view please visit the journal online (<http://dx.doi.org/10.1136/rapm-2020-102225>).

For numbered affiliations see end of article.

Correspondence to
Dr Carles García-Vitoria, Anesthesiology and Pain Management, Hospital Intermutual de Levante, San Antonio de Benagéber 46184, Spain; carlesgvitoria@gmail.com

Received 16 October 2020

Revised 8 January 2021

Accepted 12 January 2021



► <http://dx.doi.org/10.1136/rapm-2020-102225>



© American Society of Regional Anesthesia & Pain Medicine 2021. No commercial re-use. See rights and permissions. Published by BMJ.

To cite: García-Vitoria C, García-Roselló M, Reina MA, et al. *Reg Anesth Pain Med* Epub ahead of print: [please include Day Month Year]. doi:10.1136/rapm-2020-102225

ABSTRACT

Background We designed a device to close accidental dural puncture via the offending puncturing epidural needle directly after diagnosis of the puncture and before removing the needle. The aim of this study was to quantify this device's ability to seal cerebrospinal fluid leakage.

Methods Forty-six anesthetized adult sheep were studied in a single-blind randomized controlled fashion in two equal groups.

An intentional dural puncture was performed with an 18-gauge Tuohy needle on all the sheep between L6 and S1 levels. Contrast medium was injected through the needle. Twenty-three animals receive treatment with the sealing device. Two minutes after device placement, or dural puncture in the control group, a CT scan was performed on the animals to estimate contrast material leakage. A region of interest (ROI) was defined as the region that enclosed the subarachnoid space, epidural space, and neuroforaminal canal (the vertebral body above and half of its equivalent height in sacrum below the puncture site). In this region, the total contrast volume and the volumes in the epidural space (EPIDURAL) were measured. The primary outcome measure was the EPIDURAL/ROI ratio to ascertain the proportion of intrathecally injected fluid that passed into the epidural space in both groups. The secondary outcomes were the total amount of contrast in the ROI and the EPIDURAL.

Results The device was deployed successfully in all but two instances, where it suffered from manufacturing defects.

Leakage was less in the study group (1.0 vs 1.4 mL, $p=0.008$). The median EPIDURAL/ROI ratio was likewise less in the study group (29 vs 46; $p=0.013$; 95% CI (–27 to –3.5)).

Conclusion This novel dural puncture-sealing device, also envisaged to be used in other comparable iatrogenic leakage scenarios to be identified in the future, was able to reduce the volume of cerebrospinal fluid that leaked into the epidural space after dural puncture. The device is possibly a valuable way of preventing fluid leakage immediately after the recognition of membrane puncture.

INTRODUCTION

A widely accepted hypothesis to explain the etiology of postdural puncture headache (PDPH) after accidental dural puncture (ADP) during attempted epidural block procedure is the presence of

cerebrospinal fluid (CSF) hypotension after continuous leakage of CSF. This leakage, in turn, can lead to “brain sagging” and cranial nerve sensory fiber stretching and stimulation, or intracranial hypotension.^{1,2} Intracranial hypotension, also due to CSF loss following ADP, has also been proposed as a possible cause of PDPH by activating compensatory cerebral vasodilation to maintain intracranial volume, thereby causing vascular headache.^{1,2}

Standard treatment modalities such as epidural blood patch (or iatrogenic peridural hematoma formation), by itself a potent cerebral vasoconstrictor,³ and pterygopalatine ganglion blockade, also a cerebral vasoconstrictor,⁴ are successful for managing PDPH after it has developed. Although prophylactic “blood patching” has been proposed,^{5,6} to date, it is not used as a first-line approach in clinical practice, and no specific modality or device is available that can be applied immediately after detecting ADP while simultaneously attempting epidural needle placement.

The objective of this study was to evaluate the ability of a novel system specifically designed for implantation at the time an ADP has been detected during an epidural needle placement to seal the dural perforation and limit CSF leakage. PDPH serves as an obvious example of its potential use.

METHODS

Intentional dural puncture

Forty-six adult sheep (*Ovis aries*) of both sexes were randomly assigned to one of two groups: animals in group 1 ($n=23$) were given a lumbar puncture but did not receive treatment with the sealing device and thus acted as controls, while those in group 2 ($n=23$; the study group) were given a lumbar puncture and received treatment via the sealing device with the puncturing Tuohy needle. Group allocation was randomized by codes drawn from a sealed envelope. The envelopes were opened immediately before starting the procedure to reveal the randomization of each animal.

Clinical protocol

After catheterizing the anterior cephalic vein and sedating the animals with intravenous dexmedetomidine (10 µg/kg), the puncture site was prepared by shaving the lumbar area and then disinfecting it with alcoholic chlorhexidine. General anesthesia

Reg Anesth Pain Med: first published as 10.1136/rapm-2020-102225 on 27 January 2021. Downloaded from <http://rapm.bmj.com/> on January 30, 2021 at European Society of Regional Anesthesia and Pain Therapy. Protected by copyright.

Original research

was induced with intravenous propofol (3 mg/kg) and maintained with endotracheal administration of sevoflurane delivered via closed circuit mechanical ventilation in an air and oxygen mixture at 50% FiO₂. Routine monitors were applied and the animals were kept normothermic, normocapnic, normoxic, and hemodynamically stable throughout the experiment.

After positioning the animal in the sternal position, a lumbar puncture was carried out at the midline in the lumbosacral transitional space (L6–S1) with an 18 G Tuohy epidural needle (Perican, B-Braun, Melsungen, Germany).

In a previous preliminary study, the data of which is not included in this study, the authors evaluated different options in five fresh sheep cadavers to obtain the optimal interspace to perform the puncture, taking easy identification and angulation comparable to that used in humans into account. CSF was consistently observed at the needle hub in every specimen when a puncture was performed at the L6–S1 level.

The needle was passed through the ligamenta flava and advanced until the appearance of CSF. At this point, 0.4 mL/kg of ioversol radiopaque contrast (Optiray 320, Guerbet, Villepinte, France) was injected through the needle.

After the CSF leak was detected and the contrast was injected, we inserted the sealing system into the animals in the study group (group 2) according to the method described below. The Tuohy needle was then removed. In the control group, after the contrast medium injection, we waited for 2 s before removing the Tuohy needles. (Two seconds was the average time needed to insert the sealing kit into the proximal part of the Tuohy. This was calculated in several implantations of the kit in phantom models during a pilot study).

Description of the device

We designed and patented⁷ a complete device kit for plugging ADP holes, including an implant, a barbed unidirectional thread, an applicator, and a flexometallic cannula. The main element of this kit is a synthetic patch inserted through the Tuohy epidural needle directly into the spinal subarachnoid space. The patch has a central orifice, and the barbed thread passes through this hole, which facilitates the holding of the implant against the dural sac

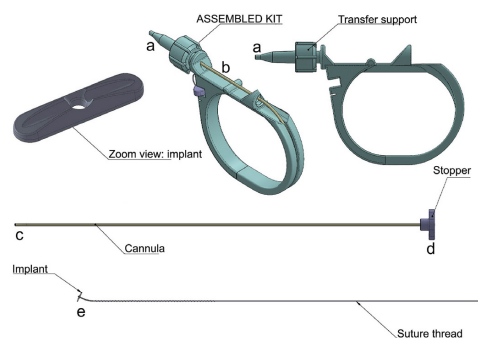


Figure 1 Detail of device to plug dural gaps showing separate elements and the assembled kit. The thread and patch complex are housed inside the cannula. a=tip of transfer applicator; b=flexometallic cannula mounted in transfer applicator; c=distal tip of flexometallic cannula; d=stopper at proximal end of cannula; e=implant mounted at distal end of barbed thread.

Table 1 Comparison of epidural leakage by treatment status*

Variable	Groups		P value††	95% CI
	Without implant	With implant		
Sample size, n	23	23		
EPIDURAL median (range) in mL	1.4 (0.4–3.2)	1.0 (0.2–1.9)	0.01	–1.02 to –0.02
ROI median (range) in mL	3.4 (1.7–4.7)	3.2 (2.0–4.8)	0.44	–0.97 to 0.37
EPIDURAL/ROI in percentage	46 (18–84)	29 (10–69)	0.01	–27.0 to –3.5

EPIDURAL, the volume of contrast fluid (in milliliters) found in the epidural area; ROI, the total volume of contrast fluid (in milliliters) found in the region of interest, measured at the L6 and S1 vertebrae, including the fluid enclosed in the subarachnoid space, epidural space and foramenal canal; EPIDURAL/ROI, the percentage of contrast fluid found in the epidural area relative to the total amount of fluid found in the ROI. A higher percentage implies that proportionally more contrast has leaked into the epidural space.

*Medians, minimums and maximums, p values, and 95% CIs of the variables studied.

†P values compare groups with and without implant.

††med2 test used to compare medians for two independent samples using a percentile bootstrap method.

EPIDURAL, total contrast volume and the volumes in the epidural space; ROI, region of interest.

by terminal widening (figure 1) that prevents the thread and patch from separating.

The patch unfolds inside the dural sac once it passes through the tip of the needle, along with the barbed thread, and then plugs the puncture hole through which it was inserted. In a preliminary study (not included), the patch was tested and validated using phantoms, sheep and human cadavers. All patches unfolded properly during postmortem quality control.

Table 1 and figures 2–4 outline the content of the device kit. The biocompatible materials used in this device and the results of its bioabsorbability studies are described in the online supplemental material.

Technique used in placing the device

After injecting the contrast medium, the proximal end of the patch applicator was connected via a universal Luer lock connection to the Tuohy needle (figures 1 and 5). The applicator houses the folded dural seal patch and the barbed thread inside the canal near its tip. The flexometallic cannula was then advanced through the applicator. The cannula pushed the folded implant and barbed thread through the internal orifice of the Tuohy needle until the implant passed through the tip of the needle into the subarachnoid space held by the thread where it unfolded

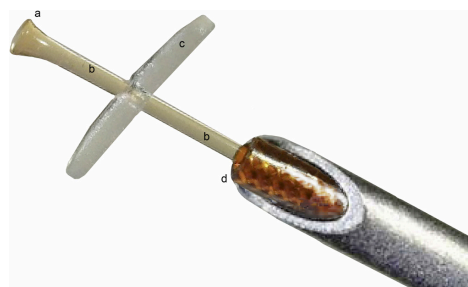


Figure 2 Implant deployed after the flexometallic cannula has been advanced through the Tuohy needle to displace the folded patch and barbed thread into the subarachnoid space. a=the terminal end of the barbed thread has been modified to be wider in diameter than orifice in the patch to anchor it into the patch; b=the first millimeter of the thread is devoid of spines; c=implant; d=cannula positioned at tip of Tuohy needle.

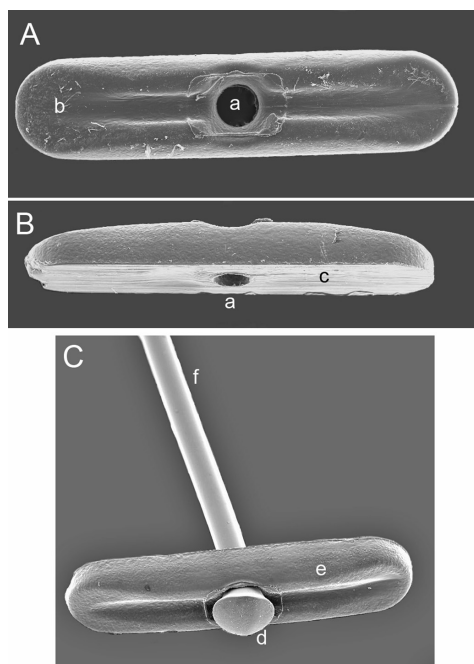


Figure 3 Implant and implant-barbed thread complex. (A) Patch as viewed from interior of intrathecal space. a=patch orifice; b=patch surface in contact with cerebrospinal fluid. (B) Oblique view of patch. c=patch surface in contact with arachnoid tissue. (C) Thread pulled through to anchor it to patch. d=widened terminal end of thread; e=patch; f=thread.

