
UNIVERSITAT AUTONOMA DE BARCELONA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRUGIA

TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO EXPERIMENTAL EN EL CONEJO DEL PROCESO DE
REPARACION DE LOS DEFECTOS OSTEOCONDRALES MEDIANTE EL
EMPLEO DE UN INJERTO DE PERIOSTIO Y UN BIOMATERIAL**

J. CEBAMANOS CELMA

Barcelona 1992

Universitat Autònoma de Barcelona
Servei de Biblioteques



1500427722

10-6-93

UNIVERSITAT AUTONOMA DE BARCELONA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRUGIA

TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO EXPERIMENTAL EN EL CONEJO DEL PROCESO DE
REPARACION DE LOS DEFECTOS OSTEOCONDRALES MEDIANTE EL
EMPLEO DE UN INJERTO DE PERIOSTIO Y UN BIOMATERAL**

J. CEBAMANOS CELMA

Barcelona 1992

JORGE BALLESTER SOLEDA, Profesor Titular Int. de Traumatología y Cirugía Ortopédica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona,

CERTIFICA:

que la Tesis Doctoral **“ESTUDIO EXPERIMENTAL EN EL CONEJO DEL PROCESO DE REPARACION DE LOS DEFECTOS OSTEOCONDRALES MEDIANTE EL EMPLEO DE UN INJERTO DE PERIOSTIO Y UN BIOMATERIAL”** realizada por el licenciado D. Juan Cebamanos Celma y dirigida por mí, reúne todos los requisitos científicos y formales para proceder a su lectura.

Y para que conste, firmo el presente certificado en Barcelona a quince de diciembre de mil novecientos noventa y dos.





UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA
FACULTAT DE MEDICINA
CATEDRA DE TRAUMATOLOGIA I CIRURGIA ORTOPÈDICA
PROF. A NAVARRO QUILIS

HOSPITAL DE TRAUMATOLOGIA
I REHABILITACIÓ
Pg. Vall d'Hebron, s/n
08035 BARCELONA
Tel.: (93) 427 20 00
Ext.: 2421
3421
Fax: (93) 428 34 21

JOAN NARDI VILARDAGA, Profesor Titular de Traumatología y Cirugía Ortopédica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona,

CERTIFICA: que la Tesis Doctoral "ESTUDIO EXPERIMENTAL EN EL CONEJO DEL PROCESO DE REPARACION DE LOS DEFECTOS OSTEOCONDRALES MEDIANTE EL EMPLEO DE UN INJERTO DE PERIOSTIO Y UN BIOMATERIAL", realizada por el licenciado D. J. CEBAMANOS CELMA y co-dirigida por mi, reúne todos los requisitos científicos y formales para proceder a su lectura.

Y para que conste, firmo el presente certificado en Barcelona, a quinze de Diciembre de mil novecientos noveta y dos.

*Fijarse en dogmas cerrados es convertirse en
monolito ingente e inmoble, en un mar muerto,
jamás agitado por el viento de la duda.*

S. Ramón y Cajal

A mi esposa e hijas

A mis padres y hermana

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. J. Ballester Soleda por su extraordinario interés en la dirección de esta Tesis.

Al Prof. J. Nardi Vilardaga por la aceptación de la Codirección de esta Tesis.

Al Prof. A. Navarro Quilis, Catedrático de Ortopedia y Traumatología de la Universidad de Barcelona, por el apoyo y estímulo mostrado desde los inicios de esta Tesis.

Al Prof. R. Ramon Soler por haberme conducido y orientado en los inicios de mi Especialidad.

Al Dr. C. Vilalta Bou por haber despertado en mí el interés por el estudio del cartílago articular y su patología.

A la Dra. M^a L. Mariñoso Barba por la dedicación prestada en el estudio histológico e histomorfométrico.

Al Prof. S. Serrano Figueras por la disponibilidad en todo momento de su Servicio.

Al Dr. J. Camí Morell, Director del I.M.I.M., por la concesión de la Beca que ha hecho posible la realización de este trabajo.

Al Dr. J. Marrugat por su colaboración en el estudio estadístico.

Al Dr. M. Llusá por su orientación en los aspectos embriológicos y la cesión de las fotografías.

A la Dra. M^a Cinta Escuder por la inestimable ayuda prestada durante la fase experimental.

A todos mis compañeros del Servicio de C.O. y T. y del Hospital del Mar por su colaboración.

A la Sra. P. Martínez por la labor realizada en el montaje y transcripción de este trabajo.

INDICE

1. INTRODUCCION

1.1. MOTIVACION DE LA TESIS

1.2. DESARROLLO EMBRIOLOGICO DE LOS ELEMENTOS OSTEO-ARTICULARES

1.2.1. Desarrollo de los miembros

1.2.2. Desarrollo de la articulación y proceso de cavitación

1.3. CARTILAGO ARTICULAR

1.3.1. Anatomía microscópica

- composición

- estructura

1.3.2. Fisiología del cartílago articular

- nutrición

- comportamiento mecánico

- lubricación articular

1.3.3. Respuesta del cartílago articular frente a alteraciones y lesiones mecánicas.

- inmovilización- compresión

- impactos repetidos

- lesiones por penetración

 - penetración superficial (condral)

 - penetración profunda (osteocondral)

1.4. HUESO TRABECULAR (ESPONJOSO - EPIFISARIO)

1.4.1. Anatomía microscópica

- estructura - composición

1.4.2. Vascularización

1.4.3. Autoinjertos

1.5. PERIOSTIO

1.5.1. Anatomía microscópica

1.5.2. Vascularización

1.5.3. Inervación

1.5.4. Capacidad diferenciadora de las células periósticas

- osteogénesis
- osteo-condrogénesis
- condrogénesis

1.6. BIOMATERIALES

1.6.1. Biocompatibilidad

1.6.2. Biomateriales biorreabsorbibles

- Cerámicas:
 - fosfato tricálcico (biodegradable)
 - hidroxiapatita
- Coral

1.7. COLAS - ADHESIVOS

1.7.1. Biológica (Tissucol*)

1.7.2. Cianocrilato (Histoacryl*)

1.8. METODO DE REGENERACION DEL CARTILAGO ARTICULAR
LESIONADO

1.8.1. Afeitado - Abrasión - Espongialización.

1.8.2. Perforaciones.

1.8.3. Modificación de cargas.

1.8.4. Movilización

- precoz
- continua pasiva

1.9. PROCEDIMIENTOS DE REPARACION DE DEFECTOS CONDRALES Y
OSTEOCONDRALES

1.9.1. Evolución histórica de la reparación con injertos (experimentación animal -
aplicación clínica).

- pericondrio
- periostio
- menisco

1.9.2. Cúltivos hísticos.

1.9.3. Evolución histórica de los trasplantes.

- Autotrasplantes.
- Aloinjertos

2. OBJETIVOS DEL TRABAJO

3. MATERIAL - METODO

- 3.1. ANIMAL DE EXPERIMENTACION
- 3.2. PERIOSTIO Y BIOMATERIAL
- 3.3. ESTUDIO PRELIMINAR
- 3.4. DISEÑO DEL TRABAJO ESXPERIMENTAL
- 3.5. TECNICA QUIRURGICA
- 3.6. METODO HISTOLOGICO
- 3.7. METODO HISTOMORFOMETRICO
- 3.8. VALORACION MACROSCOPICA, MICROSCOPICA E HISTOMORFOMETRICA DEL TEJIDO NEOFORMADO Y DEL BIOMATERIAL.
- 3.9. METODO ESTADISTICO

4. RESULTADOS

- 4.1. ESTUDIO MACROSCOPICO ARTICULAR
- 4.2. MICROSCOPICOS
- 4.3. HISTOMORFOMETRICOS
- 4.4. FIGURAS Y TABLAS

5. DISCUSION

5.1. DISCUSION DEL MATERIAL

- 5.1.1. Animal de experimentación.
- 5.1.2. Edad o grado de maduración del animal.
- 5.1.3. Utilización del periostio.
- 5.1.4. Utilización del biomaterial.

5.2. DISCUSION DEL METODO

- 5.2.1. Instrumental.
- 5.2.2. Localización y tamaño del defecto.
- 5.2.3. Método de fijación.
- 5.2.4. Orientación del periostio
- 5.2.5. Movilización
- 5.2.6. Naturaleza del relleno del defecto

5.3. DISCUSION DE LOS RESULTADOS

5.3.1. Macroscópicos

5.3.2. Microscópicos

5.3.3. Histomorfométricos

6. CONCLUSIONES

7. BIBLIOGRAFIA

1. 1. MOTIVACION DE LA TESIS

La observación cotidiana de pacientes afectos de procesos degenerativos articulares y en menor grado de jóvenes con lesiones osteocondríticas, limitadas a pequeñas áreas del cartílago articular, es un hecho habitual en la práctica clínica. Las soluciones planteadas en el primer grupo finalizan en la mayoría de los casos en el reemplazo protésico de los elementos articulares, mientras que en el segundo grupo los diversos tratamientos (reinserción del fragmento, exéresis-perforaciones, transplante local), si bien el porcentaje de éxitos es variable, no tienen una verdadera base fisiopatológica como sustrato de su realización.

Tras haber dedicado una gran parte del tiempo al estudio de la patología del cartílago articular, al colaborar en este campo con los Drs. Ramón y Vilalta en el H.C.P. de Barcelona, tuve la oportunidad de conocer una serie de publicaciones, aparecidas en los inicios de la pasada década de los ochenta, en torno a la reparación de defectos cartilaginosos articulares mediante la utilización de injertos de pericondrio y periostio.

Los diversos intentos de reparación articulares realizados hasta el momento con tejidos biológicos (piel: Hoover 1961, fascia lata: Miller 1952, etc.) han fracasado, al obtener en el mejor de los casos un tejido fibrocartilaginoso, mientras que por el contrario el periostio ha demostrado su potencial condrógeno a lo largo de sucesivos trabajos.

La utilización desde hace tiempo de los biomateriales, por los cirujanos maxilofaciales y odontólogos, ha inducido a la introducción de los mismos

en nuestra especialidad y en los últimos años numerosas experiencias han sido realizadas con objeto de emplearlos como relleno en defectos óseos.

De manera significativa cabe destacar entre los biomateriales, la hidroxiapatita y el fosfato tricálcico, por sus diferentes propiedades (biocompatibilidad, osteoconducción y biorreabsorción (etc)) y por hallarse dentro de nuestro arsenal terapéutico al haberse sintetizado artificialmente.

Ante esta serie de acontecimientos, no se si fruto del “azar y de la necesidad” como expondría Jacques Monod en su análisis sobre el origen y evolución de los “hechos”, me planteé la posibilidad de poder demostrar como un defecto osteocondral podía ser reparado mediante su reemplazo por un biomaterial y un injerto libre de periostio y así obtener una neoformación simultánea de hueso y cartílago.

En este momento presentamos esta idea, como trabajo de Tesis Doctoral, al Dr. J. Ballester que tras considerar el interés de la misma nos estimuló y condujo a su realización y para lo cual contamos con la inestimable colaboración del Prof. J. Nardi.

Esta Tesis se suma a los diversos estudios dirigidos a la utilización de biomateriales, tejidos biológicos, aplicación de células óseas medulares, factores hormonales, etc. cuyo objetivo es conseguir en el futuro:

1. Erradicar el empleo de implantes articulares protésicos.

2. Aportar soluciones propiamente biológicas a las lesiones de asiento osteocondral.

3. Estar dotados de un Banco de Periostio (Kreder-Salter 1988) y un Biomaterial, que eliminen totalmente la morbilidad sobreañadida con los procedimientos actuales.

1.2. DESARROLLO EMBRIOLOGICO DE LOS ELEMENTOS OSTEOARTICULARES

1.2.1. Desarrollo de los miembros.

En una etapa muy temprana, en el embrión humano a partir de la tercera semana, el mesodermo, originado en el fondo del surco de la línea primitiva, se dirige hacia ambos lados colocándose entre el ectodermo y el endodermo. Empieza a diferenciarse en una porción dorsal y media (mesodermo paraxial, próximo a la notocorda y surco neural) que se divide en segmentos de células epiteloides llamados segmentos primitivos o somitos, una porción intermedia (mesodermo intermedio) que dará lugar al sistema urogenital y una porción lateral (lámina lateral) que formará la cavidad torácica.

En cada segmento se distinguen muy pronto dos hojas, una ventromedial: el esclerotomo y otra dorsolateral: el dermomiótomo, que se continúan la una con la otra a nivel de su borde dorsal.

De la porción lateral del dermomiótomo se origina un tejido conjuntivo, situado debajo de la piel, que dará origen a la dermis y de la porción dorsal se formará la mayor parte de los músculos.

Las células mesodérmicas del esclerotomo sufren una diferenciación, pudiéndose transformar en las diferentes células formadoras de hueso (fibroblasto, condroblasto y osteoblasto) y se distribuyen para dar lugar a las distintas porciones esqueléticas. Unas se dirigen hacia la línea media hasta rodear el conducto medular, la notocorda y formar el esqueleto axial.

La formación del hueso no está limitada al esclerotomo, sino también a células de la hoja somática del mesodermo de la pared del cuerpo, donde se forma el esqueleto vertebral segmentado (costillas y esternón) y a células de la cresta neural de la región de la cabeza, que se diferencian en mesénquima y participan en la formación de los huesos de la cara.

A comienzos de la quinta semana, derivando del esqueleto y los músculos ventrales, se forman unos abultamientos laterales constituidos por mesenquima y revestimiento ectodérmico denominados “yemas de los miembros” (Ham 1975) origen del esqueleto de los miembros.

El revestimiento ectodérmico presenta dos capas, una superficial o peridermo y una profunda, cuyas células proliferan en una determinada área para formar la Cresta Ectodérmica Apical. Esta área tiene influencia inductora sobre el mesénquima subyacente para provocar su crecimiento y diferenciación.

El mesodermo quedará dividido en tres zonas, una superficial con gran actividad mitótica y sometida a la acción inductora de la cresta ectodérmica apical, una intermedia donde se diferenciarán los distintos tejidos periesqueléticos: pericondrio, periostio, cápsula y uniones músculo-tendinosas, y una profunda que constituye la primera evidencia estructural del mesénquima esquelético.

En la zona donde aparecerá un hueso, las células mesenquimatosas se hacen muy numerosas y se condensan constituyendo “el modelo precartilaginoso o membranoso”.

Algunas de estas células mesenquimatosas empiezan a separarse, se diferencian en condrocitos y constituyen el denominado “modelo cartilaginoso”.

El modelo cartilaginoso rodeado de una membrana mesenquimal denominada pericondrio, crece en longitud (crecimiento intersticial) y anchura (crecimiento aposicional).

El pericondrio está formado por dos capas mal definidas; una externa o fibrosa donde se diferencian fibroblastos que forman fibras de colágeno, y una interna o celular que mantiene las células indiferenciadas, cuya función es conservar la pluripotencialidad de la célula mesenquimatososa madre.

A medida que el modelo cartilaginoso crece en longitud y anchura, aparece una delgada vaina ósea entre la región hipertrófica del cartílago y el pericondrio. La membrana que rodea esta vaina ósea a partir de este momento se llamará periostio.

Los condrocitos de la porción media del modelo se hipertrofian iniciando la secreción de fosfatasa alcalina. Esta se asocia con la calcificación de la sustancia intercelular, que dificulta el transporte de los nutrientes y provoca la muerte de los condrocitos.

Después del proceso de calcificación, se inicia la invasión vascular hacia el centro del modelo, empezándose la calcificación gracias a las células precursoras de osteoblastos que acompañan a los capilares, constituyéndose un centro primario de osificación.

Durante el desarrollo de los huesos largos también aparecen en el modelo cartilaginoso unos centro de osificación en los extremos del mismo. Estos centros de osificación se denominan centros epifisarios de osificación o centros secundarios de osificación y van a originar las epífisis óseas de los huesos que se formarán tardíamente.

Al igual que tiene lugar en la diáfisis de los huesos largos, las células cartilaginosas situadas en el centro epifisario sufren un desarrollo. Se traduce por una hipertrofia inicial de las células centrales y su degeneración ulterior, provocada por la calcificación de la sustancia intercelular que las rodea. Estas células muertas son reabsorvidas por los vasos y se forman espacios o cavidades que son debidas al proceso de reabsorción del cartílago calcificado. Los capilares invaden estas cavidades y junto con las células osteógenas originan una actividad osteogénica precoz. Las células osteógenas forman osteoblastos y estos depositan hueso en los residuos de la sustancia intercelular cartilaginosa. Los condrocitos vecinos que todavía viven, sufren progresivamente el mismo proceso y de esta forma alrededor de la zona inicial central se van depositando nuevas capas de hueso de manera centrípeta en todas direcciones. Este depósito progresivo provoca el aumento de tamaño de la epífisis y se detiene cuando se alcanza el final del crecimiento, respetando el cartílago que corresponde a la articulación y el cartílago llamado disco o placa epifisario.

Entre el hueso derivado del centro epifisario y el procedente del centro diafisario aparece una lámina transversa de cartílago que separa ambas regiones y es el disco epifisario o cartílago de crecimiento. Se llama así por su importante papel en el crecimiento en longitud de los huesos largos y

desaparece al finalizar el crecimiento.

1.2.2. Desarrollo de la articulación y proceso de cavitación.

En el esqueleto cartilaginoso humano, constituido por una estructura continua, aparece alrededor de la sexta semana una condensación celular llamada interzona homogénea (O'Rahilly-Gardner 1978) que va a corresponder a la futura articulación. Estas células segregan una sustancia intercelular (sulfato de condroitina A-C) que las separa y aparecen tres zonas: dos paralelas, opuestas y de alto poder condrogénico, cada una de las cuales actúa como una zona de crecimiento aposicional para el cartílago adyacente y es continua en la periferia de la articulación con el pericondrio; y una zona intermedia menos densa.

Para la total diferenciación de una verdadera articulación es preciso la aparición de otros elementos como la cápsula articular y la membrana sinovial.

La cápsula articular se deriva de la zona de interfase entre la capa intermedia y profunda del mesodermo, que da origen a su vez al pericondrio y al periostio permitiendo de esta manera establecer una continuidad con los tejidos blandos y huesos adyacentes.

La sinovial articular es constituida por las células mesenquimales de la porción más periférica de la interzona intermedia que se halla invadida por vasos y macrófagos. Por el contrario la porción central permanece habitualmente avascular y juega un papel importante en la formación de la

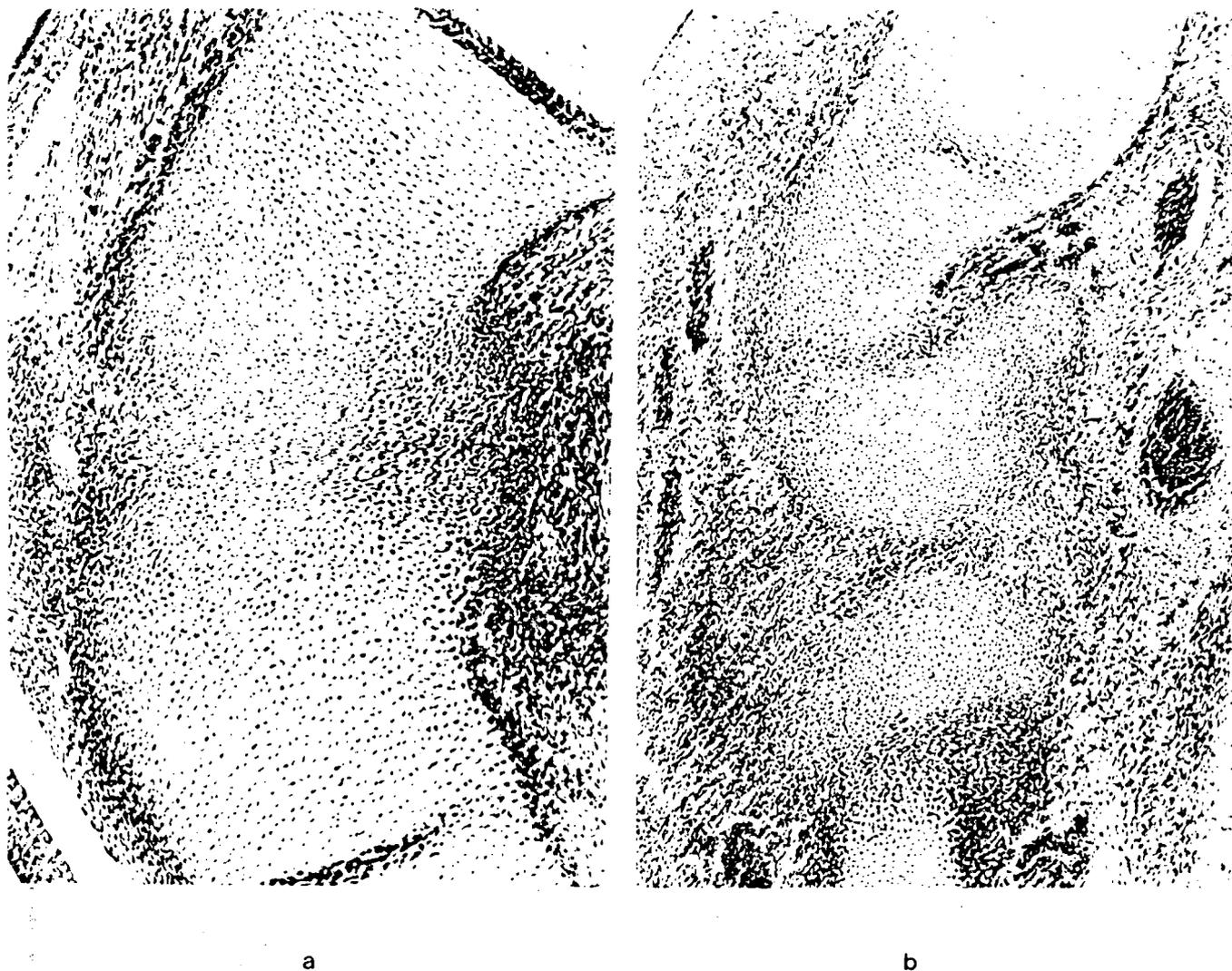
articulación.

Los meniscos y ligamentos cruzados aparecen ulteriormente como condensaciones de la capa intermedia del mesoderma (Clark 1983).

La formación de la cavidad articular o proceso de cavitación tiene su origen en la porción central de la interzona (Andersen 1961) y se expande rápidamente a las demás porciones que sufren un proceso de licuefacción de la sustancia fundamental por la acción enzimática y de necrosis celular.

Por otro lado, el movimiento resulta esencial para el desarrollo y mantenimiento de las articulaciones. Si bien su papel ha sido discutido, diferentes autores (Drachman 1966, Ruano-Gil 1978) han logrado provocar fusiones cartilagosas o formación de tejido fibroso mediante la parálisis del miembro; o por el contrario han logrado su aparición precoz por procedimientos estimulativos (Ruano-Gil 1985)

Si en el humano, la cavidad articular se halla constituida como una cavidad única alrededor de la séptima semana, en embriones de pollo se ha podido demostrar (Llusa 1988) que el inicio del movimiento tiene lugar en el séptimo día, un día después aparece la fisuración articular ligada al incremento del movimiento y hacia el 14-15 día la cavidad ya está formada, coincidiendo con una gradual disminución del movimiento. Figuras 1a y 1b.



Figs. 1a y b

Fig. 1a) Corte sagital de la futura rodilla de un embrión de pollo en estadio de 5 días, donde se observa la interzona homogénea.

Fig. 1b) Corte sagital de la futura rodilla de un embrión de pollo en estadio de 6 días, donde se observa el proceso de cavitación. Fotos cedidas por Dr. Llusá. Dpto. Anatomía

Universidad Central de Barcelona

1.3. CARTILAGO ARTICULAR

1.3.1. Anatomía microscópica

Composición

El cartílago articular es un importante tejido desprovisto de vasos y nervios que recubre al hueso en el interior de la articulación. Está compuesto de células (condrocitos) colocadas en celdas individuales y la sustancia intercelular o matriz, que engloba a dichas células.

Los condrocitos ocupan un escaso volumen, variable según los autores (Stockwell 1967, Hamerman 1970) que representa menos del 10% del volumen total y tienen por función mantener el control del metabolismo del cartílago mediante los procesos de anabolismo (conservación de la homeostasia e integridad del medio interno) y catabolismo (limpieza del entorno de desechos), es decir, producir y mantener la sustancia intercelular.

La matriz está constituida por una estructura de colágeno (llamada matriz fibrilar) encargada de la textura y rigidez que envuelve a la sustancia fundamental (llamada matriz interfibrilar), rica en agua y proteoglicanos. Esta ocupa por tanto el espacio libre dejado por las células y las fibras, cuya función es la elasticidad.

Anderson 1962 compara la composición química del hueso y cartílago y observa la notable diferencia entre ambas, como se detalla a continuación.

componentes	cartilago hialino %	hueso %
AGUA	70-85 %	17 %
SALES MINERALES	4-7 %	55 %
SUSTANCIAS ORGANICAS (proteínas, mucopolisacaridos, lipidos y glicogeno).	10-15 %	28 %

Condrocitos

A semejanza de la mayoría de las células mesenquimales, el condrocito se rodea de su matriz extracelular y no forma contacto intercelular. La síntesis de la matriz se realiza en el retículo endoplasmático rugoso y el aparato de Golgi.

La función de los condrocitos está influenciada por los cambios que se producen en la matriz y así la pérdida de proteoglicanos u otro constituyente determina la actuación del condrocito. El mecanismo desencadenante puede ser la transmisión mecánica de los cambios de presión en la membrana celular y esto podría explicar la necesidad de aplicación de cargas como elemento regulador de la calidad del cartilago reparado. Otro factor es la edad y se observa que con la maduración decrece la síntesis de matriz y disminuye la celularidad (Stockwell 1967), por lo que existe una menor capacidad de reparación.

Matriz Cartilaginosa

Está constituida por agua, colágeno, proteoglicanos y las denominadas proteínas no colágenas.

Agua

El porcentaje de agua es alrededor del 70% de la media del peso del cartílago. Su disposición es variable en los diferentes estratos del mismo y en ella se encuentran disueltos pequeñas proteínas y metabolitos. La mayor cantidad se encuentra en el espacio extracelular y forma parte del gel que da armazón al colágeno y los proteoglicanos. En escasa cantidad se halla dentro de la célula y participa en la difusión de nutrientes.

Colágeno

Representa el 20% del peso total del cartílago articular y le confiere su estructura y su rigidez. Al igual que en otros tejidos, en el cartílago articular hay diversos tipos de colágeno, siendo el fundamental el tipo II con un porcentaje del 95%. El 5% restante está formado por los tipos IX y XI (1-2-3 a) y recientemente los tipos V, VI y VII.

Las moléculas de colágeno están constituidas por tres cadenas a de polipéptidos, cuya estructura primaria es simple y repetitiva para formar una hélice cerrada.

Proteoglicanos

Son complejos proteíno-sacaridos formados por cadenas de glicosaaminoglicanos atados a un filamento central protéico. Los glicosaaminoglicanos contribuyen con el 95% y son dos: Condroitín Sulfato y Queratín Sulfato. El condroitín sulfato está constituido por una repetición de unidades de ácido glucurónico y de Nacetil-galactosamina; el queratín sulfato está formado por la repetición de unidades de galactosa y Nacetil-glucosamina.

El filamento protéico central contribuye con el 5% y presenta tres regiones, la de unión al ácido hialurónico, una rica en queratán sulfato y otra en condroitín sulfato.

Este complejo constituye el monómero de la macromolécula de los proteoglicanos, pero pueden unirse mediante proteínas de enlace a un filamento central de ácido hialurónico para formar los agregados de proteoglicanos. La función de éstos no está demasiado bien definida pero parece apuntar hacia la interrelación entre los monómeros de proteoglicanos y las fibrillas tipo II de colágeno, así como en el control de la difusión del agua a través de la matriz.

El proceso de síntesis de los proteoglicanos está regido por la acción de determinadas enzimas, unas presentes en el condrocito o endógenas y otras en el líquido sinovial o exógenas. Las primeras se hallan en los lisosomas (vacuolas intracitoplasmáticas) y son responsables de la digestión del colágeno y de los proteoglicanos. Su actuación depende del pH del medio y

así la Catepsina D se activa cuando el medio es ácido (pH 4.5-5). Las enzimas exógenas poseen una acción opuesta a las anteriores y se hallan en lisosomas y leucocitos polimorfonucleares presentes en el líquido sinovial. La concentración de glicosaaminoglicanos en el cartílago es del 6% del peso total y están asociados a una densidad de carga fija elevada por lo que se crea en el interior una importante presión, resultante a la vez de la presión osmótica y de la concentración iónica. Esta presión está contrarrestada por la resistencia elástica de la estructura del colágeno y el equilibrio entre ambas regirá las propiedades físicas del cartílago en su función mecánica.

Con el transcurso de la edad aparecen cambios en la estructura y composición de los agregados de proteoglicanos (Buckwalter 1988) que pueden ser atribuidos a la alteración en el metabolismo del condrocito, a la mayor degradación de ellos en la matriz o bien a la suma de ambas causas.

Proteínas no colágenas

Constituyen el almacén de las macromoléculas y si bien su función es poco conocida, parece que organizan y mantienen las macromoléculas de la matriz y su interrelación con el condrocito. Las proteínas de enlace de los monómeros con el ácido hialurónico, la condronectina y la anchorina CII son las denominadas proteínas no colágenas.

Estructura

Superficie Articular

La superficie articular ha sido considerada lisa y anacarada, pero esta visión ha inducido a diferentes interpretaciones y ha sido debido al diferente medio de exploración utilizado. Hunter 1743 pensó que realmente era lisa y uniforme pero Hammar 1894 por el contrario ya afirmó que era irregular.

Microscopía óptica: Mientras se realizaron secciones verticales se siguió manteniendo la teoría inicial de Hunter. Cuando se utilizó una luz incidente o cuando un pequeño corte tangencial fue visionado con luz transmitida la superficie aparecía con depresiones ovaes, por lo que se comparó a una pelota de golf.

Mediante luz reflejada, el aspecto que ofrecía estaba compuesto por sobreelevaciones de 400 micras y depresiones más superficiales (20 micras).

MacConaill en 1951 con la utilización de un microscopio de fase de contraste describe una línea brillante en la superficie que denomina lamina splendens. Posteriormente mediante otros medios ópticos se ha demostrado la inexistencia de esta lámina y se ha justificado considerando que es producida por el propio microscopio, debido a los diferentes índices de refracción de los bordes del corte (Sokoloff 1969).

Microscopía electrónica de transmisión: Se observa una capa de fibras de colágeno cortada en varios planos y cubierta por una simple capa de material

amorfo electro denso, que Ghadially 1983 denomina "superficie de abrigo".

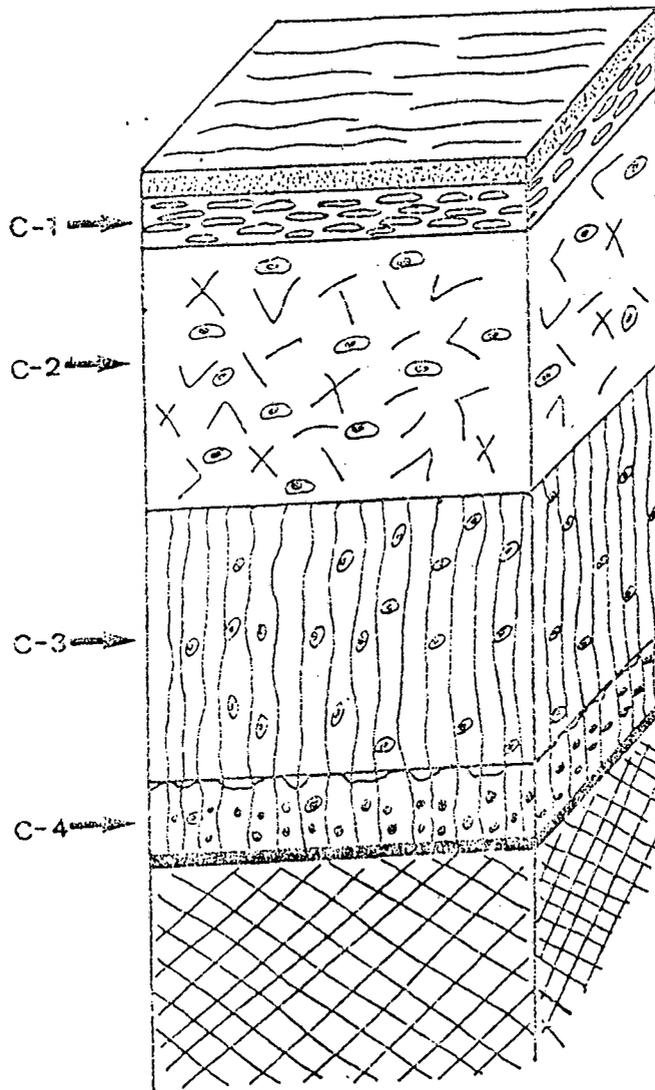
Mediante este procedimiento, al igual que con la microscopía óptica, el aspecto de la superficie es de marcada suavidad (Weiss 1968, Ghadially 1983). La misma impresión se tiene con el cartílago de conejos adultos jóvenes (Davies 1962).

Microscopía electrónica de barrido o Scanner: Aparecen unas ondulaciones que pueden tener un importante papel en los mecanismos de lubricación articular (Redler1974) aunque se ha considerado que son debidas a artefactos producidas por el propio microscopio. Redler 1970 encuentra una disposición multiestratificada con capas sucesivas de diferente espesor y constituidas por fibrillas irregularmente entrelazadas en un plano paralelo a la superficie.

En conclusión se puede afirmar que la superficie no es por tanto lisa, sino que presenta irregularidades.

Estructura del cartílago

Con la ayuda del microscopio óptico o con el electrónico de transmisión se han establecido de manera clásica cuatro capas o estratos en la estructura del cartílago articular. Fig. 2

**Fig. 2****Diferentes capas del cartílago articular**

1. Capa: superficial o tangencial, adyacente a la cavidad y compuesta por células aplastadas u ovals, paralelas a la superficie con escasa actividad, y finas fibras tangenciales de colágeno asociadas a proteoglicanos que van a soportar el stress de cizallamiento durante el movimiento articular.
2. Capa: intermedia o transicional, de mayor volumen con células más redondeadas, dispuestas irregularmente y fibras tridimensionales.
3. Capa: profunda o radial, con células redondeadas dispuestas en columna y fibras mas gruesas, paralelas entre sí y perpendiculares u oblicuas a la superficie ósea, con una función de distribución de las fuerzas de compresión. El contenido en agua es menor que en las anteriores y mayor el porcentaje de proteoglicanos.
4. Capa: calcificada, adyacente al hueso y separada de C-3 por una línea basófila llamada "línea de flujo" ("tidemark" de los anglosajones. Fawns 1953). En ésta la matriz está impregnada de cristales de sales de calcio, las células son escasas y presentan un pequeño citoplasma, sin retículo endoplasmático o incluso aparecen necróticas. Su función es la fijar el cartilago al hueso subcondral.

