

FACULTAD DE MEDICINA DE ALCALÁ DE HENARES
CÁTEDRA DE TRAUMATOLOGÍA
(PROF. A. LÓPEZ ALONSO)
FACULTAD DE MEDICINA DE LA LAGUNA
CÁTEDRA DE ANATOMÍA PATOLÓGICA
(PROF. L. DÍAZ FLORES)

Sustitución del Menisco por Pericondrio Auricular. Estudio Experimental

L. DIAZ FLOREZ, A. LÓPEZ ALONSO, A. VARGAS ROMERO
y A. AZNAR AZNAR.

RESUMEN

Los autores realizan un estudio experimental en la rata sustituyendo el menisco por pericondrio auricular, unas veces en forma plana y otras plegado en U. Ello provoca una respuesta reparativa con formación de verdadero cartílago. Cuando el pericondrio se injerta plegado en U de forma que la superficie de ruptura de las cápsulas condrocitarias se enfrenten entre sí, se asiste a la neoformación de dos clases de cartílago, una que aparece en la capa más interna del pericondrio y otro en las zonas de repliegue de éste último. Se discute el posible origen de estos dos tipos de neocartílago.

Descriptores: Sustitución meniscal. Pericondrio auricular. Respuesta reparativa. Estudio experimental.

SUMMARY

The authors carry out an experimental study to evaluate the replacement of the medial meniscus in the rat knee by auricular perichondrial grafts (simple or plicated). This brings about a reparative replay with formation of cartilage tissue.

When the perichondrial graft was used at the plicated form, it could keep out two kinds of neoformated cartilage; the first appeared in the most internal stratum of the perichondrium; the second type was found in the withdrawal zone of it. The possible origin of the neocartilage form is discussed.

Key words: Auricular perichondrium. Cartilage neoformation. Experimental Study.

Introducción

La capacidad del pericondrio para producir tejido cartilaginoso ha sido

reconocida previamente (LESTER, 1959) (1), observándose este hecho en múltiples circunstancias clínicas, como en la resección subpericondríca del

cartílago (2). En este mismo sentido, en un estudio de la patogenia de la denominada "oreja de coliflor", se ha demostrado experimentalmente, que cuando el pericondrio es elevado de la capa subyacente del cartílago, aparece neocartílago entre los tejidos separados (3,4,5).

También se ha comprobado la capacidad neoformadora de cartílago en injertos libres de pericondrio: (4,5,6,7,). Asimismo, parece evidente, que las propiedades macromoleculares, son similares a las del cartílago normal (8). Por otra parte los pericondrios en cultivo de tejidos, se comportan como células relativamente diferenciadas con la capacidad de desarrollar un nuevo cartílago (7,9).

El objetivo de este trabajo, es valorar la respuesta biológica del pericondrio implantado, tras la extirpación completa del menisco, en zona meniscal.

Material y método

Se utilizaron 24 ratas de raza Sprague-Dawley con pesos comprendidos entre 300 y 500 grs, sin distinción de sexo y en las que se descartó la posibilidad de embarazo.

La técnica anestésica consistió en la administración de Ketamina por vía intraperitoneal a la dosis de 10 mgrs. por cada 100 gr. de peso. Una vez anestesiado el animal se preparaba la zona quirúrgica con solución de yodo-polidona y se procedía a la realización de una incisión longitudinal media anterior, sobre la articulación de la rodilla. Bajo condiciones de rigurosa asepsia se abría la cápsula articular y membrana sinovial, mediante incisión parapatelar interna, procediéndose luego a la luxación de la rótula hacia afuera. Flexionando en-

tonces la rodilla, se consigue una visión completa del menisco interno que se extirpa en su totalidad, pero siempre respetando el paramenisco, colocando luego en el lecho meniscal, una tira de pericondrio que previamente se había extraído, en condiciones asépticas, de la superficie externa de la oreja del mismo animal. Dicho pericondrio se colocó unas veces en forma plana y otras plegado en U.