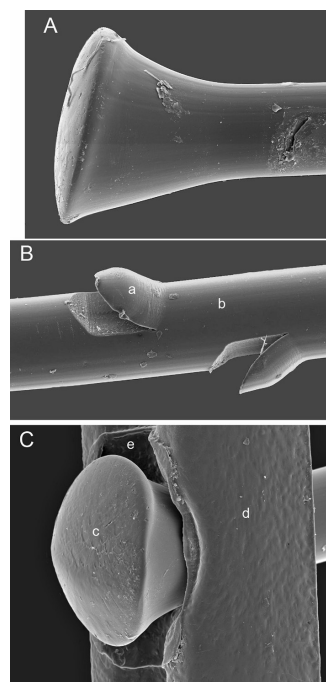


Figure 4 Scanning electron micrograph views of thread and thread anchored in patch. (A) Widened end of thread showing that there is no spine over the first millimeter of the thread. (B) Spines on thread, a=spines; b=body of thread. (C) c=widened terminal end of thread anchored in patch; d=patch; e=orifice of patch.

(figure 2). This step coincided with the complete insertion of the flexometallic cannula, which was inserted into the hub of the needle. This prevents the flexometallic cannula from entering the subarachnoid space. The flexometallic cannula is a hollow tube that accommodates the full length of the barbed unidirectional thread. The barbed thread is free inside the cannula, and the internal diameter of the cannula allows the spines of the thread to be free so that it can move when the cannula is removed (figures 3 and 4).

The implant has a rectangular shape with an orifice in its center (figures 2–4). The barbed thread and the implant are not joined; they are two independent pieces. The first millimeter of thread does not have spines. Its distal end is barbed such that it is greater in diameter than the thread so that it is unable to slip through the orifice of the patch. When the thread/patch complex is loaded into the Tuohy needle, the distal barb is positioned such that after it has been deployed, it will be on the surface of the patch that will be in contact with the CSF. Applying traction to the thread fixes the implant to the internal surface of the arachnoid.

After advancing the patch inside the dural sac, the flexometallic guide, applicator, and epidural needle (in that order) were removed, leaving the patch on the inside of the dural sac. When the needle was withdrawn, the thread was in the same location

that the needle originally occupied. For this reason, the outward traction of the barbed thread ensured that the implant would remain in position at the site of the dural puncture.

Slight tension was applied to the portion of the thread that protruded through the skin to force the patch tightly against the arachnoid layer (internal surface of dural sac). It was then cut at the skin and it retracted into the subcutaneous tissue.

CT scan study

Two minutes after performing dural puncture in both groups and placing the implant in the study group, we performed 16 slices of helicoidal CT scans (Brivo CT385, GE Hangwei Medical Systems, Beijing, China) with longitudinal and transverse slices and a scanning area ranging from the thoracic segments to the coccygeal region to estimate contrast material leakage. For both groups, the time from puncture to image capture was the same. The thickness of the CT slices was set as 1.25 mm. After the patch technique, CT imaging, and scan verification by a veterinary radiologist, the study animals were humanely euthanized.

CT image analysis

The images obtained from the CT scan in digital imaging and communication format were used to analyze the CSF leak in the puncture area with Mimics Research software (V17.0,

Original research

Materialize, Belgium) according to the following procedure (figure 6):

1. Contrast liquid segmentation: segmentation (partitioning the digital image into multiple segments) was used to simplify a complex image into something easier to analyze. Segmentation of the radiopaque contrast gave us a clear image of the total liquid mass.
2. Bone segmentation: the same process was carried out on the images of the bony structures.
3. Definition of the region of interest (ROI): to define the ROI, the L6 to S1 vertebrae were located, the height of the L6 vertebrae was measured, and the ROI was extended to S1—a level equivalent to half the height of L6, including the sub-arachnoid and epidural space and the foraminal canal.

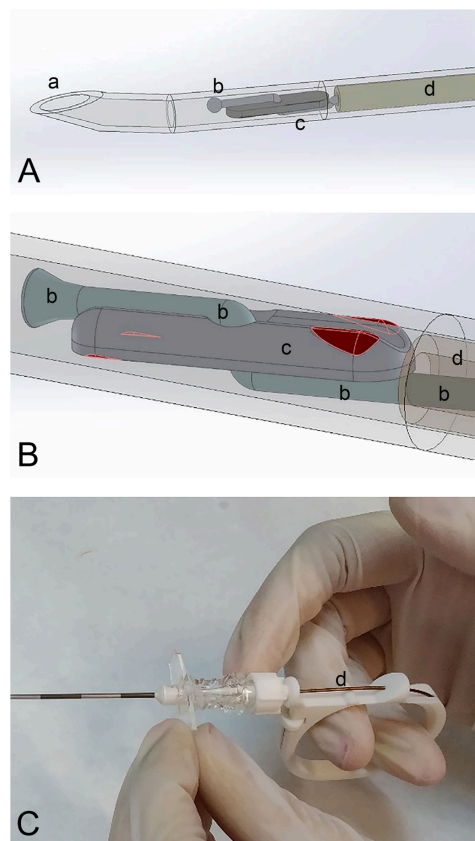


Figure 5 (A) Detail of tip of Tuohy needle showing the thread and patch complex ready to be deployed when the cannula is advanced to the needle tip. (B) Enlarged view of the thread and patch complex folded inside the needle lumen. (C) Attaching the transfer applicator to the Tuohy needle hub using a Luer lock connector. a=tip of Tuohy needle; b=barbed thread; c=patch; d=cannula.

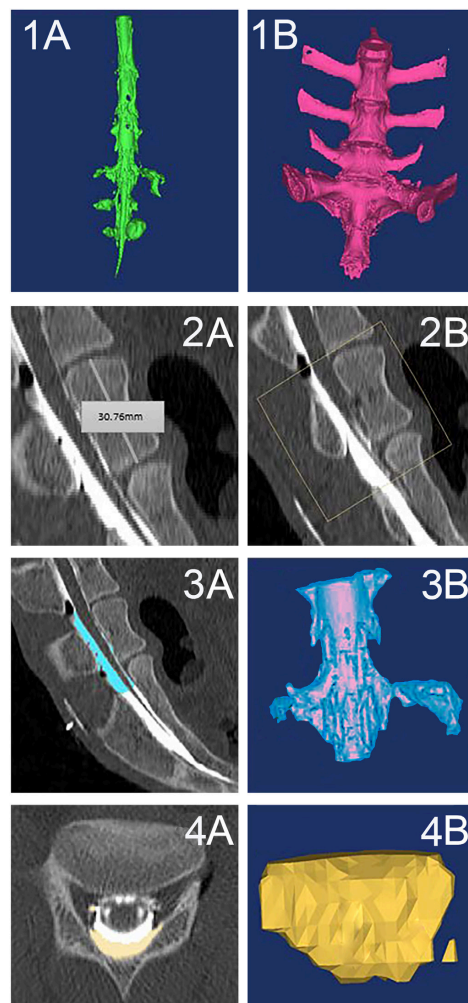


Figure 6 Analysis of the procedure used. (1A) is a 3D reconstruction (anteroposterior view) of all contrast liquid seen in the CT study. (1B)–(3D) reconstruction of bony elements in lumbosacral region (anteroposterior view). (2A) and (2B) Delimitation of the region of interest (ROI), sagittal view. (3A) and (3B) Contrast liquid identification in the ROI in light blue (3A and 3B) showing the sagittal view and 3D reconstruction in the anteroposterior view, respectively). (4A) and (4B) Inside the ROI, and selection and quantification of contrast in the epidural area in yellow. (4A) shows a cross-section of CT and the epidural contrast is marked in yellow. Online supplemental material and (4B) show an axial cross-section and an anteroposterior view of 3D-reconstructed epidural contrast in the ROI, also marked in yellow, respectively. The color on the surface of the images was modified using Adobe Photoshop (Adobe, San Jose, California, USA). The texture was kept and the color was added to make the images easier to understand.

Original research

4. Contrast liquid segmentation in the ROI (amount of total liquid found within the ROI): this process gave us a clear view of the total amount of radiopaque contrast allocated in the ROI.
5. Inside the ROI, selection and quantification of the contrast fluid identified in the epidural area (ie, the volume of fluid found outside the dural sac).
6. Calculation of the proportion of contrast fluid found in the epidural area with respect to the total amount of contrast liquid was found in the ROI.

Criteria followed for segmentation

We strove to maintain continuity of the structures between consecutive CT slices (figure 7). To begin the segmentation, a slice in which the epidural space and subarachnoid space was best identified with edges clearly seen was chosen. It was then used to infer the remaining successive slices following the continuity of the structures. Because the epidural space surrounding the dura mater, had a coronal circular morphology, we considered the presence of any liquid on the outside of this circular structure and extending to the foraminal canal where the nerve root cuffs exit (figure 7) as leaked fluid.

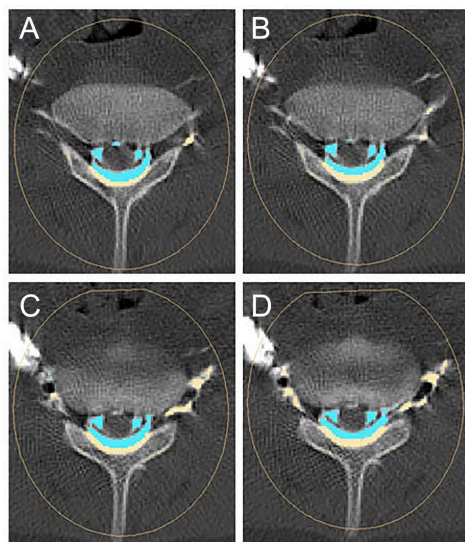


Figure 7 Cross-sectional view of the CT. CT scan image sequence, as an example of four consecutive slices (cranial to caudal) in which epidural and intrathecal contrast were segmented. We followed the principle of the continuity of the structures to segment the contrast fluid in the epidural area (blue corresponds to the contrast medium within the subarachnoid space and yellow represents the epidural space filled with epidural fat). The colors in the surface of the images were modified using Adobe Photoshop (Adobe, San Jose, California, USA). The texture was kept and color was added to make the images easier to understand.

Variables**ROI contrast volume**

The quantified total volume of contrast fluid (measured in millimeters cubed by CT reconstruction programming) was found in the ROI defined for the L6 and S1 vertebrae.

Epidural contrast volume

The quantified volume of contrast fluid (measured in millimeters cubed by CT reconstruction programming) was found in the epidural area.

Epidural/ROI volume (%)

To compare the two groups, this variable was defined as the percentage of contrast fluid found in the epidural area in relation to the total amount of fluid found in the ROI expressed as a percentage, thus:

$$\text{Epidural volume}_{\text{ROI}} (\%) = \frac{\text{Epidural contrast volume}}{\text{ROI contrast volume}} \times 100$$

Statistical analysis

This was a randomized, single-blinded study in which the data from the animals of each group were encoded. The person who evaluated the CT images and measured the variables did not know that to which group each animal belonged. The codes assigned to the animals were only exposed after the statistical analysis had been completed.

The statistical study was carried out using R statistical software (V3.6.4).⁸ The effect size was calculated with the `pwr.t2n.test` function from the `pwr` package⁹ for groups of different sample sizes ($n_1=20$; $n_2=23$). The alpha error was set at 0.05, the beta error was 0.8, and the alternative hypothesis was considered "greater than." An effect size of 0.77 was obtained. The normality of the weight and age of the animals was verified with a Shapiro-Wilk test using the `Shapiro` test function in the `stats` package of R.⁸ Finally, a robust test was performed to compare these two independent groups using the `medpb2` cut medians function from the `WRS2` package.¹⁰ We considered statistical differences to be defined as $p < 0.05$. The trim level for the means was 0.2. The data are presented numerically as the medians (minimum to maximum) and are graphically presented as the medians, interquartile ranges, and minimums and maximums.

Scanning electron microscopy

The implant, the barbed thread, and both of them mounted were studied under scanning electron microscopy (figures 3 and 4). The microscopic technique has been described in our previous papers.¹¹⁻¹³

The primary outcome measure was the total contrast volume and the volumes in the epidural space (EPIDURAL)/ROI ratio as a measure of the proportion of intrathecally injected fluid that passed into the epidural space. Secondary outcomes were the total amount of contrast in ROI and EPIDURAL.