Esta misma división se establece con el microscopio electrónico de transmisión pero reciben diferentes nombres cada una de sus capas (Davies 1962): C.1 Superficial, C-2 Media superior, C-3 Media inferior, C-4 Profunda.

Con el microscopio electrónico de barrido Clarke 1971 describe tan sólo

tres zonas o capas: C-1 superficie, C-2 inferior superficial y C-3 media.

Al estudiar la matriz, aparecen diferentes regiones en las que su composición de proteoglicanos, colágeno y su disposición es distinta. Ghadially 1983 las define como matriz pericelular, matriz territorial y matriz interterritorial.

Esta última forma la mayor parte de la matriz del cartílago articular y es responsable de las propiedades mecánicas del cartílago.

La disposición de las fibras del colágeno fue descrita inicialmente por Hunter 1743 como un sistema radial de fibras perpendiculares. Benninghoff 1925 con la ayuda del microscopio de luz polarizada describe las famosas arcadas de dirección radial recubiertas por una capa tangencial superficial. MacConaill 1951 introduce una modificación al utilizar el mismo método y describir un sistema de fibras oblicuas y entrelazadas recubierta por la controvertida "lamina splendens". Posteriormente con la aportación de la microscopía electrónica (transmisión-barrido) se han corroborado las descripciones clásicas y recientemente Clark 1990 mediante métodos de "criofractura" observa que la capa tangencial es continua con las fibras de la capa radial a semejanza del modelo descrito por Benninghoff.

1.3.2. Fisiología del cartílago articular.

Nutrición

En el momento actual, a pesar de las numerosas investigaciones realizadas, la nutrición del cartílago articular sigue siendo objeto de discusión. Si bien la

vía sinovial ha sido considerada la esencial, la vía vascular ósea parece seguir siendo considerada.

En un inicio Hunter 1743, Leidy 1849 y Fisher 1922 eran partidarios del aporte de nutrientes desde su porción profunda. En este sentido Ingelmark 1950 afirmaba la existencia de unas "zonas de contacto" entre el cartílago y el hueso subyacente. Estas denominadas "zonas de contacto" fueron demostradas por Harrison 1953, al observar que se trataban en realidad de asas vasculares que ocupaban los túneles existentes.

Por el contrario Ito 1924, Brower 1962, Maroudas 1968 y otros consideran a la vía sinovial como exclusiva de la nutrición del cartílago.

Diversos factores pueden explicar la diferencia de opiniones y tal vez la dualidad de las teorías.

A favor de la vía sinovial podemos encontrar el necesario efecto de bombeo, provocado por el movimiento y la carga articular alternativo con fases de reposo; la gran extensión de superficie del cartílago articular en contacto con la membrana sinovial; la supervivencia del cartílago al recubrir cuerpos extraños liberados en la sinovial; y la imposibilidad de paso de diferentes sustancias a través del hueso subcondral, cuando el animal ya ha alcanzado la maduración, por la acción de barrera de la capa de calcificación.

A favor de la vía sanguínea o subcondral encontramos que cuando se realizan sinovectomias el cartílago sigue sobreviviendo; la persistencia de canales vasculares en grandes mamíferos después de la maduración y que

por tanto nutren capas más superiores del cartílago; y la aparición de signos artrósicos cuando se desvasculariza el hueso subcondral .

Por lo tanto podemos considerar válida la teoría dualista, considerando en primer lugar la vía sinovial como principal medio de aporte de nutrientes al cartílago y aceptar la existencia de la vía vascular con una función secundaria.

Dada la ausencia de vasos dentro del cartílago articular, el transporte de nutrientes a través del mismo hasta llegar al condrocito puede realizarse por tres mecanismos: 1. difusión, 2. convección, 3. combinación de ambos. (Buckwalter 1988).

El mecanismo de convección está producido por el fluido de líquidos intersticiales, cuando el cartílago se deforma al someterlo a carga o cuando se realiza una movilización .

Comportamiento mecánico

El cartílago articular, durante la marcha, se ve sometido a presiones de valor variable. Su forma de aplicación tiene lugar en pequeñas áreas que se van desplazando a lo largo de toda la superficie articular y provocan por tanto un considerable stress.

Las fibras colágenas y los proteoglicanos dan al cartílago una estructura que le confiere su consistencia elástica. Los cizallamientos y fricciones, que está sometido el cartílago, son absorbidos por las fibras colágenas, mientras que

las sollicitaciones verticales de compresión lo son por los proteoglicanos.

El comportamiento de un material o tejido sometido a la acción de la fuerzas, determina las propiedades biomecánicas del mismo. Este puede hallarse fijo o en movimiento y en este caso a favor o en contra del sentido de la fuerza. La aplicación de una fuerza en una determinada unidad de superficie constituye el denominado stress.

La aplicación de una fuerza puede tener lugar en compresión, en tensión (distracción), fricción y cizallamiento (tangencial). La respuesta se determinará por un coeficiente o módulo, de elongación (deformidad axial: $\epsilon = \Delta L / L$), de cizallamiento (deformación transversal: $\gamma = \Delta / L$).

Cuando se añade el factor tiempo al aplicar la fuerza podemos encontrarnos con una respuesta que dependa o no de él.. Si no existe relación podremos obtener una deformación reversible (elasticidad) o por el contrario una deformación irreversible (plasticidad). Cuando la respuesta sí guarda relación con el tiempo y tiene lugar en dos fases diremos que aquel tejido presenta una propiedad llamada viscoelasticidad.

Respuesta viscoelástica del Cartilago Articular

El cartílago articular posee esta propiedad biomecánica y así presenta una respuesta variable cuando es sometido a una presión o deformación constante. Esta respuesta es doble, ante una presión constante se produce una compresión o arrugamiento y ante una deformación constante se produce una relajación o estiramiento. Estos fenómenos se producen en una primera

fase, de forma instantánea y en una segunda fase de forma progresivamente lenta.

En el cartílago articular, el comportamiento viscoelástico es producido por el flujo inicial del fluido intersticial (agua). Este comporta a su vez un movimiento de las macromoléculas que originan un nuevo flujo independiente o intrínseco y por tanto se crea una respuesta bifásica.

En primer lugar, cuando el cartílago es comprimido, se produce el arrugamiento motivado por la salida de los líquidos intersticiales. Este proceso inicialmente es rápido provocando la deformación, pero luego se hace más lento hasta que cesa el flujo de líquidos. Esto coincide con el momento en que el stress compresivo desarrollado sobre la matriz sólida se equilibra con el stress aplicado.

Cuando la presión es elevada, alrededor del 70% del fluido total es exprimido desde el tejido, aunque en el momento que varía la presión es completamente recuperable.

Al mismo tiempo que se produce la salida de fluido por el stress aplicado, se produce la relajación de dicho stress en el seno del cartílago, dando lugar a una redistribución del fluido en los poros de la matriz sólida de colágeno-proteoglicanos. Este proceso finaliza en el momento que se igualan el stress de compresión desarrollado en la matriz sólida con el generado en el módulo intrínseco de esta matriz sólida.

El cartílago articular bajo tensión también presenta un comportamiento

viscoelástico, mientras que bajo fricción pura (en condiciones infinitesimales de tensión) no se producen cambios de presión o volumétricos dentro del tejido, es decir, no se inducen efectos derivados del flujo de fluidos.

Permeabilidad

La permeabilidad es la medida de la facilidad con que un fluido puede salir a través de un material poroso. El cartílago articular tiene una muy baja permeabilidad, por lo que grandes fuerzas de resistencia friccional son generadas cuando los fluidos salen a través de los poros de la matriz del tejido.

Cuando las fuerzas de compresión son elevadas la permeabilidad decrece exponencialmente. Disminuye el diámetro del poro dentro de la matriz sólida, aumenta la resistencia friccional y por lo tanto disminuye la permeabilidad.

Relación entre morfología y sollicitaciones

La estructura y composición del cartílago articular permite la absorción y transmisión de cargas hasta el hueso subcondral, mientras que su superficie actúa de soporte.

La distribución de las sollicitaciones, en un material, se halla relacionada con el espesor del mismo y con su grado de deformación ante la carga. La deformación es inversamente proporcional al espesor, hasta un nivel de carga, a partir del cual esta relación se pierde.

El espesor del cartílago es inversamente proporcional a la congruencia articular (Simon 1973) y por tanto aquellas articulaciones de elevada incongruencia presentan un grueso cartílago. En éstas la deformación es mayor, con objeto de incrementar su área, cuando se aplican cargas.

La ausencia de cartílago articular, conduce a una carga muy importante en el hueso subcondral, que puede llegar a producir fracturas por sobrecarga.

Lubricación articular

El estudio de la lubricación ha estado íntimamente ligado al estudio de la estructura, composición, propiedades físicas, procesos de nutrición y permeabilidad del cartílago articular.

La capa superficial, con su peculiar morfología, determinada mediante la microscopía electrónica, sus propiedades físicas debidas a su composición química (baja concentración de agua y proteoglicanos), ha sido considerada como una membrana dotada de una alta permeabilidad para el paso de agua, nutrientes y algunas sustancias de bajo peso molecular.

El movimiento de fluidos entre la cavidad sinovial y el cartílago articular representa un importante papel en los procesos de nutrición y lubricación articular. Del mismo modo los cambios de presión local producidos durante el movimiento pueden actuar en el proceso de lubricación.

El líquido sinovial es un dializado del plasma y ácido hialurónico; con diferente concentración de células, proteínas y en menor grado de otros

solutos (glucosa, urea y ácido úrico). La concentración de proteínas es aproximadamente una tercera parte de la del plasma y están presentes glicoproteínas con un importante papel en el mecanismo de lubricación.

Las propiedades físicas del líquido sinovial como la elasticidad y viscosidad han sido discutidas por diferentes autores. Barnett 1956 demuestra que la reducción del contenido en ácido hialurónico del líquido sinovial determina la aceleración de los procesos de degradación del cartílago articular.

El estudio de los mecanismos, que se producen en el proceso de lubricación, ha originado diversas teorías basadas en aspectos de carácter físico. En 1967 Linn diseña un aparato para el estudio in vitro de las deformaciones y respuestas a la fricción instantánea del cartílago articular, en condiciones que simulan la deambulación. Lo denomina artrotipsometro y distingue dos tipos de mecanismos de lubricación: por auto-presión hidrostática y por contacto limítrofe.

En el momento actual se distinguen tres modelos que explican el proceso de la lubricación articular en articulaciones diartrodiales.

Lubricación limítrofe: existe una envoltura de una monocapa de moléculas adsorbidas en cada superficie de recubrimiento.

Durante el movimiento de las articulaciones diartrodiales, se produce un movimiento relativo de sus superficies. Estas se protegen con una capa limítrofe de lubricante, previniendo directamente el contacto entre las superficies y eliminando de esta manera la mayor parte del deterioro. Esta

lubricación es independiente de las propiedades físicas del lubricante y de la superficie de recubrimiento, pero sí depende de las características químicas del mismo. En la sinovial articular, una glicoproteína específica (Lubricina) parece ser el constituyente responsable de este tipo de lubricación, pues es adsorbida en cada superficie articular.

Lubricación mediante película fluida: una fina capa o película de fluido se interpone entre las dos superficies, evitando su contacto directo. La presión en la superficie de recubrimiento se soporta gracias a la presión hidrodinámica de la película del fluido. Bajo una visión física, esta capa puede actuar de dos maneras, mediante lubricación hidrodinámica o por película exprimida.

La primera, se produce cuando dos superficies rígidas no paralelas separadas por una capa de fluido, se mueven tangencialmente una respecto a la otra, formando una cuña convergente de fluido en los extremos. En este momento, se genera una presión de despegamiento o separación entre las dos superficies articulares.

La segunda, aparece cuando la superficie rígida se mueve perpendicularmente hacia la otra. La viscosidad del fluido genera la presión requerida para hacer salir el lubricante de la zona comprimida y permite soportar grandes presiones durante un cierto tiempo.

Lubricación de refuerzo: Descrita por Walker 1968, depende de la capacidad de los diferentes solutos del líquido sinovial para pasar al interior del cartílago articular, durante la acción de exprimir la película de fluido. Se

produce un proceso de ultrafiltración en la superficie articular como resultado de la compresión de la película de lubricante. Según parece, este mecanismo tiene lugar porque se vuelve más difícil, para las macromoléculas de ácido hialurónico del líquido sinovial, escapar hacia el hueco que queda, dado que las dos superficies se aproximan entre sí. El agua y los pequeños solutos pueden escapar de la región de alta presión y pasar al cartílago articular y/o fluir lateralmente hacia el espacio articular en la periferia de la zona de presión.

Cuando la superficie de recubrimiento no es rígida sino relativamente blanda, como sucede al cartílago articular, se produce una variación en estos modelos. Se denomina lubricación elastohidrodinámica, cuando en dos superficies enfrentadas y relativamente blandas, se produce una deformidad sustancial. Esta aumenta el área de la superficie alterando la geometría de la película, disminuyendo la capacidad de escape del fluido y por tanto el stress articular .

1.3.3. Respuesta del cartílago articular frente a alteraciones y lesiones mecánicas.

Existen diferentes procedimientos y situaciones capaces de provocar una alteración histoquímica en el cartílago articular. Este proceso, si bien es distinto en sus fases iniciales, presenta un único final, cuya traducción es la alteración de su capacidad de respuesta a la sollicitaciones.

A continuación vamos a analizar esta respuesta, cuando el cartílago es sometido a agresiones de carácter físico.

Inmovilización - compresión.

Las propiedades físicas del cartílago articular son debidas como hemos visto a la respuesta viscoelástica cuando es sometido a cargas y deformaciones durante el acto de la movilización articular. Esta respuesta permite el paso de electrolitos y nutrientes a través del mismo. Por el contrario, cuando se inmoviliza una articulación o es sometida a una presión constante, se produce un deterioro del cartílago articular, que distinguimos en tres estadios:

- Estadio I. Necrosis superficial, que se traduce por una coloración amarillenta, se torna blando y los condrocitos cambian su forma y se agrupan en nidos. Fig.3
- Estadio II. Hay una pérdida del espesor del cartílago, fundamentalmente de la capa superficial.
- Estadio III. Existe una pérdida total del grosor hasta llegar al hueso subcondral.

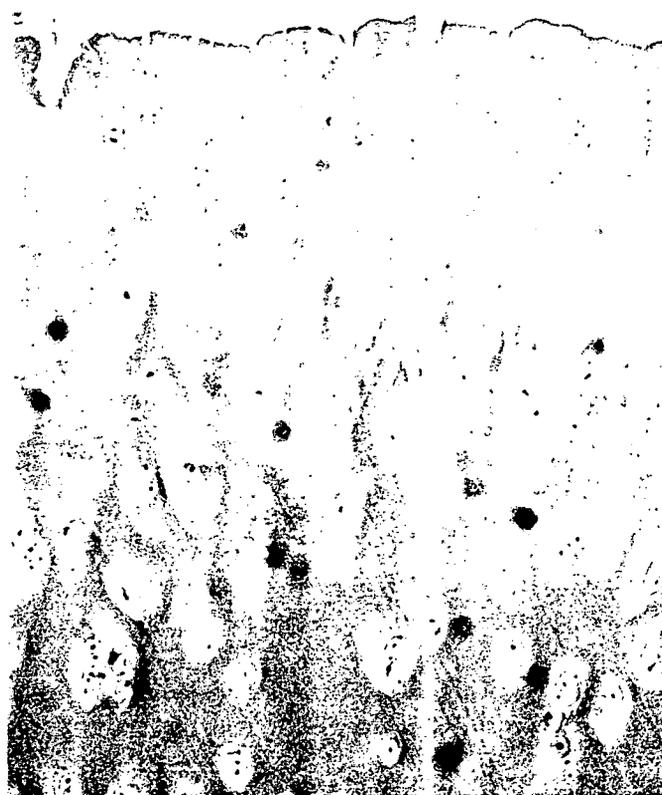


Fig. 3

Cartílago articular con signos degenerativos (fibrilación de la superficie, anómala disposición celular y formación de nidos) (hematoxilina-eosina 40 x).

En 1871 Menzel realiza unas experiencias de inmovilización articular con objeto de observar la repercusión de la misma en el cartílago articular. Siguiendo esta línea diversos autores (Ely 1933, Salter 1960, Trias 1961, Hall 1963, Crelin 1964, Thaxter 1965) emplean diferentes procedimientos de inmovilización o compresión, mediante yesos o fijadores externos en posiciones más o menos forzadas y observan el grado, localización del deterioro del cartílago articular y la aparición de adherencias intraarticulares. La afectación del cartílago, cuando se sometía la articulación a compresión, era mayor en la zona de aplicación de la presión y menor en la zona libre. Por el contrario, en las rodillas inmovilizadas, la zona de contacto articular presentaba un menor grado de afectación que las zonas libres. Evans 1960 realiza en ratas, en una primera fase inmovilización del miembro seguida de una segunda fase de movilización, y observa la reversibilidad de las lesiones del cartílago cuando el período de inmovilización ha sido inferior a treinta días .

El estudio de la ultraestructura del cartílago articular de rodillas inmovilizadas fue realizado por Roy en 1970, observando particularmente los cambios producidos en las zonas libres de contacto. En éstas los cambios eran más significativos en las capas superficial y media y su inicio tenía lugar alrededor del décimo día de la inmovilización. En 1973 Finterbush realiza un estudio análogo, mediante microscopía óptica y electrónica de transmisión, observando los cambios prematuros producidos por la inmovilización.

En 1975 Troyer, complementa los estudios histológicos previos, al realizar un estudio histoquímico de los cambios producidos en el cartílago articular

de conejos, después de un período de uno a seis días de inmovilización con la rodilla en extensión.

Recientemente Olshen 1991 ha investigado el efecto de la administración previa intrarticular de ácido hialurónico en rodillas de conejo sometidas a inmovilización. El estudio histológico confirma el deterioro del cartílago articular, que se traduce por la similitud de las alteraciones (formación de nidos de condrocitos, aspecto redondeado de los mismos en la capa superficial y disminución del espesor) y los escasos cambios bioquímicos después de doce semanas de inmovilización. Tras comparar el cartílago de rodillas inmovilizadas y libres, la administración de esta sustancia se muestra ineficaz en la prevención de este proceso y por analogía con los cambios observados en el cartílago en la artrosis.

Podemos afirmar que, cuando se realiza una inmovilización, los cambios degenerativos tienen lugar de manera predominante en las zonas no sometidas a contacto, mientras que sucede lo contrario cuando se realiza una compresión.

Impactos repetidos.

La aparición de dolores articulares después de traumatismos directos sobre las articulaciones ha sido motivo constante de consulta por parte de los pacientes. Paradojicamente la ausencia de una fractura visible en el estudio radiológico ha menospreciado tal situación y ha sido escaso el interés por los médicos e investigadores en la búsqueda de una explicación para esta problemática. Ficat 1976-85 ha sido uno de los precursores en relacionar el

traumatismo por impacto articular y la aparición ulterior del proceso degenerativo.

El efecto de impactos controlados sobre el cartílago de la rodilla de cadáveres utilizados en trasplante renal fue analizado por Repo 1977. Emplea una máquina semejante a una guillotina que permite regular la velocidad y fuerza del impacto. Los condrocitos fueron marcados con prolina tritiada para estudio autorradiográfico, microscopía óptica y electromicroscopía de scanner. Cuando los impactos eran del 10% en tensión, los condrocitos no presentaban lesiones, mientras que cuando el valor era del 40% los condrocitos aparecían muertos y existía una alteración en la estructura del colágeno. Donohue 1983 realiza una experiencia análoga con rodillas de perro adulto. Selecciona un peso inferior al determinado para ocasionar fracturas, provoca la "contusión" del cartílago y objetiva en la capa calcificada un incremento de células clonadas e invasión vascular. El estudio ultraestructural revela la pérdida de la matriz territorial y con la tinción de rojo rutenio observa una disminución del 40% de proteoglicanos y fibras de colágeno en la matriz interterritorial. En el análisis bioquímico aprecia un aumento de agua y de ácido hexurónico hacia la segunda semana.

Basándose en la teoría de P. Ficat sobre la artrosis postcontusiva C. Ficat 1976, Gedeon 1977 y Grijalvo 1981 golpean mediante un objeto de peso variable, dejado caer desde una altura también variable, el cartílago o la cara anterior de la rodilla de conejos. En el primer experimento, con un período de estudio máximo de un mes, se observa la afectación de C-1, con un aspecto inicialmente degenerativo y necrótico para volverse secundariamente proliferativo. En las otras dos experiencias, con un período mas prologado

hasta el sexto mes, las fases de degeneración han sido similares pero a partir del tercer mes aparecen grupos de condrocitos encapsulados en C-2 y C-3 y parece evolucionar hacia una condroesclerosis.

El efecto repetitivo del traumatismo sobre el cartílago articular ha sido realizado por tres diferentes autores. Radin 1978 somete la rodilla de conejos a impulsos repetidos de carga durante períodos determinados (1.5 peso del conejo, 40 veces/min, 20-40 min/día, 7-20 días), con impulsos atenuados y con impulsos interrumpidos y atenuados. En la primera semana se aprecia un incremento de la rigidez del hueso del 20%, una disminución de hexosamina y una mayor incorporación de Timidina tritiada y de $S^{35}O_4$, que es sugestivo de un proceso degenerativo precoz del cartílago. Resulta interesante el hallazgo de la capacidad del cartílago de volver a la normalidad cuando los impulsos son interrumpidos y atenuados.

Dekel 1978 somete la rodilla de conejos, a la acción simultánea de cargas longitudinales (hidrostáticas) y de cizallamiento durante dos semanas. Provoca una degeneración celular, con formación de acúmulos condrocíticos, fibrilación de la superficie y penetración de vasos desde el hueso subcondral. Donohue 1986 somete el cartílago articular a un impacto diario, hasta un máximo de 21 días, y permite en un grupo de perros el ejercicio diario durante una hora en un carrusel. Los animales son marcados con fluorocromo y observa los cambios a modo de fractura-impactación en la capa calcificada y el hueso subcondral. Estos cambios son traducidos por la expansión de la capa calcificada y la invasión vascular de la misma. Concluye afirmando que puede ser beneficioso el ejercicio en la prevención de los cambios producidos por contusión.

Recientemente Tomatsu (1992) provoca experimentalmente fracturas en el cóndilo externo de cerdos. Los cóndilos son resecados, congelados y posteriormente descongelados para colocarse en un aparato que aplica fuerzas tangenciales a su superficie (cizallamiento) o fuerzas de compresión. Según el grado y la velocidad de aplicación de la fuerza se obtienen lesiones abiertas o cerradas y de variable afectación del cartílago y hueso subcondral.

Por tanto podemos afirmar que los traumatismos por impacto, (simple o repetido) cuando la fuerza es suficiente, son capaces de producir una degeneración del cartílago articular, que puede llegar hasta la capa calcificada y el hueso subcondral al igual que se observa en la artrosis, si bien el movimiento precoz puede tener un efecto reparador.

Lesiones por penetración.

Desde que Hunter 1743 afirmase “Desde Hipocrates hasta el momento presente, encontraremos que el cartílago ulcerado es ya bien conocido universalmente como un problema de difícil solución, incluso más difícil que la de un hueso enfermo, y que cuando se destruye nunca se repara”, hasta la actualidad, la capacidad intrínseca de reparación del cartílago articular ha sido objeto de numerosos estudios y han provocado una controvertida discusión.

Para una mejor sistematización dividiremos las lesiones en dos grupos : 1. Superficiales, que afectan tan sólo al cartílago sin llegar al hueso subcondral. 2. Profundas, que afectan por tanto al cartílago y hueso subcondral.

Penetración Superficial (Condral)

De manera experimental tres procedimientos han sido empleados en reproducir lesiones superficiales: a. escarificación, b. afeitado y c. defectos superficiales.

Escarificación:

Este procedimiento consiste en la realización de múltiples cortes de la superficie del cartílago, sin penetrar la unión osteocondral. Las primera experiencias de este tipo fueron realizadas por Meachin en 1963 y Simmons en 1965; el objetivo del primero era reproducir experimentalmente las lesiones que aparecen en la artrosis, mientras que el segundo utilizaba el salicilato sódico como procedimiento terapéutico de estas lesiones.

En el trabajo de Meachin, las lesiones producidas en la rótula y surco cóndileo femoral eran las habitualmente observadas en los procesos iniciales de la artrosis, disminución de la matriz interterritorial y fibrilación superficial, incremento de la síntesis de proteoglicanos por los condrocitos y aparición de acúmulos de ellos en las zonas profundas. En ningún momento (1-34 semanas) las lesiones sobrepasaron el área lesionada y no se manifestaron aspectos propios de artrosis avanzada.

Ghadially 1983 en una experiencia similar realiza un corte en el cóndilo interno. En unos casos seguía la dirección principal de las fibras de colágeno mientras que en otros las cortaba transversalmente. El estudio ultraestructural en ambos no mostró signos de reparación, con persistencia

del surco lesional en el cartílago y sin evidentes signos degenerativos en el cartílago vecino.

La síntesis de glicosaminoglicanos y colágeno por parte del condrocito pudo ser determinada mediante la incorporación de sulfato radioactivo y de prolina tritiada respectivamente. Estas técnicas permitieron a Repo 1971 y Meachin 1974 determinar las características del tejido de reparación después de haber lacerado y afeitado el cartílago, y si bien se apreció un aumento en la síntesis de cada uno ellos, no fueron considerados como contribuyentes de un supuesto proceso de reparación.

Thompson 1975 realiza la misma experiencia en rodillas de perros. El cartílago de la rótula y del surco intercóndileo es sometido a estudio histológico, bioquímico y enzimático. Los valores de hidrolasa ácida varían de una región a otra del cartílago de la misma articulación y observa en la rótula que las lesiones centrales no suelen curar a diferencia de las situadas más en la perifería.

Cheung 1978 realiza laceraciones superficiales en el cartílago femoral de conejos y observa mediante estudio histológico y bioquímico la incapacidad por parte del condrocito de sintetizar suficiente matriz para poder reparar la lesión, transcurridas ocho semanas de la misma. La incubación "in vitro" del cartílago durante 48 horas sólo detectó colágeno tipo II.

Afeitado:

De manera habitual el termino "afeitado del cartílago articular" se utiliza

durante la técnica artroscópica de excisión de lesiones cartilagosas propias de la condromalacia. La utilización de una fresa motorizada es el elemento característico de esta técnica.

Schmid en 1987 observa mediante microscopía electrónica el cartílago articular en pacientes a los que se ha practicado una artroscopia, por presentar un síndrome de dolor anterior de la rodilla y se ha constatado una condromalacia. Los datos obtenidos reflejan una agravación de la lesión, con ausencia de reconstrucción de la superficie articular y aumento de fibrilación y necrosis celular.

En el campo experimental, en 1991 Kim realiza un afeitado de 3 mm. del cartílago de la rótula de conejos adolescentes. Estos son sometidos a movilización libre intermitente y a movilización continua pasiva inicial seguida de movilización libre intermitente. El estudio histológico e histoquímico, realizado a las cuatro y doce semanas, no revela diferencias entre los dos grupos, por cuanto no existen evidencias de reparación en ninguno de ellos. El cartílago subyacente presenta un deterioro del mismo.

Defectos Superficiales:

La creación de defectos superficiales en el cartílago articular de animales de experimentación ha sido realizada por diversos investigadores: Bennet 1932-1935, Carlson 1957, Calandruccio 1962, Mankin 1962, DePalma 1966, Ghadially 1983 observando una ausencia de capacidad reparadora por parte de las células cartilagosas, independientemente de la edad o grado de maduración del animal.

La localización del defecto ha sido variable, Bennet realiza defectos en la zona de carga cóndilea y en el surco intercóndileo o zona de fricción en rodillas de perros. Observa que los márgenes de los defectos realizados en los cóndilos presentan mayor evidencia de reparación que la zona central de los defectos realizados en surco cóndileo y lo atribuye a la acción inhibitoria de fricción por parte de la rótula. Así mismo la actividad celular era mayor en las capas profundas que en las superficiales.

Calandruccio realiza una experiencia similar en perros creando los mismos defectos y observa escasas diferencias respecto a los defectos que llegan a a profundidad. Destaca la ausencia de tejido de granulación procedente de la base y la no interferencia con el tejido proliferativo de la capa superficial del cartílago articular adyacente.

Mankin y DePalma realizan defectos en las mismas zonas y en el estudio histológico y autorradiográfico con Timidina Tritiada no evidencian signos de reparación.

Carlson realiza los defectos en el cartílago de la rótula de conejos y observa signos de reparación en el 67%. Aparecen atípicos condromas, que están compuestos por acúmulos celulares más frecuentes en la periferia del defecto que en el centro del mismo. El incremento de sulfuro radioactivo en el cartílago intervenido considera que obedece a un aumento de la actividad celular y los condrocitos inmaduros presentes no derivan de la médula subcondral.

Ghadially realiza defectos a modo de afeitado de 2 mm. de diámetro en la

zona de carga del cóndilo femoral del conejo. En el estudio histológico y en la visión con microscopía electrónica no observa signos de reparación transcurridos dos años. La ausencia de fisuración y fibrilación hace pensar que el proceso no progresa en la vecindad como sucede en la artrosis.

Penetración profunda (osteocondral)

Cuando se realizan defectos profundos, que incluyen el hueso subcondral, existe una total unanimidad en la aparición de un proceso reparador. Este proceso cuyo objetivo es el relleno del defecto por un nuevo tejido cartilaginoso, en las fases iniciales presenta un cierto potencial, pero con el transcurso del tiempo sufre un deterioro progresivo y acaba por transformarse en un tejido fibroso o fibrocartilaginoso. Así pues parecen mantenerse los postulados ya descritos por Hunter en 1743, cuando enunciara la incapacidad del cartílago de obtener una restauración de su superficie articular. Esto no debe producir un desánimo y como ya enunció Cruess 1971: parece necesario revisar nuestros conceptos sobre la lesión del cartílago e intentar conseguir las mejores condiciones para la reparación del mismo, con la esperanza de potenciar el proceso natural y poder abandonar los supuestos procesos reconstructivos.

Varias son las cuestiones planteadas por los investigadores: mecanismo y naturaleza del tejido de reparación; grado de maduración del animal de experimentación; tamaño del defecto; localización del defecto; efecto de la movilización y sus diferentes procedimientos y actuación de la matriz ósea.

El mecanismo de reparación: Parece ser admitido por todos los autores y

tiene lugar a partir de la profundidad, es decir, desde el hueso subcondral. La creación del defecto lesionando el hueso subcondral actúa de manera semejante a la producción de una fractura. En los primeros días se halla un hematoma parcialmente organizado producido por la rotura de vasos y gradualmente se convierte en un coágulo rico en fibrina, que engloba hematíes, leucocitos y elementos medulares. Con el crecimiento de capilares procedentes del lecho vascular el coágulo se transforma en un tejido de reparación de carácter fibroblástico y bien vascularizado. La metaplasia progresiva de este tejido de granulación produce que el defecto se vuelva más celular y menos vascular. En la profundidad de la lesión la formación de hueso es un proceso activo que tiende a progresar hacia la superficie articular, aunque de manera usual queda limitado a los viejos márgenes entre la capa calcificada y el hueso subcondral. La detención del crecimiento óseo desde la profundidad puede obedecer a la menor presencia de vasos y al efecto del líquido sinovial procedente de la articulación, convirtiéndose en un medio avascular. La ausencia o presencia de capilares condicionará que las células osteógenas se diferencien en condroblastos u osteoblastos respectivamente (Ham 1930).

En 1922 Fisher tras realizar pequeños defectos en el cartílago femoral de la rodilla de conejos, observa la proliferación de los márgenes del cartílago opuesto al defecto y considera que es debido a un mecanismo compensador del cartílago de la zona marginal.

Al intentar realizar artrosis experimental, mediante la creación de defectos en el surco intercóndileo de la rodilla de conejos adultos, Key 1931 observa la aparición de tres procesos: 1. reparación del defecto por formación de

cartílago; 2. reparación por tejido conectivo desorganizado y 3. reparación incompleta, con presencia de tejido óseo en la superficie. En todos los procesos se aprecia el incremento de vascularización en la médula ósea y afirma desconocer si este proceso es debido a la pérdida del cartílago o por el contrario es debido a la proliferación de cambios que tienen lugar en el hueso. De cualquier manera la muerte de los condrocitos de la superficie y la presencia de vasos en la profundidad lo hace comparar con el proceso de reparación de las fracturas. Landells 1957 en estudios de cartílagos articulares humanos que habían sufrido una fractura, observa la acción destructiva sobre el cartílago del incremento de vascularización y la repetición de trazos de fractura con despegamiento del cartílago en el apex de la zona calcificada, lo que demuestra su menor adhesión.

Mitchell 1980 realiza de manera experimental fracturas intrarticulares en la rodilla de conejos adultos. Mediante estudio histológico y ultraestructural compara los resultados obtenidos cuando la fractura es reducida y fijada con tornillos con y sin compresión. Observa que la reducción sin compresión origina un tejido fibrocartilaginoso, mientras que la compresión provoca la curación de la lesión formando cartílago hialino, como resultado de la proliferación de células que emanan de la región del "tide mark" y tal vez por migración de condrocitos desde la superficie.

La Timidina tritiada permite investigar la regeneración tisular, dado que se fija a la célula durante el período de síntesis del DNA y al someterla al tritio (H^3) es etiquetada de tal manera que se puede localizar mediante estudio autorradiográfico. Con este procedimiento Mankin 1962 y DePalma 1966 analizan el proceso de reparación y concluyen afirmando que tiene su origen

en la profundidad del defecto. Mankin compara la reparación del cartílago con el proceso clásico de reparación de los tejidos y coincide en la aparición de la fase inicial de necrosis, de la fase final de reparación y destaca la ausencia de la fase intermedia o inflamatoria.

La capacidad reparativa del cartílago articular pudo justificarse en el momento que se introdujeron las técnicas de análisis bioquímico. Estas permitieron una cuantificación numérica de cada uno de los componentes de la matriz. Akeson 1969, Hjertquist 1972, Cheung 1978 y Furukawa 1980 analizan los porcentajes y tipo de colágeno presente, los contenidos de glicosaminoglicanos. Observan una disminución en hexosamina (disminución de condroitín y queratan sulfato) y un incremento en la síntesis de colágeno de los tipo II y I. Existe entre ellos una diferencia en las apreciaciones en cuanto unos consideran que se trata de cartílago hialino y otros tan sólo fibrocartílago, aunque puede atribuirse al diferente tiempo de sacrificio de los animales.

El estudio ultraestructural de los procesos de reparación, mediante los diferentes medios de visualización (microscopia óptica, electrónica de transmisión y barrido), fue realizado en sus inicios por Ghadially 1983. Realiza defectos de 1.5 a 2 mm. de diámetro en la zona de carga del cóndilo femoral de la rodilla de perros y conejos y observa el proceso de reparación durante períodos prolongados que llegan hasta los dos años. Con la microscopia óptica objetiva los sucesivos cambios en el relleno del defecto. En los primeros días aparecen las células en forma de huso situadas en un estroma escaso. Hacia las tres semanas hay una división en dos zonas y aparecen las células fusiformes que asemejan a fibroblastos y células

redondeadas semejantes a condrocitos. En las paredes del defecto hay condrocitos muertos o degenerados y ocasionalmente algún nido celular. De manera progresiva se aprecia una disminución celular y un incremento de la matriz de tal manera que el tejido neoformado se asemeja al primitivo cartílago.