Los animales se fueron sacrificando entre los días 3 y 28 de postoperatorio por sobredosis de barbitúrico obteniéndose las piezas para su estudio por microscopía óptica y microscopía electrónica. Para los estudios ópticos, las muestras se fijaban en solución acuosa de formol al 10% y se procesaban en un Autotechnicon Two. Una vez deshidratadas e incluidas en parafina, de acuerdo con un programa inspirado en la sistemática seguida por el Departamento Anatomía Patológica del Centro Médico de la Universidad de Alabama, se teñían con Hematoxilina-Eosina, Van Gieson y Tricrómico de Braun. Para los estudios ultraestructurales, las piezas fueron fijadas por inmersión directa en glutaraldehído al 2.5%, amortiguado a 7.3 de pH. La inclusión se efectuó en epoxiresina de baja viscosidad Spurr. Los cortes semifinos, fueron teñidos con azul de Toluidina.

Resultados

Es importante tener en cuenta que la tira rectangular de pericondrio procedente de la oreja del mismo animal que se implanta en el lecho meniscal, consta por un lado de una franja de células cartilaginosas del cartílago adyacente, y por otro, de células musculares estriadas, tejido conectivo y adipocitos. Por otro lado, todos estos componentes quedan situados en la cavidad articular cuando se ha realizado la experiencia.

En la etapa inicial, asistimos a una revascularización del tejido injertado, que se realiza a partir de la sinovial adyacente y de la propia zona quirúrgica. Asimismo, se produce una discreta infiltración inflamatoria, formada fundamentalmente por elementos de tipo macrofágico. El hecho más significativo, en relación con esta experiencia, viene dado por la neoformación de cartílago, cuyas características dependen fundamentalmente de la forma en que se dispone el pericondrio transplantado.

En todos los casos, asistimos hacia los 3-7 días, a la formación de neocartílago en la parte más interna del pericondrio, es decir, en aquella que contacta con la capa de condrocitos arrancados de su sitio original. Los condroblas-

tos formados en esta capa interna del pericondrio, muestran una elevada apetencia tintorial y cápsulas matriciales muy evidentes (Figuras nº 1 y 2).

Cuando el pericondrio transplantado es colocado en forma plana y sin plegaduras, únicamente se forma el neocartílago en la capa interna del mismo, mientras que en la superficie externa, o de la ruptura de cápsulas condrocitarias, aparece tejido conjuntivo más o menos celular (Figura nº 3).

Cuando el pericondrio trasplantado se coloca plegado en U, de tal forma que la superficie de ruptura de las cápsulas condrocitarias quede hacia afuera, contactando las otras superficies entre sí, se aprecia también formación de neocartílago únicamente en la zona

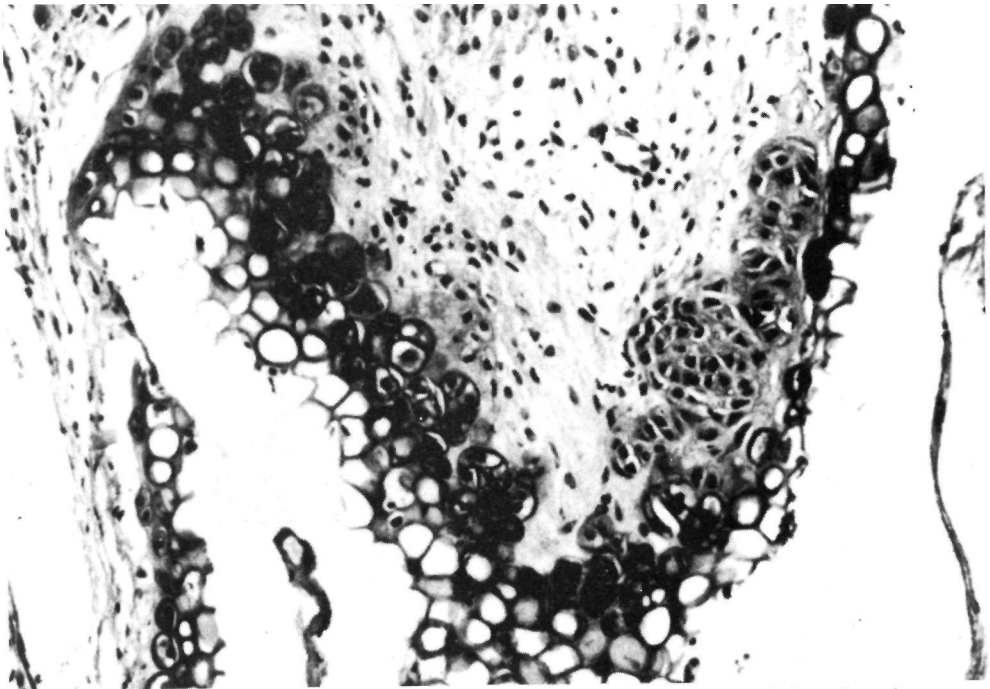


Figura 1: Presencia de neocartílago en la capa más interna pericóndrica constituido por células poligonales y sustancia intercelular con gran apetencia tintorial.