RESULTS

The implant placement technique was performed without difficulties and in less than 30 s in all but two instances where we had to restart placement because the implant became stuck inside the Tuohy needle. This problem occurred because the patch was not properly folded within the transfer element. The patches were replaced and the procedures were performed without further incident. On the radiologist's advice, we excluded three cases from the statistical analysis because of the poor quality of the CT images. These three animals belonged

Original research

to group 1, which did not receive an implant. The mean weight (\pm SD) of all the animals was 42 ± 11 kg and their mean age was 3.0 ± 0.5 years.

The injection was performed at the L6-S1 vertebral level in all cases due to the scarce anatomical variability of the sheep's spine, the ease of recognizing the sacral ridge by palpation, and the researcher's accumulated experience in lumbar puncture in sheep.

Epidural contrast volume was lower in the study group versus the control group (1.4 vs 1.0 mL, $p=0.008$, respectively). The median EPIDURAL/ROI ratio was lower in the study group (study group=29; control group=46; $p=0.013$; 95% CI (-27 to -3.5)); in relative terms, 37% less contrast material was detected outside the epidural space in the study group.

ROI values were not different between the two groups (3.4 mL vs 3.2 mL, $p=0.44$). There was no statistical difference between total CSF volumes found at the same level of the dural sac, represented by the sum of CSF encountered inside the subarachnoid space plus the epidural space and foraminal canals.

These results are presented in table 1.

The animals were euthanized areas where the device was placed were dissection and microscopically evaluated. Traumatic subdural and intrathecal hemorrhage were not found.

DISCUSSION

Over the past decades, there has been scant progress in the search for techniques to effectively prevent PDPH. The epidural blood patch procedure is recognized as the most effective treatment for ADP, although its application requires a second epidural puncture (which itself is not without new risks) and the introduction of a volume of autologous blood (that has been manipulated) that then forms an iatrogenic epidural hematoma. Using a biologically compatible and inert implant may represent a method to prevent CSF loss and thus perhaps PDPH. Human cohort and randomized controlled trials are required to confirm this. Although ADP was conveniently used (and shown to be effective) for this study, it could perhaps also be used in future as yet recognized, defined, and identified analogous scenarios such as vascular, urinary, or pleural punctures, among others, where early and efficient sealing immediately after puncture may be clinically advantageous.

The material chosen for manufacturing the implant was poly (L-lactide-co-D, L-lactide) copolymer. It has been tested in various fields of medical diagnosis and therapy. Its biocompatibility, degradation, and excretion profile make it one of the most reliable and proven materials and is approved by the US Food and Drug Administration.¹⁴ The entire kit passed cytotoxicity and histocompatibility tests were performed in rodents.¹⁵

Studies of dural lesions caused by different needles have shown that lesion closure occurs independently in the dura mater and arachnoid layer.¹¹⁻¹³ Closure is faster in dura because of the effect of the dura mater's elastic fibers. It is slower in the arachnoid layer because closure requires cellular repair.¹³⁻¹⁶ In a clinical setting, the implant we describe would be placed in the minutes after the generation of the lesion, thus the loss of CSF would be compensated for by normal CSF production.

The device we tested contained a minute polylactic acid implant with a specific configuration that allowed it to unfold once it exited the tip of the Tuohy needle. Thus, the patch remained inside the dural sac and blocked the gap created by the epidural puncture needle, taking advantage of the fact that when the ADP occurred, the needle was already in position at the site of the perforation.

Given that the 18 G needle in the standard kit has an outer and inner diameter of 1.3 mm and 1.1 mm, respectively, it is able to deliver the implant to the inside of the dural sac to plug the lesion. Moreover, rapid retraction in the lesion diameter—by up to 80% in the minutes after its generation¹³—means that the implant surface area can easily exceed that of the lesion.

Our proposal is a relatively easy technique to master. Once the dural lesion has occurred and the CSF leak appears, the stylet of the Tuohy needle is replaced inside the epidural needle to prevent more CSF loss, while an assistant opens up the kit. While the needle is secured with one hand, the system can then be inserted and threaded.

As for spinal cord injury, the blunt design of the implant is highly unlikely to injure the spinal cord or the roots of the cauda equina. However, a great number of epidural techniques are performed at the lumbar spine, at the level of the dural sac distal to the termination of the spinal cord. Furthermore, the first millimeter of the Tuohy needles was inside the subarachnoid space after ADP, thus the introducer does not come into contact with the edges of the dural lesion that are protected by the external surface of the needle. The implant therefore always opens within the CSF; in addition, the movements of the introducer and implant do not enlarge the size of the lesion. The initial CSF leakage ensures that the implant will be placed within the subarachnoid space and pulled from the inside out, sealing the dural lesion.

Because the epidural volume and total contrast volume administered varied between individual animals depending on their weight, we used the EPIDURAL/ROI ratio as the main study variable to standardize our measurements. However, the intrathecal contrast may become distributed cranially or caudally beyond the delimited area in the immediate proximity of the puncture site. The amount of contrast medium inside and outside the epidural space is a metric¹⁷ that considers the variability between each animal caused in part by ventral migration toward the foraminal canal.

Under normal conditions, the amount CSF leaking past the implant will most likely be even less than that seen in our results considering that this experimental method produced an increase in CSF pressure beyond normal after injecting a 0.4 mL/kg ioversol solution.

We have to emphasize that the implant is expected to be kept in place by the traction of the synthetic barbed thread. After removing the needle, this thread will be anchored in the spinal ligaments, thus preventing the implant from moving.

If another approach to the epidural space is required, the presence of the implant does not preclude performing the technique at a different intervertebral space, similar to what would take place in non-treated ADPs.

The clinical signs of intracranial hypotension typically appear after 24 hours. It seems reasonable to speculate that this occurs because this is when the accumulated leaked volume is relatively large. However, studies by Reina *et al*^{11-13, 17} on leaked volumes are perhaps more appropriate, as they demonstrate, similar to the current study, that in the first few minutes after ADP, CSF leakage is at its highest prior to contraction of dura mater elastic fibers that reduce the size of the puncture hole.

There are several factors in the observed spread of CSF into the epidural space in sheep that are not addressed by our current study and could be viewed as limitations.

First, the present study shows the results of dural closure 2 min after puncture. We do not know the effect if the implant remains until its reabsorption. Based on the microscopic studies,¹¹⁻¹³ it may be acceptable to assume that immediate retraction of the

Original research

lesion edges after an acute dural tissue injury could facilitate an initial reduction in CSF leakage, after which the leakage volume would tend to decrease until the perforation has completely healed. We do not know whether the reduction in fluid leakage from the dural sac into the epidural space contained by the patch will help to accelerate patient recovery or whether any effects could be attributed to the patch's potential to facilitate healing around the foreign body or to its mechanical effects. In addition, it remains unknown whether the implant's irritation of the edges of the lesion could stimulate local inflammatory mechanisms that might favor faster fibrosis and complete sealing of the lesion. Future research will be required to clarify these and other uncertainties regarding the use of this device.

Second, although a significant reduction in CSF leakage was demonstrated after the application of the patch in this animal model, because humans have an upright posture and thus different CSF pressures, it remains to be proven if this device in fact limits the CSF leakage in human subjects and if this reduction in CSF leakage will decrease the incidence or severity of PDPH.

Third, as the results were obtained with a Tuohy 18 G needle, used at L6-S1 vertebral level, the conclusions are only applicable to this type of needle and lumbar vertebral level, and future studies with other types and sizes of epidural needles and introduction equipment will be required.

Finally, because not all patients develop PDPH after ADP, it remains to be debated following further research if it is ethically acceptable or feasible to place a device with potential complications and costs in 100% of patients for a condition (PDPH) that occurs in less than 100% of patients. The clinical scenarios for which this device or its future possible modifications are used in dictate the answer to this question.

This study represents a first step in proposing a new method to prevent or reduce PDPH using the same needle with which the dural sac perforation occurred. The effect of this implant in the short term has been evaluated and future studies will be necessary to understand its effect in the medium and long term as well as its safety.

CONCLUSIONS

In conclusion, we have introduced a novel, small, resorbable, and biocompatible device that effectively reduces flow through iatrogenic puncture holes made by an 18 G Tuohy needle in the dura of sheep. Among its potential advantages is the immediacy of the possible solution, that is, applying it at the time, the ADP is detected as well as the simplicity of its design. This animal model represents a first step toward the validation of this new method and the elements used in it, looking to a possible future evaluation by cohort via randomized control trials in humans, and perhaps via modifications in the size or design of the device for other as yet identified future clinical scenarios that may develop due to other membrane perforations.

Author affiliations

¹Department of Anesthesiology, Critical Care and Pain Management, Hospital Intermutual de Levante, San Antonio de Benagéber, Valencia, Spain

²Facultad de Veterinaria, CEU Universidad Cardenal Herrera, Valencia, Comunitat Valenciana, Spain

³Department of Anesthesiology, CEU-San Pablo University School of Medicine, Madrid, Spain

⁴Department of Anesthesiology, Madrid-Montepríncipe University Hospital, Madrid, Spain

⁵Division of Acute and Perioperative Pain Medicine, Department of Anesthesiology, University of Florida College of Medicine, Florida, Gainesville, Florida, USA

⁶Anesthesia Unit - Surgical Specialties Department, University of Valencia, Valencia, Spain

⁷Department of Anesthesiology, Critical Care and Pain Management, General University Hospital, Valencia, Spain

⁸Alon P Winnie Research Institute, Still Bay, Western Province, South Africa

⁹Departamento de Medicina y Cirugía Animal, CEU Universidad Cardenal Herrera, Moncada, Comunitat Valenciana, Spain

Acknowledgements The authors sincerely thank Fernando Mollà Domènech, Víctor Primo Capella y Carlos Atienza Vicente, Engineers in Instituto de Biomecánica de Valencia; María Prada Marcos, Department of Innovation-de la Fundación FISABIO; Dr Carlos Fonfria Esparcia, radiologist in the Department of Cardiothoracic Diseases, Hospital Universitari i Politècnic de la Fe, Valencia; Dr José Manuel Seller Losada, Xavier Onrubia Fuertes, Julia Martín Jaramago, and Estefanía Martínez González, from the Department of Anesthesiology, Hospital Intermutual Universitari Dr Peset, Valencia, Spain; Mar Moreno Barragán, technician in TAC, private practice, Valencia, Spain. We would also like to thank Corey Astrom, ELS, of the University of Florida (Gainesville, Florida, USA) for her help with the preparation of this manuscript.

Contributors All authors contributed to the conception, data gathering and analysis, and writing of this manuscript.

Funding Support was provided by the Fondo de Investigación Sanitaria-Instituto Carlos III (project number DTS17/00053) and by the European Society of Regional Anaesthesia (research grant number 2018).

Competing interests None declared.

Patient consent for publication Not required.

Ethics approval This project was approved by the General Directorate of Livestock of the Generalitat Valenciana (Spain; code 2018/VSC/PEA/0188 type 2) and Ethics Committee for Animal Experimentation at the CEU-Cardenal Herrera University (Valencia, Spain).

Provenance and peer review Not commissioned; externally peer reviewed.

Data availability statement All data relevant to the study are included in the article or uploaded as supplementary information.