Con el microscopio electrónico de transmisión observa los cambios que se producen en el cartílago vecino que rodea el defecto y los cambios que se producen en el tejido de reparación. En el tejido vecino se confirma el proceso regresivo, con aparición de condrocitos muertos, abundante lípidos matriciales derivados de ellos y la presencia de nidos de condrocitos. En el tejido de reparación, de manera gradual las células van modificando su configuración, hacia el tercer mes se asemejan a condrocitos y ya en el sexto mes se pueden considerar como verdaderos condrocitos. El tejido matricial sufre un proceso paralelo si bien no abarca a todo el defecto, por cuanto hay áreas sin presencia de células y la superficie se muestra irregular.

Con el microscopio electrónico de barrido observa la aparición de un proceso de reparación a partir de los bordes, inducido por la acción del movimiento articular y de la carga. Este se encuentra con el tejido de proliferación de la profundidad del defecto, llegando a sobrepasar la superficie del cartílago y por la acción del movimiento y de la carga se forman las características ondulaciones de la superficie articular.

Calandruccio 1962 también observa la participación del cartílago en el proceso de reparación aunque considera que su actuación es pequeña en relación al proceso procedente de la profundidad.

Naturaleza del tejido de reparación: La discusión que ha existido y todavía existe está condicionada por diferentes aspectos. Anteriormente hemos visto el mecanismo de reparación y hemos aprovechado para introducir este segundo aspecto. El factor tiempo parece ser esencial en los resultados, dado que las diferentes etapas que tienen lugar pueden inducir a pensar en uno u otro tipo de tejido. La observación a largo plazo (uno o dos años) nos permite afirmar el deterioro del tejido preexistente, traducido básicamente por un adelgazamiento del cartílago y una pérdida de las características macroscópicas de la superficie del mismo. Gastaldi 1985 realiza en conejos un defecto osteocondral de 3 mm de diámetro en el área de carga del cóndilo femoral interno. Observa una progresiva transformación del tejido de granulación llegando a diferenciarse en un tejido cartilaginoso hialino alrededor de la 4ª semana, pero posteriormente se deteriora y a las 12 semanas es equiparable a los fenómenos que aparecen en la artrosis.

Grado de maduración: No parece ser un factor condicionante en el proceso reparador. Los diferentes estudios de De Palma 1966, Salter 1980 y Bennet 1935 [en defectos superficiales] no han encontrado diferencias en la utilización de animales maduros e inmaduros. De la misma manera los resultados aportados por diferentes investigadores son similares cuando se ha utilizado un animal en diferente grado de maduración.

Tamaño del defecto: Si es un factor importante en el proceso reparador. Convery 1972 obtiene al cabo de tres meses una completa reparación de los defectos realizados en la rodilla de caballos cuando el diámetro es inferior a 3 mm. Por el contrario si el diámetro es de 9 mm. la reparación es incompleta y se trata de una mezcla de tejido fibroso, fibrocartilago y

cartílago pobremente diferenciado. Buckwalter 1988 realiza defectos de 2 mm. de diámetro en la rodilla de conejos. Obtiene la reparación en la mitad de los mismos y afirma que si el diámetro es de 1 mm. los resultados son mucho mejores a los obtenidos cuando se crean defectos de 3 mm.

Localización del defecto: No ha sido sometido a un verdadero objeto de estudio y no he encontrado ninguna experiencia que establezca un estudio comparativo entre zona de carga, no carga y fricción. Bennet 1935, observa la escasa reparación de los defectos superficiales creados en el surco intercóndileo y lo atribuye a la fricción del movimiento de la rótula. De Palma 1966 realiza defectos superficiales en áreas de carga y no carga del cóndilo femoral, pero no encuentra diferencias entre ambos; Furukawa 1980 crea un defecto en el surco cóndileo femoral y realiza análisis bioquímico del tejido reparador y lo compara con fragmentos de cartílago del área vecina y de zonas de carga y no carga de los cóndilos. Salter 1980 realiza defectos en todas las zonas y los somete a inmovilización, movilización activa intermitente y movilización continua pasiva, pero sólo hace el análisis de este tipo de actuación y no considera su localización.

Recientemente Nelson 1988 estudia las presiones de contacto mediante película sensitiva (Fuji Prescale film*) en defectos de 6 mm. realizados en las zonas de carga de los cóndilos de perros. Transcurrido un año, observa que los resultados histológicos son similares a los ya conocidos de degeneración del tejido. En cambio las áreas de contacto son parecidas a las obtenidas en defectos recientes y a las de cartílagos sanos, por lo que considera que no debe producirse una rápida degeneración de esta región cartilaginosa.

Efecto de la movilización: Como ya hemos visto la inmovilización tiene un efecto negativo para el cartílago y de la misma manera sucede sobre el tejido regenerado. Por tanto las experiencias han ido dirigidas hacia las diferentes modalidades de movilización (precoz, activa intermitente, pasiva continua). Este tema será tratado ulteriormente en el capítulo de potencial de regeneración de los defectos osteocondrales.

Actuación de la matriz ósea:

La actuación de la matriz ósea como factor inductor del proceso de reparación ha sido estudiada por Reddi 1983, al considerar la posibilidad de que contenga factores de crecimiento y diferenciación, que gobiernen la formación de hueso y cartílago. Así pues, en las lesiones osteocondrales pueden liberarse estos factores, hecho que no sucederá con las lesiones estrictamente superficiales.

A diferencia de las lesiones superficiales, la agresión del hueso subcondral desencadena un proceso biológico reparador, que si bien no alcanza una restitución del tejido primitivo, permite obtener en determinadas situaciones un tejido fibrocartilaginoso.

1.4. HUESO TRABECULAR (ESPONJOSO - EPIFISARIO)

1.4.1. Anatomía microscópica

Estructura

El hueso trabecular está constituido por una compleja malla de placas y tubos que se entrecruzan. El hueso dentro de cada trabécula es hueso laminar maduro; las células u osteocitos están orientados concéntricamente y tienen una red canalicular bien desarrollada.

El hueso trabecular está típicamente localizado en los extremos de los huesos largos y en la totalidad de los huesos cortos. Comprende el 20% de la masa ósea esquelética y el restante 80% corresponde al hueso cortical. Sin embargo, debido a la amplia superficie del hueso trabecular, su proporción volumen/superficie es unas 10 veces mayor que la del hueso cortical.

A pesar de su aparente porosidad y volumen relativamente pequeño, este hueso está bien adaptado para resistir fuerzas de compresión, mientras que el hueso cortical resiste mejor las fuerzas de tensión y torsión. Las propiedades mecánicas del hueso trabecular van a depender de su localización topográfica. Recientemente Goldstein 1987 expone una revisión histórica de las diferentes experiencias dirigidas al estudio de las propiedades físicas (resistencia a la compresión, a la tensión y cizallamiento, relación entre densidad ósea y grado de deformación, determinación de la arquitectura ósea, análisis microestructural). Afirma que van a permitir un mayor conocimiento de los efectos producidos por los trastornos de naturaleza

metabólica y degenerativa, así como de los factores que pueden influir en la formación y resorción ósea.

Composición

El hueso constituye un banco de reserva mineral, donde el organismo almacena su calcio y fosfatos en formas metabólicamente estables y estructuralmente útiles. Las células del hueso (osteoblastos, osteocitos y osteoclastos) representan el 2% de los diversos componentes orgánicos del hueso.

El osteoblasto, o célula formadora de hueso, posee un núcleo excéntrico y está encargado de sintetizar la matriz ósea. Esta es preparada por la acción de la fosfatasa alcalina ósea para el proceso de mineralización .

El osteocito maduro es una célula ovalada, envuelta dentro de la matriz mineralizada por una laguna. El contacto entre osteocitos y el transporte de nutrientes tiene lugar por la presencia de prolongaciones que emergen del osteocito y se extienden por un sistema canalicular.

El osteoclasto es una célula grande, multinucleada y cuya función es la reabsorber la matriz mineralizada. Es rica en enzimas lisosomiales y posee una membrana celular especializada para el proceso de la reabsorción ósea.

El componente orgánico está constituido en su mayor parte por el tejido osteoide y está representado en el 95% por el colágeno tipo I y el restante 5% por las proteínas no colágenas.

El componente inorgánico está constituido esencialmente por un análogo de la hidroxiapatita rica en carbonato denominada apatita ósea. Presenta imperfecciones en su estructura cristalina que le van a permitir una mayor solubilidad y por tanto una mayor disponibilidad para la actividad metabólica y para el intercambio de líquidos corporales.

1.4.2. Vascularización

La vascularización del hueso epifísario es variable y va a depender de si el cartílago articular es continuo o no con el cartílago epifísario. En las epífisis que no presentan continuidad entre los dos cartílagos; es decir, se hallan recubiertas completamente por cartílago, la irrigación tiene lugar por vasos nutricios y periósticos que penetran a través del pericondrio en la perifería del cartílago de crecimiento. En las que presentan continuidad o están parcialmente recubiertas por cartílago, los vasos penetran por la cortical epifísaria.

La distribución de estos vasos y las anastómosis siguen unos trayectos específicos para las diferentes articulaciones. Una vez en su interior se distribuyen hasta alcanzar la región subcondral o se distribuyen por la zona contigua al cartílago de crecimiento, llamada plato óseo, al que llegan a perforar por numerosos canales, para luego retornar como venulas acompañando en ocasiones a las arteriolas. Cada expansión vascular terminal cubre el espacio correspondiente entre cuatro y diez columnas celulares y las células germinales se observan muy próximas al endotelio, lo que podría sugerir su origen en este endotelio vascular. En ningún momento estos vasos penetran en las columnas de células cartilaginosas de la placa de

crecimiento, sino que se acodan y retroceden para constituir una especie de artesonado debajo del plato óseo (Trueta-Morgan 1960).

En el adulto los vasos intraepífisarios se distribuyen en arcadas arteriales, en diferentes planos perpendiculares a la articulación, de tal manera que de cada arcada emerge una nueva rama que se anastomosa a su vez con otra rama para formar una nueva arcada.

1.4.3. Autoinjertos.

La referencia exclusiva a este tipo de injerto obedece a su aplicación habitual en la práctica clínica y al hecho de haber sido utilizado en la experimentación animal desarrollada en esta tesis.

El proceso de incorporación de los fragmentos de hueso esponjoso, cuando son trasladados desde su localización original a un lecho nuevo, ha sido objeto de numerosos estudios y de una importante controversia respecto a la naturaleza del mismo.

En esencia, los elementos y factores que intervienen en el estudio son: 1. supervivencia de los osteocitos, 2. actuación de los vasos del lecho receptor, 3. fenómeno de inducción.

1. supervivencia del osteocito: Durante mucho tiempo se consideró que los osteocitos transplantados seguían viviendo, hecho atribuido a la suficiente alimentación que recibían a partir de los vasos del lecho receptor. La introducción de fragmentos de hueso esponjoso en el músculo permitió

observar la muerte de los osteocitos, pero las células osteógenas seguían vivas y originaban hueso en una parte de la superficie. Por el contrario Nishimura 1962 investiga la proporción de osteocitos en auto y aloinjertos de huesos diafisarios que sobreviven tras haber sido recubiertos con cámaras transparentes y colocados subcutáneamente en ratas. Observa transcurridos 60 días la persistencia de osteocitos vivos en el 51.3% en los autoinjertos y en el 25.3% en los aloinjertos. Considera que la posición de las células dentro del hueso determina su supervivencia frente a la reacción inmunológica.

En el momento actual se sabe que cuando se transplanta un autoinjerto óseo tan solo permanecen vivos unos pocos osteocitos y se nutren por un mecanismo de difusión.

Actuación de los vasos del lecho receptor: En el momento que se introduce un injerto en un lecho receptor, se produce un hematoma alrededor del mismo. Paralelamente se produce la necrosis del injerto que desencadena un proceso inflamatorio de reacción a cuerpo extraño. El proceso de eliminación de los restos necróticos y su sustitución por hueso nuevo es un proceso lento y en él participa activamente el crecimiento de nuevos vasos. Estos aprovechan la estructura del injerto que les sirve de marco para el depósito del hueso nuevo. A este proceso se denomina Osteoconducción y en él el injerto juega un papel pasivo.

La velocidad de incorporación de los injertos depende de la rapidez de penetración de los vasos (Anderson 1959, Kingma 1964, Deleu 1965), y se halla más favorecida en los injertos de hueso esponjoso frente a otros tipos de injertos (Stringa 1957, Chalmers 1959). Mientras que por el contrario la

intensidad de reacción vascular del lecho no es directamente proporcional a la capacidad de penetración y en los autoinjertos se presenta moderada (Deleu 1965).

Fenómeno de inducción: Diferentes factores pueden intervenir en la diferente capacidad de incorporación de los autoinjertos. La naturaleza del lecho receptor, el tamaño de los injertos, la concentración de oxígeno y otros pueden determinar el gradiente de incorporación e incluso pueden modificar la naturaleza del tejido formado. Entendemos por Osteoinducción al proceso a través del cual se activan determinados factores existentes previamente en el tejido óseo injertado, para estimular la invasión del mismo y la neoformación de hueso. Uno de estos factores, cuya naturaleza no es bien conocida, fue descubierto por Urist 1971 y recibe el nombre de Proteína Morfogenética Ósea. Se trata de una proteína macromolecular que precisa del contacto celular para su actuación y se halla en la matriz ósea.

Para finalizar, podemos destacar la afirmación de Friendlaender 1987 que considera la incorporación de los injertos como una de las conclusiones del único espectro biológico de la regeneración ósea, que se inicia con la homeostasia del hueso intacto y es representado de manera intermedia por el proceso de reparación de las fracturas.

1.5. PERIOSTIO

1.5.1. Anatomía microscópica (Fig.4).

En el periostio se distinguen clásicamente dos capas:

1. interna o profunda, que contiene células osteógenas de aspecto aplanado o fusiforme cuando se hallan en reposo, mientras que cuando se hallan activadas adquieren la forma de huso y es fácil ver figuras mitóticas.

Estas células osteógenas u osteoprogenitoras como también se las conoce poseen la capacidad de diferenciarse en condroblastos, osteoblastos u osteoclastos. La diferenciación va a estar condicionada por la presencia de vasos, oxígeno y por la acción de determinadas hormonas, como la paratohormona y la calcitonina.

2. externa o superficial, también llamada fibrosa, está constituida por tejido conectivo denso de distribución irregular, con fibras de colágeno orientadas longitudinalmente, algunas reunidas en haces (fibras de Sharpey) y algunos fibroblastos.

Recientemente Squier 1990, mediante microscopía electrónica de transmisión, ha examinado el periostio de los huesos del cráneo y del maxilar de perros, de dos a tres meses y ha establecido una división en tres zonas:

1. Zona I, capa de osteoblastos, en contacto con el hueso, ocasionalmente la

mas delgada (10-20 micras), con células compactas que asemejan a fibroblastos.

2. Zona II, relativamente traslúcida, con presencia de capilares, y de un espesor de 20-80 micras .

3. Zona III, compuesta por células entremezcladas por fibras de colágeno.



Fig. 4

Aspecto estructural del periostio y hueso laminar en su zona de unión (hematoxilina-eosína 40 x).

Además mediante estereología, realiza una cuantificación de los volúmenes relativos de los tejidos. Observa diferencias significativas entre las tres zonas. La medición de diferentes parámetros de las células, que se asemejan a fibroblastos, revela importantes diferencias entre las células de la zona I y las de las otras dos zonas. Considera que las células de la zona I pueden representar las células osteoprogenitoras. La zona II representa la clásica "capa de cambio" y contiene la mayoría de los elementos vasculares del periostio, mientras que la capa III contiene el mayor volumen de fibroblastos y fibras de colágeno.

1.5.2. Vascularización

El periostio recibe su vascularización a través de tres vías: el músculo esquelético que lo recubre, el hueso cortical adyacente y las anastomosis con los vasos proximal y distal, siendo la primera y la tercera las más importantes.

En el periostio se han descrito dos plexos vasculares (Whiteside 1980):

1. plexo superficial, de gran densidad, que yace sobre el estrato fibroso del periostio y que por el número y tamaño de sus vasos parece ser su principal aporte sanguíneo. Este plexo posee múltiples anastomosis con los vasos musculares y fasciales vecinos, así como con los plexos vasculares proximales y distales de las metafisis. Simpson 1985 en su estudio sobre la vascularización del periostio de huesos largos, sugiere que la capa de vascularización intrínseca del periostio discurre entre la capa fibrosa y la capa de cambio, es decir entre las capas II y III descritas por Squier. Parece

aproximarse a los datos volumétricos aportados por éste, que encontraba un mayor volumen en la capa II o capa de cambio y tan sólo la mitad en la capa III o capa fibrosa.

2. Plexo profundo, situado en la capa de cambio y relativamente escaso, hecho que se halla en contradicción como hemos apuntado con las observaciones volumétricas.

Este se anastomosa con los vasos de la cortical ósea y con los de la red de la capa fibrosa. En las zonas de inserción muscular en que el periostio se fusiona con el epimisio, los capilares del plexo profundo parecen prolongación de los capilares perifibrilares del músculo (Simpson 1985). En las zonas donde el vientre muscular yace sobre el hueso pero no se origina en él, el epimisio y el periostio están separados y el músculo tiene un movimiento de cizallamiento relativo sobre el hueso, que parece impedir la existencia de vasos músculo-periosticos, sólo se aprecian ramas que alcanzan el periostio desde los septos fasciales intermusculares (Simpson 1985).

En las zonas donde el periostio está en contacto directo con una fascia existe un sistema de anastomosis por vasos fascioperiosticos.

El periostio puede actuar como una vía de aporte vascular colateral para el hueso cortical cuando está lesionado (Trueta 1974, Whiteside 1978).

1.5.3. Inervación

El periostio es una estructura ricamente inervada, en la que se han

encontrado fibras nerviosas mielínicas y amielínicas, predominando estas últimas (Cooper 1968).

Algunos nervios del plexo perióstico finalizan en el propio periostio, mientras que otros éntnan en los canales de Volkman de la diáfisis ósea o a través del agujero nutricio o de los pequeños agujeros vasculares de las metáfisis y epífisis (Miller1963).

Se han descritos cuatro tipos de terminaciones nerviosas, pero pueden reducirse a dos: las libres y las encapsuladas.

A las terminaciones nerviosas encapsuladas a modo de glomérulos se las compara a los cuerpos de Krause de las articulaciones, pues parecen estar relacionadas con la percepción de la sensibilidad profunda.

A las terminaciones nerviosas libres se les asigna un papel en la mediatización del dolor .

1.5.4. Capacidad diferenciadora de las células periósticas.

Los estudios realizados con el periostio para determinar su capacidad en formar hueso y cartílago tienen su inicio en el siglo XVIII (Duhamel 1742). Desde entonces hasta la actualidad, numerosos investigadores se han preocupado y las opiniones han sido dispares. Esta situación ha sido debida a las particulares características intrínsecas del propio tejido y al efecto de factores extrínsecos sobre el mismo.

Durante el proceso de reparación de las fracturas, la aparición de cartílago, en la llamada fase intermedia de la condrogénesis de reparación, es un hecho bien comprobado. La diferenciación en estadios posteriores hacia la formación de hueso o cartílago va a depender de una serie de factores: grado de vascularización del medio (Ham 1930), concentración de oxígeno (Basset 1962), estabilidad mecánica y circulación perióstica (Trueta-Cavadiás 1974).

Al analizar la capacidad diferenciadora del periostio, nos encontramos nuevamente con esta dualidad de factores ya mencionados. Para una mayor comprensión hemos agrupado en un primer apartado las experiencias dirigidas a la obtención de hueso (osteogénesis) y hemos hecho lo propio con aquellas donde se obtiene hueso y cartílago (Osteocondrogénesis) y aquellas donde sólo aparece cartílago (condrogénesis).

Osteogénesis

En el inicio de este siglo, Axhausen 1908-1956 demuestra la capacidad del periostio para formar hueso a partir de unas determinadas células. Mediante experiencias in vitro con periostio de embriones de pollo Fell 1932 logra su osificación. En 1952 Urist valora el potencial osteogénico de diversos tejidos blandos introducidos en la cámara anterior del hueso. El periostio demuestra un moderado potencial, que alcanza el 50% de formación cuando utiliza ratas jóvenes y aumenta esta cifra si procede de la región vecina a una fractura previa. Considera que la formación ósea a partir de las células transplantadas se debe a la supervivencia y proliferación de las mismas mediante su "actividad osteogénica". Este proceso por el cual las células del receptor son activadas, mediante el contacto con las células transplantadas, lo

denomina **inducción**.

En 1955 Cohen y Lacroix trasplantan injertos periósticos en tres áreas distintas (cámara anterior del ojo, cápsula renal y la propia superficie tibial desnuda de perióstio) y en dos grupos de conejos de diferente edad. Observan la variabilidad en la formación de hueso y analizan los supuestos estímulos que inducen a la misma. Consideran que el factor local de carácter químico (enzimático) tiene un mayor protagonismo sobre los factores mecánico y vascular. La aparición de cartílago en determinados injertos resultó ser un hecho no mencionado previamente y en algunas ocasiones se observó en este cartílago áreas con formación de hueso, elaborado mediante un proceso semejante a la osificación endocondral.

En el mismo año 1955 Trueta y Cavadias (1974) resaltan el importante papel de la circulación perióstica y las propiedades osteogénicas del periostio.

La localización en la capa interna o capa de cambio del periostio de células dotadas de capacidad diferenciadora fue determinado por Tonna 1963. Este obtiene hueso con el empleo de injertos periósticos y osteoperiósticos, cuyas células previamente han sido marcadas con Timidina Tritiada, para su ulterior identificación.

Del mismo modo, se pronuncia Ritsila 1972 al realizar, en conejos de distintas edades, trasplantes de periostio de calota en diferentes regiones y observa la aparición gradual de hueso así como la no reabsorción de los mismos con el tiempo. Manifiesta que el poder osteogénico reside en la capa profunda o "capa de cambio" del periostio.

Esto le permite apuntar su aplicación clínica en la reparación del síndrome fisurado y otras patologías con defectos óseos, si bien ya había sido realizado previamente por Skoog 1967 al emplear colgajos periósticos en algunos casos clínicos y en un trabajo experimental con conejos.

Aprovechando este procedimiento King 1976 trata de resolver la pseudoartrosis congénita de tibia. Para ello realiza en perros jóvenes colgajos periósticos tubulares y observa la osificación de los mismos. Utilizando también perros, Finley 1978 demuestra el mayor potencial osteogénico de los injertos vascularizados de periostio costal frente a los injertos libres.

En 1978 Uddstromer considera que la capacidad osteogénica del periostio es mayor en los individuos jóvenes y lo atribuye a una mayor vascularización y al predominio de células precursoras de osteoblastos.

Poussa 1979 compara la capacidad osteogénica del injerto libre de periostio con injertos osteoperiosticos de 200 nm de espesor y observa el efecto de inhibición que realiza la cortical sobre las células de la capa profunda o "capa de cambio". De nuevo Poussa 1980 a-b compara en primer lugar la capacidad osteogénica entre injertos libres de periostio, injertos osteoperiósticos de 100 nm de espesor e injertos osteoperiosticos de grosor completo y afirma que en los dos primeros es similar mientras que en el tercero es muy inferior. Analiza la secuencia en el tiempo del proceso de osteogénesis y el retraso en los injertos osteoperiósticos lo atribuye al déficit o lentitud en el proceso de vascularización. En segundo lugar estudia el proceso de vascularización de injertos libres de periostio y osteoperiósticos

de 100 nm de espesor implantados en los músculos paravertebrales y observa que en los primeros los vasos se introducen por la capa profunda del periostio mientras que en los segundos lo hacen a través de la cortical.

Osteo-condrogénesis

Una vez localizada la ubicación de las células con capacidad para formar hueso, diversos estudios han ido dirigidos a determinar la influencia de otros factores (medio, médula ósea, grado de vascularización y concentración de oxígeno).

Poussa 1981 analiza la capacidad proliferativa de las células periósticas al colocarlas en tres diferentes medios condrotróficos y observa el importante papel de la vascularización. Así pues, cuando está presente obtiene hueso y por el contrario cartílago cuando se halla ausente, aunque considera que otros factores locales pueden actuar.

Rubak 1983 observa la influencia de las células de la médula ósea de la cresta iliaca en la capacidad diferenciadora de las células periósticas de injertos libres. Cuando dichas células entran en contacto con las células del hueso esponjoso se consigue un mayor estímulo en la formación de hueso.

En 1988 Jaroma y Ritsila, estudian el potencial osteo-condrogénico de las indiferenciadas células mesenquimales del periostio. Mediante el transplante de las mismas en músculo, utilizando el método de difusión a través de cámaras de Nucleopore*, observan la aparición de hueso y cartílago sólo dentro de las cámaras y la influencia del tamaño del poro en la capacidad

diferenciadora.

Nakahara en 1990,1991 estudia "in vitro" el potencial osteocondrogénico de las células periósticas de la tibia de pollos jóvenes, mediante liberación enzimática y diversos cultivos celulares. Determina con pruebas específicas (anticuerpos monoclonales) la capacidad de diferenciación en hueso y cartílago. Concluye afirmando que derivados de células periósticas de pollos jóvenes contienen células mesenquimales que poseen el potencial de experimentar una diferenciación fenotípica osteogénica o condrogénica en función del medio o de su posición.

Condrogénesis

En el anterior apartado hemos revisado la capacidad diferenciadora del periostio en hueso y cartílago, en función de una serie de factores. Resulta difícil introducir estudios exclusivamente sobre el proceso de neocondrogénesis y de cualquier modo en la revisión histórica van a ser desarrollados todos ellos.

En 1982a Rubak intenta dilucidar si el tejido cartilaginoso formado deriva de un injerto perióstico implantado o del hueso subcondral. Para ello realiza defectos osteocondrales en el surco intercóndileo femoral de la rodilla de conejos, los recubre con un fragmento de periostio libre procedente de la metáfisis tibial e interpone un filtro de Nuclepore* cuyo poro es de 0.4 mm. y no permite el paso de células y vasos. Los animales son colocados en sus jaulas sin inmovilización alguna y a las ocho semanas sacrificados. En el estudio histológico observa la rotura de la membrana, el recubrimiento por

hueso de la base del defecto y por un tejido similar al cartílago en la superficie del mismo. Paralelamente realiza en otros conejos un defecto condral-osteocondral, a modo de escalera, y encuentra una mejor calidad en el tejido neoforado procedente del defecto profundo respecto al superficial.

Mediante cultivos de células periósticas humanas, procedentes de niños intervenidos Uchida (1988) estudia las propiedades biológicas de estas células. Realiza los cultivos celulares, los implanta en cámaras de difusión bajo la piel del dorso de la rata y determina la actividad de la fosfatasa alcalina y la capacidad de síntesis de glucoasaaminoglicanos, así como el efecto de la administración de vitamina D₃, calcitonina y paratohormona. En las cámaras de difusión aprecia cartílago y los condrocitos se disponen en columnas dirigidas hacia la membrana. La vitamina D₃ muestra un efecto estimulador tanto en el aumento de la actividad de las fosfatasas alcalinas como en la síntesis de los glucosaaminoglicanos. La calcitonina también estimula la síntesis de estos últimos y la paratohormona no provoca ningún efecto.

En la búsqueda del origen de las células del tejido neoforado tras el recubrimiento de grandes defectos osteocondrales, Zarnett (1987, 1989) realiza dos experiencias. En la primera, realiza un marcaje del injerto libre de periostio con timidina tritiada y observa la presencia de células marcadas en el tejido regenerado, que demuestra su procedencia. Ante la duda de si todo el tejido regenerado procede de la diferenciación de las células periósticas realiza la segunda experiencia. En ella implanta un aloinjerto de periostio de un conejo de sexo distinto al receptor y determina mediante

cultivo celular el cariotipo de las células. Encuentra en un 33% cromosomas del sexo del donante y el 66% restante es mixto, por lo que cabe considerar que las 2/3 partes del tejido regenerado tienen su origen en las células pluripotenciales del hueso subcondral y el resto de manera exclusiva en las células periósticas.

Para finalizar, a modo de resumen, debemos señalar que el periostio es un tejido dotado de unas células mesenquimales situadas en su capa interna, con un potencial de diferenciación que va a depender de sí mismo y del entorno que lo rodea. La capacidad y grado de respuesta en formar hueso o cartílago va a depender de la edad del individuo, del medio donde se encuentre (condrotrófico o no), de la presencia de vasos, concentración de oxígeno y de la acción de determinadas hormonas.

1.6. BIOMATERIALES

Un biomaterial es un material utilizado con fines terapéuticos, que entra en contacto con los tejidos del cuerpo durante un tiempo suficiente para que la interacción entre ambos permita llevar a cabo su finalidad.

La búsqueda de biomateriales empezó hace ya mucho tiempo, y así se han encontrado prótesis implantadas en momias y dispositivos de cierre de trepanaciones en las mismas. Durante el presente siglo numerosos estudios se han ido realizando ante la capacidad de provocar o responder experimentalmente con neoformaciones de carácter maligno en la implantación de materiales sólidos. Por el contrario en su aplicación clínica esta respuesta no tenía lugar y esta disociación despertó el interés de diferentes médicos y cirujanos, hasta el punto de que se empezaron a crear diversas Sociedades, algunas de índole estatal, y un ejemplo es la reciente Sociedad Europea de Biomateriales, fundada en 1990.

1.6.1. Biocompatibilidad

Se define como la capacidad de un biomaterial de ser utilizado, con una respuesta apropiada del tejido vivo, en una aplicación específica.

Para determinar el grado de biocompatibilidad deberá evaluarse su acción tanto en su lugar de aplicación como en el resto del sistema.

Dos aspectos deberemos tratar, en primer lugar los factores que controlan la biocompatibilidad del material y en segundo lugar la respuesta del huesped.

Los factores que atañen al biomaterial vienen determinados por sus propiedades químicas, mecánicas, físicas y biológicas. La respuesta del huesped vendrá determinada por una serie de fenómenos que se describen como procesos iniciales en la superficie del biomaterial, respuesta local, degradación del biomaterial y respuesta sistémica.

Para valorar el grado de biocompatibilidad existen una serie de tests que se realizan a dos niveles: in vitro e in vivo. Los más significativos son: grado de hemólisis, test de citotoxicidad, toxicidad sistémica, reactividad intracutánea y sensibilización..

Otro aspecto a considerar, es la biofuncionalidad y la entendemos como la capacidad del biomaterial de realizar su función a lo largo de la duración de misma. En el caso de los materiales biodegradables este aspecto debe ser considerado de manera inversa.

1.6.2. Biomateriales biorreabsorbibles.

Denominamos materiales bioestables aquellos que cumplen su función durante todo el tiempo posible y biodegradables o biorreabsorbibles (Vert 1986) aquellos que condicionan su actuación terapéutica a un tiempo determinado.

La biorreabsorción es un proceso de pérdida de las propiedades iniciales del material al entrar en contacto con un medio vivo. Puede ser debido a una transformación química, un envejecimiento físico, a la acción de diversas enzimas o a la acción fagocitaria de los macrófagos.

Numerosos biomateriales biorreabsorbibles son conocidos y dependiendo de su naturaleza pueden ser clasificados en diferentes grupos: mineral (cerámicas, coral); polímeros naturales (gelatina, fibrina, dextrano, polisacáridos modificados); polímeros sintéticos orgánico-mineral (polifosfocenos) y polímeros sintéticos (poliamidas, poliésteres, etc.).

De los diferentes grupos hemos seleccionado una cerámica compuesta de fosfato tricálcico e hidroxapatita como material de nuestro estudio.

Cerámicas

Desde Albee 1920 se ha utilizado la cerámica en forma de fosfato tricálcico en la reparación de pérdidas óseas, pero es en los últimos veinte años cuando ha habido un relanzamiento en el estudio de la estructura de los materiales minerales. Esto obedece a la necesidad de utilizar injertos óseos en diversos procedimientos de reparación de pérdidas o defectos. Cuando se utilizan autoinjertos, éstos no están exentos de morbilidad, dada la posible aparición de complicaciones locales y la lenta recuperación del hueso donante. El empleo de aloinjertos evita estos problemas, pero en el momento actual con la aparición del SIDA y los problemas inmunológicos propios del tejido plantean dificultades para su utilización. Los xenoinjertos ofrecen los mismos problemas inmunológicos y las características del material no suelen ser apropiadas. Estos argumentos han inducido al estudio y empleo de los diferentes biomateriales minerales (cerámicas) por su baja o nula respuesta tóxica e inflamatoria.

Dada la composición del hueso, con un alto porcentaje (75%) en fosfato

cálcico resulta lógico el empleo y estudio de materiales que esten constituidos por fosfato cálcico. Hay un numeroso grupo de compuestos que presentan añadidos otros minerales o bien presentan modificaciones en la estructura del fosfato cálcico, como el fosfato tricálcico o la hidroxiapatita.

Fosfato Tricálcico

Los fosfatos tricalcicos $[Ca_3(PO_4)_2]$ pertenecen al grupo de cerámicas que son denominadas “bioactivas” en cuanto que el hueso es fusionado directamente con el material o también son considerados como “extensores” (Glowacki 1991) para el propio hueso autógeno.

Los fosfatos tricálcicos presentan la propiedad de la “osteoconducción” que, a diferencia de los otros dos mecanismos de incorporación de los injertos (osteogénesis y osteoinducción), se caracteriza porque su estructura sirve de andamiaje para el crecimiento en su interior de hueso nuevo, gracias a la penetración de vasos y osteoblastos migrados de los márgenes del defecto. De manera gradual sufren el proceso de reabsorción o degradación para ser sustituidos por hueso. Este proceso de reabsorción está regido por diversos factores intrínsecos al material y son objeto de confusión y controversia.

Hidroxiapatita

La hidroxiapatita ha sido sido ampliamente ensayada como material implantable en forma de hueso artificial, puesto que se obtiene de hueso natural eliminando constituyentes orgánicos como colágeno y polisacáridos. Recientemente, la hidroxiapatita ha sido sintetizada y utilizada para fabricar

diversas formas de implantes: sólidos, porosos y en recubrimientos.

La hidroxiapatita $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ no presenta la propiedad de reabsorción, pero en cambio la resistencia a compresión, tracción y flexión es muy superior a los fosfatos tricálcicos y al hueso (del orden de cuatro a seis veces más). Al igual que los fosfatos tricálcicos el grado de biocompatibilidad es excelente, como resultado de su enlace químico con los tejidos duros.

La síntesis o producción de hidroxiapatita se ha desarrollado a partir de una solución acuosa de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ y NaH_2PO_4 . Los precipitados se filtran y secan para formar un polvo de finas partículas. Después de calcificarse durante unas tres horas a 900° para promover la cristalización, el polvo se prensa a su forma final y puede sintetizarse entre 1050 y 1450° durante tres horas (proceso de sinterización).

