

# Análisis a largo plazo del cartílago producido por injertos libres de periostio tibial en lesiones articulares del cóndilo femoral del conejo.

## Long-term analysis of articular cartilage formation induced by tibial periostium free grafts in chondral defects of the medial femoral condyle in the rabbits

L. GARCÍA PAÍNO, A. CARRANZA BENCANO, J.R. ARMAS PADRÓN

FACULTAD DE MEDICINA. HOSPITAL UNIVERSITARIO "VIRGEN DEL ROCÍO". UNIVERSIDAD DE SEVILLA.

**Resumen.** Propósito del estudio: Analizar la reparación de lesiones del cartílago articular con injertos libres de periostio. Material y Métodos: 36 conejos de Nueva Zelanda, de 4 a 6 semanas. Creación de úlcera condral en cóndilo femoral interno. Evolución espontánea en 18 animales. Tratamiento con injerto libre de periostio tibial fijado con Tissucol R en otros 18 animales. Sacrificio en grupos de 6 animales a las 8, 12 y 24 semanas. Valoración de resultados macroscópicos, histológicos e histoquímicos. Análisis estadístico mediante el Test de la "U" de Mann-Whitney. Resultados: La evolución espontánea de la lesión no conllevó, en ningún caso, su reparación completa. El injerto libre de periostio tibial proporcionó una reparación completa de la lesión y una restauración de la superficie articular con diferencia estadísticamente significativa.

**Conclusiones:** El presente estudio pone de manifiesto, en el conejo, la escasa capacidad de reparación espontánea del cartílago articular y el potencial condrogénico de injertos libres de periostio tibial, con mantenimiento a largo plazo de las características macroscópicas, histológicas e histoquímicas del neocartílago. Se discute la posibilidad de su utilización como método alternativo en la reparación de lesiones osteocondrales circunscritas en pacientes jóvenes.

**Summary.** Purpose of the study: To analyze the healing capacity of articular cartilage lesions treated with periostium free grafts. Material and Methods: 36 New Zealand rabbits, 4 - 6 weeks old were used. A chondral defect was created in the medial femoral condyle and a free graft of tibial periostium filling the defect was fixed with Tissucol® in 18 animals. The other 18 rabbits were used as controls. The specimens for laboratory study were harvested at 8, 12 and 24 weeks. Evaluation included macroscopic, histologic and histochemical results. Mann-Whitney test was used for statistical analysis. Results: Spontaneous evolution of the lesion did not lead to complete repair in any case. The periosteum free implant provided complete repair of cartilage lesions and restoration of the articular surface that was statistically significant. Conclusions: This study confirms, in the rabbit, the scarce spontaneous repair of articular cartilage and the chondrogenic potential of tibial periosteum free implants, with long term maintenance of the macroscopic, histologic and histochemical characteristics of neocartilage. The potential for its use as an alternative method in repair of circumscribed osteochondral lesions in young patients is discussed.

**Correspondencia:**

A. Carranza Bencano  
C/ Santa Clara 16, 1º, D  
41002 Sevilla  
E-mail: acarranz@cica.es  
Tlf: 954375982

**Introducción.** El cartílago articular es considerado como una estructura con escasa o nula capacidad de respuesta ante una agresión, de forma que, un daño severo puede considerarse como irreparable. Numerosos estudios han comprobado que

la evolución espontánea de una lesión cartilaginosa rara vez conlleva la reparación completa (1-5), incluso lesiones pequeñas y profundas, que afectan al hueso subcondral, se rellenan por tejido fibrocartilaginoso que, a largo plazo, sufre deterioro progresivo y se

muestra incapaz de desempeñar las funciones del cartílago articular normal (2,4,6-9). De esta forma, las lesiones secundarias a fracturas osteocondrales, osteocondritis o condromalacia en niños, adolescentes y adultos jóvenes representan serios problemas terapéuticos, pues en ellos, la sustitución protésica no es el procedimiento ideal.

El presente trabajo forma parte de una línea de investigación dedicada al estudio de las posibilidades de reparación de lesiones osteocondrales con injertos de tejidos con capacidad condrogénica, tales como periostio, pericondrio y sinovial (1,10-14) y tiene como objetivo analizar a largo plazo la neocondrogénesis a partir de injertos libres de periostio tibial, en defectos creados en la superficie articular de carga del cóndilo femoral del conejo.