ORCID ID

André Boezaart <http://orcid.org/0000-0002-1221-1214>

REFERENCES

- Grant R, Condon B, Hart I, et al. Changes in intracranial CSF volume after lumbar puncture and their relationship to post-LP headache. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991;54:440–2.
- Van de Velde M, Schepers R, Berends N. Ten years of tertiary obstetric anaesthesia department. *Int J Obstet Anesth* 2008;17:329–35.
- Boezaart AP. Effects of cerebrospinal fluid loss and epidural blood patch on cerebral blood flow in swine. *Reg Anesth Pain Med* 2001;26:401–6.
- Toda N, Ayajiki K, Tanaka T. Preganglionic and postganglionic neurons responsible for cerebral vasodilation mediated by nitric oxide in anesthetized dogs. *J Cereb Blood Flow Metab* 2000;20:700–8.
- Agerson AN, Scavone BM. Prophylactic epidural blood patch after unintentional dural puncture for the prevention of postdural puncture headache in parturients. *Anesth Analg* 2012;115:133–6.
- Stein MH, Cohen S, Mohiuddin MA, et al. Prophylactic vs therapeutic blood patch for obstetric patients with accidental dural puncture—a randomised controlled trial. *Anaesthesia* 2014;69:320–6.
- García-Vitoria C, Atienza Vicente CM, Moll Domènech F. Sistema de Sellado dural. wo 2018/193144 A1, 2018. Available: <https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/063843339/publication/WO2018193144A1?q=carles%20garc%C3%ADa%20vitoria%20primo%20capella%20dural> [Accessed 25 Jun 2020].
- The R Core Team. R: a language and environment for statistical computing: a reference index. Available: <https://cran.r-project.org/doc/manuals/r-release/fullrefman.pdf> [Accessed 23 Jun 2020].
- Champely S. pwr: basic functions for power analysis in R. R package, version 1.3. Available: <https://github.com/heliosdm/pwr> [Accessed 23 Jun 2020].
- Mair P, Wilcox R. Robust statistical methods in R using the WRS2 package. *Behav Res Methods* 2020;52:464–88.
- Reina MA, de Leon-Casasola OA, López A, et al. An in vitro study of dural lesions produced by 25-gauge Quincke and Whitacre needles evaluated by scanning electron microscopy. *Reg Anesth Pain Med* 2000;25:393–402.
- Reina MA, López A, Badorrey V, et al. Dura-arachnoid lesions produced by 22 gauge Quincke spinal needles during a lumbar puncture. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75:893–7.
- Reina MA, Puigdemívol-Sánchez A, Gatt SP, et al. Electron microscopy of dural and arachnoid disruptions after subarachnoid block. *Reg Anesth Pain Med* 2017;42:709–18.

Original research

- 14 da Silva D, Kaduri M, Poley M, *et al.* Biocompatibility, biodegradation and excretion of polylactic acid (PLA) in medical implants and theranostic systems. *Chem Eng J* 2018;340:9–14.
- 15 Eurofins Biol SRL Vimodrone, Milan, Italy. Tests for in vitro cytotoxicity - Method: ISO 10993-12:2012 + ISO 10993-5:2009, and Qualitative and quantitative evaluation. Analytical Report: AAD18226, Client Account Number: A00139320 2019.
- 16 Reina MA, Prats-Galino A, Sola RG, *et al.* [Structure of the arachnoid layer of the human spinal meninges: a barrier that regulates dural sac permeability]. *Rev Esp Anesthesiol Reanim* 2010;57:486–92.
- 17 Reina MA, Dittmann M, López García A, *et al.* New perspectives in the microscopic structure of human dura mater in the dorsolumbar region. *Reg Anesth* 1997;22:161–6.

Online Supplementary Material

The bioabsorbable device was made with: (a) an implant, (b) a barbed unidirectional suture, (c) an applicator, and (d) a flexometallic cannula.

(a) A polylactic acid implant, measuring 3.50 mm in length, 0.80 mm in width, and with a maximum thickness of 0.43 mm, is intended to plug the leak from inside the dural sac. Degradation is progressive, and in flat PLA elements, degradation can range from 11 weeks to more than 1 year.¹⁻³

(b) A 4-0 barbed unidirectional suture (V-Loc™ 90, Covidien, Dublin, Ireland) coupled by thermodilation to the patch. Its spicules provide fixation to the muscle and ligament planes it crosses, thus preventing distal migration. The Covidien V-Loc™ 90 has shallow barbs with circumferential distribution that grasp tissue at numerous points, spreading tension across the wound. It is composed of glycolide, dioxanone, and trimethylene carbonate. Tensile strength is 90% at 7 days and 75% at 14 days. Degradation occurs between 90 and 110 days.¹ Different authors have studied the properties of barbed sutures and clinical outcomes.²⁻⁷

(c) A transfer element or applicator that houses the patch and thread assembly and allows transmission to the lumen of the epidural needle with one hand.

(d) A multilayer flexometallic cannula with a polyamide coating containing a braided mesh (Nordon Medical, Westlake, OH, USA) that in turn houses the barbed suture thread. Because it is easy to push and does not easily kink, the cannula helps the patch–thread assembly advance toward the dural sac.

REFERENCES

1. Medtronic. Barbed Sutures. Accessed <https://www.medtronic.com/covidien/en-us/products/wound-closure/barbed-sutures.html> Available in October 8, 2020.
2. Cortez R, Lazcano E, Miller T, et al.. Barbed sutures and wound complications in plastic surgery: an analysis of outcomes. *Aesthetic Surg J* 2015;35:178–88.
3. Yalcin S, Kibar Y, Tokas T, et al.. In vivo comparison of “V-Loc 90 Wound Closure Device” with “Vicryl” and “Monocryl” in regard to tissue reaction in a rabbit bladder model. *Urology* 2018;116:231.e1–e5.
4. Alessandri F, Remorgida V, Venturini PL, et al.. Unidirectional barbed suture versus continuous suture with intracorporeal knots in laparoscopic myomectomy: a randomized study. *J Minim Invasive Gynecol* 2010;17:725–9.
5. Rubin JP, Hunstad JP, Polynice A, et al.. A multicenter randomized controlled trial comparing absorbable barbed sutures versus conventional absorbable sutures for dermal closure in open surgical procedures. *Aesthet Surg J* 2014;34:272–83.
6. Gingras K, Zaruby J, Maul D. Comparison of V-Loc™ 180 wound closure device and Stratafix™* Spiral knotless tissue-closure device for intradermal closure in a porcine in vivo model: evaluation of biomechanical wound strength. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater* 2012;100:1053–8.
7. Zaruby J, Gingras K, Taylor J, et al.. An in vivo comparison of barbed suture devices and conventional monofilament sutures for cosmetic skin closure: biomechanical wound strength and histology. *Aesth Surg J*. 2011;31:232–40.

Anexo 2. Comités éticos



CEU
Universidad
Cardenal Herrera

*Vicerrectorado de Investigación
Comité de Ética de Experimentación Animal*

INFORME CEEA 18/011

El Comité de Ética de Experimentación Animal (CEEA) de la Universidad CEU-Cardenal Herrera, reunido en sesión presencial con fecha 27 de Abril de 2018 ha revisado el proyecto con título **"Validación experimental en ovejas (*Ovis aries*) de un kit de sellado rápido de perforaciones durales"** remitido por el investigador **Carles García Vitoria**, considera que puede llevarse a cabo en las instalaciones de la CEU-UCH y CUMPLE con las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos según vienen estipuladas en el RD53/2013 de 1 de febrero.

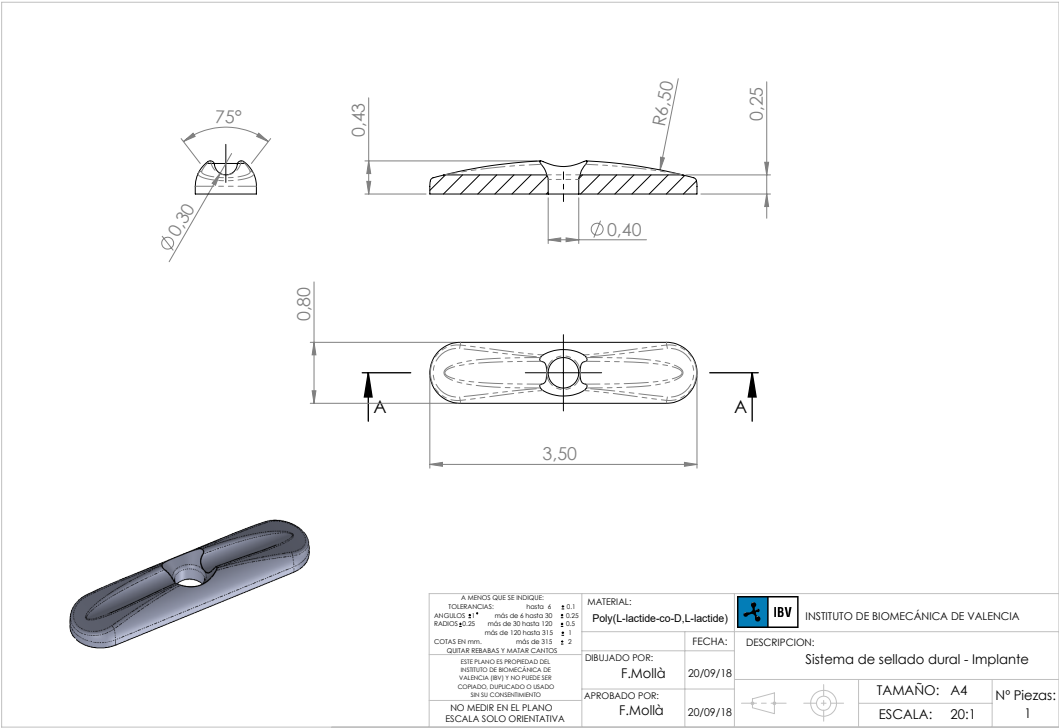
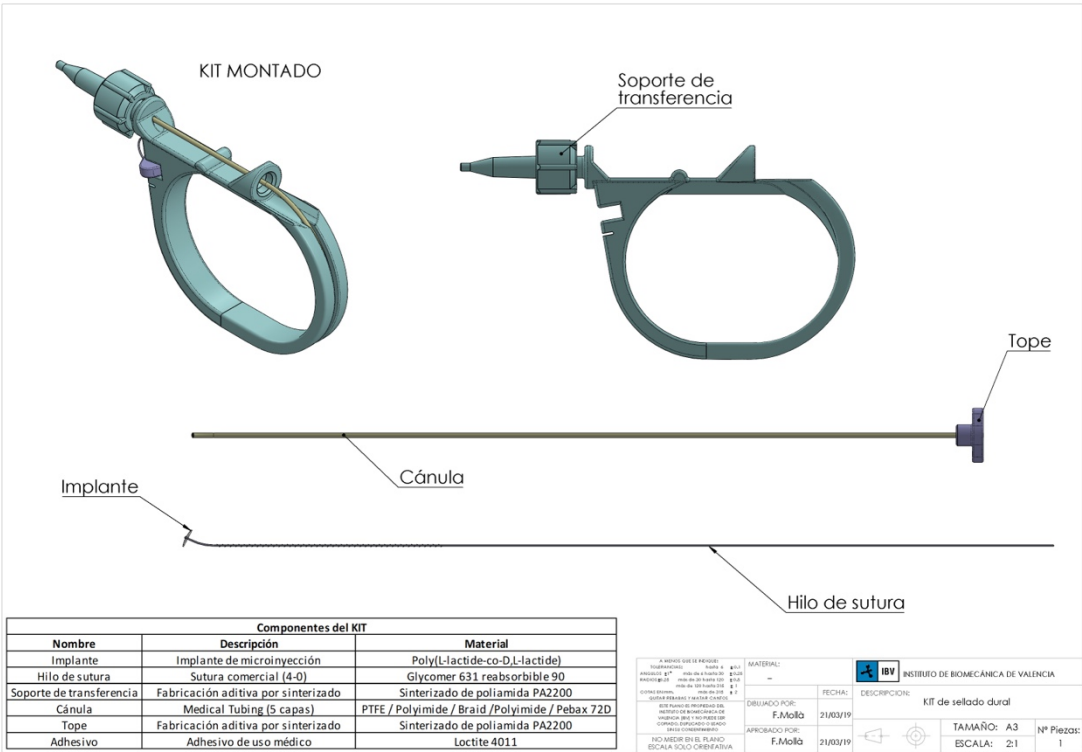
Moncada, 27 de Abril de 2018