Uno de los factores más discutidos en el mecanismo de osteoconducción es el tamaño de los poros. Durante el proceso de sinterización, la acción de determinadas sustancias (H_2O_2 , naftaleno) determinan el tamaño del poro (macroporo), mientras que la temperatura y el tiempo de duración condicionan el tamaño del microporo (Peelen 1977).

Klawiter 1971 considera necesario, que el tamaño del macroporo sea superior a $100 \mu\text{m}$. para que tenga lugar el depósito de hueso y se establezca una interconexión entre los poros. Groot 1980 atribuye al microporo la capacidad de reabsorción del material, independiente de sus composición química.

Jarcho (1981) investiga la solubilidad de diferentes cerámicas de fosfato cálcico y afirma que en medios tamponados ácidos o alcalinos el fosfato tricálcico se disuelve en mucho mayor grado.

La presencia de células multinucleadas (macrofagos, células gigantes de cuerpo extraño) en la proximidad del biomaterial apunta hacia la teoría de la acción fagocitaria (Cameron 1977).

Los fosfatos tricálcicos presentan una acentuada debilidad mecánica (física) y así lo destaca Osborn (1980). Las propiedades mecánicas (físicas) del material dependen de la situación final del mismo; el fosfato tricálcico, dado su grado de reabsorción y sustitución por hueso, no depende exclusivamente de sí mismo, sino que intervienen las propiedades mecánicas del hueso nuevo.

La interrelación de estas observaciones ha originado la necesidad de obtener preparados, que esten compuestos de ambos tipos de cerámicas y aporten por tanto sus cualidades individuales. El objetivo final será lograr, en definitiva, un biomaterial capaz de cumplir las propiedades fisiológicas del hueso.

La respuesta biológica frente al implante y la situación final de éste ha sido estudiada por numerosos autores, tras crear defectos óseos y rellenarlos con las diversas cerámicas.

Cutring 1972 emplea FTC en forma de granulos y observa una degradación progresiva (reabsorción), que a los 48 días es del 95%, sin reacción inflamatoria local y aparición de un tejido fibroconectivo.

El proceso de reabsorción es atribuido por Peelen 1977 a la acción fagocitaria de los macrófagos y observa a los seis meses una reducción del 60% de los implantes de HA porosa en forma de bloques. Rejda 1977 utiliza FTC y considera que son los osteoclastos los encargados de esta función.

Uchida 1984 implanta tres diferentes cerámicas (alumina, HA, FTC), de diferentes tamaños de poros, en el hueso parietal de ratones y conejos. Obtiene una neoformación de tejido conectivo y apenas algo de hueso. La reabsorción es similar en los tres diferentes grupos y no está influenciada por el tamaño del poro.

Eggl 1988 analiza los comportamientos de dos cerámicas (HA, FTC), de dos tamaños distintos de macroporo. El estudio histológico e histomorfométrico determina que el FTC de pequeño poro (50-100 μ m.) presenta una mayor reducción porcentual y es debido a la acción de células semejantes a osteoclastos y a los macrofagos. La HA se reduce tan sólo un 5.4% y se observan poros sin recubrimiento óseo.

En 1987 Brill estudia la ultraestructura de la interfase hueso-HA mediante microscopía electrónica de barrido. Observa en una visión tridimensional la propagación de filamentos de colágeno, que partiendo del hueso se dirigen a las partículas de HA. Considera que la conexión entre ambos no es sólo mecánica sino también química. Fig. 5



Fig. 5

Visión mediante microscopia electrónica de barrido de la unión directa entre la hidroxiapatita y el hueso (500 x) (foto cedida por Dr. Brill).

Nagase 1991 coloca subperiosticamente, en la mandíbula de conejos, bloques de FTC-HA-solución de ácido polisacárido. A las doce semanas destaca la ausencia de reacción inflamatoria, de degradación de los preparados, la aparición de macrófagos y una progresiva disminución del tejido fibrovascular, acompañada de un aumento de neoformación ósea.

La aplicación clínica de estas cerámicas ha tenido lugar, con buenos resultados, en el campo de la Cirugía Maxilofacial y Odontología. Generalmente se recomienda, cuando el defecto óseo es grande, la aplicación simultánea de la cerámica y un injerto óseo autólogo. Waisbord 1986 realiza artrodesis lumbosacras en ocho pacientes, con una mezcla de hueso procedente de cresta ilíaca y dos diferentes cerámicas (HA policristalina y β -FTC, en forma de bloques y cuyo tamaño de los poros era de 200-400 μ m). En ninguna de las artrodesis realizadas con HA se obtuvo la consolidación, mientras que fue del 80% en los implantes de FTC.

Recientemente el estudio sobre la aplicación simultánea de cultivos de células medulares y cerámicas ha despertado el interés de varios investigadores (Ougushi 1989, Goshima 1991). En vista de los resultados obtenidos, se ha considerado a la cerámica como un buen sustituto del hueso, atribuyéndolo a su excelente actuación como vehículo de reparto de las células dotadas de potencial osteogénico y a su peculiar estructura porosa, que facilita esta función.

Coral

La aplicación del coral en la reparación de defectos óseos ha sido posible

gracias a sus características estructurales y mecánicas, determinadas por el valor de su resistencia a la fractura, muy superior al valor del hueso esponjoso (Chamberlain 1978), y por su potencial de reabsorción.

Entre las diversas especies de coral, la *Porites Goniopora* ha sido la más ampliamente empleada (Guillemin 1986, Holmes 1986).

Para la aplicación experimental y clínica es preciso la transformación del carbonato cálcico, original constituyente, en una réplica en HA.

El proceso biológico de incorporación ósea es análogo al de las cerámicas, de una forma centrípeta y sin reacción inflamatoria.

Holmes 1986 en un estudio histológico e histomorfométrico determina los porcentajes de hueso, coral (Interpore 500*) y tejido fibrovascular. Observa un progresivo aumento de formación ósea, sin evidencia de degradación del coral y una relación hueso/ tejido fibrovascular similar al hueso esponjoso, por lo que considera válida su aplicación en clínica.

En 1988 Bucholz presenta los resultados de 40 pacientes intervenidos por presentar una fractura de la meseta tibial, donde se aplicó un autoinjerto de hueso esponjoso en la mitad de los casos y en los restantes un bloque de coral (Interpore*). El estudio histológico realizado en siete pacientes, mediante biopsia ósea local, reveló la ausencia de respuesta inflamatoria y de remodelación ósea. Las escasas diferencias en los resultados entre los dos grupos permite considerar a este material como una alternativa al injerto óseo en la reparación de los defectos presentes en estas fracturas.

El análisis de los estudios realizados sobre estos biomateriales nos permite deducir su alto grado de biocompatibilidad. En función de sus características estructurales y mecánicas, la elección vendrá condicionada por la situación del defecto.

La asociación con autoinjertos óseos o con aspirados de células medulares permite incrementar la integración del biomaterial, gracias al proceso de osteoconducción.

El FTC presenta un mayor grado de reabsorción y por este motivo fue seleccionado para nuestro estudio, tras haber considerado la localización del defecto óseo.

1.7. COLAS - ADHESIVOS

1.7.1. Biológica (adhesivo de fibrina)

Introducción histórica: La utilización de la fibrina como elemento hemostático tiene su inicio a principios de este siglo. Posteriormente hacia la mitad del mismo es utilizado en las anastomosis nerviosas y en el anclaje de injertos cutáneos. En 1972 Matras emplea la fibrina como adhesivo biológico, al unir nervios periféricos de conejos con un crioprecipitado de fibrinógeno.

Desde la realización del primer simposio internacional en Viena (1985), sobre la utilización del adhesivo de fibrina, numerosos trabajos clínicos y experimentales han sido desarrollados.

Componentes y modo de aplicación: El preparado comercial recibe el nombre de Tissucol*, Tisseel*, o Fibrin - Kleber Human Inmuno* y se presenta como un kit que contiene polvo liofilizado, trombina liofilizada, cloruro cálcico y solución de aprotinina. Estas sustancias se mezclan para formar dos componentes: el adhesivo y la solución de trombina. Para la preparación del adhesivo, la proteína concentrada (incluye principalmente fibrinógeno y factor XIII) es disuelta con un inhibidor de la fibrinólisis (Aprotinina, mientras que la trombina es reconstituida con una solución de cloruro cálcico. La mezcla a su vez de estos dos componentes va a dar al preparado las características de adhesión .

La aplicación de estos dos componentes se realiza con la ayuda de una doble

jeringa y una aguja o un spray.

Propiedades del adhesivo de fibrina: El estudio de diferentes adhesivos naturales, basado en preparaciones de fibrinógeno, y su comparación con adhesivos sintéticos ha sido realizado por Redl 1986 observando las siguientes ventajas y desventajas entre ambos.

	<u>adhesivo de fibrina</u>	<u>acrilatos</u>
Aplicación en area humeda	posible	imposible
adhesividad	buena	mejor
elasticidad	muy buena	ninguna
compatibilidad	excelente	escasa
absorción o degradación	completa	ninguna
hemostasia	excelente	ninguna
capacidad de curación de heridas	posible	imposible
aplicación en hueso y cartílago	posible	imposible
tejido de granulación extraño	ninguno	presencia constante
riesgo de infección por virus	ninguno	ninguno

Lisis y absorción del adhesivo de fibrina: la aplicación del adhesivo de fibrina (AF) generalmente se realiza en terrenos humedecidos y éstos pueden actuar como una barrera en la absorción del fibrinógeno. Para poder determinar la óptima composición del sistema adhesivo de fibrina- trombina, cuando se estudia la resistencia a la fibrinolisis, Pflüger 1986 analiza in vivo la lisis mediante el incremento progresivo de aprotinina a I¹²⁵- AF y observa que la cifra máxima es de 1500 KI/ml. de coágulo y que cifras mayores no

actuarían sobre la estabilidad del AF. Además estudia el efecto hemostático del mismo realizando resecciones parciales de riñones en ratas y destaca el papel de los macrófagos en el proceso de reabsorción sin observar afectación ulterior en el parénquima renal.

La reabsorción del adhesivo de fibrina es usualmente rápida y tiene lugar alrededor de la segunda semana. En cambio Vachon 1991, tras preparar un adhesivo de fibrina específico, pues no está autorizado el uso de este preparado por la F.D.A. en U.S.A. observa todavía residuos transcurridas 16 semanas.

Acción del adhesivo de fibrina en la curación de las heridas: El adhesivo de fibrina tiene un triple efecto en la curación de las heridas. En primer lugar un efecto hemostático, que evita la formación del hematoma; por lo tanto el proceso de absorción y posible organización del hematoma no tiene lugar y desaparece la influencia del hematoma en la calidad del tejido de granulación. En segundo lugar, si bien la adhesividad del preparado de fibrina es limitada y no es propiamente su objetivo, la función de adaptación de las superficies alteradas cuando se compara con la barrera creada por los adhesivos sintéticos. Y en tercer lugar, el excelente sustrato que proporciona para el crecimiento de fibroblastos la estructura de este preparado.

Gracias a las cualidades y efectos que posee el adhesivo de fibrina se utiliza en Traumatología y Ortopedia, en la reparación de fracturas articulares, condrales u osteocondrales. El pegado de fragmentos exclusivamente cartilaginosos con AF no permite siempre regenerar tan rápidamente el tejido y se debe a la acción fibrinolítica que provoca en la profundidad.

La utilización del AF en el pegado de injertos de periostio, en el tratamiento de osteocondritis disecante y osteonecrosis de los cóndilos de la rodilla, fue realizado por primera vez por Niedermann 1985. Los resultados fueron similares a los obtenidos en el campo experimental con el uso de este injerto sin AF. Posteriormente ha sido utilizado de manera experimental en la reparación de defectos condrales y osteocondrales, empleando el AF como elemento de fijación en injertos de pericondrio autólogo, asociado a una fijación externa (Ohlsén 1983, Widenfalk 1986, Homminga 1989); xenoinjerto de pericondrio (Homminga 1991); injertos de periostio (Vachon 1991), obteniéndose resultados variables que pueden deberse a las características propias del injerto y no al efecto del AF.

El relleno de defectos óseos experimentales con una mezcla de AF y cerámica porosa (fosfato cálcico) ha sido realizado por Palacios-Carvajal 1986. Demuestra que la incorporación del AF aumenta la degradación de la cerámica o favorece la capacidad osteogénica de la misma y resalta el buen papel osteoconductor de la mezcla. Por el contrario Pochon 1986, si bien observa mediante métodos histomorfométricos la disminución de los porcentajes de hidroxiapatita y fosfato tricálcico, afirma que el AF provoca un escaso efecto en el proceso de osteoconducción y osteogénesis.

1.7.2. Cianocrilatos

Los cianocrilatos (CA) constituyen un grupo de sustancias que, tras su introducción en el mundo de la industria como colas o adhesivos, presentan unas propiedades de adhesividad y fácil aplicación que han permitido su empleo en diversos campos de la Cirugía.

Han sido utilizados como adhesivos de tejidos blandos, piel, tendones (Bonutti 1988) y en la reconstrucción de fracturas osteocondrales (Weber 1984, Harper 1988). En sus inicios los resultados podían considerarse satisfactorios, pero posteriormente la aparición de infecciones y desplazamientos secundarios ha hecho cambiar la impresión inicial.

El grado de compatibilidad de estas sustancias ha cuestionado la utilización de los mismas. La aparición de reacciones inflamatorias o de reacción "a cuerpo extraño", en este grupo, ha obligado a realizar modificaciones en su cadena estructural. Así han surgido los butil-CA y los iso butil-CA que presentan un menor índice de toxicidad y resultan relativamente inocuos para el hueso y cartílago (Harper1988).

La absorción o degradación de estos productos es muy limitada y por ello su aplicación debe ser restringida a tan sólo algunos puntos de la superficies que se pretenden unir (Harper), puesto que puede actuar a modo de barrera.

La capacidad inductora o neoformadora de hueso por parte de los CA ha sido estudiada por Ekelund 1991. La neoformación de hueso de modo experimental fue realizada según el clásico procedimiento descrito por Urist 1965. Se introdujo en la pared abdominal de ratas fragmentos de matriz ósea alogénica desmineralizada (MOAD) y se comparó con una mezcla de ésta y un cianocrilato (Histoacryl* n- butil-2-cianocrilato). La aparición de una intensa reacción inflamatoria y la ausencia de formación de hueso fueron signos indicativos de su acción frenadora en el proceso inductor. Por este motivo recomienda que sean empleados con precaución, ya que pueden actuar inhibiendo la consolidación de las fracturas.

1.8. METODOS DE REGENERACION DEL CARTILAGO ARTICULAR LESIONADO

1.8.1. Abrasión

Superficial o afeitado

El afeitado del cartílago articular es un procedimiento habitual durante la realización de una artroscopia cuando se encuentra una afectación del cartílago tipo condromalacia. A pesar de ya haber sido demostrada la incapacidad de reparación espontánea del cartílago, cuando se crean defectos superficiales, los pacientes refieren a corto y medio plazo una mejoría del cuadro álgico que presentaban, sin que se tenga una justificación de ello.

Paradójicamente Schmid 1987, al revisar en clínica los efectos sobre el cartílago de un afeitado motorizado, ha observado la pérdida de la congruencia de la superficie articular, un incremento de de la fibrilación e incremento de necrosis en la profundidad del defecto y en los bordes del mismo.

En el terreno experimental recientemente Kim 1991 realiza con fresa motorizada defectos superficiales de 3 mm. de diámetro en el cartílago rotuliano de conejos. Los somete a movilización libre intermitente o movilización continua pasiva durante dos semanas y realiza el sacrificio en diferentes periodos. No objetiva signos de reparación del cartílago en ninguno de los grupos y en los bordes del cartílago adyacente aparece necrosis celular.

Profunda o espongiación

Si bien en ambos procedimientos se realiza un defecto profundo en el cartílago que llega hasta el hueso subcondral, los diferenciaremos atendiendo a si se realiza de forma manual, con un escoplo o de forma motorizada con una fresa. Habitualmente, el primero se realiza mediante artrotomía mientras que el segundo se realiza durante la artroscopia.

El término *espongiación* ha sido utilizado por P. Ficat 1978 para describir el procedimiento quirúrgico de resección del cartílago articular, incluyendo la placa ósea subcondral en las lesiones ulcerativas del mismo.

En un estudio en perros, Ferrer-Roca y Vilalta 1979, realizan defectos osteocondrales con un escoplo cilíndrico en los cóndilos de las rodillas. Comparan el tejido neoformado cuando el defecto ha sido rellenado con injertos de la metafisis tibial que comprenden hueso medular, hueso medular y cortical y hueso medular, cortical y periostio a los que previamente se les ha realizado pequeñas perforaciones con una aguja. El sacrificio de los animales se realizó en períodos variables desde 42 a 206 días y sólo se obtuvo cartílago hialino en los defectos recubiertos por hueso medular o periostio, si bien este último posteriormente se deterioró.

Gomar-Sancho 1986b realiza en dos series de conejos la resección del cartílago articular rotuliano. En la primera la resección es parcial y observa la formación de nidos celulares y la progresiva desaparición o ulceración del resto del cartílago hasta llegar a visualizar el hueso subcondral. En la segunda la resección es total (espongiación) y observa que, si bien el

tejido de granulación parecía fibrocartílago, progresivamente degenera hasta llegar a desaparecer completamente hacia las 36 semanas.

Tercedor-Sanchez 1987 realiza la espongiación de la rótula en 16 pacientes afectados de lesiones graves del cartílago. Obtiene un 66.6% de buenos resultados y el tejido regenerado presenta características de fibrocartílago y cartílago hialino, con predominio de este último. Estos resultados son corroborados mediante un estudio experimental en conejos, donde observa una disposición atípica de los condrocitos (formaciones isogénicas coronarias).

Recientemente, Kim 1991 realiza *abrasiones profundas* en el cartílago rotuliano de conejos y los somete a movilización activa intermitente (MAI) o movilización pasiva continua (MCP), durante las dos semanas iniciales. La capacidad de reparación es variable y alcanza un 75% de cartílago hialino como tejido predominante en el grupo sometido a MCP y sacrificio más tardío, mientras que en ningún defecto del grupo sometido a MAI y sacrificio temprano aparece este tejido.

1.8.2. Perforaciones

La realización de perforaciones en áreas de la superficie articular, desnudas de cartílago y con un tejido de características ebúrneas, ha sido una técnica utilizada desde 1959 cuando fue descrita por Pridie. Su objetivo es estimular la formación de cartílago a partir de la lesión producida en la profundidad.

En 1967 Insall revisa 62 casos operados por Pridie según su procedimiento

y la valoración objetiva de los mismos alcanzó un 64% de buenos resultados.

En el campo experimental, Mitchell 1976 realiza en la superficie articular de rodillas de conejos un defecto condral con un escoplo y lo perfora hasta llegar a hueso subcórndral, creando de 20 a 30 pequeños defectos de 1 mm de diámetro. Entre dos y cuatro meses después, los defectos estaban recubiertos y sobreelevados por un tejido en cuya base se hallaban células de aspecto semejante a condrocitos al observarlos con microscopía óptica y electrónica. En los bordes se evidenciaba una considerable actividad mitótica mediante el marcaje con Timidina tritiada. Con el transcurso del tiempo se produjo un deterioro de las superficies de los defectos, caracterizado por la presencia de un tejido fibrocartilaginoso, evidente tanto en las superficies de carga como en las libres de carga.

Bajo la acción de la MCP Salter 1980, tras realizar defectos en número de cuatro, de 1 mm. de diámetro y que alcanzan el hueso subcondral en diversas zonas de la articulación de la rodilla, obtiene en conejos adolescentes y adultos un 52 y 44% respectivamente de reparaciones, que presentan las características del cartílago hialino.

1.8.3. Modificación de Cargas

La alteración del reparto de las cargas en una articulación comporta la desalineación progresiva de la misma. En clínica, se traduce por la aparición de dolor y deformidad y es objeto de tratamientos quirúrgicos (Osteotomías), que persiguen la realineación y un mayor equilibrio en el reparto de ellas sobre las superficies articulares. Estos datos clínicos son

reflejo de un proceso degenerativo del cartílago, que está sometido a una mayor presión.

Experimentalmente, ya hemos visto el deterioro del cartílago articular cuando esta sometido a compresión. De forma análoga, la realización de una desalineación experimental va a inducir la aparición de un deterioro en los cartílagos articulares sometidos a un aumento de carga. En esta línea, Reimann 1973 realiza osteotomías transversales subtuberositarias de la tibia en conejos, provoca una desalineación en valgo de unos 30° (29-36°) y la sintetiza con una placa adaptada. El estudio histológico, realizado entre 10 y 12 semanas después, objetiva una alteración selectiva de los cartílagos del platillo tibial y cóndilo femoral externo, que se traduce por una pérdida de la metacromasia en las capas superficiales y un discreto aumento del espesor del hueso subcondral.

Posteriormente, diferentes investigadores han realizado experiencias similares provocando siempre el deterioro del cartílago articular. Recientemente, Solchaga 1992 ha estudiado también el efecto de la desalineación axial en valgo, al realizar en corderos jóvenes con fisis fértiles, una distracción fisaria distal del fémur, inmediata o progresiva, con un fijador externo de Chamley. El estudio histológico del cóndilo externo, tras el sacrificio a los cinco meses, evidenció un proceso degenerativo localizado sólo en las capas superficiales, con aparición de una banda pálida, atribuible a la pérdida de glucosaminoglicanos.

En clínica, diferentes autores (Merchant 1989, Kristensen 1989) han observado la tolerancia a largo plazo del cartílago articular, después de

desalineaciones motivadas por fracturas.

Después de la realización de una osteotomía correctora de una desalineación axial, pocos autores han intentado averiguar el supuesto proceso reparativo del cartílago articular que corroborase la mejoría clínica de su cuadro álgico. La realización de una biopsia del cartílago afecto, mediante artroscopia pre y postosteotomía, permitió comparar a Odembring 1992, transcurridos dos años, el estado del cartílago en ambas situaciones, en 16 pacientes afectados de gonartrosis interna. Aunque el grado de degeneración inicial era variable, observa que en los casos de hipercorrección existe un proceso reparativo del cartílago.

1.8.4. Movilización

La inmovilización articular, como hemos referido anteriormente, produce un deterioro del cartílago y una menor capacidad de reparación intrínseca de las lesiones cartilaginosas.

El papel del movimiento en la formación y desarrollo del cartílago articular ha sido demostrado por diversos autores (Drackman 1966, Hall 1968, Thorogood 1979).

Una enorme controversia ha sido suscitada, en la práctica clínica y, en menor grado en el campo experimental, sobre la conducta postoperatoria a seguir en las lesiones intraarticulares.

Movilización precoz

En 1956 Hohl revisa 726 fracturas de los platillos tibiales y establece una clasificación de las mismas. Aquellas que presentan un moderado hundimiento, o no están desplazadas, son tratadas en un primera fase mediante inmovilización con yeso o tracción, durante dos o tres semanas, para luego iniciar una segunda fase de movilización activa. En un estudio experimental con seis monos, crea defectos en el surco intercóndileo de ambas rodillas y, mientras una es inmovilizada, la otra permanece libre. Tras realizar el sacrificio en períodos diferentes, observa siempre una mejor reparación en las rodillas que habían permanecido libres, con un tejido cartilaginoso hialino, en aquellas áreas sujetas a una mayor fricción y presión durante el movimiento articular.

El análisis de los resultados clínicos y experimentales le permite afirmar que la movilización precoz es un excelente procedimiento como conducta postoperatoria de las fracturas de los platillos tibiales.

Treinta años después, Gausewitz y Hohl 1986 revisan nuevamente el tratamiento de las fracturas de los platillos tibiales. En aquellas fracturas no intervenidas y tratadas con inmovilización, observan que el grado de flexión no decrece significativamente, incluso en períodos prolongados de hasta diez semanas. Por el contrario, en las rodillas intervenidas, cuando la inmovilización es superior a las seis semanas, la pérdida del rango de movilidad es muy importante.

Por tanto, consideran que, en las fracturas tributarias de tratamiento

ortopédico, el tiempo de inmovilización no es un factor determinante para la obtención posterior de un mayor o menor grado de movimiento. En cambio, en las fracturas tratadas mediante reducción abierta y osteosíntesis estable, deben ser sometidas a la movilización precoz.

Movilización continua pasiva

Salter 1982 en su conferencia de despedida como Presidente de la Sociedad Canadiense de Ortopedia, cuyo título fue "Movimiento versus Reposo" o también ¿Porque inmovilizar las articulaciones?, hizo un extraordinario resumen histórico de todos aquellos Traumatólogos y Ortopedias que han defendido una u otra postura y los enfrentamientos existentes entre ellos. En el campo experimental, todos los modelos desarrollados han demostrado que, cuando se compara la inmovilización con la movilización libre, ésta proporciona una mejor reparación de la lesión o del defecto condral. En la práctica clínica numerosos autores citados en su conferencia, y en particular el Grupo AO de Suiza, se suman a los resultados experimentales y argumentan los beneficios de la movilización libre y precoz. A tenor de estos razonamientos, Salter se plantea la siguiente pregunta ¿Si la movilización libre intermitente es buena para el cartílago, la movilización continua pasiva podrá ser mejor?.

La respuesta a esta pregunta aparece en numerosas publicaciones y, en particular, una en 1989 que resume los 18 primeros años de utilización de la movilización continua pasiva en diversas patologías, creadas experimentalmente en su laboratorio de la Universidad de Toronto. El resultado de la utilización de la MCP es siempre superior en los procesos de

reparación y de neorregeneración del cartílago articular respecto a la movilización libre.

1.9. PROCEDIMIENTOS DE REPARACION DE DEFECTOS CONDRALES Y OSTEOCONDRALES.

1.9.1. Evolución histórica de la reparación con injertos (experimentación animal - aplicación clínica).

El cartílago articular, como sabemos en el momento actual, posee una limitada capacidad intrínseca de reparación espontánea. Esta limitación ha obligado a utilizar otros tejidos, cuyo potencial de diferenciación celular permite la transformación de sus células en condrocitos que poseen la capacidad de neoformar cartílago.

Pericondrio: Experiencias en animales

El potencial condrogénico del pericondrio fue documentado inicialmente por Tizzoni 1878 y confirmado posteriormente por Haas 1914. En la década de los años setenta aparece una nueva corriente de investigadores interesados en determinar la capacidad condrogenica del pericondrio. A la cabeza aparece Skoog 1972, que tras analizar la deformidad en "oreja en coliflor", generalmente producida por traumatismos directos o torsiones y cuya característica es el excesivo desarrollo del cartílago auricular, intenta su reproducción de forma experimental. Para ello, realiza un defecto en el cartílago auricular en conejos jóvenes, previo despegamiento y posterior sutura del pericondrio. La progresiva aparición de cartílago tuvo lugar entre la primera y cuarta semana, fechas de sacrificio de los diferentes animales.

Siguiendo esta línea de estudio Ohlsen 1975 repite la misma experiencia,

pero introduce un coágulo de sangre entre el pericondrio despegado y el cartílago auricular subyacente. Durante las dos primeras semanas, el hematoma subpericondral es invadido por condroblastos y, alrededor de la quinta semana, ya se aprecia un tejido cartilaginoso con signos de maduración. Estos hallazgos, le permitieron deducir que la deformidad del pabellón auricular era debida a una lesión subpericondrial y, por tanto, debía drenarse el hematoma y resecar el pericondrio, para evitar la aparición de la mencionada deformidad.

La necesidad de la presencia de sangre en contacto con el pericondrio es un factor esencial para Ohlsen 1976a. Al implantar injertos libres de pericondrio, en diferentes regiones (subcutáneo, intramuscular, interfascial en el cuello, parénquima hepático), observa la formación de cartílago en 26 de los 30 casos, que iban acompañados de un coágulo de sangre, por sólo 2 de 26 casos que se implantaron sólo.

El potencial condrogénico del pericondrio es utilizado por Ohlsen 1976b para realizar defectos completos circunferenciales en la tráquea de conejos y perros. Observa la aparición de un nuevo tejido cartilaginoso en su lugar y la escasa formación de estenosis traqueales.

La identificación de sulfato de condroitina en el tejido regenerado, después de la creación de defectos cartilaginosos auriculares y traqueales, permitió a Wasteson 1977 afirmar que el pericondrio es capaz de regenerar auténtico cartílago. Para ello, administra previamente ^{35}S -sulfato y recubre los defectos con injertos libres de pericondrio auricular.

Incorporando el mencionado ^{35}S - sulfato a cultivos celulares, Upton 1981 observa la analogía entre los pericondrocitos y los condrocitos en la capacidad de sintetizar sulfato de condroitina.

La implantación, como un cuerpo libre intraarticular, de un injerto de pericondrio fue realizado por Vachon (1989). Toma pericondrio del esternón de caballos y, tras plicarlo sobre si mismo mostrando la capa interna, lo coloca en el interior de la articulación del tobillo. Los caballos inician un programa de movilización al día siguiente de la intervención y transcurridas ocho semanas el estudio histológico e histomorfométrico revela tan sólo un 16,66% de neocondrogénesis.

El reemplazo del cartílago articular por injertos libres de pericondrio ha sido realizado por diversos investigadores y como veremos en el sucesivo listado la articulación, la localización dentro de ella y la zona donante ha sido relativamente variable. Engkvist (1975) [glenoides humeral - pericondrio auricular], Ohlsén (1976) [cóndilo femoral y platillo tibial - pericondrio auricular], Engkvist (1979a) [rótula - pericondrio costal], Engkvist (1979b) [cóndilo femoral - pericondrio costal], Kon (1981) [platillo tibial - pericondrio auricular], Upton (1981) [rótula - pericondrio auricular], Ohlsén (1983) [cóndilo femoral - pericondrio costal], Coutts (1984) [rótula, surco intercóndileo femoral y cóndilo interno - pericondrio costal], Amiel (1985) [cóndilo interno - pericondrio costal], Widenfalk (1986), Woo (1987) [cóndilo interno - pericondrio costal], Homminga (1989) [surco intercóndileo - pericondrio costal], Billings (1990) [cóndilo interno - pericondrio costal], Homminga (1991) [cóndilo interno - pericondrio costal], Coutts (1992) [cóndilo interno - pericondrio costal].

La colocación del injerto dentro de la articulación, como hemos referido, ha sido diversa y la valoración de las diferentes zonas para el implante fue estudiado por Coutts (1984). Realizó, en tres grupos de conejos, defectos condrales en la superficie rotuliana, en el cóndilo interno y en el surco intercóndileo. El injerto de pericondrio fue fijado mediante suturas transóseas y la rodilla se inmovilizó en flexión de 90°. Se realizó el sacrificio a las dos semanas y se observó el completo recubrimiento en los defectos femorales y el desprendimiento en los rotulianos.

Si en los inicios, la zona donante fue el cartílago auricular, desde la experiencia de Engkvist (1979a), que compara en el conejo adulto el diferente potencial condrogenico *in vivo* e *in vitro* del pericondrio costal y auricular y afirma la superioridad por parte del costal, la adopción del pericondrio costal ha sido generalizada por el resto, exceptuando a Kon (1981) y Upton (1981).

La implantación del pericondrio, colocando su capa interna o profunda dirigida a la cavidad articular, ha sido un procedimiento habitual en todas las experiencias. Kon (1981) analiza las dos caras del injerto de pericondrio y obtiene un significativo predominio del tejido de reparación, cuando la capa interna mira a la cavidad articular (88%) y tan sólo un 40% cuando se halla enfrentada al hueso subcondral.

La movilización precoz y la movilización continua pasiva son dos procedimientos postoperatorios que permiten obtener mejores resultados en los procesos de reparación de las lesiones del cartílago articular. Al implantar un injerto de pericondrio existían dos problemas: a. método de

fijación, b. tiempo de inmovilización, para que el injerto hubiera prendido.

El procedimiento de fijación del injerto ha sido realizado, generalmente, mediante sutura de los bordes o mediante tunelización transosea, lo cual no estaba exento de dificultad si el tamaño del injerto era pequeño. Por esta razón, Ohlsén (1983), Widenfalk (1986) y Homminga (1989, 1991) utilizan un adhesivo de fibrina (Tiseel-Tissucol*) y una fijación externa durante un período no superior a dos semanas, con lo que obtienen una unión firme.

El tiempo de inmovilización, cuando no se ha utilizado un adhesivo de fibrina, ha sido sumamente variable. Kon (1981) y Amiel (1985) no inmovilizan la articulación y dejan libres los animales; Engkvist (1979c) inmoviliza durante sólo una semana; Engkvist (1979b) y Upton (1981) durante tres semanas. Coutts (1984), tras considerar que transcurridas dos semanas ya existe un razonable crecimiento del tejido neoformado, estudia el período de inmovilización considerado como ideal, y lo determina entre 7 y 10 días. Esta variabilidad en el tiempo puede obedecer a la diferente región de implantación dentro de la rodilla.

La aplicación de la movilización pasiva ha sido realizada por Homminga 1991. Previa inmovilización de dos semanas, somete las rodillas de los conejos a la movilización durante otras dos semanas, por un período de 8 horas/día. Tras utilizar un xenoinjerto, obtiene un tejido neoformado de características similares al cartílago control, con un 75% de colágeno tipo II. Coutts (1992) realiza la movilización pasiva con el mismo período de aplicación, pero de forma inmediata y lo compara con la movilización libre. En las fases iniciales, las características de los tejidos neoformados son

ligeramente superiores en el grupo sometido a movilización pasiva, pero trascurrido un año, son prácticamente iguales, sin mostrar signos degenerativos.

La naturaleza del tejido neoformado ha sido similar en las diversas experiencias, por cuanto el período de estudio ha sido relativamente corto al no superar las 16 semanas. Engkvist 1979b, tras reseca el cartílago articular de la rótula en perros y recubrir con un injerto de pericondrio costal, observa, entre el segundo y octavo mes, un gradual incremento de signos degenerativos en el tejido reparador y un mayor aumento de los mismos cuando el sacrificio se realiza a partir del año y alcanza los 17 meses.

La capacidad de neoformación del pericondrio fue estudiada por Engkvist 1979c y Upton 1981 al realizar el análisis de la actividad metabólica celular en el tejido neoformado. Para ello, inyectaron dentro de la articulación ^3H -timidina y ^3H -citidina respectivamente y en el estudio autorradiográfico se apreció una importante actividad mitótica celular, mayor cuando el animal era joven y de predominio en las capas superficiales.

Upton 1981 y Amiel 1985 realizan, en conejos, el análisis bioquímico del cartílago articular de la rodilla, del pericondrio auricular y costal, y del tejido neoformado en diferentes estadios de sacrificio. El estudio comparativo entre los diferentes tejidos permite afirmar la semejanza entre el cartílago normal y el tejido neoformado, gracias a la similitud en el porcentaje de colágeno, a la presencia moderada del tipo I, a la ligera disminución del tipo II y a la aproximación en los valores de

glicosaminoglicanos.