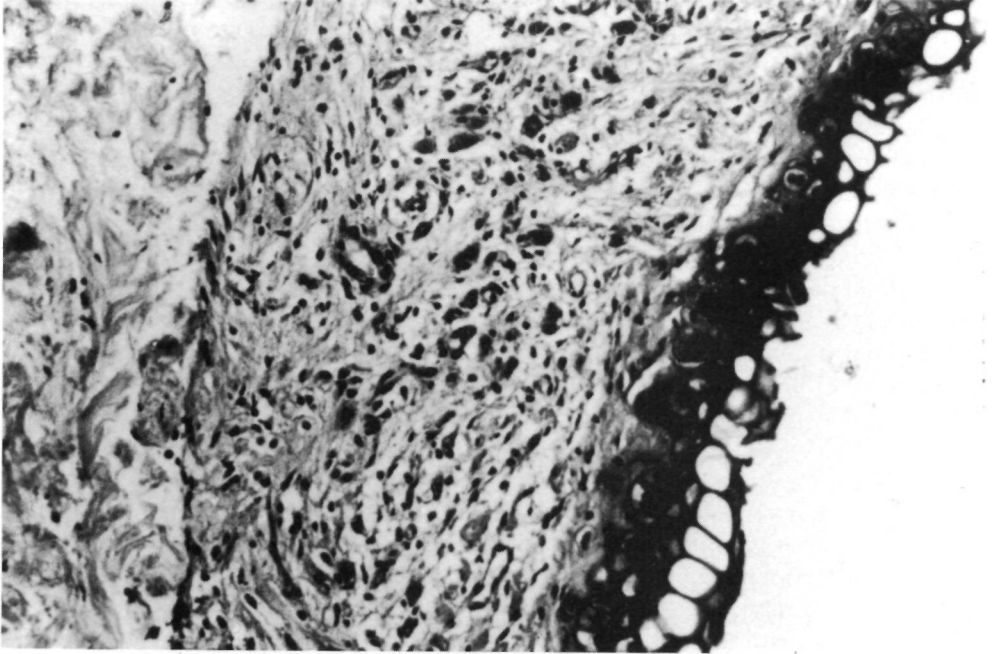


Figura 2: Otro aspecto del neocartilago formado en la capa más interna del pericondrio. Obsérvese la elevada aptencia tintorial de los condroblastos y las cápsulas matriciales muy evidentes.