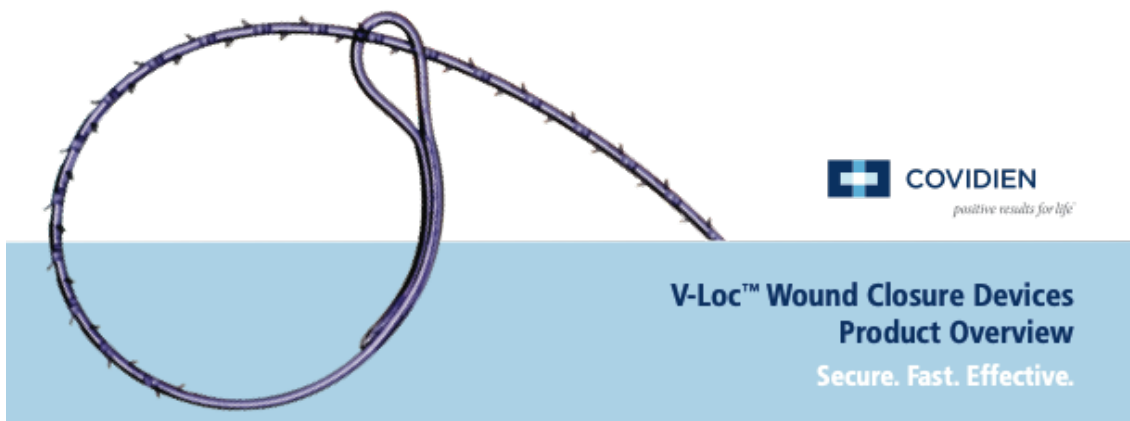
EL PRESIDENTE



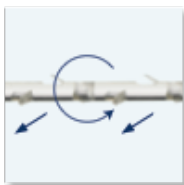
(Ddo. Ignacio Pérez Roger

Anexo 3. Esquema del kit





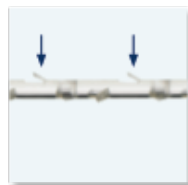
The V-Loc™ Device incorporates an enabling technology that facilitates a smooth closing experience by closing incisions up to 50% faster without compromising strength or security.^{1,2}



Barbs

Unidirectional, shallow barbs with circumferential distribution

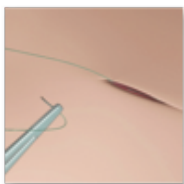
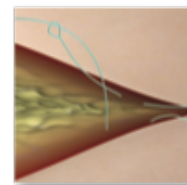
- Grasp tissue at numerous points spreading tension across the wound
- Evenly spaced barbs throughout the strand provide secure wound closure



Loop

Welded-loop design

- Anchors device securely at the beginning of the incision line, eliminating the need to tie a knot



Technique

No change to standard wound closure technique

- Intuitive/easy to use
- Minimal learning curve
- Potential to eliminate the need for third-hand assistance when closing complex wounds






Packaging

Unique circular shape package holds the needle securely in an optimal position

- Designed to minimize package-related memory
- Easy loading into needle driver with no need to adjust



	V-Loc™ 90 Absorbable Device	V-Loc™ 180 Absorbable Device	V-Loc™ PBT Non-Absorbable Device
Tensile Strength	7 days, 90%; 14 days, 75%	7 days, 80%; 14 days, 75%; 21 days, 65%	Permanent
Absorption Profile	90-110 days	180 days	Permanent
Procedural Applications	Soft tissue approximation where support is required consistent with the absorption profile	Soft tissue approximation where support is required consistent with the absorption profile	Soft tissue approximation
Color	Undyed, violet 	Clear, green 	Blue 
Composition	Glycolide, dioxanone and trimethylene carbonate	Copolymer of glycolic acid and trimethylene carbonate	Polybutester
Indications	V-Loc™ 90 device and V-Loc™ 180 absorbable wound closure devices are indicated for soft tissue approximation where use of an absorbable suture is appropriate.		V-Loc™ PBT non-absorbable wound closure devices are indicated for soft tissue approximation.

Please refer to the V-Loc™ device Product Catalog for our complete product offering.



¹ Compared to standard suture methods. Covidien V-Loc™ 180 Absorbable Wound Closure Device Time Study, Robert T. Grant, MD, MSc, FACS New York–Presbyterian Hospital, Argent Global Services. Data on File.

² Utilization of a Porcine Model to Demonstrate the Efficacy of an Absorbable Barbed Suture for Dermal Closure, UTSW, S. Brown

COVIDIEN.COM/V-LOC

IMPORTANT: Please refer to the package insert for complete instructions, indications, contraindications, warnings and precautions.

For more information or to set up a product demonstration, contact your local Covidien Wound Closure Specialist or call Customer Service at 1-800-722-8772.



COVIDIEN, COVIDIEN with logo, Covidien logo and *positive results for life* are U.S. and/or internationally registered trademarks of Covidien AG. Other brands are trademarks of a Covidien company. © 2011 Covidien. 11.11 P100049

Anexo 4. Certificate of Analysis Eurofin



BioPharma
Product Testing

Certificate of Analysis

Page 1 of 1

Analytical Report: AAD18226

Eurofins Sample Number: LV19AA8069-1

Version: 1

INSTITUTO DE BIOMECÁNICA DE VALENCIA
Universidad Politécnica de Valencia
Camino de Vera s/n
Valencia, 46022
ES

Client Account Number: A00139320


Eurofins Quote Number: VZB2PH19041701

Eurofins Sample Number LV19AA8069-1		
Original Received Date:	22-May-2019	
Description:	Duralock	
Lot Number:	DRL_02_BIO	
Analysis	Result	Unit
Tests for in vitro cytotoxicity (ELUTION TEST) - ISO 10993-12:2012 + ISO 10993-5:2009		
RESULT:	Not cytotoxic	----
Extraction ratio:	6 cm ² /mL	----
Extraction time:	24	----
Extraction conditions:	Dynamic	----
Extraction temperature:	37	°C
Negative control:	HDPE	----
Positive control:	Latex	----
Vehicle:	Supplemented culture medium	----
Notes:	N/A	----
Addendum #1: Qualitative and quantitative evaluation		
Method: EN ISO 10993-5		
Analysis Date: 27-May-2019 to 29-May-2019		

Contracted Company: Eurofins Biolab Srl (Vimodrone)	
Via Bruno Buozzi, 2, Vimodrone, MI 20090 Italy	
InfoFarma@eurofins.com	

Questions about this report should be directed to your project manager or the general email listed above.

Reviewed and electronically signed for Analyst Approval by
Gabriele Sala, Employee
for Eurofins Biolab Srl, on 30-May-2019 12:26:21 UTC+02:00
Reviewed and electronically signed for Technical Supervisor Approval by
Francesco Ranzini, Employee
for Eurofins Biolab Srl, on 30-May-2019 12:37:06 UTC+02:00

	In vitro cytotoxicity ISO10993-5:2009		1-P-PR-TEM-9005812	
	Test on extracts-NRU		Addendum N.	1

Study ID: // Sample ID: LV19AA8069-1

Test start: 27/05/2019 Test end: 29/05/2019

Cell line	Manufacturer	
Mammal fibroblasts BALB/3T3 clone A31 (ATCC® CCL163™)	American Type Culture Collection (ATCC)	
Reagent	Manufacturer	Batch
Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)	Sigma-Aldrich	RNBH3367
Fetal Bovine Serum (FBS)	Sigma-Aldrich	17A515
Penicillin/Streptomycin solution	Lonza	8MB208

QUALITATIVE EVALUATION

	Contact time: 24 h						
	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	Replicate 4	Replicate 5	Replicate 6	
Blank							
Vehicle control	0	0	0	0	0	0	
Negative control	0	0	0	4	4	4	Positive control
Test Sample	2	2	2	2	2	2	

INTERPRETATION OF RESULT

Grade	Reactivity	Conditions of all Cultures
0	None	Discrete intracytoplasmic granules; no cell lysis; no reduction of cell growth
1	Slight	Not more than 20% of the cells are round, loosely attached and without intracytoplasmic granules or show changes in morphology; occasional lysed cells are present; only slight growth inhibition observable
2	Mild	Not more than 50% of the cells are round, devoid of intracytoplasmic granules; no extensive cell lysis; not more than 50% growth inhibition observable
3	Moderate	Not more than 70% of the cell layers contain rounded cells or are lysed; cell layers not completely destroyed but more than 50% growth inhibition observable
4	Severe	Nearly complete or complete destruction of the cell layers

ACCEPTANCE CRITERIA


Negative control		Positive control	
Grade ≤1	VALID	Grade ≥3	VALID

RESULTS

	Reactivity grade
Test Sample	2

Rev.8	Local Reference: Mod. PS/TOX/020.B	Page 1 of 2
©This document is copyright of Eurofins Scientific Group	Documento completo approvato in ETQ	

Analytical Report: AAD18226, Eurofins Number: LV19AA8069-1, Version: 1

	In vitro cytotoxicity ISO10993-5:2009			1-P-PR-TEM-9005812	
	Test on extracts-NRU			Addendum N.	1

Study ID: // Sample ID: LV19AA8069-1

Test start: 27/05/2019 Test end: 29/05/2019

QUANTITATIVE EVALUATION - 540 nm

	Contact time: 24 h						
	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	Replicate 4	Replicate 5	Replicate 6	
Blank	0,041	0,046	0,054	0,062	0,069	0,061	
Vehicle control	1,188	1,336	1,327	1,282	1,365	1,134	
Negative control	1,175	1,317	1,239	0,052	0,051	0,053	Positive control
Test Sample	0,925	1,007	0,968	0,968	0,998	0,975	

MEAN, STANDARD DEVIATION, CV% AND VIABILITY

	Mean OD	Standard Deviation	CV %	Mean OD - Mean OD blanks	Viability %
Blanks	0,056				
Vehicle control	1,272	0,092	7,203	1,217	100
Negative control	1,244	0,071	5,718	1,188	98
Positive control	0,052	0,001	1,923	-0,004	0
Test Sample	0,974	0,029	2,955	0,918	75

ACCEPTANCE CRITERIA

	Vehicle $\geq 0,3$			
Mean OD	VALID			
	Negative control $\geq 70\%$	Positive Control $< 70\%$		
Quantitative Evaluation	VALID	VALID		
	Vehicle control	Negative control	Positive control	Test Sample
CV between Replicates $\leq 15\%$	VALID	VALID	VALID	VALID

$$\% \text{ viability} = \frac{\text{OD}_{\text{mean sample}} - \text{OD}_{\text{mean blank}}}{\text{OD}_{\text{mean vehicle}} - \text{OD}_{\text{mean blank}}} \times 100$$

INTERPRETATION OF RESULTS

Reduction of Viability	Result
$\leq 30\%$	Not Cytotoxic
$> 30\%$	Cytotoxic

RESULTS

	Reduction Viability % (*)	
Test Sample	25	NOT CYTOTOXIC

*0 (% viability test item \geq vehicle); 100 (% viability test item \leq Blank)

Rev.8	Local Reference: Mod. PS/TOX/020.B	Page 2 of 2
©This document is copyright of Eurofins Scientific Group	Documento completo approvato in ETQ	

Reviewed and electronically signed for Analyst Approval by
Gabriele Sala, Employee
for Eurofins Biolab Srl, on 30-May-2019 12:26:21 UTC+02:00
Reviewed and electronically signed for Technical Supervisor Approval by
Francesco Ranzini, Employee
for Eurofins Biolab Srl, on 30-May-2019 12:37:06 UTC+02:00

Anexo 5. Acute Systemic Toxicity Test on “Duralock”. Eurofins

Analytical Report: AAD38014, Eurofins Number: STULV19AA2251-1, Version: 1



Page: 1 of 10

ACUTE SYSTEMIC TOXICITY TEST ON “Duralock”

Contract n: NCDNPH190077-01

Sponsor: Instituto de Biomecánica de Valencia
Camino de Vera s/n. Edificio 9C
46022 Valencia
Spain

Test Facility: Eurofins Biolab Srl
Via B. Buoizzi, 2
20090 Vimodrone (MI)
Italy

Test item: Duralock

INDEX

SUMMARY	3
INTRODUCTION	4
BIBLIOGRAPHY	4
FILING	4
PROCEDURES	4
TEST ITEM	5
ANALYZED SAMPLE	5
EXPERIMENTAL REPORT	6
TEST METHOD	6
EXPERIMENTAL DESIGN	7
OBSERVATIONS	8
INTERPRETATION OF THE RESULTS	8
RESULTS	9
DISCUSSION OF RESULTS	10
CONCLUSIONS	10

SUMMARY

On the test item "Duralock" a biological evaluation was carried out to evaluate its toxicity by means of the following test:

- Systemic toxicity test according to ISO 10993-11:2017

To perform the **systemic toxicity test**, according to ISO 10993-12, two extracts of the test sample, one in non-polar vehicle, Cottonseed Oil, and one in polar vehicle, Sodium Chloride Injection (0.9%), were prepared immersing the device in the relative solvent in order to reach a surface/volume ratio of 6 cm²/ml and incubating at (50 ± 2) °C for (72 ± 2) h in dynamic conditions (orbital stirrer).