La realización de defectos osteonrales, su reemplazo por el propio hueso extraído y su recubrimiento con un injerto libre de pericondrio costal, ha permitido a Amiel 1985 y Coutts 1992 observar la capacidad condrogénica del pericondrio y la unión del tejido neoformado con el propio injerto óseo ya remodelado.

Billings 1990 realiza un defecto similar y el reemplazo óseo lo substituye por un aloinjerto de matriz ósea desmineralizada. Mediante una tabla de valoración, que puntúa diferentes aspectos del tejido neoformado, obtiene 4.2 de valor medio, cuando lo recubre con el injerto pericóndrico y 3.8 sin recubrimiento; siendo 8 puntos el máximo alcanzable. Señala la función de plataforma inductora de la neocondrogénesis por parte de la matriz ósea desmineralizada.

Las propiedades biomecánicas del tejido regenerado han sido estudiadas por Woo 1987 y Coutts 1992. La respuesta viscoelástica, medida por el módulo de fricción, confirma la similitud del tejido neoformado con el cartílago normal y resulta mayor con el transcurso de las semanas.

Pericondrio: Experiencia clínica

La utilización del pericondrio como injerto libre en la reparación de transtornos o lesiones del cartílago articular ha tenido un limitado papel y los diferentes autores lo han implantado en pequeñas articulaciones.

Engkvist 1975 y Skoog 1976 presentan una serie de cinco pacientes afectos de lesiones articulares (una infecciosa postraumática de la M-F de un dedo de la mano, cuatro rizartrosis) tratados con implantación de un injerto de pericondrio costal y un caso de recubrimiento óseo, tras exéresis del tercio proximal de una falange del pie, en una paciente afecta de macrodactilia. La interposición de una lámina de silicona permitió la toma de una biopsia del cartílago en el momento de retirarla. El estudio histológico confirmó la regeneración del cartílago articular y corroboró la mejoría clínica evidenciada.

Con el transcurso de los años, se incrementa el número de pacientes intervenidos y aparecen nuevas publicaciones. Pastacaldi (1979) presenta la técnica de la artroplastia proximal de muñeca con la utilización de un injerto de pericondrio costal. En cuatro pacientes afectos de artritis reumatoidea destaca la notable mejoría que proporciona y reseña la posible realización ulterior de una artrodesis.

En el campo de la Cirugía de la mano, Engkvist 1980 amplía su experiencia con nuevos casos y nuevas patologías. Sully 1980 realiza los implantes en articulaciones metacarpofalángicas, afectas de patología reumática. Johansson 1981 explica nuevamente los detalles técnicos del procedimiento llamado "artroplastia de pericondrio", empleado ya anteriormente por Engkvist, e incorpora la utilización de un adhesivo de fibrina para facilitar el anclaje del injerto. Seradge 1984 destaca la utilización del pericondrio, en la reparación de diversas lesiones del cartílago articular de las articulaciones de los dedos de la mano.

La aplicación en otras localizaciones, al margen de la mano, ha sido muy limitada. Tajima 1978 reconstruye articulaciones temporomandibulares con injertos libres de pericondrio. Huid 1981 presenta el caso de un paciente afecto de condromalacia rotuliana postcontusiva, cuya porción de cartílago lesionado fue sustituida por un injerto libre de pericondrio costal. Transcurridos cuatro años, fue sometido a una artroscopia que mostró una ligera fibrilación sin apenas diferencias con el cartílago vecino.

Periostio: Experiencia en animales

El doble potencial de diferenciación de las células periósticas, de la capa interna o profunda, es un hecho ya establecido. En el apartado específico, hemos revisado las diferentes experiencias y opiniones que han permitido tal afirmación. A continuación pasamos a describir una relación histórica de los diferentes autores que han utilizado el injerto de periostio en el proceso de reparación de lesiones del cartílago articular.

La primera experiencia de implantación de un injerto de periostio dentro de la cavidad articular fue realizada por Rubak 1982a. Crea un defecto condral en el surco intercóndileo de las rodillas de conejos adultos y lo recubre con el injerto tomado de la metafisis proximal de la tibia, que presenta su capa profunda mirando a la articulación. Las rodillas no fueron inmovilizadas y el sacrificio de los animales se realizó en diferentes períodos. El aspecto macroscópico evolucionó con el transcurso del tiempo y a partir de la segunda semana ya aparecía recubierto por un tejido de carácter fibroso. Posteriormente adquiría una coloración blanquecina con un ligero halo delimitatorio con el cartílago vecino. El estudio histológico, en la segunda

semana, corroboró la presencia de células semejantes a condroblastos y abundante tejido neoformado. Entre la tercera y cuarta semana el tejido era similar a un cartílago joven, con hiper celularidad y un cierto grado de desestructuración. Cuando se aproximaba al año el tejido neoformado ya se asemejaba al cartílago vecino y aparecía la delimitación con el hueso subcondral.

Nuevamente Rubak 1982 b,c realiza otras dos experiencias. La primera tiene por objeto demostrar el origen del tejido neoformado y la segunda ver el efecto de la inmovilización y la movilización en el proceso de neoformación.

Siguiendo esta última experiencia y bajo la dirección de Salter, O'Driscoll 1984 introduce injertos de periostio a modo de cuerpo libre en la rodilla de conejos. Estos son plicados con la capa profunda del periostio dirigida a la cavidad articular y colocados en dos localizaciones diferentes. Los conejos son divididos en dos grupos y sus rodillas son sometidas al efecto de la movilización continua pasiva (MCP) o inmovilizadas en flexión. Entre la tercera y cuarta semana y tras la MCP se obtuvieron unos fragmentos blanquecinos de aspecto cartilaginoso, con condrocitos ovales rodeados de matriz extracelular. Por el contrario, cuando se habían inmovilizado, los fragmentos eran pequeños y sin aspecto cartilaginoso. En el 83% de los injertos sometidos a MCP se observó neocondrogénesis, por sólo el 46% en los injertos de las rodillas inmovilizadas.

O'Driscoll 1986 a,b realiza dos nuevas experiencias de reemplazo del cartílago articular por injertos libres de periostio. En la primera experiencia utiliza conejos adolescentes y realiza el defecto en el cóndilo femoral

interno. Este llega hasta el hueso subcondral (3 mm de profundidad) y es realizado con una fresa de 3.5 mm de diámetro. El defecto creado es reemplazado por un injerto óseo recubierto de periostio invertido, tomado de la metáfisis proximal de la tibia. Los conejos se dividen en varios grupos y las rodillas se someten a inmovilización, movilización libre y MCP durante dos semanas. Al cabo de cinco semanas se sacrificaron los animales y se observó que el cartílago hialino era el tejido predominante en el 70% de los tejidos neoformados correspondientes al grupo sometido a MCP y escasamente un 10% en los restantes grupos.

En la segunda crea un gran defecto que abarca todo el espesor del cartílago, en el surco intercóndileo femoral de conejos adultos y adolescentes. Los defectos en un grupo son recubiertos por periostio colocado con la capa profunda hacia la articulación, en otro grupo es implantado sin invertirlo y en otro grupo el defecto no se recubrió. Las rodillas son sometidas a inmovilización, movilización activa libre intermitente y MCP (durante dos y cuatro semanas). Los resultados histológicos y bioquímicos a las cuatro semanas evidenciaron una franca superioridad en la naturaleza del tejido neoformado en el grupo sometido a MCP durante cuatro semanas.

La calidad del tejido neoformado, al igual que cuando el defecto no es recubierto, puede sufrir ciertas variaciones. O'Driscoll (1988) repite la experiencia anterior de crear un gran defecto y analiza transcurrido un año el tejido neoformado. El estudio comparativo con los resultados obtenidos a las cuatro semanas permite afirmar que los injertos sometidos a inmovilización y movilización libre presentan un ligero deterioro del tejido neoformado, hecho que no sucede con los sometidos a MCP.

En 1987 Jaroma realiza defectos en el cartílago rotuliano de conejos y los sustituye por injertos libres de periostio. Los injertos son colocados en un grupo con la capa profunda mirando a la articulación y en otro de manera inversa. El primer grupo es sometido a inmovilización, mientras que el segundo es dividido en dos series y sometidos a inmovilización y movilización libre respectivamente. Los resultados son ligeramente superiores en el primer grupo, en que se implantó el injerto con su capa profunda intraarticular.

En la experiencia de O'Driscoll 1984, los injertos libres de periostio plicado y colocado como un cuerpo libre neoformaban cartílago hialino en un 59% cuando eran sometidos a MCP y en un 8% si permanecían inmovilizados. Cuando a la inmovilización con yeso se le suma la parálisis de los músculos del miembro inferior provocada por la sección de los nervios femoral y ciático, los injertos siguen neoformando cartílago hialino (63% sometidos a MCP, 13% inmovilizados). Esta experiencia sugirió a Delaney 1989 que el potencial condrogénico de las células periósticas de la capa profunda puede ser influenciado por el medio sinovial articular y no exclusivamente por el movimiento.

En un trabajo ya referenciado por tratarse de un estudio comparativo sobre la capacidad condrogenica entre el injerto libre de pericondrio y periostio, Vachon 1989 afirma que cuando se introducen fragmentos como cuerpos libres en la cavidad articular, las células de la capa profunda de ambos tejidos son activadas por diferentes causas y adquieren el potencial de neoformar cartílago. La incidencia de neocondrogénesis fue mucho mayor en los injertos de periostio (83.33%) que en los de pericondrio (16.66%),

atribuible quizás a la dificultad técnica del despegamiento del pericondrio esternal de los caballos.

Vachon 1991 a,b en dos publicaciones distintas realiza el estudio morfológico y bioquímico del tejido neoforado a partir de injertos de periostio implantados en defectos osteocondrales en la articulación radiocarpiana de caballos. Los injertos fueron colocados con su cara profunda mirando a la articulación, fijados con un adhesivo de fibrina y se sometieron a un programa diario de movilización. Los resultados histológicos, histomorfométricos y bioquímicos demostraron el carácter fibroso del tejido neoforado y no se encontró diferencias respecto a un grupo control donde sólo se había aplicado el adhesivo de fibrina en el defecto.

Mow y otros 1991, en un artículo muy exhaustivo, en cuya introducción se comentan: las particulares características del proceso de reparación del cartílago articular, los factores biológicos que se oponen, los efectos del movimiento y presión, la capacidad de los injertos de periostio y pericondrio, el potencial del cultivo celular de condrocitos junto a injertos de periostio, el efecto de la aplicación de determinados factores de crecimiento; presentan un nuevo modelo de reparación de los defectos osteocondrales. Estos son realizados en la región posterosuperior del cóndilo femoral interno de la rodilla del conejo y son rellenados con un disco de PMMA y un polímero de HTR (polihidroxietilmetacrilato), envueltos con un fragmento de periostio libre, en el que su capa profunda mira a la articulación. Los animales permanecieron sueltos en sus jaulas y se sacrificaron a las ocho semanas. El análisis histológico, bioquímico y biomecánico del tejido neoforado confirmó la naturaleza cartilaginosa del

mismo, pero existían ciertos aspectos que generaban dudas sobre su supervivencia a largo plazo.

Recientemente Salter 1992 y Moran-Salter 1992 han presentado una misma experiencia que simula el proceso degenerativo de asiento rotuliano. Realizan defectos subcondrales de 3-4 mm de anchura en el cartílago rotuliano de la rodilla de conejos. Estos son sometidos a movilización libre o MCP y ésta proporciona mejores resultados.

Periostio: Experiencia Clínica

Al igual que sucedió con el injerto de pericondrio, la utilización del injerto de periostio en la práctica clínica es bastante limitada.

Ritsila 1980 presenta la aplicación de injertos libres de periostio tibial y pericondrio costal en tres pacientes afectados de severas lesiones condrales en la rodilla. Al cabo de un año realiza una artroscopia en dichas rodillas y observa la regularidad de la superficie articular. En el estudio histológico del tejido regenerado, tomado mediante biopsia, observa la presencia de cartilago hialino.

Niedermann 1985 publica los primeros resultados en cuatro pacientes afectados de osteocondritis del condilo interno femoral y uno afecto de una osteonecrosis postcortisonica del condilo externo. El defecto existente fue recubierto exclusivamente por un injerto libre de periostio invertido y fijado con adhesivo de fibrina (Tisseel*). La evolución del proceso reparador fue seguida mediante estudio radiológico y artroscópico a los tres, seis y doce

meses, observándose el progresivo endurecimiento del tejido neoformado hasta asemejarse al cartílago vecino.

Korkala 1988, 1991 repara tres lesiones condrales rotulianas post luxación rotuliana traumática y tres casos de osteocondritis disecante del cóndilo interno femoral mediante la implantación de un injerto osteoperiostico con la capa superficial enfrentada a la articulación. La impresión subjetiva de los pacientes era satisfactoria en todos los casos, con un seguimiento máximo de cinco años. El examen artroscópico realizado en dos pacientes objetivó una correcta fijación del tejido neoformado y ligera fibrilación en sus márgenes.

En 1990 Hoikka presenta una larga serie de trece casos [incluye los tres primeros pacientes de Ritsila 1980] afectos de patología degenerativa en el cartílago rotuliano. Previo al injerto de periostio, la gran mayoría ya habían sido intervenidos con otros procedimientos técnicos y la magnitud de la lesión se determinó mediante una artroscopia. La fijación del injerto en la mitad de los casos se realizó con un adhesivo de fibrina. En la valoración tan sólo aparece un mal resultado.

Menisco

La reparación de defectos en el cartílago articular mediante la utilización de menisco demuestra la inquietud por la búsqueda de procedimientos biológicos, alternativos a la cirugía sustitutiva.

En 1982 Heatley inicia el desarrollo de este procedimiento, pero se encuentra con la dificultad de no existir un excesivo volumen del mismo en

nuestra economía. Por lo que se debe recurrir a los aloinjertos conservados.

En el campo experimental, Gomar-Sancho 1986-1987 empleando injertos autólogos ha demostrado su capacidad de sustituir al cartílago. Observa una firme adhesión al hueso subyacente y demuestra su nutrición a través de la vía sinovial (marcaje con timidina tritiada).

El empleo de aloinjertos frescos ha dado resultados análogos a los autoinjertos (Martin 1990) , pero cuando se han utilizado xenoinjertos [frescos (Martin 1991); conservados por congelación (Martin 1991) o conservados en glutaraldehido (Shahgaldi 1991) los resultados son francamente negativos, con un alto nivel de rechazos y escasa unión a los tejidos vecinos.

1.9.2. Cultivos hísticos

El aislamiento de condrocitos del cartílago articular fue realizado por Smith 1965, demostrando in vitro la supervivencia de los mismos a bajas temperaturas. Chesterman 1968 aísla condrocitos del cartílago articular de conejo, retira la matriz mediante un proceso enzimático (papaína, colagenasa, pronasa) y los injerta en un corte realizado en la superficie articular del húmero, obteniendo como reparación un tejido fibroso.

Bentley 1971-1978 presenta sus experiencias en aislamiento de condrocitos procedentes del cartílago articular y fisario. Observa la escasa supervivencia de los condrocitos articulares y un menor índice de rechazo en los fisarios, cuando son trasplantados en defectos articulares en los platillos tibiales de

conejos. Repite la experiencia utilizando condrocitos epifisarios con diferente grado de aislamiento, congelados y muertos. Los porcentajes de reparación con presencia de cartílago hialino en ninguno de los casos superó el 53%.

Una de las causas del bajo índice de reparación puede ser debido a la antigenicidad de los condrocitos. En 1974 Elves demuestra el papel protectorio de la matriz cartilaginosa, al demostrar primero la presencia de antígenos con un alto grado de histocompatibilidad con los linfocitos y en segundo lugar la disminución de los antígenos cuando el cartílago era tratado con papaína para el aislamiento de los condrocitos.

Los procedimientos de cultivos celulares aplicados a los condrocitos han permitido aumentar el número de células y mantener su fenotipo.

Recientemente se ha incorporado gel de colágeno [Itay 1987, Wakitani 1989] que proporciona una mejor fijación y un mejor medio para la síntesis de macromoléculas por la matriz.

1.9.3. Evolución histórica de los trasplantes

Tras haber expuesto los diferentes procedimientos de reparación de defectos en el cartílago articular, sólo nos resta exponer los auto y alotrasplantes.

Autotrasplantes.

Los autotrasplantes pueden ser clasificados en cuatro grupos: parciales (de

pequeño tamaño), en bloques (la mitad de una de las superficies articulares), hemiarticulares (la totalidad de una de las superficies articulares) y totales (diartrodiales-ambas superficies). Consideraremos parciales a los tres primeros grupos .

Parciales:

La primera experiencia de autotransplante tuvo lugar a principios de siglo a cargo de Judet 1908. Pap 1961, tras realizar en perros diversos modelos de transplantes en la región intercóndilea de la rodilla, sugiere que el espesor del injerto tiene una importante influencia en la incorporación y que los mejores resultados se obtienen cuando es menor de 5 mm.. El hueso esponjoso sufre un proceso de necrosis y es reemplazado gradualmente por tejido de granulación e invadido por células del hueso vecino hasta neoformar hueso.

Campbell 1963 lleva a cabo en perros una experiencia similar al reimplantar porciones del cóndilo interno, correspondientes a la zona de carga, de un espesor no superior a cinco milímetros, como recomienda Pap. Los resultados obtenidos, transcurridos 500 días fueron generalmente buenos.

El grado de viabilidad de los transplantes fue analizado por De Palma 1963. Mediante la determinación del porcentaje de incorporación de S^{35} - Sulfato en los condrocitos halló los mismos valores que en cartilagos sanos.

Lane 1977 repite la experiencia anterior y determina además los aspectos bioquímicos del cartílago transplantado. Al compararlos con otros dos

grupos (control y simulado) no encuentra diferencias y por tanto considera la viabilidad de los trasplantes.

La reparación de defectos condrales en la rodilla de niños motivó a Benum 1974 a realizar defectos osteocondrales cilíndricos en la rodilla de perros jóvenes y recubrirlos con injertos de cartílago fisario tomados de la cresta iliaca. El objetivo era determinar la capacidad de reparación mediante: 1. el efecto del estímulo mecánico sobre el cartílago fisario (cartílago de tracción) cuando era colocado en una superficie de carga y 2. el grado de supervivencia y deterioro del cartílago. Obtuvo una reparación incompleta en los defectos de cuatro milímetros de diámetro, caracterizada por el predominio del tejido fibrocartilaginoso en el centro de los defectos.

En el terreno clínico Palazzi 1977 presenta unos excelentes resultados en lesiones articulares reparadas con un injerto osteocondral procedente de la región próximal del cóndilo externo.

El espesor del injerto osteocondral trasplantado ha sido estudiado en el conejo por de la Caffiniere 1982. Después de realizar autotrasplantes de diferente grosor afirma que, en la practica clínica humana, el injerto debe ser considerado como un cubo y su tamaño debe guardar esta relación: superficie ósea = superficie cartílago x 4, y por tanto se debe olvidar el espesor de 5 mm. indicado inicialmente como ideal por Pap 1961.

Completo:

Después de las ya referidas experiencias de autotrasplantes parciales,

diferentes autores han realizado trasplantes completos articulares. En 1952 Herndorn realiza en perros el trasplante de rodillas y en diferentes etapas observa el proceso de revascularización y formación de hueso nuevo, consiguiendo un buen funcionalismo. En 1961 analiza diversos factores con objeto de predecir el resultado final. El tamaño, localización, inmovilización, tiempo de permanencia y edad del animal condicionan la supervivencia del trasplante y fundamentalmente es el stress mecánico anormal la principal causa de la destrucción articular.

Gracias a las nuevas técnicas microquirúrgicas, Goldberg 1980 reimplanta rodillas de perros, que amputa parcialmente (respetando nervios y venas). En aquellos casos que sobreviven, los implantes muestran una excelente función y el cartílago articular es normal. Cuando realiza aloinjertos el cartílago presenta defectos en el mismo y áreas de necrosis ósea.

Aloinjertos

La primera experiencia de aloinjerto fresco fue realizada por Lexer en 1908 y el buen resultado indujo a este mismo autor y otros (Herndorn 1952, Campbell 1963) a seguir en esta línea. Herndorn utiliza aloinjertos frescos y congelados sin encontrar diferencias entre ambos. Surgió el problema de la antigenicidad y diversos investigadores (Heinert 1973, Langer 1974) se ocuparon de su estudio. Para determinar el poder inmunológico utilizaron diferentes tests (migración leucocitaria, ^{51}Cr citotoxicidad), mientras que para demostrar la viabilidad del injerto utilizaron el S^{35} - Sulfato, observando que la matriz intracelular actúa a modo de barrera ante la agresión inmunológica.

En 1978 McKibbin reafirma esta opinión y considera necesaria la existencia de una adecuada nutrición para la supervivencia del injerto. Realiza transplantes en el mismo u otro lugar (orto-heterotópico) y observa la destrucción de estos últimos, atribuyendolo a la ausencia del líquido sinovial.

Volkof (1970) presenta los primeros resultados clínicos de 145 reemplazos articulares de diferentes modalidades mediante la utilización de injertos congelados. En un 12% de los casos se presentó un fenómeno de rechazo y los injertos debieron ser eliminados, atribuyendo el fracaso a una inadecuada inmovilización y a problemas de carácter inmunológico.

Posteriormente al igual que con el hueso, la idea de poseer un Banco de cartílago (hueso y cartílago) ha motivado numerosas publicaciones y encuentros (Gross 1976, Burwell 1985, Friendlander 1991, Mankin 1991).

Criopreservación del Cartilago Articular:

El almacenamiento y los procedimientos de transplante cartilaginoso estan clinicamente bien establecidos, pero los métodos y la eficacia de la preservación cartilaginosa estan todavía en fase de investigación. Dado que el cartílago está bien hidratado y es hipocelular, se pensó que se podrían adaptar las teorías y protocolos, que ya han sido aplicados con éxito a la criopreservación de suspensiones de células únicas, al cartílago articular y así conseguir niveles satisfactorios de preservación de estructura y funcionalidad.

La definición de "viabilidad" y "función" de los injertos de cartílago durante

estos estudios viene dada por: 1. La habilidad de la membrana celular de los condrocitos aislados de incluir y excluir tinciones supervitales como el Bromuro de Etidio o el Diacetato de Fluoresceína. 2. La habilidad de las células de incorporar citidina tritiada como indicador de la producción de RNA, 3. La habilidad celular de incorporar precursores radiomarcados de macromoléculas de la matriz en la propia matriz.

Estudios sobre condrocitos aislados:

Según los parámetros anteriores, la viabilidad del condrocito ha sido mejor cuando se usa el dimetil sulfóxido (DMSO) al 7.5 - 10% como crioprotector, con congelación lenta controlada (5° C / min) y rápida descongelación.

La valoración in vitro de la viabilidad de los condrocitos aislados, a pesar de habernos dado mucha información acerca de la aplicación de los principios aprendidos de otros sistemas celulares en la criobiología, sólo produce información incompleta en cuanto a la función de las células tras la criopreservación, y no puede cuantificar los efectos de estas manipulaciones en las funciones del condrocito, en la producción y degradación de la matriz, o en las funciones biomecánicas y biológicas del tejido intacto, el cartílago articular o la articulación diartrodial intacta.

Estudios sobre cartílago intacto:

La combinación de modelos matemáticos, mediciones biofísicas y valoraciones biológicas del cartílago articular producen un conjunto de herramientas indispensables para la investigación de la lesión por

componentes de las lesiones del trasplante, las lesiones provocadas por la criopreservación sobre el cartílago articular, de manera que puedan ser contestadas todas las cuestiones en relación con el destino a largo plazo de los aloinjertos de cartílago articular criopreservado.

2. OBJETIVOS DEL TRABAJO

El potencial condrogénico de las células de la capa profunda del periostio cuando este tejido es implantado en el interior de una cavidad articular es un hecho ya demostrado. La capacidad de biodegradación o biorreabsorción de los fosfatos tricálcicos y su ulterior reemplazo por hueso neoformado también ha sido demostrado en diversas experiencias donde se ha creado un defecto óseo. No siendo conocedor de ningún trabajo experimental en que intervengan ambos elementos, me he formulado una serie de interrogantes y las respuestas a éstas son el objetivo de esta tesis:

1. - Demostrar que la reparación de defectos osteocondrales en la rodilla del conejo puede tener lugar mediante la utilización de un biomaterial (fosfato tricálcico-hidroxiapatita) como sustituto del hueso y de un injerto libre de periostio como neoformador de cartílago.
- 2.- Determinar los efectos que tienen lugar sobre sí mismos cuando se interrelacionan.
- 3.- Determinar la repercusión en el cartílago vecino tras la creación del defecto.

Para responder a las dos primeras cuestiones, que en realidad son una misma, realizaremos el estudio histológico e histomorfométrico del tejido neoformado, con objeto de determinar la naturaleza del mismo, sus características estructurales, la presencia de osificación endocondral y el estado del biomaterial.

Para responder a la tercera cuestión realizaremos el estudio histológico del cartílago vecino, con objeto de observar el posible deterioro del mismo.

3. MATERIAL- METODO

3.1. ANIMAL DE EXPERIMENTACION

Hemos utilizado conejos albinos de raza New Zealand adolescentes machos, de tres meses de edad y un peso comprendido entre 2.3 y 2.9 Kg.

Los animales son sometidos a movilización libre permaneciendo en las jaulas metálicas standard (60 x 60 x 50) en grupos de dos, separados entre sí por una lámina también metálica. Se hallan en una sala con aire acondicionado, con una temperatura entre 22 y 24 ° C y una humedad relativa del 40-50%.

El estado general del animal es controlado a su recepción, diariamente después de la intervención, registrándose el peso inicial y final en el momento del sacrificio. El incremento medio de peso ha sido de 0,530 Kg. Las rodillas de los animales son observadas para descartar posibles infecciones, rigideces, fracturas y luxaciones de la rótula. Los animales reciben comida y bebida ad libitum.

3.2. PERIOSTIO Y BIOMATERIAL

El periostio procedente de la metáfisis tibial proximal, en su región interna, ha sido elegido por su fácil acceso quirúrgico y por ocupar una extensión suficientemente apta para nuestras necesidades.

El biomaterial empleado en nuestra investigación es una cerámica bifásica compuesta por un 80% de Fosfato Tricálcico y un 20% de Hidroxiapatita (Ostilit*), fabricada con una mezcla química húmeda, luego secada y sinterizada. El proceso de sinterización supone someter el material a una curva controlada de temperatura / tiempo.

De las dos modalidades de presentación (granulos y bloques) nos hemos inclinado por los granulos (Fig. 6), por la comodidad de aplicación y por la posibilidad de conseguir una mezcla de la cerámica y el propio hueso esponjoso en una proporción de 5: 1. Hemos utilizado granulos pequeños (1.0 - 1.4 mm.) con un factor de reabsorción y reemplazo óseo R-3, que significa que en el período de tres meses se alcanza un grado de desarrollo óseo que practicamente ha reabsorbido al biomaterial.

Las características de este preparado son las propias de las cerámicas, es decir, biorreabsorción (ligada al proceso de osteoconducción), resistencia a la presión, al impacto y flexión con un incremento gradual de la misma, y biocompatibilidad demostrada mediante las pruebas requeridas por el British Standard 5736 parte 1. (hemólisis, citotoxicidad, toxicidad sistémica, reactividad intracutánea y sensibilización) y por el efecto sobre la morfología del nódulo linfoide.

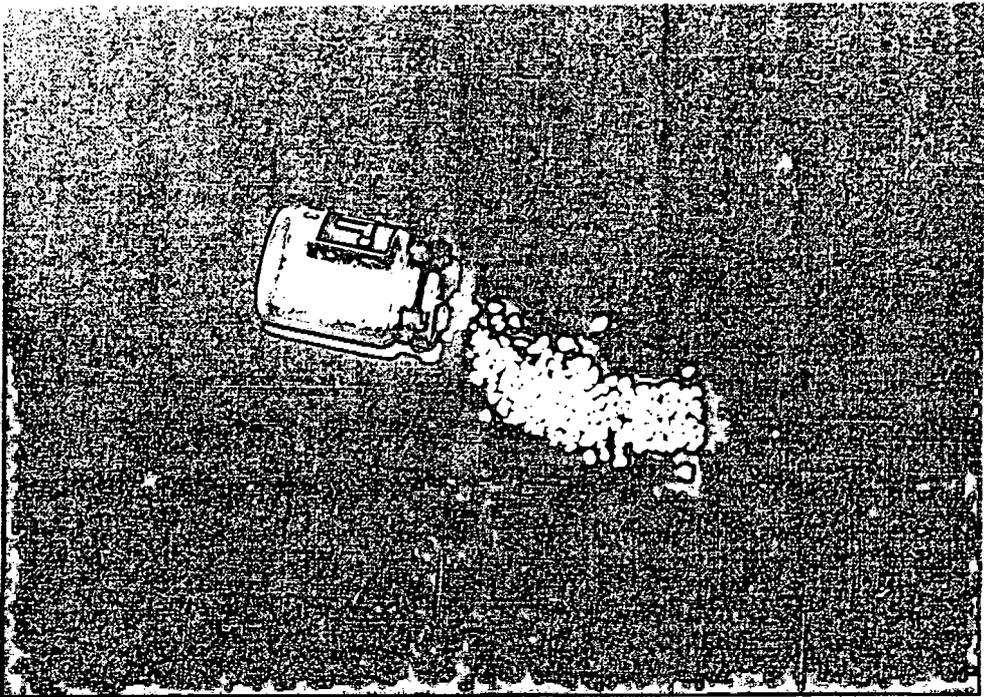


Fig. 6

Gránulos de fosfato tricálcico-hidroxiapatita utilizados en el relleno del defecto óseo.

3.3. ESTUDIO PRELIMINAR

El estudio preliminar consistió en la realización de diferentes procedimientos técnicos en la rodilla derecha de conejos albinos raza New Zealand de unos 3 Kg., y la aplicación de la Movilización Continua Pasiva en la mitad de los conejos durante las dos primeras semanas. En la rodilla izquierda se creó un defecto osteocondral que se dejó sin recubrimiento, considerándolo como control.

Los defectos fueron realizados con un escoplo, para los considerados mayores (generalmente rectangulares y de dimensiones alrededor de 7 x 10 mm), y con una trefina hueca circular de 3.5 mm para los menores (3.5 - 4 mm de diámetro). La localización para los mayores fue siempre el surco intercóndileo y los menores se realizó tanto en el surco intercóndileo como en el cóndilo interno.

La profundidad de los defectos fue considerada superficial para los condrales y profunda (3 mm) para los osteocondrales. El procedimiento de fijación de los injertos de periostio fue variable, para los injertos mayores se utilizó la sutura transósea o mediante un adhesivo del grupo de los cianocrilatos (Histoacryl*). En los injertos pequeños se utilizó en unos casos el adhesivo y en otros se dejó tan sólo apuesto sobre el defecto por la dificultad de administración.

Se utilizaron ocho conejos repartidos en dos grupos: a. defectos condrales mayores y menores (sin relleno de biomaterial) b. defectos osteocondrales menores con relleno de biomaterial y hueso local en la mitad de los casos y

con sólo el hueso local extraído en la otra mitad.

Utilizamos como aparato de Movilización Continua Pasiva (MCP) el modelo diseñado por Salter 1980, introduciendo ligeras variaciones y adaptándolo a nuestro entorno (Fig. 7a)

Se puede hacer funcionar simultánea o independientemente cada uno de los movilizadores, en número de tres. El movilizador se compone de un motor-reductor (Kelvin*) que desarrolla un ciclo por minuto. Este trasmite el movimiento circular a un barra vertical transformandolo en un movimiento ascendente-descendente. Con la ayuda de una biela se logra modificar el arco de movimiento impreso a las rodillas del conejo, habiendo determinado para la experiencia el valor de 40-110°, al igual que Salter. La barra vertical presenta adherida un pequeño tubo por donde se introduce el pie del conejo, de tal manera que permanece solidario con la barra durante su movimiento (Fig. 7b).

Los conejos permanecen suspendidos del techo de la estructura, pudiendo alcanzar facilmente su comida y bebida. La pierna contralateral se deja suspendida, sin ninguna inmovilización.

El sacrificio de los animales fue a las cuatro semanas en los que se había realizado un defecto condral y a las siete semanas en los osteocondrales. Cuatro de los animales fueron colocados en el aparato de MCP pero ante la dificultad para mantenerlos, por mala tolerancia y presentación de fracturas en la rodilla y tibia e infecciones, tuvieron que ser eliminados y por tanto no pudo valorarse el efecto de la misma sobre el tejido regenerado.

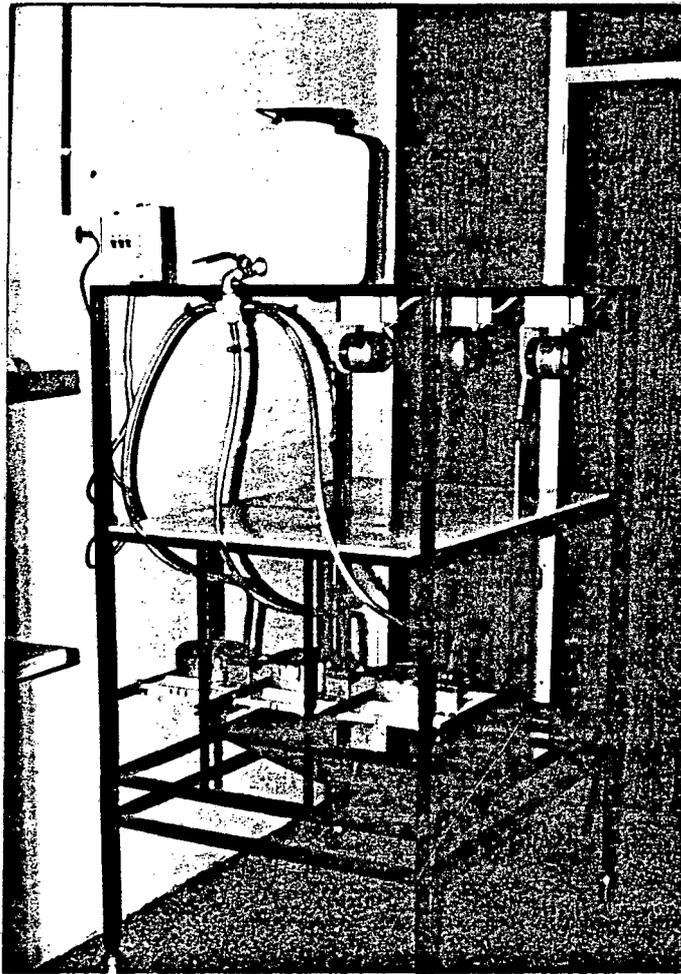


Fig. 7a

Máquina de movilización continua pasiva, dotada de tres unidades de funcionamiento autónomo compuestas de un motor-reductor y un sistema de conversión del movimiento circular en un movimiento ascendente-descendente.