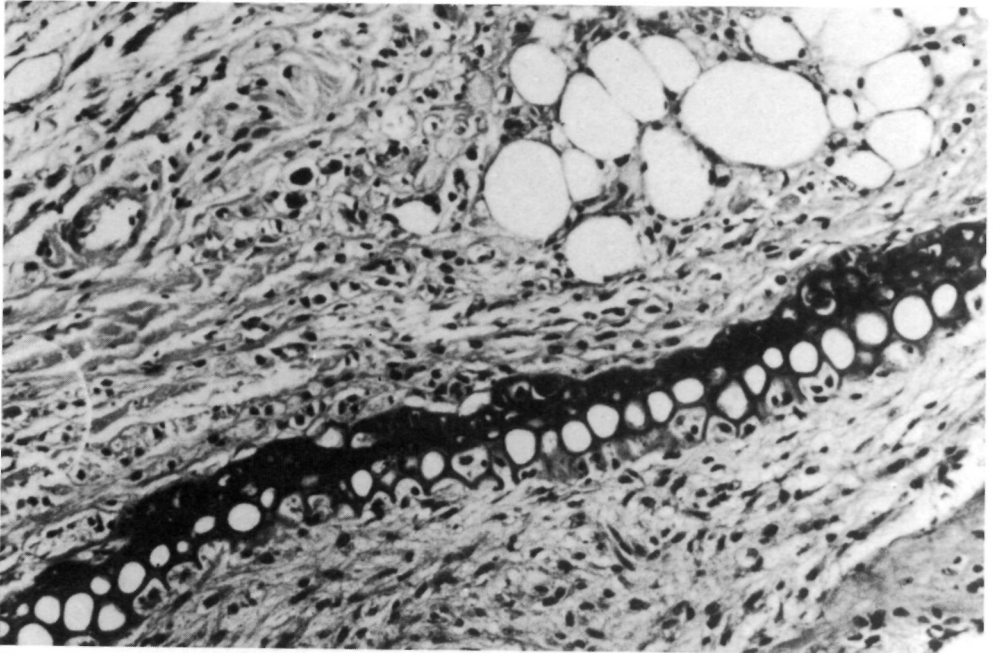


Figura 3: Áreas con disposición lineal del pericondrio en las que se observa la formación de un tejido conjuntivo en las zonas vecinas a las cápsulas condrocitarias rotas.

relacionada con la capa más interna del pericondrio. (Figura nº 4).

Finalmente, cuando el pericondrio se coloca también plegado, pero de forma que las superficies de ruptura de las cápsulas condrocitarias se enfrentan entre sí, asistimos a la formación de dos clases de cartílago. Uno de ellos similar al ya descrito, aparece en la capa interna del pericondrio; mientras que el otro surge en el espacio existente entre las prolongaciones de las cápsulas fragmentadas y enfrentadas por el plegamiento. Este último, muestra células más pequeñas, menos densas y con cápsulas peor definidas. En esta zona, y de forma previa a la aparición de tejido cartilaginoso, se aprecia la proliferación de algunas yemas vasculares y de elementos de aspecto fibroblástico, a la vez que de

infiltración de macrófagos. Con posterioridad, se asiste a la involución microvascular y a la modulación hacia tejido cartilaginoso, ocurriendo este hecho entre los 7 y 10 días, es decir, más tardíamente que en el cartílago formado en la capa más interna del pericondrio.

Discusión

La implantación de pericondrio auricular en la zona de defecto meniscal, determina la aparición de cartílago neoformado en la capa más interna del mismo, es decir, donde se sitúan los pericondrocitos; en la superficie de ruptura de las cápsulas condrocitaria aparece tejido conjuntivo.

Cuando el pericondrio implantado

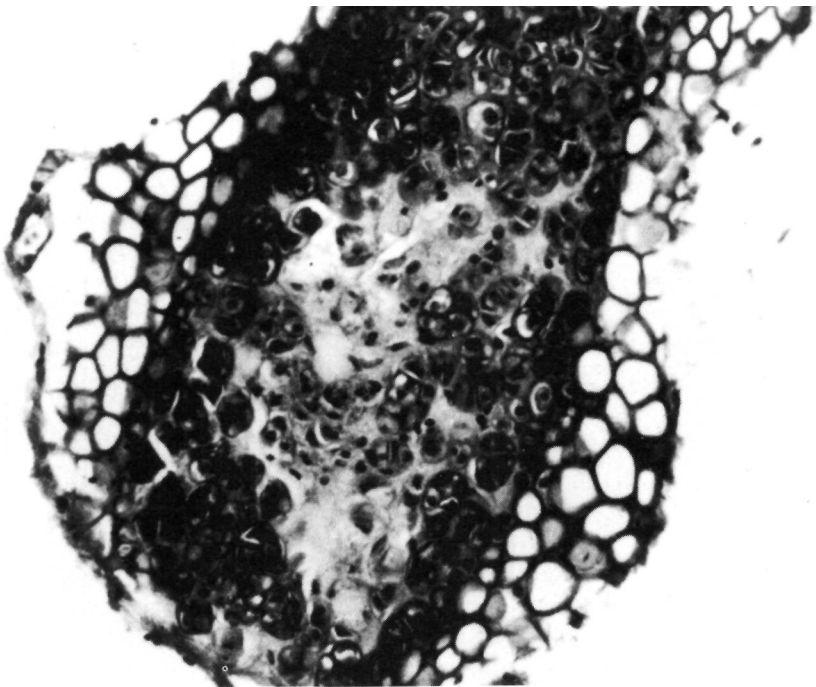


Figura 4: Zona pericóndrica plegada donde puede observarse la formación de cartílago a partir de la capa condrogénica del pericondrio.

presenta algunas plegaduras entonces se forma además un segundo tipo de cartílago, precisamente en la zona de enfrentamiento de las cápsulas condrocitarias rotas por el arrancamiento previo de su normal disposición en el cartílago auricular.