50 ml/kg of the test sample extract in Sodium Chloride Injection were intravenously injected in one group of 5 mice (treated group) and 50 ml/kg of the test sample extract in Cottonseed Oil were intraperitoneally injected in another group of 5 mice (treated group).

Sodium Chloride Injection and Cottonseed Oil were injected with the same modality in other two group used as control.

The rate of injection didn't exceed 2 ml/min.

The animals were observed immediately after the injection and after 4, 24, 48 and 72 hours.

Clinical signs, systemic effects and mortality (if present) were recorded.

Body weight has been measured immediately before the injections, 24, 48 and 72 hours after the injections.

Clinical symptoms

In none of the treated and control animals toxic signs or symptoms were observed.

Mortality

In none of the treated and control animals mortality was observed.

Weight increase

The weight increase of treated and control animals was conform to species, strain and sex.

On the basis of the results, interpreted according to ISO 10993-11:2017, the test item "Duralock" **DOESN'T CAUSE** toxic symptoms and **SATISFIES** the requirements of the test.

INTRODUCTION

This study has been carried out at the Test Facility Eurofins Biolab S.r.l. on behalf of the Sponsor on the test item "Duralock".

<i>EXPERIMENTATION</i>	<i>START</i>	<i>END</i>	<i>RESEARCHER</i>
Systemic toxicity	31/05/2019	07/06/2019	D. Mistretta G. Romano

BIBLIOGRAPHY

- ISO 10993-11:2017 Biological evaluation of medical devices Part 11: Tests for systemic toxicity
- ISO 10993-12:2012 Biological evaluation of medical devices Part 12: Sample preparation and reference materials
- ISO 10993-2: 2006 Biological evaluation of medical devices Part 2: Animal welfare requirements

FILING

All raw data are filed in the archives of Eurofins Biolab S.r.l. for 10 years after the issuing of the Final Report.
Retained sample has not been kept.

At the end of the conservation period, the Sponsor may request an extension of the conservation of all or part of the documents/products for a further period, or their restitution. A suitable agreement shall be drafted in this case.

PROCEDURES

All procedures used during this study are recorded in the Test Facility Eurofins Biolab S.r.l.

TEST ITEM

The test item consists of a medical device.

Name	Duralock
Code	From 1 to 9
Stability	2 months
Sterilization	β Ray
Type of material	Synthetic polymer

ANALYZED SAMPLE

The test sample, representative of the test item, consists of a white plastic piece, the surface of the device is 45 cm², as declared by the Sponsor.

Batch	DRL_02_BIO
Manufacturing date	03/05/2019
Expiry date	Not provided
CoA	Not provided
Storage	Room temperature
Parcel Registration Number	IP-LV-2019142-ADK
Receiving date	22/05/2019
Material item aliquot	LV-MAT-HU6M-19-142-0645:a

*The test item and the information concerning the test item were provided by the Sponsor.
All data related to the test item are under the responsibility of the Sponsor and have not been verified by the test facility.*

Experimental Report

TEST METHOD

Characterization

Species: Mouse
Strain: ICR (CD-1®)
N.: 20 (10 + 10)
Sex: Male
Weight: 29.2-33.4 g at the beginning of the test
Age: Young adult
Supplier: Charles River – Calco (LC)
Receiving number: 092
Food: 4RF21 Batch: 344706
Bedding: BK8-15 Batch: 02132190128

Justification of assay system

Mouse has been used for this test because of the recommendation of ISO 10993-11- current edition.

Quarantine

Before being used in this study, the animals were kept in quarantine for five days.
During this period they were daily observed by a veterinarian.
At the end of the quarantine week, the animals were carefully examined in order to evaluate their suitability for the study.

Animal selection

The animals used for this study were randomly selected from those suitable and available at that time.

Caging

The animals were caged according to internal procedure.
The housing room was lit with fluorescent lamps 12 hours per day. Room temperature and humidity were regulated by a conditioning plant and were continuously monitored. Recordings of the housing conditions are being retained in Eurofins Biolab S.r.l. files.

Cleaning and disinfection

The cages and the housing room were cleaned before animal accommodation, then periodically disinfected.

Feeding

Animals have been fed with standard pellet complete diet supplied by the authorized breeder.

Watering

Filtered tap water from local network was supplied ad libitum from an automatic watering system.

Animal identification

Each animal was identified with an indelible painting in different parts of the body:

No sign 1
Head 2
Back 3
Tail 4
Head-Tail 5

Cages were labelled.

Materials

Sodium Chloride Injection	Supplier: Eurospital	Batch: 18C2803
Cottonseed Oil	Supplier: Sigma	Batch: MKCF5124

Eurofins Biolab Srl – via B.Buozzi 2, Vimodrone (Milano), Italy - P.IVA / VAT Number: 007620140960
Tel: +39-022507151 – Fax: +39-0225071599 – E-mail: InfoFarma@eurofins.com

EXPERIMENTAL DESIGN

The experimental design consisted of 4 groups (2 treated and 2 control) each consisting of five male mice. The animals were subdivided in groups as follow:

GROUP	ADMINISTRATION LIQUID	INJECTION ROUTE	DOSE (ml/kg)	N. ANIMALS
Treated	Sodium Chloride Injection extract	I.V.	50	5
Control	Sodium Chloride Injection	I.V.	50	5
Treated	Cottonseed Oil extract	I.P.	50	5
Control	Cottonseed Oil	I.P.	50	5

I.V.: intra-venous

I.P.: intra-peritoneal

Sample preparation

According to ISO 10993-12, two extracts of the test sample, one in non-polar vehicle, Cottonseed Oil, and one in polar vehicle, Sodium Chloride Injection (0.9%), were prepared immersing the device in the relative solvent in order to reach a surface/volume ratio of 6 cm²/ml and incubating at (50 ± 2) °C for (72 ± 2) h in dynamic conditions (orbital stirrer).

Fresh extracts was used for the test (within 24 hours from its preparation).

In particular extracts were stored in fridge (5°C ± 3°C) for less than 24 hours before their use.

No abnormalities were observed in extracts appearance: no signs of particles, clouding, discoloring or chemical precipitation were recorded; the extracts were not filtered before use.

Treatment

Animals have been treated with a single injection of test sample extracts (treated groups) and extraction vehicles (control groups) with a dose of 50 ml/kg, that is the maximal dosage volume for mice through intra-venous and intra-peritoneal route, according to Experimental Design.

The rate of injection didn't exceed 2 ml/min.

Body weight measurement

Body weight of all animals has been measured immediately before the injections, 24, 48 and 72 hours after the injections.

OBSERVATIONS

All animals have been observed after injection and after 4, 24, 48 and 72 hours.

Eventual clinical signs (time of onset, degree and duration) and/or eventual mortality have been recorded for each animal.

Animals were observed for the following systemic effects: tremors, hair bristling, diarrhoea, abdominal pain, sialorrhoea, depression state of sensorium, state of excitement, polypnoea, hypopnoea, tachycardia, cyanosis, ataxia, convulsions, nose-bleeding.

Other clinical signs described in ISO 10993-11, Annex C, (if present) has been recorded.

INTERPRETATION OF THE RESULTS

The test conditions are satisfied if none of the animals treated with the extract of the sample show significantly greater biological reactivity than control group.

If any of the treated animals with the sample show slight signs of biological reactivity, and no more than one animal shows gross symptoms of biological reactivity or dies, the test must be repeated using groups of 10 mice.

The conditions of the repeated test are satisfied if during observation period none of the animals treated with the extract of the sample show a biological reactivity greater than the animals treated with the control.

If two or more mice die, if two or more mice show abnormal symptoms as convulsions or weakness or if the weight loss is greater than 10% in 3 or more animals, the test substance does not satisfy the requirements of the test.

RESULTS**WEIGHT AND CLINICAL SYMPTOMS OF ANIMALS TREATED WITH 50 ml/kg OF SODIUM CHLORIDE INJECTION EXTRACT**

ANIMAL N.	START WEIGHT (g)	END WEIGHT (g)	CLINICAL SYMPTOMS (h)				
			0	4	24	48	72
1	29.9	33.4	0	0	0	0	0
2	29.7	32.0	0	0	0	0	0
3	29.8	31.9	0	0	0	0	0
4	30.1	32.6	0	0	0	0	0
5	29.3	32.3	0	0	0	0	0

0: No Symptoms, 1:tremors, 2:hair bristling, 3:diarrhoea, 4:abdominal pain, 5:sialorrhoea, 6:depression state of sensorium, 7:state of excitement, 8:polypnoea, 9:hypopnoea, 10:tachycardia, 11:cyanosis, 12:ataxia, 13:convulsions, 14:nose-bleeding, M:death.

WEIGHT AND CLINICAL SYMPTOMS OF ANIMALS TREATED WITH 50 ml/kg OF SODIUM CHLORIDE INJECTION

ANIMAL N.	START WEIGHT (g)	END WEIGHT (g)	CLINICAL SYMPTOMS (h)				
			0	4	24	48	72
1	29.5	31.6	0	0	0	0	0
2	29.2	29.9	0	0	0	0	0
3	29.9	30.9	0	0	0	0	0
4	30.1	32.4	0	0	0	0	0
5	29.4	31.2	0	0	0	0	0

0: No Symptoms, 1:tremors, 2:hair bristling, 3:diarrhoea, 4:abdominal pain, 5:sialorrhoea, 6:depression state of sensorium, 7:state of excitement, 8:polypnoea, 9:hypopnoea, 10:tachycardia, 11:cyanosis, 12:ataxia, 13:convulsions, 14:nose-bleeding, M:death.

WEIGHT AND CLINICAL SYMPTOMS OF ANIMALS TREATED WITH 50 ml/kg OF COTTONSEED OIL EXTRACT

ANIMAL N.	START WEIGHT (g)	END WEIGHT (g)	CLINICAL SYMPTOMS (h)				
			0	4	24	48	72
1	30.4	32.2	0	0	0	0	0
2	31.0	33.8	0	0	0	0	0
3	30.3	32.8	0	0	0	0	0
4	33.4	34.9	0	0	0	0	0
5	32.2	33.3	0	0	0	0	0

0: No Symptoms, 1:tremors, 2:hair bristling, 3:diarrhoea, 4:abdominal pain, 5:sialorrhoea, 6:depression state of sensorium, 7:state of excitement, 8:polypnoea, 9:hypopnoea, 10:tachycardia, 11:cyanosis, 12:ataxia, 13:convulsions, 14:nose-bleeding, M:death.

WEIGHT AND CLINICAL SYMPTOMS OF ANIMALS TREATED WITH 50 ml/kg OF COTTONSEED OIL

ANIMAL N.	START WEIGHT (g)	END WEIGHT (g)	CLINICAL SYMPTOMS (h)				
			0	4	24	48	72
1	32.0	33.8	0	0	0	0	0
2	31.4	33.1	0	0	0	0	0
3	30.9	32.7	0	0	0	0	0
4	33.4	34.8	0	0	0	0	0
5	31.8	33.2	0	0	0	0	0

0: No Symptoms, 1:tremors, 2:hair bristling, 3:diarrhoea, 4:abdominal pain, 5:sialorrhoea, 6:depression state of sensorium, 7:state of excitement, 8:polypnoea, 9:hypopnoea, 10:tachycardia, 11:cyanosis, 12:ataxia, 13:convulsions, 14:nose-bleeding, M:death.

DISCUSSION OF RESULTS**Weight increase**

The weight increase of treated and control animals was conform to species, strain and sex.

Mortality

In none of the treated and control animals mortality was observed.

Clinical symptoms

In none of the treated and control animals toxic signs or symptoms were observed.