**Material y métodos.** Hemos utilizado 36 conejos de raza blanca neozelandesa, entre 4 y 6 semanas de vida, con un peso de 2,3 a 2,8 kg. Se distribuyeron aleatoriamente en 2 series de 18 animales cada una, la serie A o control y la serie B o experimental. A su vez, en cada serie, se distribuyeron aleatoriamente en 3 grupos (I, II y III) de 6 animales cada uno, con un seguimiento de 8, 12 y 24 semanas respectivamente.

Para la anestesia empleamos una metodología propia desarrollada en el quirófano experimental del Hospital Universitario Virgen del Rocío, consistente en una inducción intravenosa con 20 mg/kg. de Pentotal sódico y anestesia con Isoflorano al 2% y mezcla de oxígeno y aire al 50%, permitiendo la ventilación espontánea a través de una mascarilla especialmente ideada para este tipo de animales.

El área de experimentación elegida fue la zona posterior de carga de la superficie articular del cóndilo femoral interno, por su similitud anatómica con la humana, presentar un tamaño adecuado, fácil accesibilidad quirúrgica y estar sometida a considerables fuerzas de carga. La técnica quirúrgica, bajo rigurosas medidas de asepsia, consistió en artrotomía por incisión parapatelar interna para exponer el cóndilo femoral

interno y realizar, con trocar especialmente diseñado para este estudio, una úlcera de 4 mm de diámetro y 3 mm de espesor, hasta alcanzar hueso subcondral sangrante (Fig. 1). En la serie control este gesto constituyó toda la intervención, en la experimental la citada úlcera se cubrió con injerto libre de periostio tibial, obtenido de la cara interna del tercio proximal de la tibia, dirigiendo su cara profunda o lámina osteógena hacia la cavidad articular y fijándolo mediante un Sistema Adhesivo de Fibrina (SAF) comercializado bajo el nombre de Tissucol R.

En el postoperatorio la rodilla intervenida fue inmovilizada en flexión con escayola, para evitar el desprendimiento inicial de la plastia por la fricción fémoro-tibial durante los movimientos de flexo-extensión, permitir la cicatrización del alerón rotuliano interno e impedir las autolesiones sobre la herida quirúrgica. Tras 5 días de inmovilización se les permitió desarrollaron una "actividad libre", en jaulas individuales, hasta el momento del sacrificio.

Tras el sacrificio se procedió a la valoración macroscópica (mediante observación y estudio fotográfico) y a la extracción del cóndilo femoral interno para el procesado histológico mediante fijación en formol al 10%, descalcificación en ácido nítrico, inclusión en parafina y realización de cortes de 4-5 micras para su tinción con hematoxilina-eosina. En los grupos con un seguimiento más largo (grupos III de las series experimentales y control, con sacrificio a las 24 semanas), se completó el estudio con procedimientos histoquímicos mediante tinción con safranina O para observación bajo microscopía óptica y electrónica de transmisión. El procesado de estas muestras incluyó su fijación en glutaraldehído al 2% tamponado con una solución de fosfato sódico 0,1 m y Safranina O al 0,1%. Tras aclarado en una solución tampón de fosfato (que contenía sacarosa 0,2 m y safranina

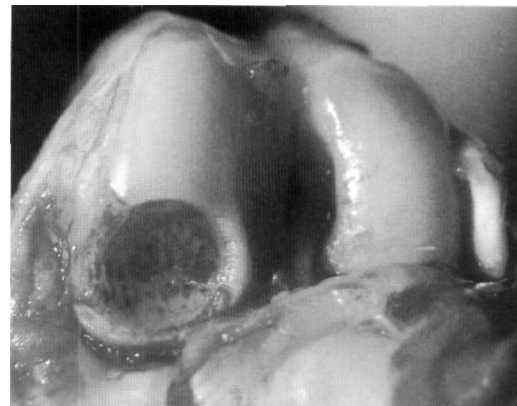


Fig. 1. Modelo experimental. Úlcera de 4 mm de diámetro y 3 mm de espesor en área de carga del cóndilo femoral interno.