Por los resultados obtenidos parece deducirse que el cartílago formado en la parte más interna del pericondrio, cuando éste es colocado en forma plana en la zona del defecto meniscal, es formado a partir de células especializadas, los pericondrocitos, que probablemente son estimulados a proliferar por factores de crecimiento cartilaginoso (11, 12, 13).

Por otra parte, el cartílago que se forma en las zonas de repliegue, parece surgir a partir del tejido de granulación, que experimenta una remodelación secundaria. Efectivamente, se distingue la siguiente secuencia evolutiva: a) Infiltración del territorio por neutrófilos y macrófagos. b) formación de tejido de granulación, c) involución de los vasos sanguíneos neoformados y d) formación de neocartílago. En este caso la matriz de los condrocitos originales, arrancados con el pericondrio, parece comportarse, como una barrera contra el paso de elementos celulares, entre el pericondrio y el área de repliegue.

Teniendo en cuenta los hechos reseñados, parece deducirse, que éste último tipo de neocartílago, se forma a partir de elementos celulares que acompañan al tejido de granulación. Estas células progenitoras, podrían ser inducidas a diferenciarse, por agentes liberados en el injerto. Tal diferenciación, podría tener un patrón similar al que se ha descrito en el grupo de Urist y cols.

(3,4,5,8,16,17,19), para la proteína morfogenética. Parece también posible, que el elemento celular progenitor, provenga de células perivasculares de tipo mesenquimal presentes en los vasos vasorum, los pericitos (20,21), con la posible existencia de un factor morfogenético que podría inducir a la diferenciación a éstas células mesenquimales. Por otra parte, la involución microvascular que aparece en estas áreas de repliegue, con la consiguiente modulación del tejido de granulación podría tener el mismo significado que la regresión de los vasos sanguíneos en las regiones pericondrogénicas durante la esqueletogénesis (22,23).

Probablemente en estas áreas de repliegue, existe una mayor concentración de agentes morfogenéticos ya que en las zonas con cápsulas cartilaginosas desgarradas y sin repliegues, únicamente se desarrolla tejido fibroso. Lo que estaría también de acuerdo, con aquellos estudios, que demuestran la necesidad de un gradiente local de concentración de Proteína ósea Morfogenética (BMP) para inducir la diferenciación de cartílago o hueso.

Nuestro grupo de trabajo (20), utilizando injertos de pericondrio en músculo estriado, también demuestra -como en el caso que nos ocupa, la neoformación de dos tipos diferentes de cartílago, a partir de injertos pericóndricos, los cuales quedan claramente separados por los condrocitos originales y su matriz. Uno de dichos tipos, probablemente a partir de células especializadas que podrían ser estimuladas a proliferar por factores de crecimiento. El otro tipo aparece en el lecho del injerto, probablemente a partir de células mesenqui-

males perivasculares que podrían ser inducidas a diferenciarse a cartílago, por la presencia de agentes morfogenéticos.

Conclusión

La sustitución, tras la extirpación completa del menisco y parcial del paramenisco, por pericondrio auricular, determina la presencia de neocartílago en la capa más interna del pericondrio, así como en las zonas de repliegue de éste último. En estos casos, la respuesta reparativa, se ve incrementada por la formación de verdadero cartílago, aunque éste no es lo suficientemente importante en cantidad, como para condicionar una respuesta útil y por tanto aplicable a la cirugía humana.

Postulamos que el mejor conocimiento de los factores de desarrollo cartilaginoso liberados en el pericondrio, puede hacer que su empleo, algún día sea posible en la práctica clínica.