DEVIATION

No deviation has been recorded during the study.

CONCLUSIONS

On the basis of the results, interpreted according to ISO 10993-11:2017, the test item "Duralock" **DOESN'T CAUSE** toxic symptoms and **SATISFIES** the requirements of the test.

*This test report may not be reproduced in part unless expressly approved in writing by Eurofins Biolab S.r.l.
The test results relate only to the tested items. Sampling, except specific indication on test report, is always intended to be made by the
Sponsor. Characterization of the test sample is under Sponsor responsibility.*

Anexo 6. Maniquí para inyección epidural y espinal P61 (1017891)



Maniquí para inyección epidural y espinal P61 (1017891)

Índice

Introducción	3
Suministro	3
Instrucciones rápidas	4
Montaje	6
Puesta en funcionamiento y uso	6
... Inyección epidural y espinal	
... „Hanging Drop“	
Explicaciones sobre ejecución médica	7
PMF	11
Mantenimiento y cuidados	12
Lista de piezas de repuesto	12
Datos técnicos	12



Introducción

Muchas gracias por la compra de este maniquí de gran calidad. Antes de la puesta en marcha del aparato lea atentamente las instrucciones de uso, para lograr un funcionamiento impecable y poder trabajar siempre con el producto satisfactoriamente. El maniquí para inyección epidural y espinal es adecuado tanto para estudiantes de medicina como para la formación continua individual de profesionales.

La inyección epidural y espinal le convencerá por su respuesta táctil y acústica extremadamente realista, lograda gracias a materiales de calidad y resistentes. Su composición compacta y ligera permite un uso muy flexible. Los reducidos costes de funcionamiento y su manejo intuitivo garantizan unos resultados excelentes durante mucho tiempo.

Resumen de las funciones:

- Anestesia epidural realizable con Loss-of-Resistance y técnica „Hanging-Drop“.
- Anestesia espinal con resistencia realista de la duramadre-aracnoides, con o sin cánula de guiado.
- Canal espinal lleno de líquido cefalorraquídeo con velocidad realista de salida de fluido gracias al ajuste de exceso de presión
- Colocación del catéter epidural en el espacio epidural
- Sistema cerrado de agua
- Limpieza sencilla

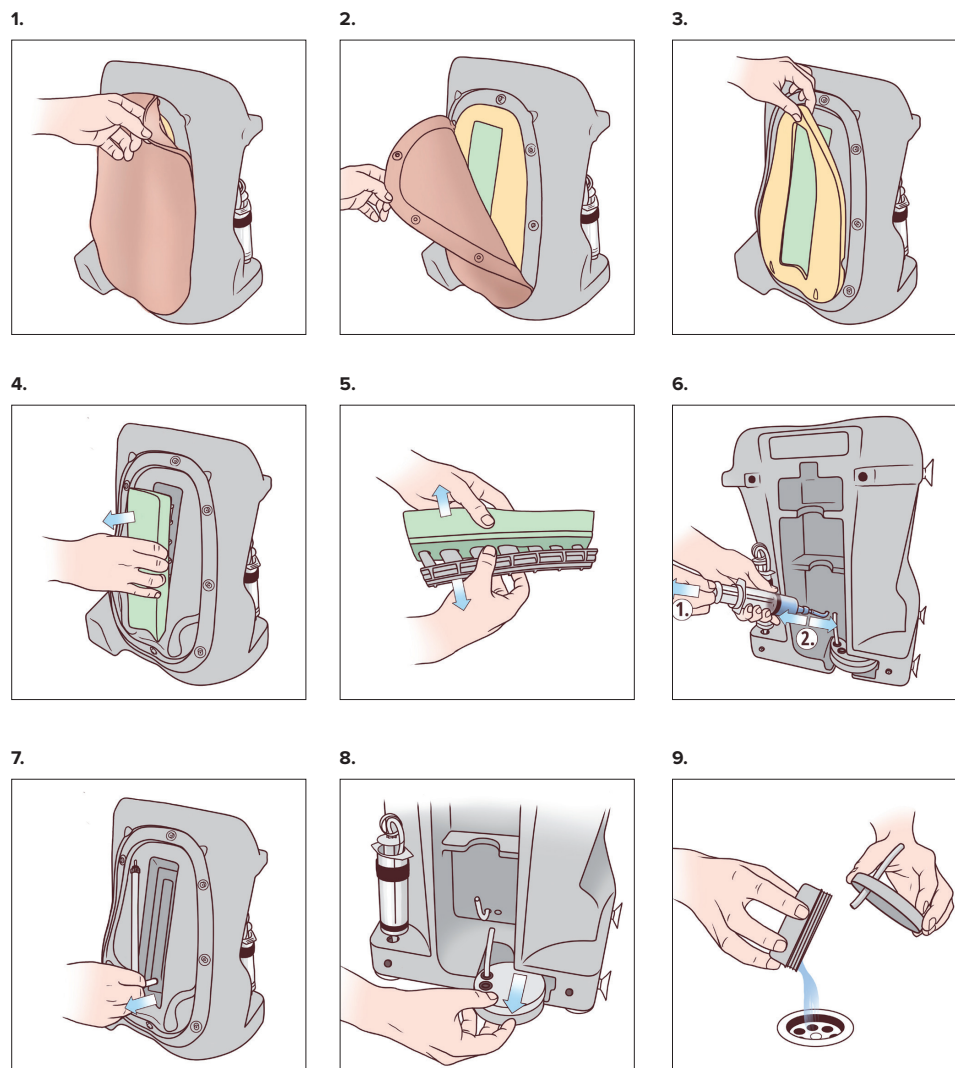
Desarrollado y fabricado en Alemania.

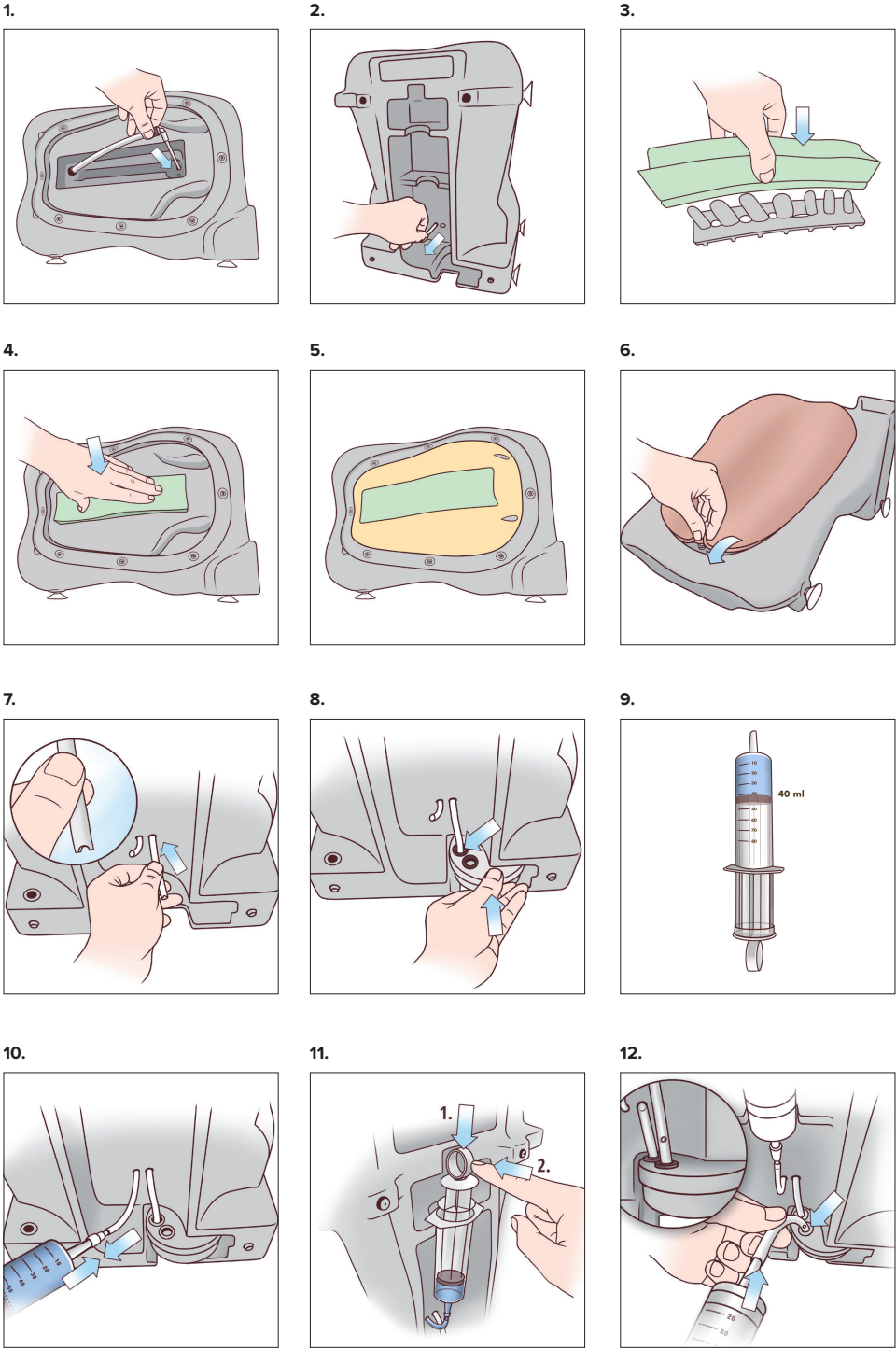
Suministro

El maniquí para inyección epidural y espinal (P61) se compone de:

- 1 x cuerpo base
- 1 x carril de vértebras
- 1 x conjunto LOR (Loss-of-Resistance)
- 1 x piel
- 1 x canal espinal con conexión
- 1 x depósito de retención de agua
- 1 x tubo de 10 cm
- 2 x jeringas de 100 ml con tapa
- 1 x anillo separador para jeringa
- 1 x tubo de prolongación para técnica „Hanging-Drop“

Instrucciones rápidas





Montaje:

Nota: El maniquí viene ya montado en el momento del suministro.

- Colocar el cuerpo base sobre la espalda
- Insertar el canal espinal y tirar una vez con fuerza del tubo introducido (desde atrás)
- Empujar el conjunto LOR en el carril de las vértebras, luego apretar contra el cuerpo base
- Colocar la capa de espuma
- Fijar la piel
- Encajar el depósito de retención de agua con las aperturas en posición media
- Introducir el tubo de 10 cm en el recipiente y cuerpo base

Puesta en funcionamiento y uso:

Modo epidural y espinal:

- Poner un anillo separador en una de las jeringas
- Llenar con agua desde el tope hasta 40 ml
- Aplicar la jeringa desde atrás en el canal espinal
- Presionar el émbolo de la jeringa hasta notar resistencia (canal espinal lleno)
- Fijar la jeringa en el cuerpo base
- Listo para ser utilizado

Modo „Hanging Drop“:

- Seguir los pasos del modo epidural y espinal
- Meter el tubo de prolongación con el extremo perforado en la segunda apertura del depósito de retención de agua
- Poner en el tubo la segunda jeringa sin tapa
- Listo para ser utilizado

Explicaciones sobre ejecución médica

Información general

Estas instrucciones de uso describen cómo estudiantes y profesionales pueden aprender o practicar la realización de una anestesia espinal o epidural en el maniquí, bajo la supervisión de expertos. También se puede simular, con una técnica análoga, la punción de líquido cefalorraquídeo.

Estas instrucciones no se pueden usar como sustituto de un manual clínico de anestesia regional o reemplazar la formación clínica de un anestesta profesional.

El maniquí sirve en lo esencial para practicar las maniobras básicas y el desarrollo de una anestesia regional en la zona medular, en un entorno anatómico y táctil de gran realismo.

En esta descripción no se abordan la indicación, fisiología/patofisiología o riesgos y efectos secundarios de una anestesia regional en la zona medular. Para ello se deberá consultar la literatura médica pertinente.

Lo mismo se aplica para el uso y farmacología de los anestésicos locales empleados para los pacientes. En el maniquí no se puede simular el efecto de medicamentos.

En especial no se pueden simular efectos secundarios o errores en la administración de medicamentos, p.e. inyección intravasal.