Tabla 1.  
Resultados macroscópicos. Serie A (control)

Ptos.	Grupo I (8 sem.) (n= 4)	Grupo II(12 sem ) (n = 5)	Grupo III (24 sem.) (n = 6)	
<b>PARÁMETROS RODILLA</b>				
Morfología normal	2	3	4	6
Alteración leve	1	1	0	0
Alteración severa	0	0	1	0
Función normal	2	4	4	6
Movilidad 50-100%	1	0	1	0
Movilidad < 50%	0	0	0	0
No fibrosis	2	3	4	6
Fibrosis mínima	1	1	0	0
Fibrosis marcada	0	0	1	0
<b>PARÁMETROS CÓNDILO</b>				
Morfología normal	2	4	4	3
Osteofitosis	0	0	1	3
Superficie normal	2	0	0	0
Restauración parcial	1	3	4	5
Restauración nula	0	1	1	1
Úlcera no visible	2	0	0	0
Defecto erosionado	1	0	1	2
Erosión amplia	0	4	4	4
Aspecto normal	2	0	0	0
Neoformado opaco	1	0	3	2
Descolorido o irregular	0	4	2	4
Remanente normal	2	4	4	0
Cambios degenerativos	0	0	1	6
<b>Puntuación Total</b>	16(*)	41/64(67%)(**)	49/80(61%)(**)	51/96(53%)(**)

n = Número de animales. (\*) Puntuación máxima posible para cada animal.!(\*\*) Puntuación total obtenida por los animales integrantes del grupo / puntuación máxima posible del grupo. (% obtenido de dicha relación).

Tabla 2.  
Resultados macroscópicos. Serie B (experimental)

Ptos.	Grupo I (8 sem.) (n=4)	Grupo II (12 sem.) (n=5)	Grupo III (24 sem.) (n=6)	
<b>PARÁMETROS RODILLA</b>				
Morfología normal	2	3	5	6
Alteración leve	1	2	1	0
Alteración severa	0	0	0	0
Función normal	2	5	6	6
Movilidad 50-100%	1	0	0	0
Movilidad < 50%	0	0	0	0
No fibrosis	2	3	6	6
Fibrosis mínima	1	2	0	0
Fibrosis marcada	0	0	0	0
<b>PARÁMETROS CÓNDILO</b>				
Morfología normal	2	5	5	5
Osteofitosis	0	0	1	1
Superficie normal	2	4	5	6
Restauración parcial	1	0	1	0
Restauración nula	0	1	0	0
Úlcera no visible	2	4	5	6
Defecto erosionado	1	0	1	0
Erosión amplia	0	1	0	0
Aspecto normal	2	0	0	4
Neoformado opaco	1	4	5	2
Descolorido o irregular	0	1	1	0
Remanente normal	2	5	6	6
Cambios degenerativos	0	0	0	0
<b>Puntuación Total</b>	16(*)	66/80(82%)(*)	84/96(87%)(***)	92/96(96%)(****)

n = Número de animales. (\*) Puntuación máxima posible para cada animal.!(\*\*) Puntuación total obtenida por los animales integrantes del grupo / puntuación máxima posible del grupo. (% obtenido de dicha relación).

O al 0,05%), se procedió a una postfijación en osmio al 2% con fosfato sódico 0,1 m y safranina O al 0,025%. Todos las preparaciones fueron incluidas en resina Spurr y se realizaron cortes mediante ultramicrotomo.

Una media de 10-20 secciones fueron cortadas de cada bloque y numeradas desde la periferia al centro, para que todas las áreas del defecto pudieran ser examinadas y minimizar el error debido un inadecuado muestreo. Las secciones de cada animal fueron examinadas independientemente por tres investigadores sin conocer el grupo al que pertenecían.

Cada preparación fue evaluada con arreglo a una escala histológica, modificación de la descrita por Moran y Salter (15), O'Driscoll (16) y Mankin (13). En ellas se concedió una puntuación predeterminada a cada parámetro analizado, de modo que a los mejores resultados les correspondería la puntuación más alta que iría decreciendo a medida que los resultados fueran empeorando. La puntuación final de cada grupo se obtuvo del producto entre los puntos que correspondieron a cada animal y el número de animales integrantes de dicho grupo.

Los datos numéricos obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico, mediante la aplicación del test de la "U" de Mann-Whitney, con el fin de poder comparar los resultados pertenecientes a los animales de la serie control y los de la serie experimental.