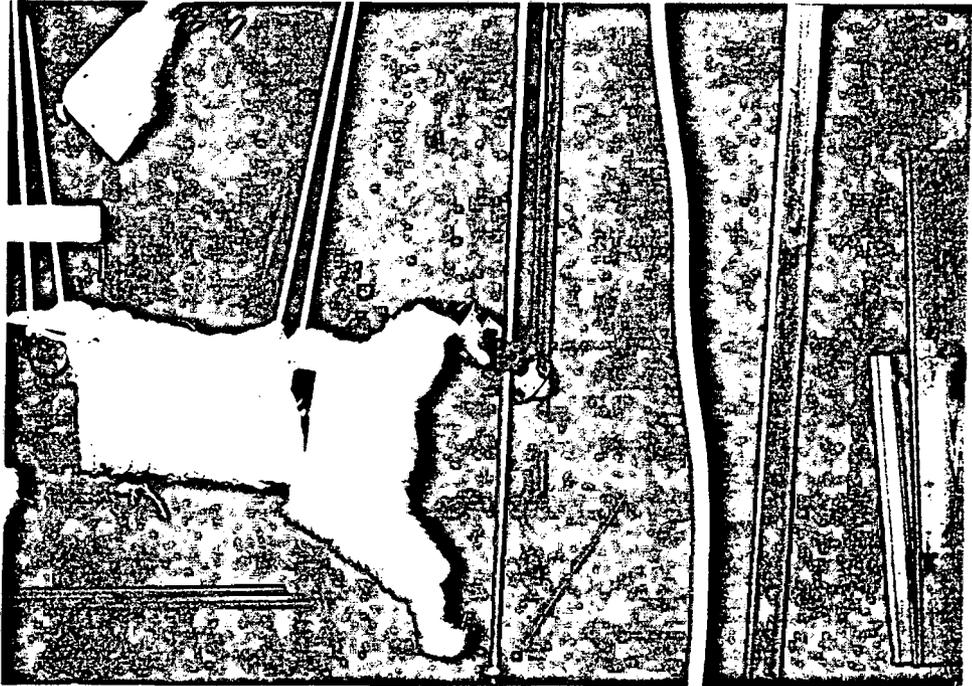


Fig. 7b

Posición de flexión de la rodilla durante una de las fases del sistema de movilización continua pasiva.

El diseño del estudio preliminar se muestra a continuación en la Tabla I

CONEJOS	DC-M Si	DC-mSi	DC-mCi/MSi	DOCmSi (2)	DOCmCi/mSi(B)	MCP	COLA
1	+					-	+
2	*					+	+
3		*				+	-
4				+		-	+
5					+	-	-
6						*	+
7					*	+	-
8						+	-

DC: defecto condral; DOC: defecto osteocondral; MSi: defecto mayor en surco intercóndileo; mCi: defecto menor en cóndilo interno; mSi: defecto menor en surco intercóndileo; B: biomaterial; MCP: movilización continua pasiva; COLA: adhesivo; + : válidos; * : anulados.

El tejido regenerado presentó grandes diferencias, tanto macroscópicas como histológicas. El defecto considerado mayor, en el surco intercóndileo, mostraba áreas de coloración blanquecina aperlada alternando con zonas amarillentas, sobreelevadas o desprovistas de tejido de aspecto cartilaginoso. El defecto realizado en el cóndilo interno mostraba un tejido semejante al cartílago hialino, pero mal adherido en sus bordes. En cambio, los defectos osteocondrales menores, realizados en el surco intercóndileo y sin adhesivo, presentaban un total recubrimiento y escasas diferencias respecto al cartílago vecino. En el estudio histológico se encontró un aumento del espesor del área del tejido neoformado, cuyas características eran semejantes al cartílago hialino. Figs. 8a y 8b.

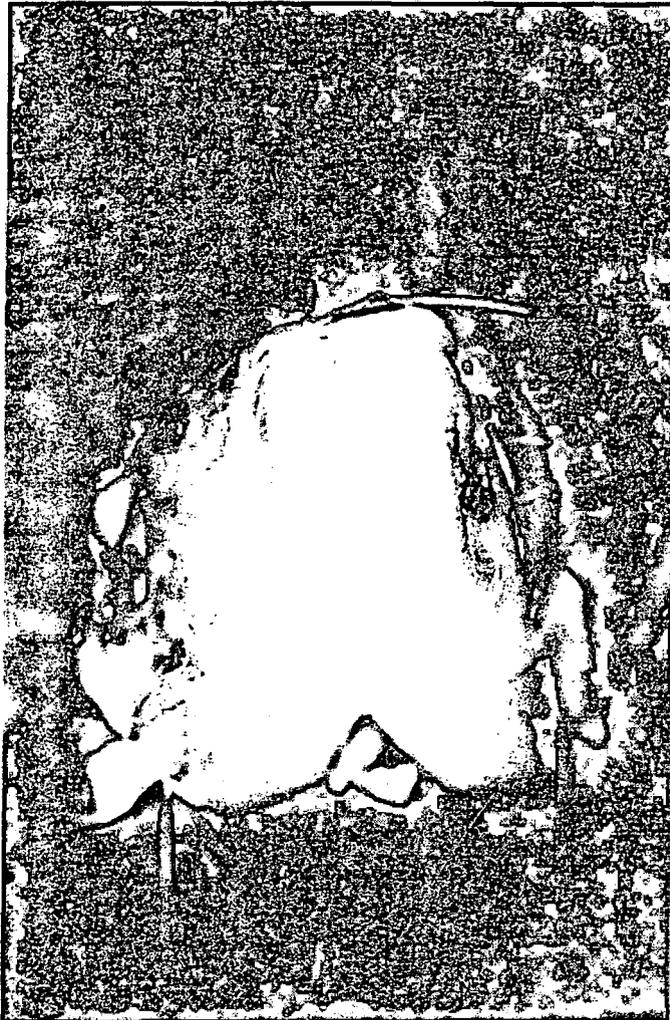


Fig. 8a

Aspecto macroscópico a las 7 semanas del tejido neoformado en los defectos creados en el surco intercondíleo de un conejo adolescente. El inferior se rellenó con su propio hueso local, mientras que en el superior se implantó una mezcla de biomaterial y de hueso local. Ambos se recubrieron con periostio invertido sin fijación alguna.



Fig. 8b

Corte histológico de uno de los dos defectos osteocondrales de la figura anterior, donde se observa un importante aumento del área de naturaleza cartilaginosa. La superficie es lisa, escasamente deprimida y presenta una correcta adhesión a los bordes. En las capas profundas la celularidad es abundante. El biomaterial implantado está muy fragmentado, reducido y limitado a la profundidad. (hematoxilina-eosina 80 x)

La rodilla izquierda, no injertada, en los restantes conejos útiles (cuatro) presentó un tejido con importantes alteraciones macroscópicas en su superficie y un predominio de tejido fibroso o fibrocartilaginoso en el estudio histológico.

Las conclusiones que pudimos obtener fueron:

1. El defectos condral mayor proporciono un peor resultado macroscópico y microscópico, con predominio de regenerado de tipo fibroso.
2. La utilización de una trefina de 3.5 mm era válida para realizar defectos en el surco intercóndileo y en menor grado para el cóndilo interno.
3. La aplicación del adhesivo requería un terreno completamente seco, pues de lo contrario producía un proceso de pseudocombustión y no permitía el encolado del injerto. La dificultad era mucho mayor en los defectos menores, por lo que se dejaron adosados sobre el defecto sin sobresalir del mismo, y en los conejos 5 y 8 no observamos migración del injerto.
4. La utilización de la MCP resultó, en nuestras manos, un lamentable fracaso y a pesar de intentar diversos procedimientos (sedación, etc.) no supimos resolverlo.
5. El tejido regenerado en los defectos osteocondrales sin recubrimiento (control) era de características fibrosas o fibrocartilaginosas.
6. Ante estas observaciones se planteo el grupo experimental con el siguiente diseño.

3.4. DISEÑO DEL TRABAJO EXPERIMENTAL

Grupo Experimental:

Está constituido por 25 conejos sometidos a movilización libre. Se utilizaron ambas rodillas y se creó un defecto circular osteocondral en el surco intercóndileo femoral en una zona del mismo que en situación de reposo la rótula no se apoyase sobre el mismo. Este defecto fue rellenado por el biomaterial (Fosfato Tricálcico-Hidroxiapatita) y recubierto por el injerto de periostio invertido, sin ningún tipo de adhesivo o sutura. El sacrificio de los animales se realizó a las seis semanas.

3.5. TECNICA QUIRURGICA

Anestesia

Siguiendo las líneas dictadas por el Consejo Canadiense de Cuidados en Animales (Guía de Uso y Cuidados en Animales de Experimentación) realizamos la anestesia mediante inyección intramuscular de una mezcla de Ketamina [Ketolar*] (80 mg/Kg) y Xylacine [Rompum] (3 mg/ Kg), que nos permitía una intervención de una duración aproximada de 75 minutos.

Acto quirúrgico. Figs. 9 a,b,c,d,e.

Previo rasurado y pintado con povidona yodada de la rodilla, mediante un abordaje medial cutáneo de unos seis centímetros se aborda dicha región y la región metafisaria proximal interna de la tibia. La artrotomía se realiza a través de una incisión pararrotuliana interna de unos tres centímetros y tras luxar externamente la rótula se accede a visualizar todo el cartílago femoral. Distal a la articulación se incide en la fascia profunda y aparece el periostio que recubre la región metafisaria.



Fig. 9a

Incisión medial en la rodilla del conejo.

Estructura del cartílago

Con la ayuda del microscopio óptico o con el electrónico de transmisión se han establecido de manera clásica cuatro capas o estratos en la estructura del cartílago articular. Fig. 2

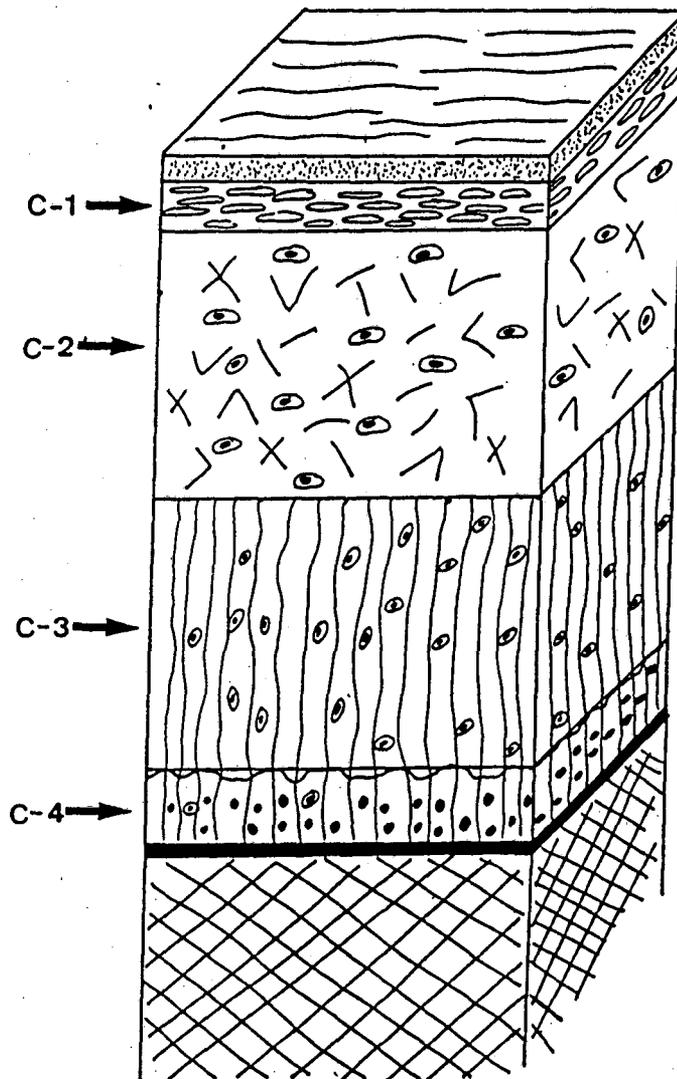


Fig. 2

Diferentes capas del cartílago articular



Fig. 9b

Creación del defecto osteocondral en el surco intercondíleo, con una trefina.



Fig. 9c

Detalle del defecto creado en el surco intercondíleo femoral.



Fig. 9d

Toma de periostio de la región metafisaria interna proximal de la tibia.



Fig. 9e

Visión del recubrimiento del defecto por el periostio invertido.

Con la ayuda de una trefina de punción esternal (Fig. 10) y con la ayuda de un pequeño martillo se realiza manualmente un defecto de 3.5 mm de diámetro por 3 mm de profundidad en el surco intercóndileo femoral seleccionando una zona del mismo que no sufra la aplicación directa y continua del cartílago rotuliano cuando el animal coloca la rodilla en un determinado grado de flexión, propio de la posición de reposo. A continuación se procede al relleno de la cavidad con una mezcla de los granulos del biomaterial (fosfato tricálcico - Ostilit* - Factor 3) con el propio hueso esponjoso retirado con el trocar en una proporción de 5:1. Este relleno no es completo pues debe permitir la aposición del periostio sin que sobresalga del cartílago vecino. Seguidamente se dibuja una circunferencia en el periostio tibial de un tamaño superior en un 20-30% y con la ayuda de un periostotomo se reseca el periostio procurando ir pegado al hueso con objeto de no dejar adherido la capa profunda. Una vez el injerto esta libre se procede a implantarlo en la superficie del defecto con la capa profunda dirigida a la articulación y asegurandose de que el lecho receptor esté seco y no quede sobreelevado. Se reduce la rótula y se realiza una excursión articular pasiva para objetivar el correcto deslizamiento de la misma sobre el injerto y la permanencia del mismo en su lugar. Se procede a limpiar la articulación con lavado de suero fisiológico y al cierre de la artrotomía y piel con sutura continua de Vicryl 5/0. Se coloca un vendaje compresivo en todo el miembro inferior que se retira a las 24 horas y es sustituido por un vendaje elástico hasta el quinto día.

Una vez terminada la intervención se detallan las incidencias técnicas con objeto de poder relacionarlas con posibles complicaciones ulteriores.

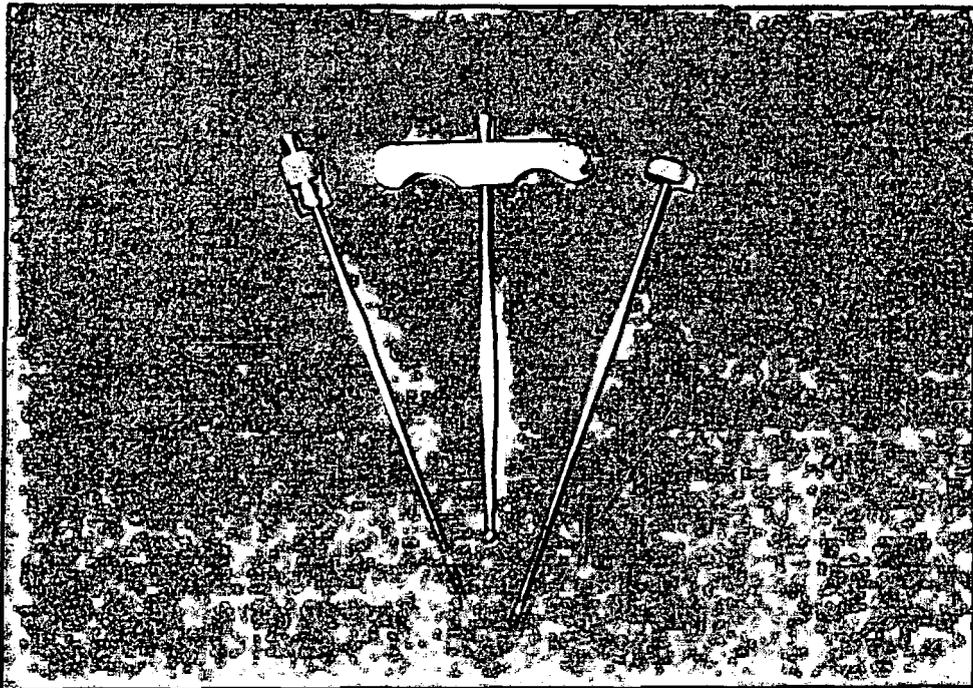


Fig. 10

Instrumental utilizado en la realización del defecto osteocondral.

Postoperatorio

Los animales sometidos a movilización libre son colocados en su jaula, previo marcaje en la oreja, hasta el momento del sacrificio.

Sacrificio

La muerte del animal es producida de forma instantánea por la administración intracardiaca de una sobredosis de Ketamina.

A continuación se procede a tomar toda la epífisis distal del femur, desarticuladola de la tibia, limpiándola de tejidos blandos y con la ayuda de una sierra de marquetería es separada del resto del femur.

Una vez obtenida la pieza es fotografiada y colocada en un recipiente con formol y llevada al Servicio de Anatomía Patológica para el estudio de la misma.

3.6. METODO HISTOLOGICO

Una vez obtenidas las piezas se siguieron los siguientes pasos:

1. Fijación en formol'tamponal al 37% durante un mínimo de 48 horas.
2. Decalcificación mediante ácido nítrico al 5%, hasta que su consistencia era blanda (aproximadamente en tres - cuatro días).
3. Cortes con cuchilla en número de cuatro, uno central, dos laterales o marginales en el injerto y uno en el tejido vecino cercano al injerto.
4. Deshidratación en concentraciones crecientes de alcohol.
5. Aclarado con xilol.
6. Inclusión en bloques de parafina según técnica habitual.
7. Obtenidos ya los bloques de parafina, estos se cortaron con microtomo de rotación, modelo 2040 Reichert-Jung, en secciones de 3 μ , en número variable para la sección central (4-5 cortes) y un corte para cada una de las dos secciones de los margenes y del tejido vecino.
8. Estas secciones se tiñeron con Hematoxilina - Eosina y Tricrómico de Masson, destinándose al estudio Histológico y Histomorfométrico.

Tinción de Hematoxilina - Eosina de Harris

El método de preparación de esta tinción requiere los siguientes pasos:

1. Desparafinar e hidratar.
2. Agua corriente, 10 minutos.
3. Teñir con hematoxilina de Harris recién filtrada durante 5 minutos.
4. Lavar con agua del grifo durante dos minutos.
5. Diferenciar con dos inmersiones rápidas en Alcohol ácido al 1% (en alcohol de 80°).
6. Lavar en agua del grifo durante 5 minutos.
7. Virar en agua amoniacal, 2 veces al 0.4 %.
8. Lavar en agua del grifo durante 10 minutos.
9. Contrastar con Eosina - Floxina 30 segundos a 1 minuto.
10. Deshidratar, aclarar y montar en DPX o DEPEX.

La elaboración de la solución de hematoxilina de Harris⁵ requiere los siguientes pasos:

- Preparación de soluciones :

SOLUCION A

- | | |
|-------------------------|--------|
| - Hematoxilina | 5 grs. |
| - Etanol absoluto | 50 ml. |

SOLUCION B

- | | |
|------------------------------------|----------|
| - Sulfato Aluminico potásico | 100 grs. |
| - Agua destilada | 100 ml. |

Otros REACTIVOS

- Oxido amarillo de Mercurio 2.5 grs.
- Acido Acético 20 ml.

SOLUCION A+ B

1. Se retira la solución B de la placa calefactora y se le agrega la solución A, colocando la mezcla en el agitador frío.
2. Una vez mezclados A y B, se lleva la solución resultante a ebullición lo más rápidamente posible, mediante el termostato a máxima potencia. Agitando de manera intermitente y no de forma continua.
3. Cuando el líquido empiece a hervir, se coloca en el agitador frío, añadiendo lentamente óxido amarillo de mercurio y se continúa la agitación durante 3 minutos.
4. Enfriar rápidamente la solución introduciendo el recipiente en agua fría. El recipiente se ha de cerrar hermeticamente y la renovación de agua fría ha de ser continua.
5. Cuando el preparado esté bien frío, se le añaden 20 ml. de ácido Acético Glacial. Una vez efectuadas estas operaciones, la Hematoxilina está lista para el uso.
6. Antes de cada tinción, se debe filtrar la solución para evitar precipitados.

Tinción de Tricrómico de Masson

El método de preparación de esta tinción requiere los siguientes pasos :

1. Desparaafinar e hidratar.
2. Mantener durante 1 hora en el baño maría a 54º en el líquido de Carmin y luego lavar en agua corriente durante 5 minutos.
3. Teñir con hematoxilina de Weigert durante 20 minutos.
4. Lavar en agua del grifo durante 5 minutos.
5. Alcohol ácido al 1%, entrar y salir 2 veces.
6. Lavar en agua del grifo durante 5 minutos.
7. Ponceau - Fucsina durante 2 minutos.
8. Acido Acético al 0.5%, 2 cambios de pocos segundos.
9. Mordiente (ácido fosfotúngstico) durante 12 minutos.
10. Verde luz durante 5 minutos.
11. Acido acético al 0,5 %, 2 cambios de pocos segundos.
12. Deshidratar, aclarar y montar en DPX.

La elaboración de la tinción de Tricromico de Masson requiere las siguientes soluciones:

HEMATOXILINA DE WEIGERTSOLUCION A

- Alcohol de 96 °	100 ml.
- Hematoxilina	10 grs.

SOLUCION B

- Agua destilada	990 ml.
- Acido clorhídrico	10 ml.
- Cloruro férrico	12 grs.

SOLUCION DE TRABAJO

- SOLUCION A	80 ml.
- SOLUCION B	40 ml.

PONCEAU DE XILIDINA al 1 %

- Ponceau de xilidina	10 grs.
- Acido acético glacial	10 ml.
- Agua destilada	990 ml.

FUCSINA ACIDA al 1 %

- Fucsina acida	10 grs.
- Acido acético glacial	10 ml.
- Agua destilada	990 ml.

SOLUCION DE TRABAJO

- Solución Ponceau de Xilidina	80 ml.
- Solución Fucsina ácida	40 ml.

VERDE LUZ

- Verde luz o bien azul de amilina	20 grs.
- Acido acético glacial	10 ml.
- Agua destilada	990 ml.

ACIDO FOSFOTUNGSTICO

- Acido fosfotúngstico 50 grs.
- Agua destilada 1000 ml.

Con esta Tinción se obtiene :

NUCLEOS: Azul; CITOPLASMA: Rosa o rojo; HEMATIES: Rojo vivo;
OSTEOIDE: Rojo; HUESO: Rojo o verde; MATRIZ CARTILAGINOSA: Verde;
COLAGENO: Verde; FIBRAS ELASTICAS: Rosa.

3.7. METODO HISTOMORFOMETRICO

Concepto

El análisis histológico cuantitativo de los diferentes elementos que constituyen un tejido es lo que denominamos Histomorfometría.

Técnica Histomorfométrica

Los contajes y mediciones de las estructuras de un tejido se pueden realizar mediante métodos manuales, semiautomáticos y automáticos. En todos ellos se emplea un microscopio óptico que permite hacer observaciones con luz polarizada y luz ultravioleta.

Los métodos manuales y semiautomáticos requieren la identificación visual y el seguimiento manual de las diferentes estructuras por parte del observador.

Con el fin de eliminar la subjetividad y los errores causados por la fatiga del observador, se diseñaron los métodos automáticos, que identifican electrónicamente las estructuras problema mediante el análisis del nivel de grises. Aunque opcionalmente a cada nivel de gris se le puede asignar un color con el fin de resaltar los contrastes entre las diversas estructuras, estos métodos automáticos resultan poco aplicables por la tendencia de las preparaciones a presentar pequeñas roturas que falsearían los contajes. Este fue el motivo para la elección de un método semiautomático en nuestro estudio.

Histomorfometría Semiautomática

El equipo necesario para la medición consta de los siguientes elementos:

- microscopio óptico
- cursor, en el que el punto activo está indicado por un diodo luminoso de color variable.
- tablero digitalizador
- ordenador con un programa para histomorfometría (disco o microprocesador interconstruido) e impresora de datos.
- cámara lúcida o dispositivo para dibujo.

Para la realización del estudio utilizamos una cámara lúcida con zoom, un microscopio Polyvar de Reichert* y un morfómetro modelo Videoplan de Zeiss. Fig. 11.

a. Funcionamiento del sistema

Bajo la superficie del tablero digitalizador se halla una malla electrónica, constituida por unos cuadrados cuyos lados miden $d= 0.1$ mm. A cada punto de intersección de esta malla le corresponde en la memoria del ordenador una coordenada en el eje de abscisas (x) y otra en el de ordenadas (y). Si se desplaza el cursor sobre el tablero, la malla informa al ordenador sobre los puntos por los que pasa y de esta manera se transforma la imagen o información analógica en digital. Mediante un programa específico, el ordenador analiza la imagen obtenida y proporciona directamente las áreas, perímetros y longitudes.

Para obtener información tridimensional a partir de mediciones realizadas en un espacio bidimensional se aplica el principio de Delesse (1847), que afirma que el área de una estructura, en un corte de la misma, esta en relación con su volumen, con independencia de la geometría tridimensional o de su orientación. Por otro lado, tras la introducción de un factor de corrección que depende de la orientación tridimensional de la estructura problema, se ha demostrado que existe una estrecha relación entre el perímetro o la longitud de una estructura en un corte histológico y el área de la superficie externa de dicha estructura en el espacio tridimensional.

De manera análoga es posible deducir la distancia entre dos superficies situadas en el espacio tridimensional (espesor) a partir de la distancia que existe entre las líneas que resultan de la sección de estas superficies con un plano (anchura). También es necesario introducir un factor de corrección que depende de la oblicuidad y espesor del corte.

Los principios enunciados nos van a permitir deducir volúmenes a partir de áreas, superficies a partir de perímetros y longitudes, así como espesores a partir de anchuras.

La cámara lúcida o dispositivo para dibujo consiste en una serie de espejos o prismas intercalados entre los objetivos y el cabezal del microscopio, que permite proyectar dentro del campo de observación del microscopio, la imagen del cursor situado sobre el tablero digitalizador. Al desplazar el cursor, el observador puede seguir con la imagen proyectada del cursor las estructuras histológicas que aparezcan en el campo de observación y sean objeto de la medición.

b. Metódica de Trabajo

Para obtener las mediciones de las estructuras histológicas que nos interesan debemos realizar los siguientes pasos:

1. Programar en el ordenador las mediciones histomorfométricas que se pretenden determinar [Area Total del injerto y Area de cada uno de los elementos que lo integran (hueso, fosfato tricálcico, cartílago)]

2. Calibrar o informar previamente al ordenador de la escala de trabajo utilizada (relación entre una distancia en el campo microscópico y su correspondencia sobre el tablero digitalizador). Para ello, se realizan estas operaciones:

- a. Introducción en el ordenador de un programa de calibración.
- b. Situamos en el microscopio un portaobjetos milimetrado.
- c. Se recorre con el cursor una distancia marcada sobre el portaobjetos (1 mm. para 40 x).
- d. se informa al ordenador del valor real de la distancia marcada sobre el portaobjetos.

3. El aumento utilizado para realizar las diferentes mediciones es:

40 x =

- Area Total del Injerto
- Perímetro Total del Injerto
- Area y Perímetro de cada uno de los componentes, que para una mejor

comprensión se ha expresado en porcentajes (% de hueso, biomaterial, cartílago).



Fig. 11

Equipo empleado en el análisis histomorfométrico.

3.8. VALORACION MACROSCOPICA, MICROSCOPICA E HISTOMORFOMETRICA DEL TEJIDO NEOFORMADO Y DEL BIOMATERIAL.

Hemos diseñado para cada una de las piezas (rodillas) una hoja de recogida de datos (Tabla II), en la que anotamos las características del conejo y los aspectos técnicos propios de la intervención así como las posibles complicaciones derivadas.

Hemos utilizado un sistema de valoración para cada uno de los aspectos macroscópicos y microscópicos o histológicos, correspondientes al tejido neoformado y al biomaterial, siguiendo el desarrollado por O'Driscoll 1986 e introduciendo algunas variaciones.

Valoración macroscópica de la rodilla.

La valoración macroscópica de la rodilla la hemos dividido en dos conceptos:

a. morfología macroscópica en la que observamos el tejido neoformado en el defecto, el cartílago vecino, la presencia de derrame, adherencias y el estado de la sinovial.

Hemos calificado con dos puntos cuando el tejido que recubre el defecto presenta una coloración blanquecina aperlada, la coloración del cartílago vecino y sinovial es la habitual y no presenta adherencias ni derrame; con un punto, cuando se reunían tres de las cinco valoraciones, y con cero puntos

cuando sólo se reunían dos o menos.

b. movilidad, la hemos valorado, otorgando dos puntos cuando la rodilla presentaba un arco de movilidad considerado normal, un punto cuando presentaba una moderada limitación de la misma, y cero puntos cuando existía una rigidez .

Por tanto el valor máximo de la suma $a + b = 4$ puntos.

Valoración microscópica - histológica descriptiva

Para poder clasificar y cuantificar la situación de los diferentes elementos constituyentes hemos valorado:

- A. Características del tejido Neoformado
- B. Estado del Biomaterial
- C. Características del Cartilago Vecino

A. Características del tejido neoformado. Hemos considerado tres aspectos:

a. Tipo de tejido predominante, considerando la presencia del mismo en un valor superior al 50% del total, y el carácter exclusivamente hialino cuando alcanza el 95%.

Hemos otorgado cuatro puntos a aquel tejido cuya morfología y disposición celular asemeja al cartílago hialino; cuando las células se muestran inmaduras y poco organizadas dos puntos; y cero puntos si el tejido es fibrosos o hueso. De esta manera el máximo de puntos posibles de obtener

son cuatro y el mínimo cero.

b. Características estructurales del tejido neoformado, constituido por cinco aspectos: - regularidad de la superficie; - grado de unión al cartílago adyacente; - nivel del tejido neoformado; - grado de integridad estructural; - grado de adhesión al tejido neoformado vecino. Cada uno de los aspectos ha sido valorado cualitativa o cuantitativamente, obteniéndose un máximo de once puntos y un mínimo de cero.

c. Presencia o no de osificación endocondral; considerada la presencia como un proceso fisiológico hemos dado un punto mientras que un cero a su ausencia.

El valor máximo de la suma de $a + b + c = 16$ puntos.

B. Hemos estudiado tres aspectos respecto al biomaterial, uno respecto al estado del mismo y los otros dos en relación a la naturaleza y grado del tejido que lo envuelve. Tras dar la puntuación, el máximo posible es de 7 puntos y el mínimo es cero.

C. De forma análoga al estudio del tejido neoformado hemos analizado el cartílago vecino en su aspecto de celularidad, pudiéndose obtener una puntuación máxima de 3 puntos y una mínima de cero.

Valoración histomorfométrica del tejido neoformado y del biomaterial.

En las secciones de 3μ de los cortes histológicos, las distintas mediciones

realizadas en el tejido neoformado nos van a permitir cuantificar los siguientes parámetros:

- a. Area Total del tejido neoformado en el defecto osteocondral creado.
- b. Porcentaje de hueso neoformado respecto al área total
- c. Porcentaje del biomaterial residual “ “ “ “
- d. Porcentaje de cartílago neoformado “ “ “ “

Conociendo previamente las dimensiones del defecto creado, el área total final del tejido neoformado, la cantidad de hueso esponjoso y biomaterial implantado y el espesor del periostio y cartílago podemos interrelacionar la situación inicial y final con objeto de determinar:

- a. Variación en el porcentaje de neoformación de cartílago.
- b. “ “ porcentaje de del biomaterial (grado de reabsorción)
- c. “ “ porcentaje de hueso neoformado

Determinación de la variación porcentual de cartílago neoformado:

De manera previa se ha medurado el espesor (altura) del cartílago articular de la rodilla en 20 secciones distintas y así obtener un valor medio del mismo (0.4742 mm.). Siendo variable la longitud (base) en cada una de las diferentes secciones (valor máximo= diámetro de la trefina - 3.5 mm) hemos optado por determinar el porcentaje de area teórica del cartílago y la diferencia con el porcentaje de cartílago neoformado nos determinará la variación porcentual del cartílago.

Determinación de la variación porcentual de reabsorción del biomaterial.

Tras realizar tres mediciones del espesor del periostio de la metáfisis tibial y observar que los valores eran variables y cercanos al valor del espesor del cartílago normal, establecimos la comparación porcentual entre las áreas iniciales correspondientes al defecto realizado y los valores obtenidos mediante el método histomorfométrico.

Consideramos el área ocupada por el periostio igual al área teórica de cartílago ya determinada. El resto del área total correspondiente al defecto se halla ocupada por el biomaterial y el hueso en la proporción de 5:1, o lo que lo mismo el 83.33% por el primero y el 16,66% por el segundo.

Conociendo el porcentaje de biomaterial respecto al área total en el tejido neoformado determinamos el porcentaje relativo del biomaterial en el mismo (porcentaje del biomaterial en la área restante tras eliminar la área de cartílago neoformado) y la diferencia entre ambos nos dará la variación porcentual del biomaterial.

Determinación de la variación porcentual de neoformación ósea:

De manera análoga al método realizado con el biomaterial obtuvimos el grado de neoformación ósea .

MATERIAL Y METODO / VALORACION MACROSCOPICA, MICROSCOPICA E HISTOMORFOMETRICA DEL TEJIDO NEOFORMADO Y DEL BIOMATERIAL

TABLA II. HOJA DE RECOGIDA DE DATOS Y DE VALORACION DE RESULTADOS

CONEJO		RODILLA <input type="checkbox"/>	
FECHA INTERVENCION		PESO INICIAL	
FECHA SACRIFICIO		PESO FINAL	
DIAS INJERTO		INCREMENTO DE PESO	
			
INTERVENCION			
TIEMPO QUIRURGICO	min. ICONOGRAFIA		
INCIDENCIAS TECNICA	<input type="text"/>		
COMPLICACIONES POSTOPERATORIAS	<input type="text"/>		
COMENTARIOS			
RESULTADOS			
MACROSCOPICO		MOVILIDAD	
<input type="radio"/> 2 BIEN <input type="radio"/> 1 REGULAR <input type="radio"/> 0 MAL		<input type="radio"/> 2 BIEN <input type="radio"/> 1 REGULAR <input type="radio"/> 0 MAL	
ANATOMIA PATOLOGICA		Osificación endocondral	
Tipo de tejido predominante <input type="radio"/> 4 Cartilago hialino. <input type="radio"/> 2 Cartilago pobremente diferenciado. <input type="radio"/> 0 Tejido fibroso o hueso.		<input type="radio"/> 1 Presente <input type="radio"/> 0 Ausente	
Características estructurales		Biomaterial	
Regularidad de la superficie <input type="radio"/> 3 Lisa e intacta. <input type="radio"/> 2 Laminación horizontal superficial. <input type="radio"/> 1 Fisuras menores. <input type="radio"/> 0 Disrupción completa incluyendo fibrilación.		Grado de integridad <input type="radio"/> 4 Desintegrado. <input type="radio"/> 2 Parcialmente integro. <input type="radio"/> 0 Integro.	
Unión a cartilago adyacente <input type="radio"/> 2 Completa. <input type="radio"/> 1 Parcial. <input type="radio"/> 0 Ninguna.		Tejido que rodea <input type="radio"/> 2 Rodeado por hueso. <input type="radio"/> 1 Rodeado por tej. fibrovascular. <input type="radio"/> 0 Rodeado por células (Osteoc., Macrof.)	
Nivel del tejido neoformado <input type="radio"/> 2 Nivelado. <input type="radio"/> 1 Sobreelevado. <input type="radio"/> 0 Deprimido.		Cantidad de tej. rodeando <input type="radio"/> 1 Rodeado completo. <input type="radio"/> 0 Rodeado incompleto.	
Integridad estructural <input type="radio"/> 2 Normal. <input type="radio"/> 1 Ligera disrupción. <input type="radio"/> 0 Desintegración severa.		Cartilago vecino <input type="radio"/> 3 Celularidad normal, sin nidós. <input type="radio"/> 2 Celularidad normal, <50% nidós. <input type="radio"/> 1 Hipocelularidad moderada. <input type="radio"/> 0 Severa hipocelularidad.	
Adhesión del tejido neoformado <input type="radio"/> 2 Completa. <input type="radio"/> 1 Incompleta. <input type="radio"/> 0 Ausente.		media puntuación total	
HISTOMORFOMETRIA			
Area Total	% Cartilago	% FTC	% Hueso

3.9. METODO ESTADISTICO

El tratamiento estadístico empleado en el análisis de nuestros resultados ha seguido las siguientes técnicas: un análisis descriptivo y un análisis inferencial.