Bibliografía

1. LESTER, (1959). (Citado por LATKER, 1986).
2. LATKER, CH; FEINBERG, RN; BEEBE, DC: Localized vascular regresión during limb morphogenesis in the chicken embryo: II Morphological changes in the vasculature. *Anat. Rec.* 1986, 214: 410.
3. NOGAMI, H. y URIST, M.R.: A morphogenetic matrix for differentiation of cartilage in tissue culture. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1970. 134: 530.
4. OHLSEN, L.; SKOOG, T. y SOHN, S.A.: The pathogenesis of the cauliflower ear. An experimental study in rabbits. *Br. J. Plast. Surg.* 1975. 29: 262.
5. SKOOG, T.; OHLSEN, L. y SOHN, S.A.: The condrogenic potential of the pericondrium. *Chir. Plast.* 1975. 3: 91.
6. EISEMANN, M.L.: The growth potential of autograft cartilage. An experimental study. *Archi. Otolaryngol.* 1983. 109: 469.
7. ENKVIST, O.; SKOOG PASTACALDI, P.; YORMUK, E. y JUHLIN, R.: The cartilaginous potential of the perichondrium in rabbit aer and rib. A comparative study in vivo and in vitro. *Scand. J. Plast. Reconst. Surg.* 1979. 13: 275.
8. URIST, M.R.; LIETZA, A.; MIZUTANI, H.; TAKAGI, K.; TRIPFITT, J.T.; AMSTUTUZ, J.; DELANGE, R.; TERMINE, J. y FINERMAN, G.M.: A bovine low molecular weight bone morphogenetic protein (BMP) fraction. *Clin. Orthop.* 1983. 152: 219.
9. TAKAHASHI, S. y URIST, M.R.: Differentiation of cartilage on three substrata under the influence of an aggregate of morphogenetic protein and other bone tissue noncollagenous proteins (BMP/iNCP). 1986. 207: 227.
10. NOGAMI, H. y URIST, M.R.: Explants, transplants, and implants of a cartilage and bone morphogenetic matrix. *Clin. Orthop.* 1974. 103: 235.
11. CANALIS, E.; KATO, Y.; HIRAKY, Y. y SUZUKI, F.: Effect of cartilage-derived factor on DNA and protein synthesis in cultured rat calvariae. *Calcif. Tissue Int.* 1984. 36:102.
12. KATO, Y.; WATANABE, R.; TSUJI, M.; SUZUKI, F. y CANALIS, E.: Effect of bone-derived growth factor on DNA, RNA and proteoglycan synthesis in cultures

- of rabbit costal chondrocytes. *Metabolism*. 1982. 31: 812.
13. KIMURA, T.; YASUI, N. OHSAWA, S. y KEIRO, O.: Chondrocytes embedded in collagen gels maintain cartilage phenotype during long-term cultures. *Clin. Orthop.* 1984. 186: 231.
 14. NEVO, Z. y DORFMAN, A.: Stimulation of chondromucoprotein synthesis in chondrocytes by extracellular chondromucoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1972. 60: 2069.
 15. NILSON, O.S., URIST, M.R. ; DAWSON, E.G.; SCHMALZRIED, T.P. y FINERMAN, G.A.M.: Bone repair induced in bone morphogenetic protein in ulnar defects in dogs. *J. Bone J. Surg.* 1986. 68-B: 635.
 16. RICH, D.H. y COULTHARD, S.W.: The growth of cartilage from perichondrial graft in the larynx. *Laryngoscope*. 1978. 88: 517.
 17. SOHN, S.A. y OHLSEN, L.: Growth of cartilage from free perichondrial graft placed across a defect in a rabbit's trachea. *Plast. Reconst. Surg.* 1974. 53: 55.
 18. UPTON, J.; SOHN, S.A. y GLOWACKI, J.: Neocartilage derived from transplanted perichondrium: What is it?. *Plast. Reconstr. Surg.* 1981. 68: 166.
 19. URIST, M.R. DeLANGE, R.J. y FINERMAN, G.A.M.: Bone cell differentiation and growth factors: induced activity of chondro-osteogenetic DNA. *Science*. 1983. 220: 680.
 20. DIAZ FLORES, L.: Growth of two different types of cartilage after free autologous perichondrial graft. Induced neochondrogenesis in graft bed. *Clin. Orthop.* 1989. En prensa.
 21. VASGAS ROMERO, A.: "Estudio experimental de la reparación de los meniscos de la articulación de la rodilla". Tesis doctoral. Universidad de La Laguna (Directores: Lopez Alonso, A. y Diaz Florez, L.).
 22. FEINBERG, R.N. ; LATKER, C.H. y BEEBE, D.C.: Spatial and temporal changes in the vascular pattern. *Anat. Rec.* 1986. 214: 405.
 23. KLAGSBRUN, M. y SMITH, S.: Purification of a cartilage-derived growth factor. *J. Biol. Chem.* 1980. 255: 10859.