**Resultados.** De los 36 animales que componían el estudio inicial, 2 murieron antes de la fecha de sacrificio con cuadro diarreico, mientras que otros 2 fueron excluidos por infección en la rodilla intervenida en el momento del sacrificio, por ello, la valoración de resultados se realizó en 32 animales, 15 de la serie control y 17 de la experimental.

*Resultados macroscópicos.* En la serie control (Tabla 1) la alteración de la morfología de la rodilla sólo fue evidente en 1 animal del grupo I y en otro del grupo II (13,33%)

provocando, en este último, una importante limitación funcional debida a la existencia de luxación inveterada del aparato extensor con marcada fibrosis intraarticular. La alteración morfológica de los cóndilos femorales fue más marcada a medida que el seguimiento fue más largo, con presencia de reacción osteofítica en 1 animal del grupo II y en 3 del grupo III (27%). La úlcera condral fue claramente visible en todos los especímenes, independientemente de su tiempo de seguimiento, al aparecer recubierta parcialmente por un tejido de aspecto deslustrado, opaco e irregular, que supuso una restauración incompleta o nula de la superficie articular (Fig. 2). El cartílago remanente mostró alteraciones degenerativas a partir de las 12 semanas (grupo II).

En la serie experimental (Tabla 2), 2 animales del grupo I y 1 animal del grupo II (18%) presentaron alteraciones leves de la morfología de la rodilla intervenida sin repercusión funcional. En los cóndilos femorales se observaron alteraciones morfológicas, con reacción osteofítica, en 2 casos (12%) pertenecientes a los grupos II y III. Excepto en 2 casos (88%), la úlcera condral se hallaba completamente recubierta por un tejido que, inicialmente, presentaba un aspecto más blanquecino y algo más opaco que el del resto del cartílago articular, con una superficie ligeramente convexa. Paulatinamente, a medida que el seguimiento fue siendo mayor, este neoformado fue mostrando un aspecto menos opaco y más aplanado, que hacía difícil su diferenciación con el resto del cartílago adyacente (Fig. 3). En ningún caso el cartílago remanente mostró alteraciones degenerativas.

**Resultados histológicos.** En la serie control (Tabla 3), en ninguna de las preparaciones analizadas el neoformado estaba constituido por cartílago hialino. A las 8 semanas presentaba aspecto de tejido fibroso y a las 12 y 24 semanas de tejido fibrocartilaginoso de características mixtas, en el que las células mostraban un aspecto más semejante a fibroblastos que a condrocitos y no adoptaban la disposición característica del

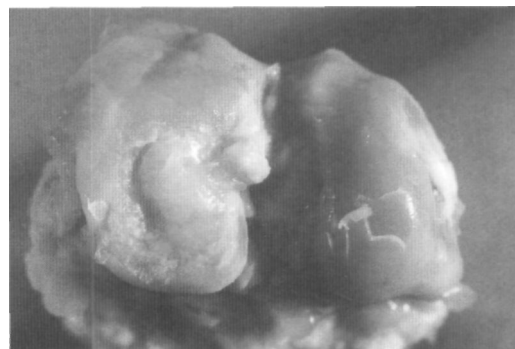
Tabla 3.

**Morfología histológica. Serie A (control)**

Parámetros m. óptica y h/e.	Ptos.	Grupo I (8 sem.) (n=4)	Grupo II (12 sem.) (n=5)	Grupo III (24 sem.) (n=6)
<b>NEOFORMADO</b>				
C. hialino exclusivamente	4	0	0	0
C. hialino predominantemente	2	0	0	0
Fibrocartilago predominante	1	0	4	6
T. fibroso o hueso predom.	0	4	1	0
(*) Celularidad normal	3	0	0	0
Disminución ligera	2	0	0	3
Disminución moderada	1	0	3	2
Disminución severa	0	0	1	1
(*) Formación de grupos				
No existen	2	0	0	0
< 25% de la células	1	0	0	0
25-100% de las células	0	0	0	0
Superficie lisa	3	0	0	0
Fisuración superficial	2	0	3	2
Fisuración 25-100%	1	3	2	3
disrupción completa	0	1	0	1
(*) Estructura normal	2	0	0	0
disrupción leve	1	0	0	0
Gran alteración	0	0	0	0
<b>Espesor:</b>				
Igual que el normal	2	0	0	0
Mayor que el normal	1	0	0	0
Menor que el normal	0	4	5	6
<b>Continuidad :</b>				
Ambos bordes	2	0	0	0
1 solo borde o 2 parciales	1	3	5	5
Ningún borde	0	1	0	1
<b>Osificación endocondral:</b>				
Debajo "tide mark"	2	0	0	0
Encima "tide mark"	1	0	0	0
Ausente	0	4	5	6
<b>CARTÍLAGO REMANENTE</b>				
Celularidad normal				
Tinción normal	3	1	2	0
Celularidad normal. Tinción				
Moderada. Algunos grupos	2	3	3	4
Hipocelul. Moderada				
Tinción débil	1	0	0	2
Hipocelul. Severa				
Tinción pobre	0	0	0	0
<b>PUNTUACIÓN TOTAL</b>	<b>23(**)</b>	<b>15/92(16%)(***)</b>	<b>32/115(27%)(***)</b>	<b>36/138(26%)(***)</b>