El análisis descriptivo de los valores de las variables del estudio se ha presentado mediante la media, su desviación estandar y los valores máximo y mínimo. Dada la anormal distribución de los datos se presentó además la mediana y la moda.

En el análisis inferencial, realizado con objeto de extrapolar los resultados obtenidos en nuestro estudio analítico a otras experiencias similares, tratamos de establecer la comparación entre dos grupos.

Previamente para determinar la normalidad de las variables cuantitativas utilizamos la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la del cociente amplitud / desviación estandar. Una vez determinada, aplicamos la prueba no paramétrica de Wilcoxon, para datos apareados, que trata de comparar dos medidas en los mismos individuos a lo largo del tiempo, cuando la distribución de estos datos no se ajusta a la normal como sucedió en nuestro grupo.

Esta prueba se aplicó en las siguientes mediciones:

- Area teórica cartílago-- área tejido neoformado
- Area fosfato tricálcico inicial -- área fosfato tricálcico final
- Area hueso inicial-- área hueso final

El nivel de riesgo aceptado para todos los contrastes de la hipótesis fue del 0,05 y los contrastes se plantearon a nivel bilateral, lo que equivale a identificar la hipótesis nula con la igualdad de medias o porcentajes, y la hipótesis alternativa con la desigualdad.

Los cálculos se realizaron en el sistema VAX de Digital Equipment Corporation instalado en el Institut Municipal d'Investigació Mèdica de Barcelona, mediante el paquete estadístico BMDP.

4. RESULTADOS

De los veinticinco conejos determinados para esta experiencia, tres fallecieron en los primeros días. Uno presentó una fractura supracóndilea en la rodilla derecha (Nº 8-D), otro presentó una luxación de rótula en la rodilla izquierda (Nº 4-I), y otros dos (Nº 20-D, Nº 21-D) las preparaciones fueron defectuosas por lo que fueron excluidas, quedando válidas para el estudio cuarenta muestras.

Presentación de los resultados

Hemos presentado nuestros resultados mediante:

1. Distribución de Frecuencias, que nos ha permitido determinar porcentualmente cada uno de los diferentes aspectos analizados, atendiendo a la valoración numérica alcanzada.
2. Determinación de la media de los resultados para cada uno de los aspectos.
3. Descripción iconográfica para cada uno de los criterios estudiados (macroscópicos y microscópicos).

Análisis de los resultados

Para una mayor comprensión de los resultados hemos analizado los diferentes apartados del método utilizado para la obtención los mismos. En

primer lugar relacionamos las incidencias técnicas intraoperatorias con las complicaciones postoperatorias y resultado final de estos casos; en segundo lugar los aspectos considerados macroscópicos (morfología macroscópica, movilidad); en tercer lugar el análisis microscópico descriptivo y en cuarto y último lugar el análisis histomorfométrico cuantitativo.

Las puntuaciones asignadas para cada uno de los aspectos se presentan en la Tabla II, y el valor máximo para cada uno de ellos es :

- valoración macroscópica.....	4 puntos
- valoración microscópica tejido neoformado.....	16 puntos
- “ ” biomaterial.....	7 puntos
- “ ” cartílago vecino.....	3 puntos

Por consiguiente, el valor máximo que puede obtener cada rodilla es de 30 puntos.

Relación entre incidencias técnicas intraoperatorias y resultado final

Incidencias:

Durante la intervención se nos presentó una fractura supracondilea (rodilla Nº 8-D), que tratamos con yeso con objeto de observar el proceso de reparación de la misma; en tres ocasiones tuvimos una pequeña fisura marginal del surco intercóndileo (11-D, 16-I, 20-D); tres injertos de periostio presentaron diferencias de espesor en su superficie (2-D, 2-I, 11-I); para realizar el relleno del defecto recurrimos, por falta del local, a un

pequeño fragmento de esponjosa de la región metafisaria (16-D); en una rodilla (18-D) la sutura de la piel se realizó cuando el conejo se despertaba; y en la 16-D al tercer día la herida presentó una dehiscencia de la misma, que cerró espontáneamente.

Resultado final:

La rodilla N° 8-D fue excluida del estudio, habiendo consolidado con un voluminoso callo de fractura. Las rodillas 2-D y 2-I alcanzaron la siguiente puntuación respectivamente: 17 y 13 puntos; las 11-D y 11-I alcanzaron 13 y 27; las 16-D y 16-I fueron de 25 y 22; la 18-D alcanzó 22 y la rodilla contralateral (18-I: 23); la 20-D fue anulada por preparaciones histológicas defectuosas y la rodilla contralateral (20-I: 23).

De ello podemos deducir que en un solo caso un defecto técnico nos creó una complicación grave que obligó a eliminar la muestra; las fisuras presentadas en tres rodillas presentaron valores dispares (13, 22, anulada); igual sucedió con la diferencia de espesor (17, 13, 27) y las otras incidencias permitieron lograr valores elevados, hecho que también sucedió en las rodillas contralaterales.

4.1. RESULTADOS ESTUDIO MACROSCOPICO ARTICULAR

La determinación de los resultados macroscópicos comprende el análisis de los dos valores estudiados: la morfología macroscópica y la movilidad.

En una de las rodillas (4- I), excluida del estudio, se produjo una luxación de la rótula que origino un nuevo tejido semejante al surco intercóndileo, cuya naturaleza del tejido era cartílago y presentaba una desordenada disposición estructural. Figs. 12a y 12b

Como ya hemos apuntado los valores fueron clasificados mediante la distribución de frecuencias:

- morfología macroscópica: Fig. 13 / Tabla III

Tras valorar los cinco parámetros estudiados existió un predominio del 72.5% (29 rodillas) para el valor 2 (bien) mientras que el 17.5% (7 rodillas) fue para el valor 1 (regular) y 10% (4 rodillas) para el valor 0 (mal) una de las cuales se debió al desprendimiento del injerto. Fig. 14

- movilidad: Tabla III

El rango de movilidad fue en el 90% (36 rodillas) para el valor 2 (bien); 7.5% (3 rodillas) para el valor 1 (regular); 2.5 % (1 rodilla) para el valor 0 (mal) que correspondió a la rigidez de rodilla asociada a la paresia del tobillo. Fig. 15

El valor de la media ha sido 1.625 puntos (81.25%) para la variable de morfología macroscópica; 1.875 puntos (93,75%) para la movilidad y el valor de la media de ambos 3.5 puntos (87,5%) Fig. 16 / Tabla IV

La descripción iconográfica esta representada a modo de ejemplo de la valoración del resultado obtenido en las Figs. 17 a, b, c, d.

4.2. RESULTADOS MICROSCOPICOS

La valoración de los resultados comprende los diferentes apartados que fueron estudiados:

A. Naturaleza o tipo de tejido predominante; B. características estructurales; C. osificación endocondral; D. biomateriales; E. cartílago vecino.

El apartado B comprende a su vez cinco subapartados: a. regularidad de la superficie; b. unión a cartílago adyacente; c. nivel del tejido neoformado; d. integridad estructural; e. adhesión a tejido neoformado subyacente.

El apartado D comprende también tres subapartados: a. grado de integridad; b. tejido que rodea; c. cantidad de tejido rodeando.

El análisis de la distribución de frecuencias para cada uno de los aspectos está representado en los diferentes diagramas. Figs. 18 a 28 / Tablas V y VI

El valor de la media para cada de los aspectos estudiados fue:

A. Naturaleza del tejido predominante	2.45 puntos (61. 25%)
B. Características estructurales:	
-- regularidad de la superficie	2.1 puntos (70%)
-- unión a cartílago adyacente	1.675 puntos (83. 75%)
-- nivel del tejido	1.375 " (68.75 %)

-- integridad estructural	0.9 “	(45 %)
-- adhesión al tejido neoformado	1.8 “	(90 %)

El valor medio de las características estructurales ha sido de 7.85 puntos (71.36%) y estos diferentes valores se exponen en la Tabla VII

C. Osificación endocondral...0.8 puntos (80%) Tabla VII

D. Biomateriales:

-- grado de integridad	2.1 puntos	(52.5%)
-- naturaleza del tejido que rodea	1.55 “	(77.%)
-- cantidad de tejido rodeando	0.525 “	(52.5%)

El valor medio de este apartado ha sido de 4.175 puntos (59.64%) y la distribución de los valores se expone en las Fig. 29 y Tabla VIII

D. Cartilago Vecino (Tabla VII) 2.65 puntos (83.33%)

El valor de la media de los resultados microscópicos para el tejido neoformado y el cartílago vecino, excluyendo el biomaterial, se hallan en la Tabla VII.

El valor de la media de los resultados globales macroscópicos y microscópicos ha sido de 21.425 puntos (71.41%) Fig.30 y Tabla IX.

La descripción iconográfica esta representada a modo de ejemplo de la valoración del resultado obtenido en las Figs. 31 a 46.

4.3. RESULTADOS HISTOMORFOMETRICOS

Mediante la histomorfometría hemos podido determinar los diferentes valores que han sido objeto de estudio. Tabla X

Se determinaron las áreas en una de las preparaciones centrales, en una periférica y tras multiplicar por cinco la primera y por dos la segunda, dado que se habían realizado siete preparaciones, se obtuvo el valor medio para cada una de las muestras. Este valor presentó una enorme variabilidad y posteriormente se determinó el valor medio de todas las muestras que resultó ser de 10.794 mm^2 . Al considerar el valor teórico del orificio como el resultado de multiplicar el diámetro (3.5 mm) por la profundidad estimada (3 mm.) nos dió como área teórica inicial $10,5 \text{ mm}^2$. y la diferencia entre ambas áreas nos supuso un incremento del área de 0.294 mm^2 .

Habiendo considerado previamente el mismo valor para el espesor del cartílago y el periostio (0.4742 mm.) se determinó el valor teórico del área que correspondería al supuesto cartílago inicial y para ello se estableció la siguiente formula:

Area Teórica Cartilago: $[(\text{Area Total}/3) \times \text{espesor cartílago normal} \times 100] / \text{Area total}$

El valor obtenido, expresado en porcentaje, fue de 15.806%. El valor medio determinado por histomorfometría fue de 27.066% ($p < 0.001$) y por tanto la diferencia entre ambas representó un incremento del 11.26%, que corresponde al aumento porcentual del área correspondiente al supuesto

cartílago inicial y el área encontrada en el tejido neoformado Fig.47

Si no consideramos los porcentajes correspondientes al cartílago articular (% área teórica inicial y área final), el defecto está ocupado por hueso y fosfato tricálcico en la proporción de 5:1, que representa respectivamente un 16,66% y 83.33% para cada uno de ellos (Fig. 50). Los valores determinados por histomorfometría han sido de 7,4% para el hueso y 7.8% para el biomaterial. Para la determinación porcentual de cada uno de los elementos tras eliminar la superficie porcentual ocupada por el cartílago hemos aplicado las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ Area Tejido Fibrovascular} = \text{Area Total (100\%)} - (\text{Area \% cartílago} + \text{Area \% hueso} + \text{Area FTC}).$$

$$\% \text{ Area FTC} = [\text{Area \% FTC} / (\text{Area \% Tejido Fibrovascular} + \text{Area \% hueso} + \text{Area \% FTC})] \times 100.$$

$$\% \text{ Area Hueso} = \text{Area Total (100 \%)} - [\% \text{ Area FTC} + \% \text{ Area Tejido Fibrovascular}].$$

Los valores encontrados han sido: Tejido Fibrovascular = 80.3%; Tejido óseo = 9.4 %; y FTC residual = 10.2%.

Por consiguiente la diferencia entre estos valores y los iniciales nos dará la variación porcentual entre ambos, que ha resultado ser de 7.26% para el tejido óseo (Figs. 48 y 50) y 72.13% para el FTC ($p < 0.001$) (Fig. 49 y 50). Es decir, se ha producido una disminución tanto del hueso como del

biomaterial y en su lugar se ha encontrado un tejido fibrovascular que ocupa por tanto un 80.3% [100-(10.2 + 9,4)] de esta porción del tejido que rellena el defecto. Fig. 50

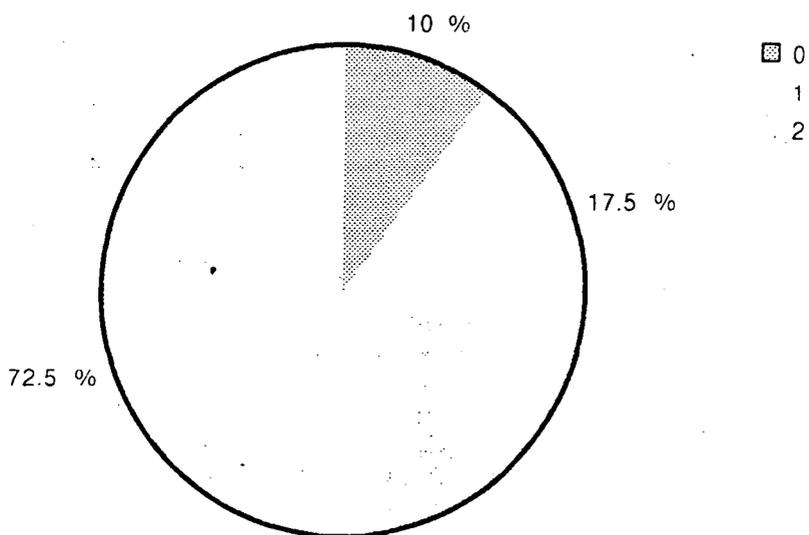


FIG. 13
DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS: N = 40
MORFOLOGIA MACROSCOPICA

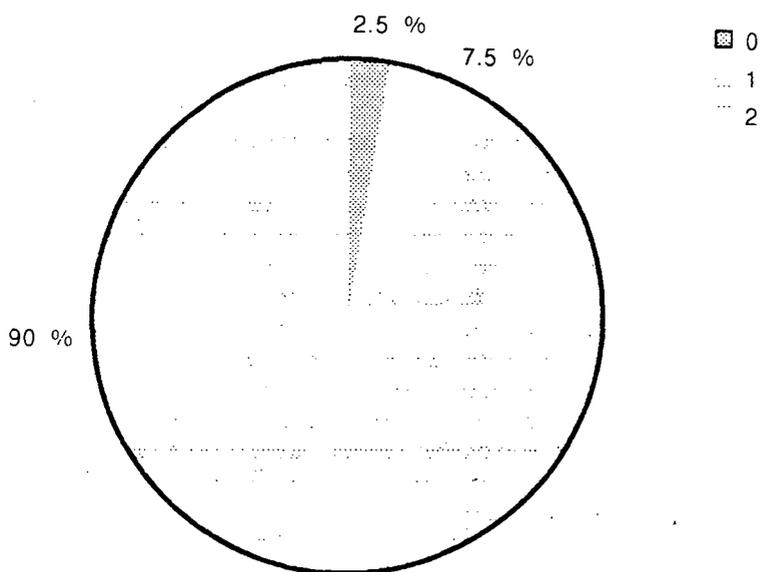


FIG. 15
DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS: N = 40
MOVILIDAD

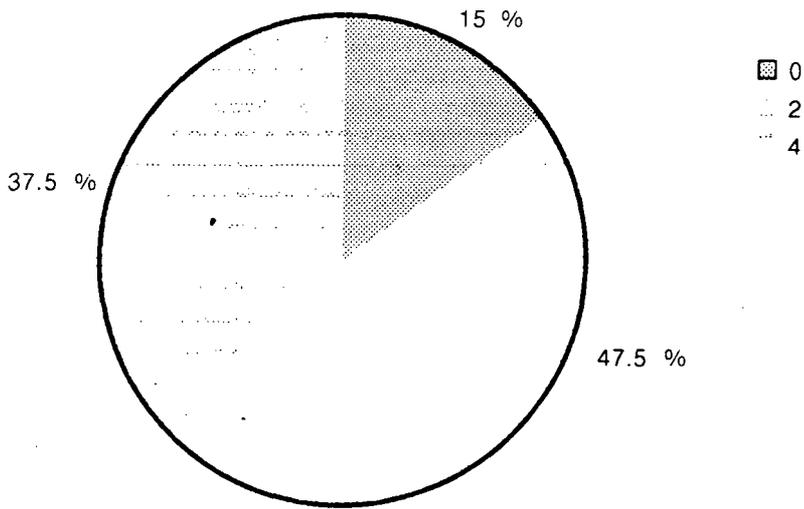


FIG. 18
DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS: N=40
NATURALEZA DEL TEJIDO

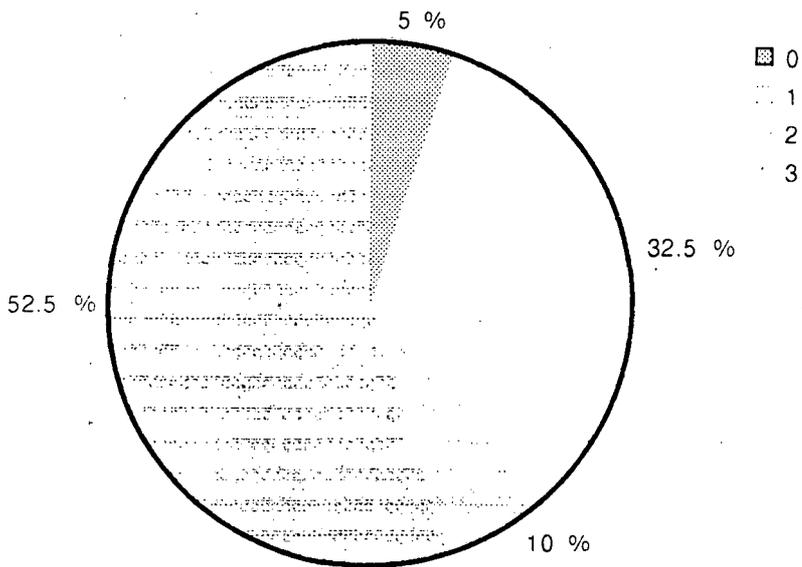


FIG. 19
DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS: N = 40
REGULARIDAD DE LA SUPERFICIE

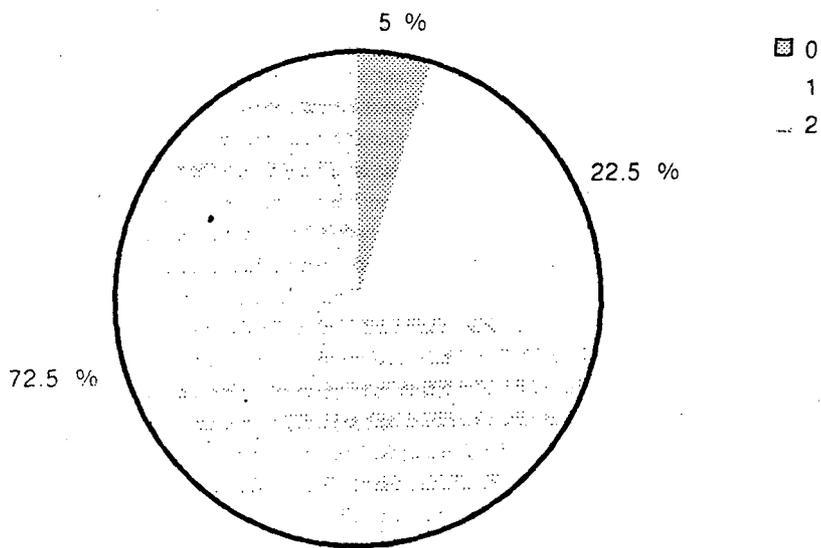


FIG. 20
DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS: N = 40
UNION A CARTILAGO ADYACENTE

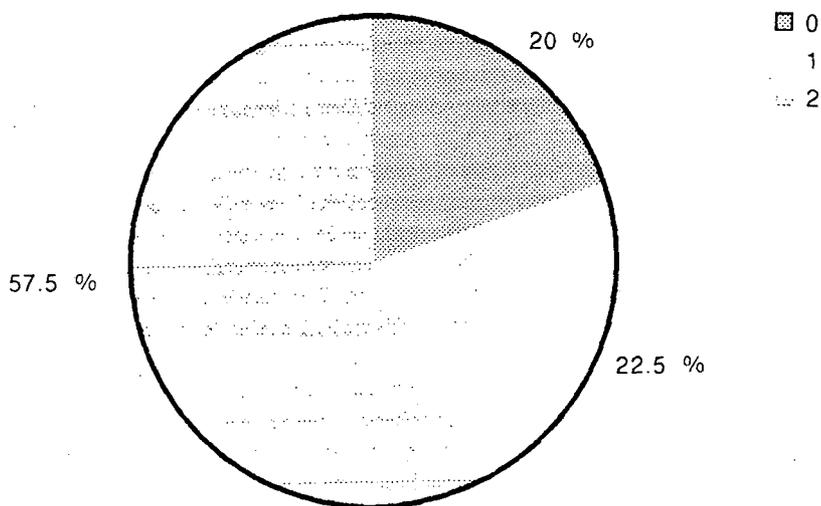


FIG. 21
DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS: N = 40
NIVEL DEL TEJIDO

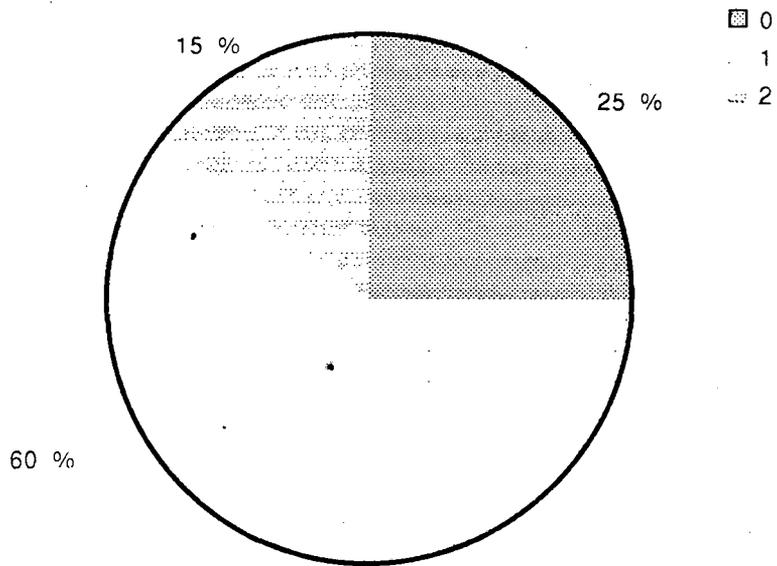


FIG. 22
DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS: N = 40
GRADO DE INTEGRIDAD ESTRUCTURAL

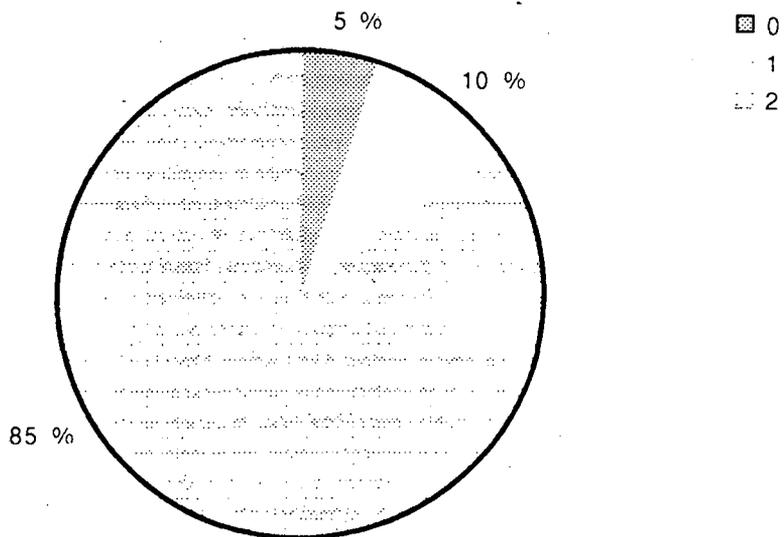


FIG. 23
DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS: N = 40
ADHESION A TEJIDO NEOFORMADO

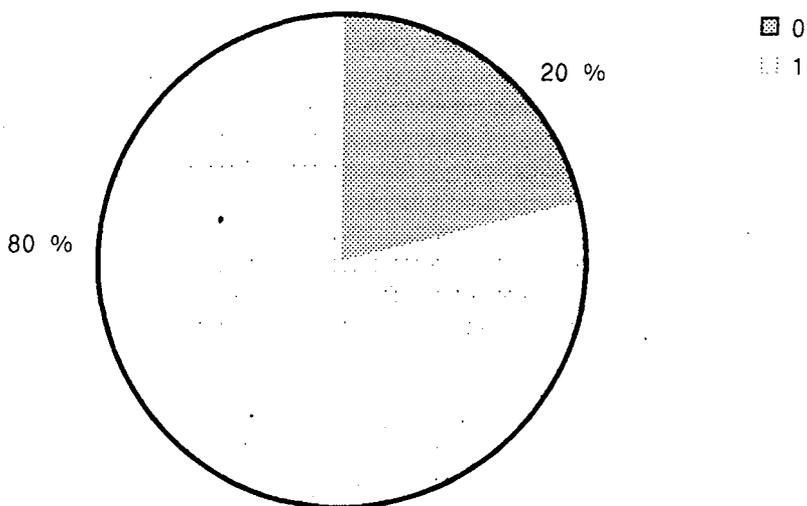


FIG. 24
DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS: N = 40
OSIFICACION ENDOCONDRALE

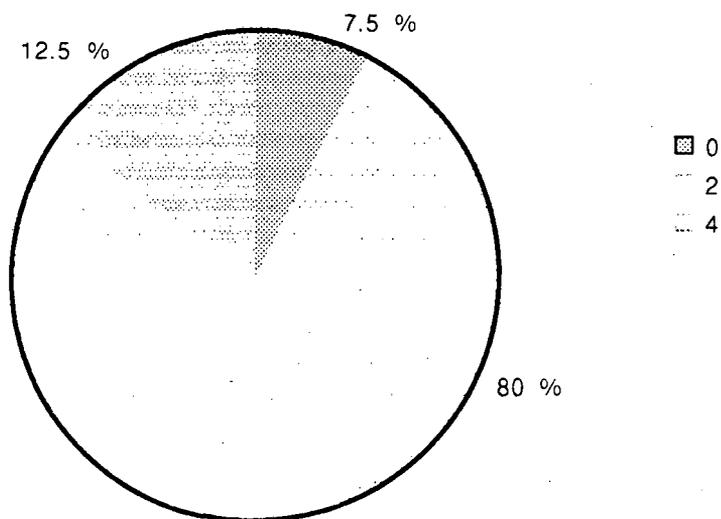


FIG. 25
DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS: N = 40
GRADO DE INTEGRIDAD DEL
BIOMATERIAL

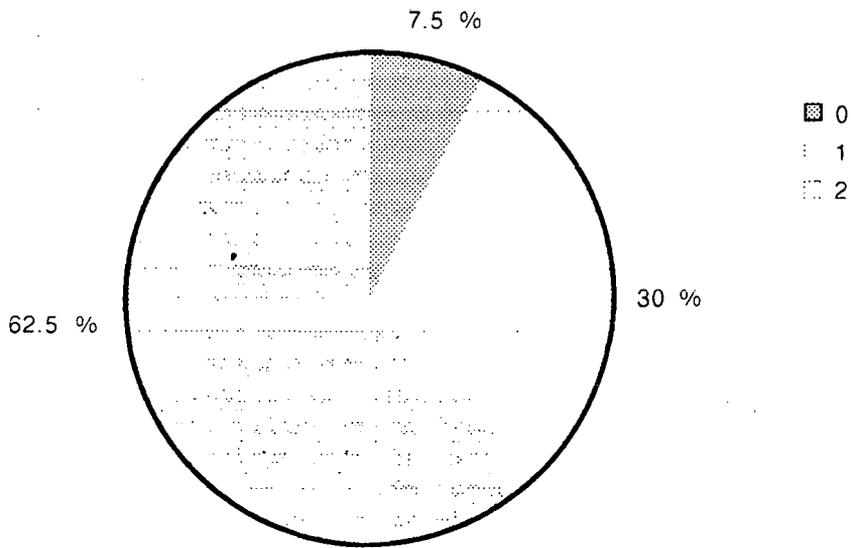


FIG. 26
DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS: N = 40
NATURALEZA DEL TEJIDO QUE RODEA

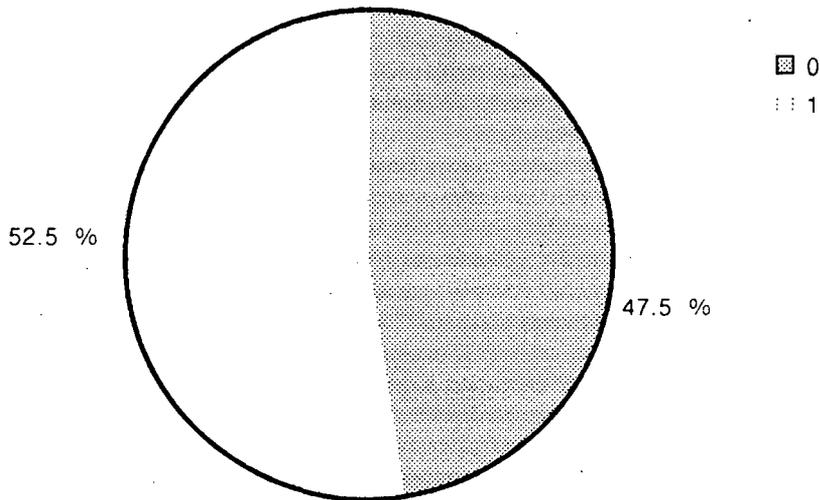


FIG. 27
DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS: N = 40
CANTIDAD DE TEJIDO QUE RODEA

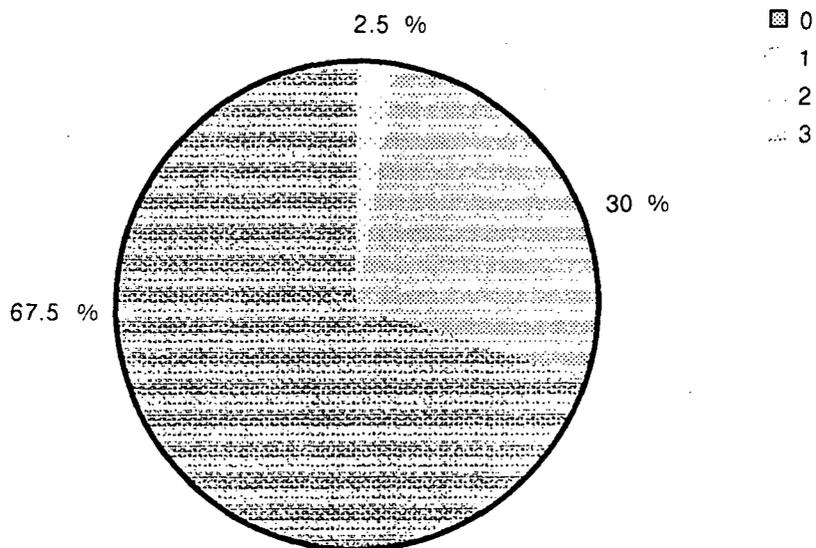


FIG. 28
DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS: N = 40
CARTILAGO VECINO