La realización de la anestesia regional en la zona medular se debe hacer según estándares internos del centro. Esto se aplica particularmente a directrices sobre higiene, control de circulación y medicamentos usados. Incluso al practicar con el maniquí, la práctica y aprendizaje se han de hacer según los estándares internos del centro respectivo para este tipo de anestesia. Excepto en lo que toca a control circulatorio y efecto farmacológico de los anestésicos locales, se pueden ejecutar de forma realista todas las etapas de la anestesia regional.

Uso del material de trabajo

Para la realización de una anestesia regional en la zona medular se pueden usar todos los materiales habituales. La piel de silicona puede tratarse con los desinfectantes habituales. Sobre la piel de silicona se puede adherir todo tipo de esparadrapos y tiritas convencionales, que en general se pueden retirar luego sin dejar restos. Los apósitos plásticos tienen una adherencia reducida sobre silicona.

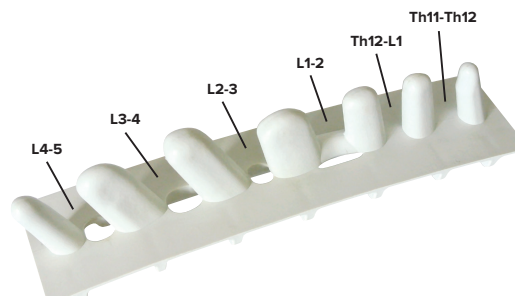
Formación en el maniquí

Para la práctica con el maniquí se recomienda atenerse a los estándares internos del centro de salud y seleccionar procedimientos análogos a los usados en pacientes, incluyendo el instrumental empleado de forma habitual. No se necesitan agujas especiales. Se pueden usar todas las agujas espinales y epidurales más comunes. Ya desde la formación con el maniquí se aconseja trabajar de forma estéril y respetando los estándares sobre higiene.

Orientación anatómica

El maniquí está conformado para permitir una orientación anatómica análoga a la de un paciente real. Se muestra toda la región lumbar de la columna vertebral. Los ensayos de punción se pueden hacer desde L1/L2 a L4/L5.

Th11-Th12	Umbral de frustración
Th12-L1	Umbral de frustración
L1-L2	Lateralmente oval
L2-L3	Normal, pequeño
L3-L4	Normal, grande
L4-L5	Normal, medio



A través de la piel y el tejido adiposo subcutáneo se pueden notar las apófisis espinosas (Processus spinosi). También son perceptibles las crestas iliacas (borde superior del ala del íleon). La línea que une las alas del íleon (línea intercrestal, línea de Tüffier) pasa por el espacio intervertebral L3/L4.

Desde aquí se puede identificar y denominar el resto de espacios intervertebrales.

La punción se puede hacer con el sujeto de pie o tumbado.

Se puede elegir un proceso mediano o paramediano.

La piel de silicona se puede pintar con un rotulador soluble en agua, para marcar los puntos de referencia anatómica. Las marcas se pueden eliminar luego con agua.

Anestesia espinal

Procedimiento

Se realiza en primer lugar la orientación anatómica y la determinación del espacio intervertebral en el que se hará la punción. Se puede hacer con el maniquí en posición tumbada o de pie.

Los puntos de orientación anatómica se pueden marcar con un rotulador borrable. Posteriormente, se efectúa la preparación de la anestesia espinal según estándares internos de la clínica.

Se prepara el material que se debe emplear y se comprueba su funcionalidad e integridad.

Se recomienda respetar las directrices habituales de higiene ya desde la práctica con el maniquí, trabajando de forma estéril.

La zona donde se hará la punción se limpia con desinfectante según estándares internos del centro y se cubre de forma estéril con una tela con orificio.

Tras una nueva comprobación de los puntos de orientación anatómica, se puede introducir una cánula de guiado. Con la misma se atraviesa la piel y el tejido adiposo subcutáneo. La aguja espinal se introduce mediante la cánula de guiado. Tras superar el tejido adiposo subcutáneo, la aguja llega al ligamento interespinoso. Aquí se notará una resistencia típica. Tras unos 5 cm se llega a la duramadre, que se atraviesa venciendo una típica resistencia elástica (goma). El mandrín de la aguja espinal se puede retirar antes o después de atravesar la duramadre. Tras atravesar la duramadre y retirar el mandrín, se llena la aguja espinal con líquido cefalorraquídeo y se puede inyectar un anestésico local según procedimiento habitual. La velocidad con la que se llena la aguja espinal con

falso líquido ceforraquídeo y la presión con la que sale el mismo dependen de la presión en la cámara de líquido ceforraquídeo, regulable con una bolsa de aire y el émbolo de jeringa. Si la velocidad de salida del líquido ceforraquídeo es demasiado elevada, se puede reducir la cantidad de agua en la jeringa de 55 ml a 50 ml.

El falso líquido ceforraquídeo es sencillamente agua. Con ello se ilustra el típico efecto de flujo lento en un barbotaje (aspiración de líquido ceforraquídeo) con anestésicos locales hiperbáricos.

Tras retirar la aguja espinal, el punto de punción se cierra de nuevo y no sale más líquido ceforraquídeo. El punto simulado de punción se puede cerrar con una tirita convencional.

Anestesia epidural

Procedimiento

Se hace en primer lugar la orientación anatómica y la determinación del espacio intervertebral en el que se hará la punción. Se puede realizar con el maniquí en posición tumbada o de pie.

Los puntos de orientación anatómica se pueden marcar con un rotulador borrable. Luego se hace la preparación de la anestesia epidural según estándares internos de la clínica.

Se prepara el material a emplear y se comprueba su funcionalidad e integridad.

En especial se debe comprobar antes de la punción la compatibilidad y penetrabilidad de la aguja de punción, catéter y conector.

Se recomienda respetar las directrices habituales de higiene ya desde la práctica con el maniquí, trabajando de forma estéril.

La zona donde se hará la punción se limpia con desinfectante según estándares internos del centro y se cubre de forma estéril con una tela con orificio.

Tras una nueva comprobación de los puntos de orientación anatómica, se puede hacer la punción.

Método de pérdida de resistencia (Loss-of-Resistance)

El espacio epidural se muestra en el maniquí con una cavidad situada justo antes del conducto de la duramadre. En la parte dorsal, el espacio está limitado por el bloque de tejidos que simula los ligamentos y tejidos en los espacios intervertebrales. Es de unos 40-45 mm de profundidad.

La punción se puede hacer en la línea media o como punción paramediana.

Tras atravesar la piel, el recorrido hasta llegar al espacio peridural es de ca. 50 mm.

Normalmente para la punción se usa una aguja Tuohy.

Tras una nueva identificación de las apófisis espinosas, se atraviesa la piel de silicona con la aguja Tuohy provista de mandrín. Durante la punción, la aguja se debe guiar con el bisel perpendicular (apertura lateralmente), para que en caso de perforación accidental de la duramadre dicha perforación sea lo más reducida posible.

Al mover la aguja por el lig. interespinoso, se nota una resistencia típica. Tras retirar el mandrín se aplica en el cono de la aguja Tuohy una jeringa llena de líquido, de fácil manejo. La aguja se encaja después en el émbolo de jeringa, aplicando una presión suave pero constante. Al llegar al espacio epidural, se produce una pérdida típica

de resistencia al inyectar el fluido. La aguja Tuohy se gira ahora 90°, con la apertura hacia arriba, y se vuelve a inyectar fluido para verificar la posición en el espacio epidural. Tras retirar la jeringa se puede empujar sin resistencia el catéter en el espacio epidural, mediante la aguja. Si el catéter no se deja introducir, se puede empujar la aguja 1-2 mm más y volver a intentar introducir el catéter.

Si la punción se hace demasiado cerca del borde inferior de la apófisis espinosa superior, la introducción del catéter puede verse complicada.

Si el catéter no se puede introducir mediante la aguja epidural, no se puede en ningún caso retirar el catéter mediante la aguja colocada, ya que podría atravesar la misma. En este caso, deben retirarse conjuntamente aguja y catéter.

Tras empujar el catéter hasta la profundidad deseada, se retira la aguja por el catéter colocado y se fija el catéter con esparadrapo según criterios internos de la clínica.

No se puede mostrar la técnica de subtunelado con el maniquí.

Técnica de gota pendiente („Hanging Drop“)

En el maniquí se puede simular igualmente la técnica de gota pendiente. Con esta disposición se puede crear una subpresión en el espacio epidural (Vea el procedimiento de ajuste del gotero, página 6).

La aguja Tuohy se introduce de forma análoga al procedimiento antes explicado, a través de piel, tejido subcutáneo y lig. interespinoso. El mandrín, sin embargo, se retirará solo un poco antes de llegar al espacio epidural. Luego se llena con fluido la base de la aguja, en su mayor parte transparente, para que en la apertura se genere una gota pendiente. Se sigue empujando la aguja. Al llegar al espacio epidural, la gota se vuelve a introducir en la aguja por la subpresión generada manualmente con la segunda jeringa de 100 ml. El catéter se empuja de la misma forma que ya se ha explicado.

PMF

En la ejecución del Loss-of-Resistance, la presión en la jeringa disminuye demasiado pronto.

El conjunto LOR ha superado su máxima tasa de perforación y debe sustituirse con un conjunto de recambio (1017893).

No se percibe resistencia ni ruido en la perforación.

El conjunto LOR ha superado su máxima tasa de perforación y debe sustituirse con un conjunto de recambio (1017893).

La piel muestra síntomas claros de desgaste o se descompone en los lugares más frecuentes de perforación.

La piel ha superado su máxima tasa de perforación y debe sustituirse con un conjunto de recambio (1017892).

Los cuencos de vacío tienen muy poca adherencia.

En este caso hay que humedecer levemente los cuencos para lograr una adherencia máxima. En caso contrario, posicionar sobre una superficie lisa.

En la realización de la anestesia espinal, tras llegar a la cámara espinal no sale líquido de la aguja espinal.

La presión en la jeringa colocada ha bajado por un número excesivo de simulaciones. Se ha de rellenar y conectar de nuevo la jeringa, como se explica en „Puesta en funcionamiento y uso“. Si con ello no se logra el resultado deseado, se ha perforado excesivamente el tubo espinal (ha superado su máxima tasa de perforación), debiendo sustituirse con un conjunto de recambio (1017893).

El agua sale de continuo del depósito de retención de agua.

Se debe vaciar el depósito de retención de agua y volver a aplicarse.

La piel no se une con precisión al cuerpo base.

En este caso hay que controlar los cierres de presión, para ver si han quedado encajados.

En la simulación „Hanging Drop“, no se aspira la gota al llegar a la profundidad correcta.

Por favor compruebe que ha colocado todo correctamente y que el conjunto LOR está bien apretado en el cuerpo base.

¿Se puede usar un desinfectante con color en la piel?

Sí, el desinfectante se puede lavar fácilmente con agua.

¿Se puede usar esparadrapo para fijar el catéter en el maniquí?

Sí, los restos de adhesivo en la piel se pueden eliminar por lavado.

Mantenimiento y cuidados

Tras el uso del maniquí para inyección epidural y espinal, deben retirarse todas las partes separables. Se debe vaciar el depósito de retención de agua. Luego se secan con un paño todas las partes que han estado en contacto con agua. Una vez seco, se puede volver a montar y guardar el maniquí.

Lista de piezas de repuesto

N.º pedido	Pieza de repuesto
1017892	Piel de repuesto
1017893	Kit de repuesto LOR (2 piezas LOR con 2 tubos espinales)

Datos técnicos

Dimensiones: Simulador (H x B x P) 45 x 35 x 24 cm

Peso: Ca. 3 kg

Condiciones de funcionamiento:

Temperatura de funcionamiento -10 °C a +40 °C

Temperatura de almacenamiento -20 °C a +60 °C

Los materiales plásticos empleados corresponden con la norma DIN EN 71-3/9 relativa a juguetes.



3B Scientific

A worldwide group of companies

3B Scientific GmbH • Rudorffweg 8

21031 Hamburg • Germany

☎ + 49-40-73966-0 📠 + 49-40-73966-100

3bscientific.com • 3b@3bscientific.com