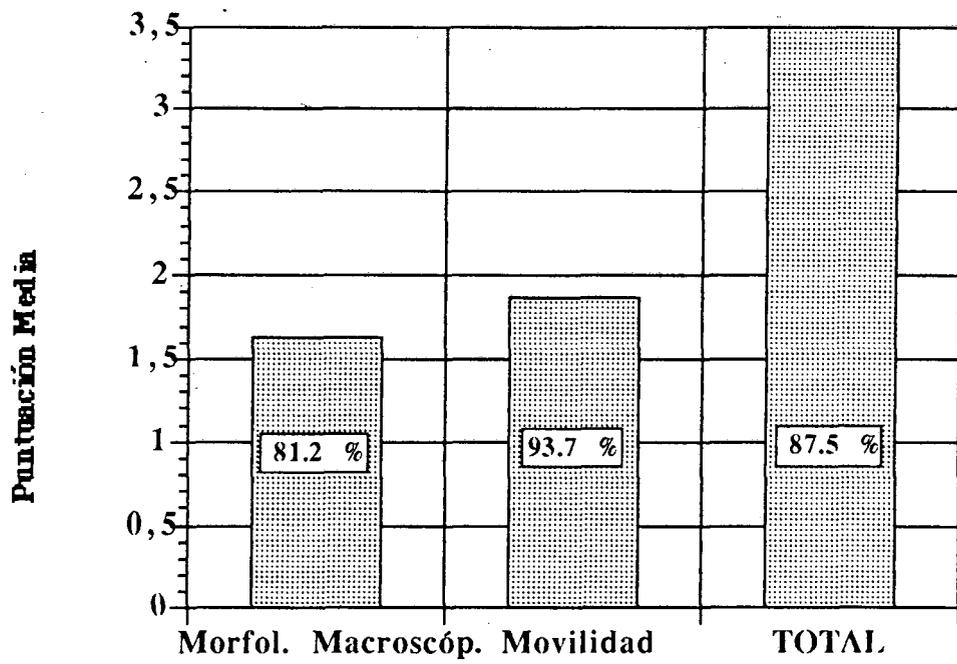


Fig.16
 MEDIA DE LOS RESULTADOS MACROSCOPICOS

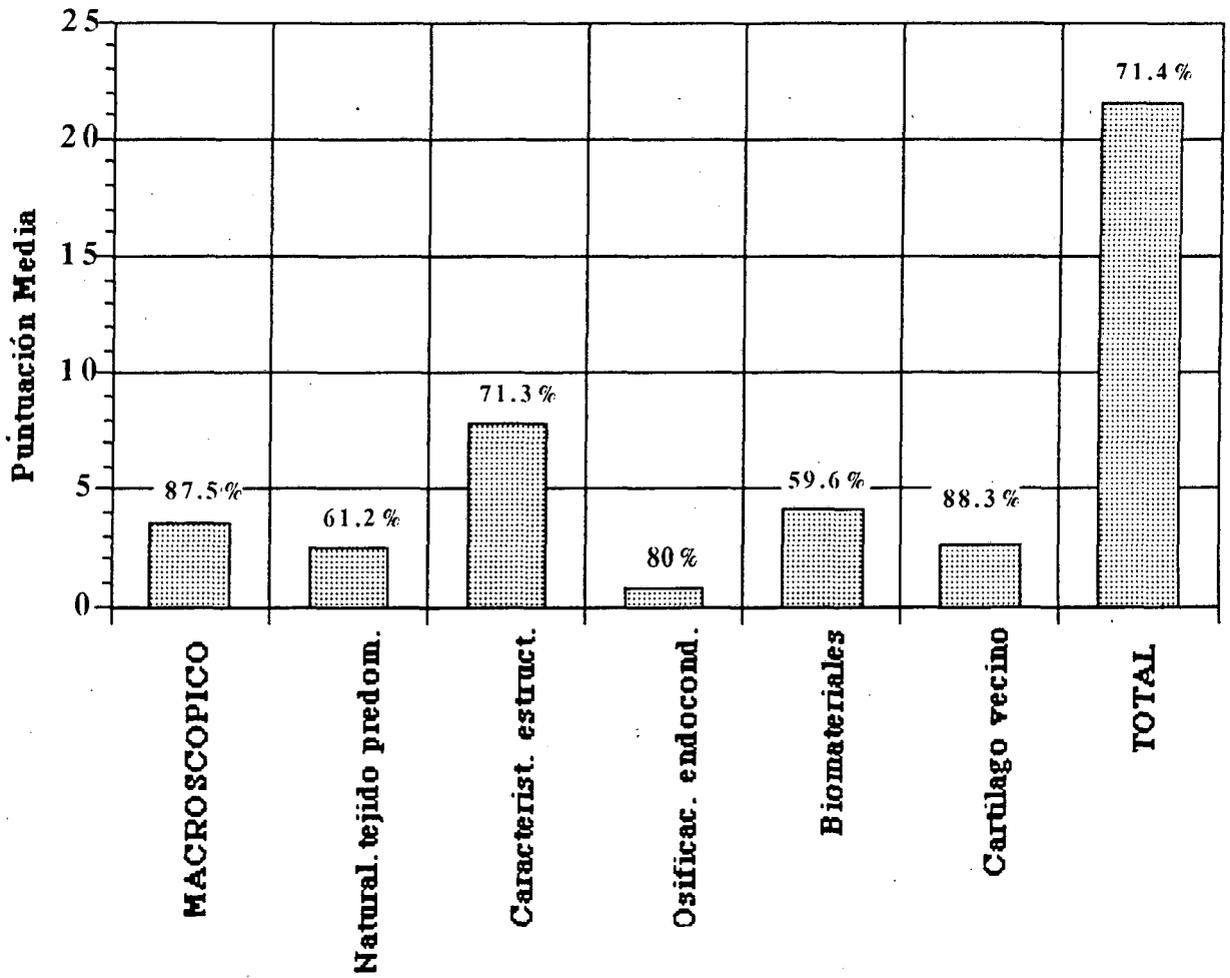


Fig. 30
 MEDIA DE LOS RESULTADOS TOTALES DEL TEJIDO NEORFORMADO

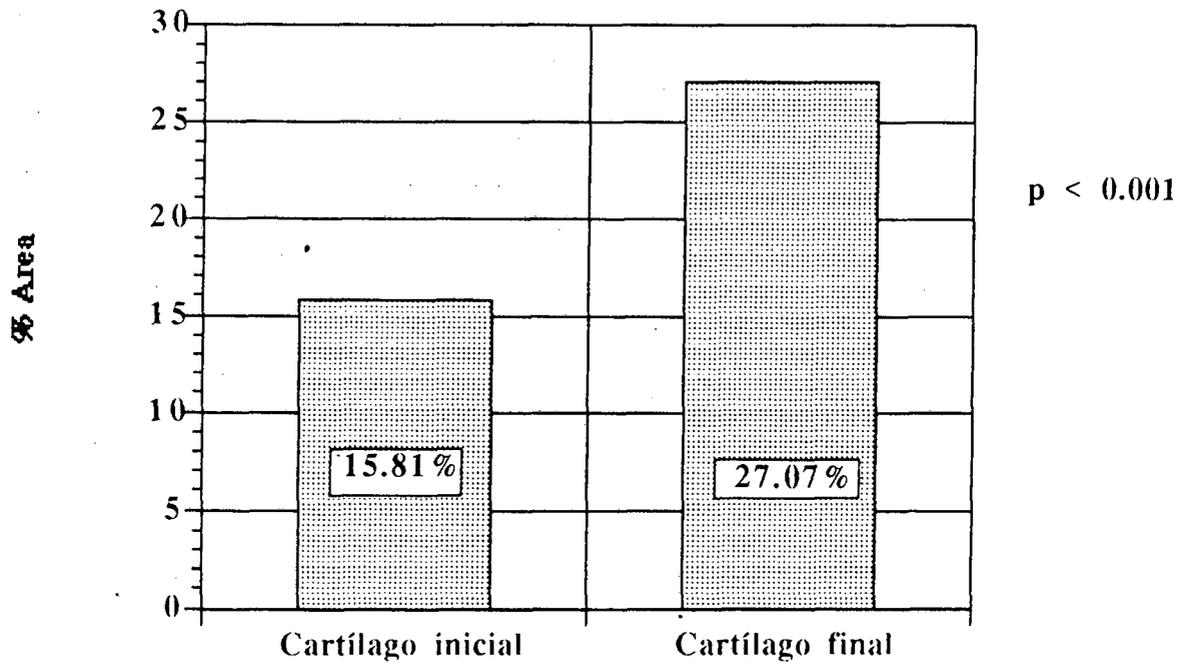


Fig. 47
VARIACION EN EL PORCENTAJE DE CARTILAGO

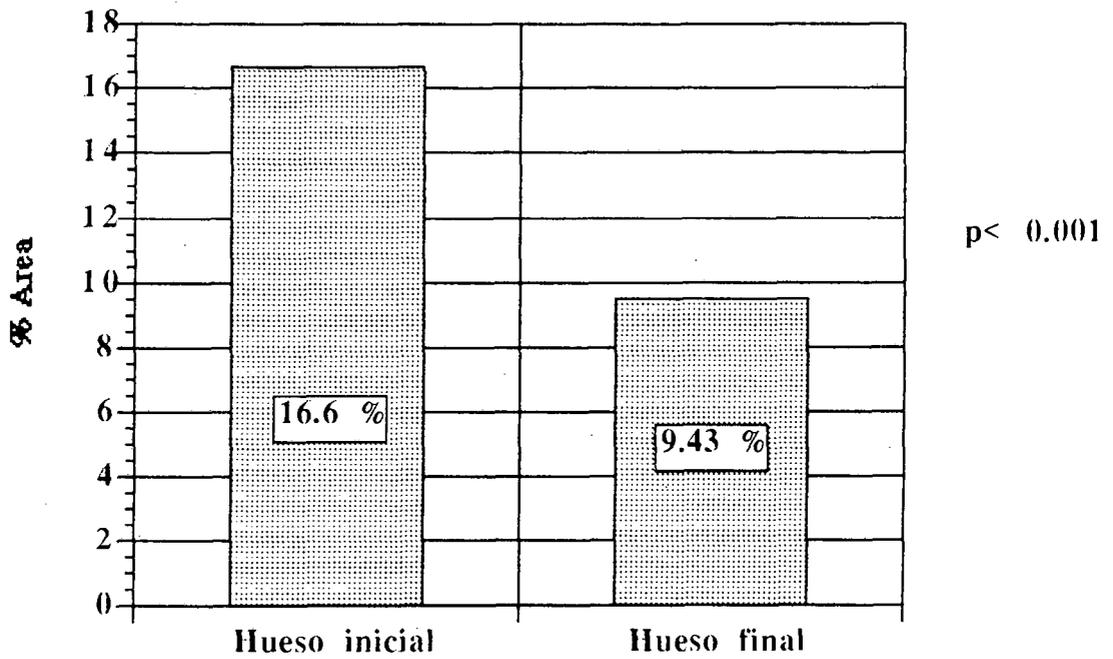


Fig. 48
VARIACION EN EL PORCENTAJE DE HUESO

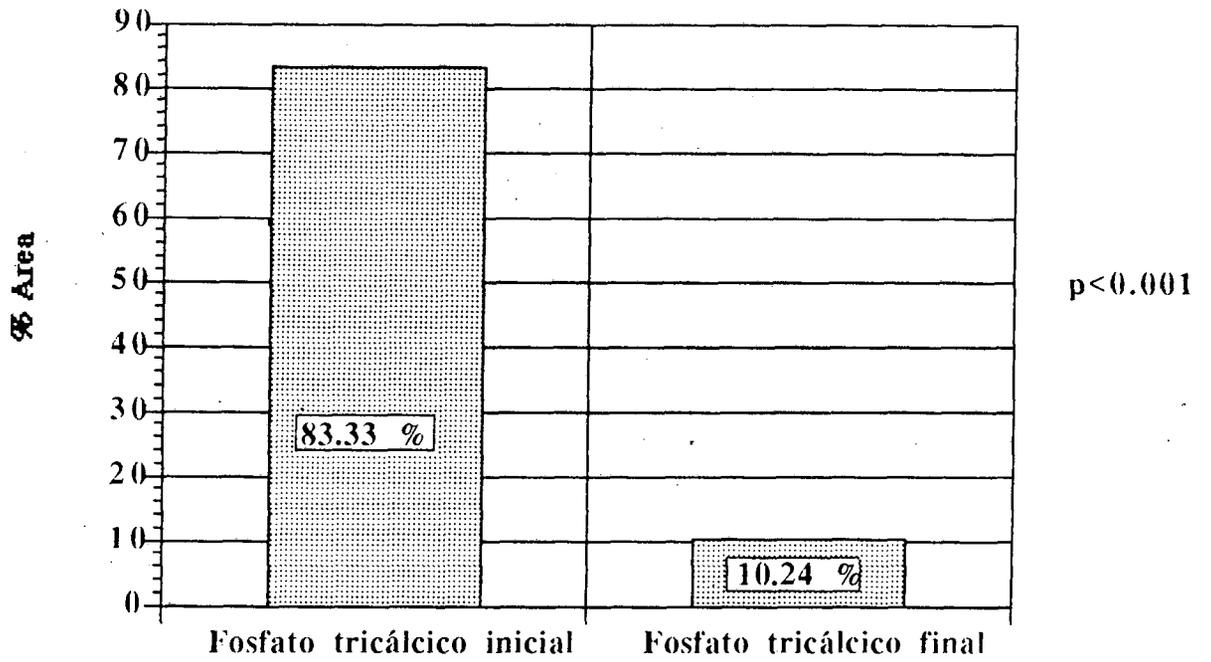


Fig. 49
 VARIACION EN EL PORCENTAJE DE FOSFATO TRICALCICO

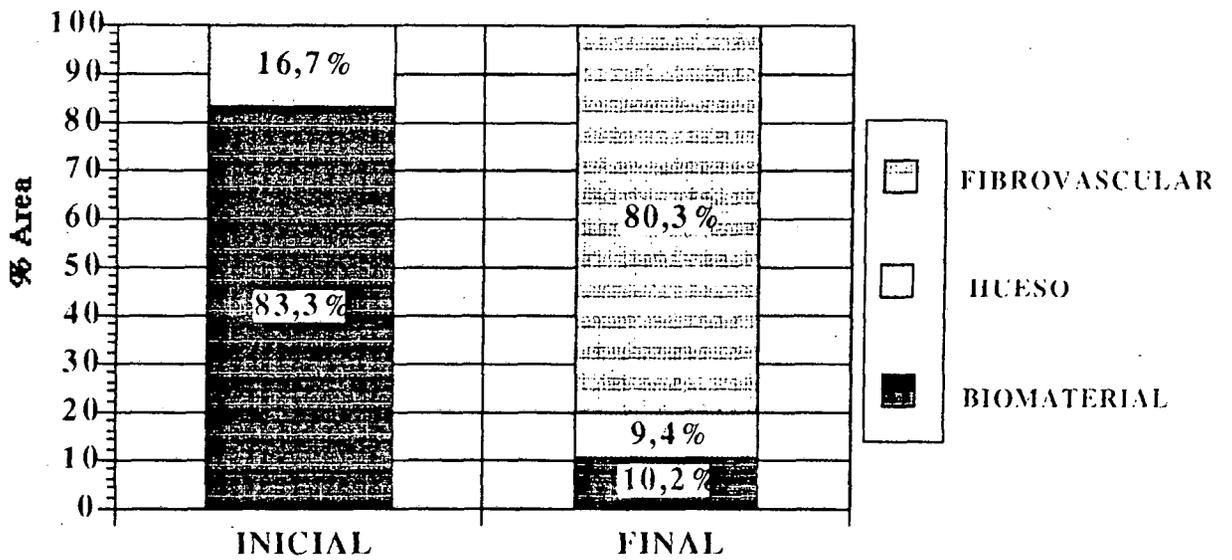
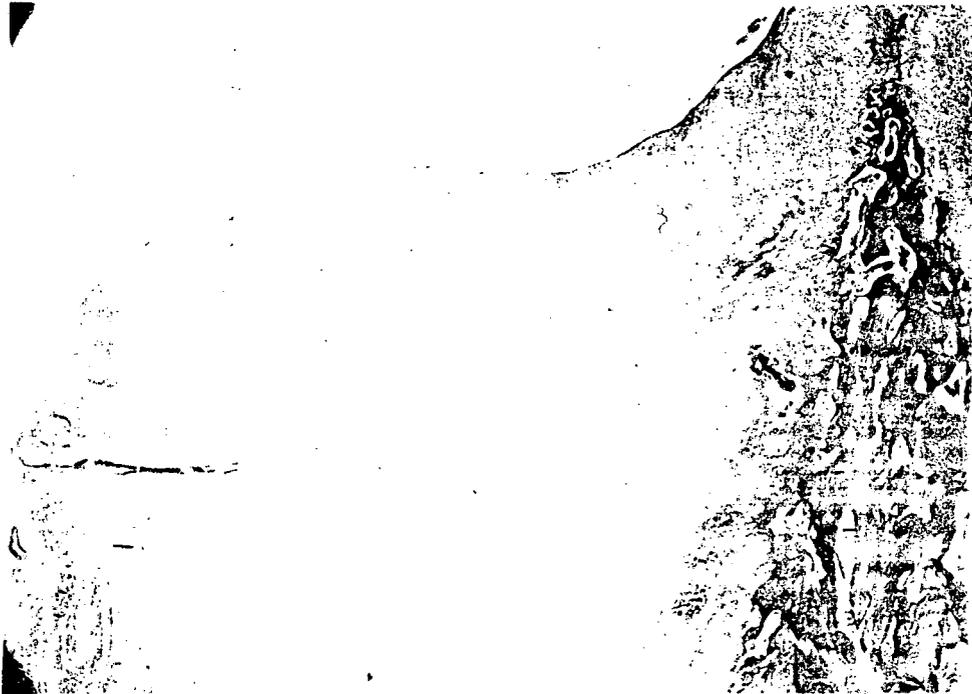


Fig. 50
 VARIACION PORCENTUAL EN EL TEJIDO SUBCONDRA



a



b

Figs. 12 a y b

- a) Visión macroscópica del tejido neoformado al luxarse la rótula. El cartílago femoral y el tejido neoformado en el defecto presentan una coloración violacea.
- b) Visión microscópica del tejido neoformado, a modo de surco intercondíleo, tras la luxación de la rótula (hematoxilina-eosina 20 x).

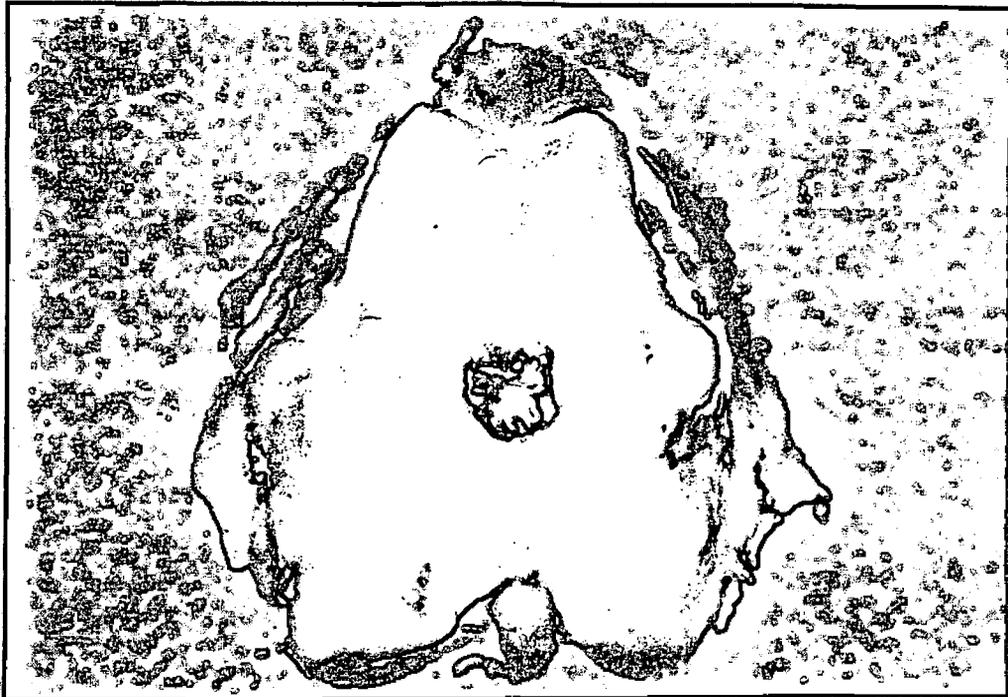
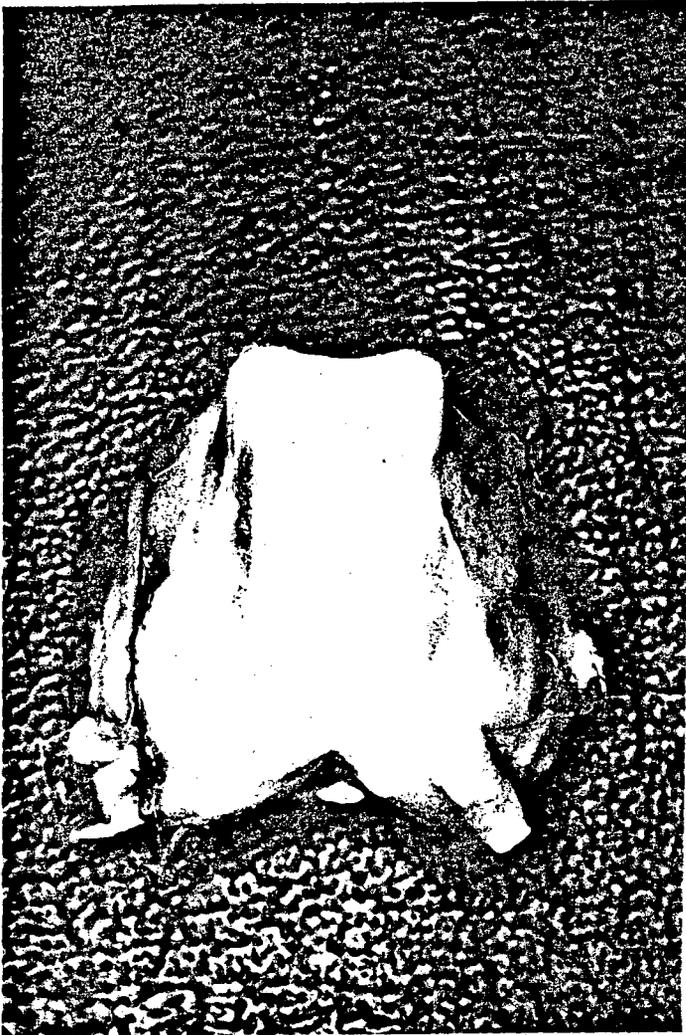
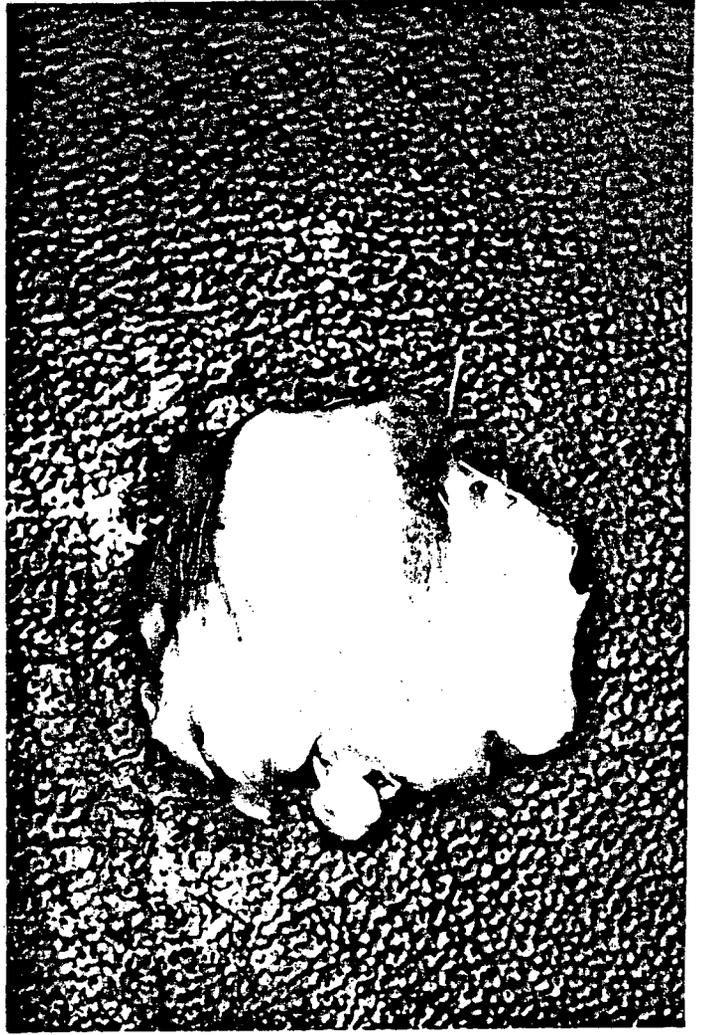


Fig. 14

Aspecto macroscópico del defecto con ausencia de tejido neoformado por desprendimiento del injerto.



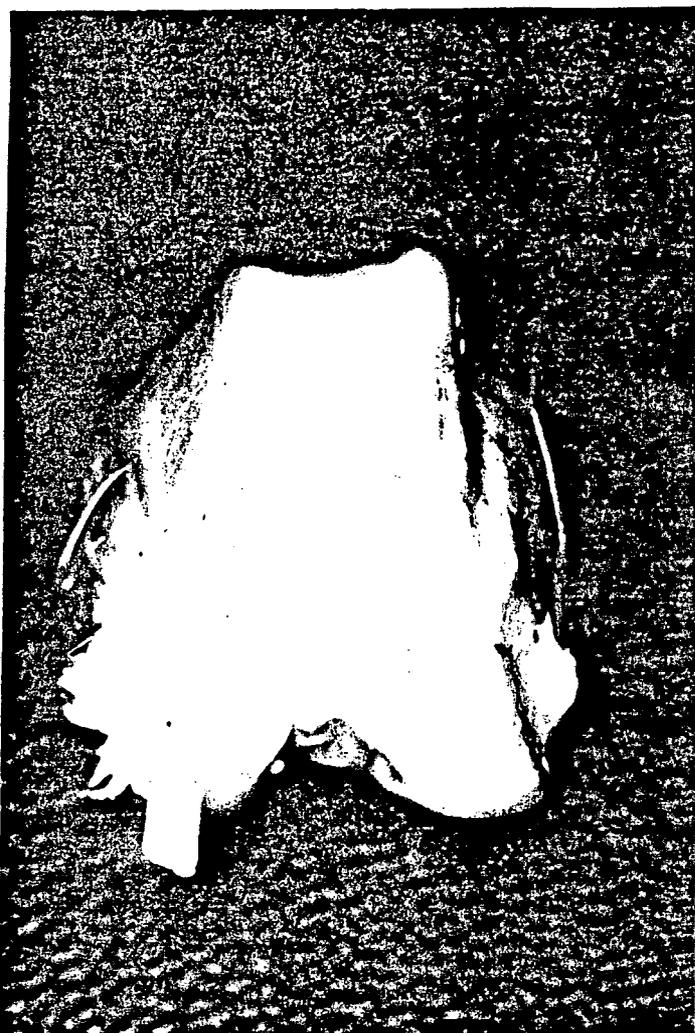
a



b

Figs. 17 a y b

Aspecto macroscópico del tejido neoforado valorado como buen resultado.



c

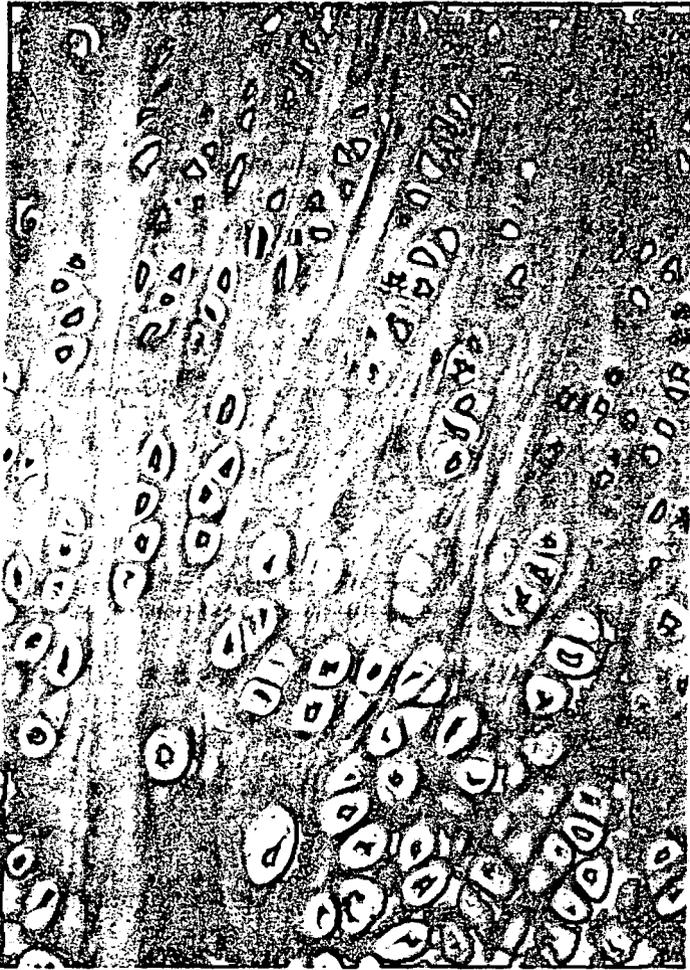


d

Figs. 17 c y d

c) Aspecto macroscópico del tejido neoforado considerado como un resultado regular por hallarse deprimido en su zona central.

d) Aspecto macroscópico del tejido neoforado considerado como un mal resultado por hallarse deprimido y mal adherido a uno de sus bordes.



31



32

Figs. 31 y 32

31) Detalle de la morfología de los condrocitos en la capa profunda o radial (hematoxilina-eosina 300 x).

32) Detalle de la morfología de los condrocitos en la zona de transición entre las capas profunda y calcificada (tricromico de Masson 500 x).



33



34

Figs. 33 y 34

33) Tejido neoformado cuya superficie es lisa, moderadamente sobreelevada y con una completa unión con el cartílago y hueso vecino. En la profundidad se observan restos de biomaterial (hematoxilina-eosina 80 x).

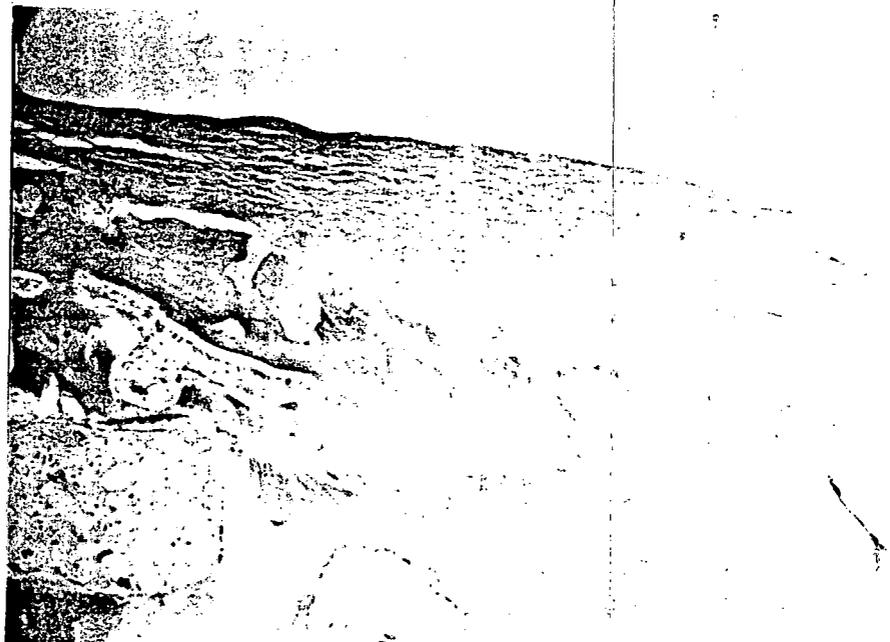
34) Tejido neoformado cuya superficie está nivelada con una discreta fisuración e incremento de su área. Práctica desaparición del biomaterial (hematoxilina-eosina 80 x).



Figs. 35 a y b

a) Neoformación de tejido fibroso, cuya superficie se halla deprimida y con laminación horizontal. Abundantes fragmentos de biomaterial envueltos por tejido fibrovascular (hematoxilina-eosina 80 x).

b) Detalle del margen izdo. de la figura superior (hematoxilina-eosina 100 x).



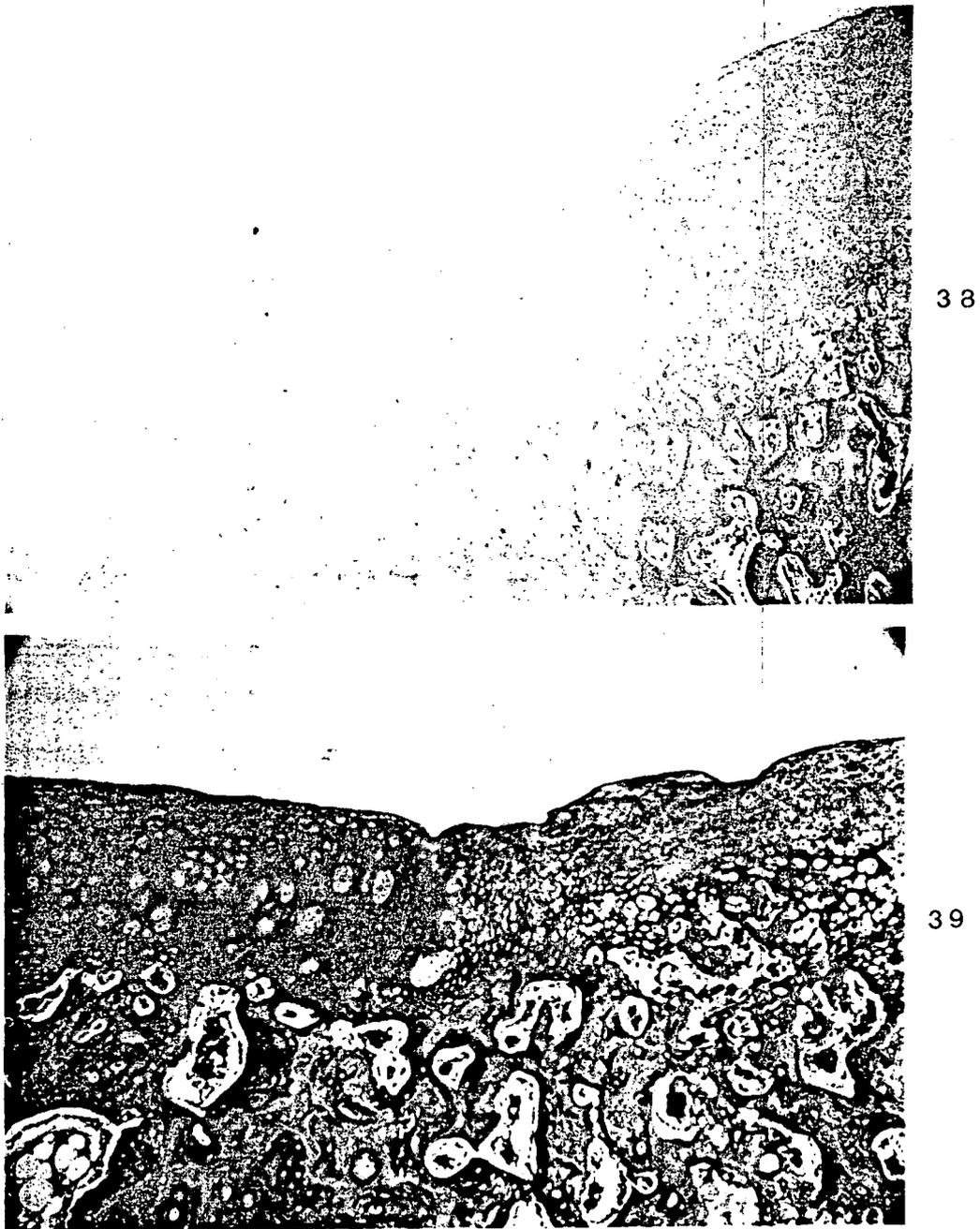


Figs. 36 y 37

36) Tejido neoformado deprimido parcialmente adherido a uno de los bordes del cartílago vecino. Persisten restos de biomaterial envueltos por tejido óseo y fibrovascular (hematoxilina-eosina 80 x).

37) Importante desestructuración del tejido neoformado; superficie deprimida; abundantes nidos celulares, sin disposiciónn columnar; incompleta adhesión al cartílago vecino (hematoxilina-eosina 100 x).





Figs. 38 y 39

38) Detalle de la unión del tejido neoforado al cartílago vecino donde se observa una línea de fisuración (hematoxilina-eosina 100 x).

39) Aspecto de irregularidad del tejido neoforado con escasa diferenciación celular y completa adhesión al cartílago y hueso subcondral vecino (tricroómico de Masson 80 x).



Figs. 40 a y b

- a) Neoformación ósea mediante el proceso de osificación endocondral. Ribete de osteoblastos entorno al hueso neoformado (hematoxilina-eosina 500 x).
- b) Proceso de osificación endocondral y ribete de osteoblastos en torno a un fragmento de biomaterial (hematoxilina-eosina 300 x).