n = Número de animales. (\*) Solo valorable cuando en el neoformado aparece tejido cartilaginoso (exclusivo o predominante). No valorable cuando el regenerado está constituido por fibrocartilago tejido fibroso o hueso. (\*\*) Puntuación máxima posible para cada animal. (\*\*\*) Puntuación total obtenida por los animales integrantes del grupo / puntuación máxima posible del grupo. (% obtenido de dicha relación).

cartílago hialino. Desde el punto de vista estructural, independientemente del tiempo de seguimiento, la superficie no se mantuvo lisa en ningún caso, con alteraciones en forma de fisuración o disrupción completa. En todos los casos el espesor fue menor que el del cartílago adyacente y la continuidad con los bordes incompleta. En ningún caso estuvieron pre-



**Fig. 2.** Aspecto macroscópico del cóndilo femoral del grupo control a las 24 semanas de evolución.

Tabla 4.  
Morfología histológica. Serie B (experimental)

Parámetros m. óptica y h/e.	Ptos.	Grupo I (8 sem.) (n=5)	Grupo II (12 sem.) (n=6)	Grupo III (24 sem.) (n=6)
<b>NEOFORMADO</b>				
C. hialino exclusivamente	4	0	2	6
C. hialino predominante	2	3	4	0
Fibrocartílago	1	2	0	0
T. fibroso o hueso	0	0	0	0
(*) Celularidad normal	3	0	2	6
Disminución ligera	2	3	4	0
Disminución moderada	1	0	0	0
Disminución severa	0	0	0	0
(*) Formación de grupos				
No existen	2	0	2	5
< 25% de la células	1	5	4	1
25-100% de las células	0	0	0	0
Superficie lisa	3	4	6	6
Fisuración superficial	2	1	0	0
Fisuración 25-100%	1	0	0	0
Disrupción completa	0	0	0	0
(*) Estructura normal	2	0	1	6
Disrupción leve	1	3	5	0
Gran alteración	0	0	0	0
Espesor:				
Igual que el normal	2	0	4	5
Mayor que el normal	1	5	2	1
Menor que el normal	0	0	0	0
Continuidad:				
Ambos bordes	2	4	5	6
1 solo borde o 2 parciales;	1	1	1	0
Ningún borde	0	0	0	0
Osificación endocondral:				
Debajo "tide mark"	2	5	6	6
Encima "tide mark"	1	0	0	0
Ausente	0	0	0	0
<b>CARTÍLAGO REMANENTE</b>				
Celularidad normal				
Tinción normal	3	4	4	5
Celularidad normal. Tinción				
Moderada. Algunos grupos	2	1	2	1
Hipocelul. Moderada				
Tinción débil	1	0	0	0
Hipocelul. Severa				
Tinción pobre	0	0	0	0
<b>PUNTUACIÓN TOTAL</b>	<b>23(**)</b>	<b>70/115(61%)(***)</b>	<b>112/138(81%)(***)</b>	<b>137/138(99%)(***)</b>

n = Número de animales. (\*) Solo valorable cuando en el neoformado aparece tejido cartilaginoso (exclusivo o predominante). No valorable cuando el regenerado está constituido por fibrocartílago tejido fibroso o hueso. (\*\*) Puntuación máxima posible para cada animal. (\*\*\*) Puntuación total obtenida por los animales integrantes del grupo / puntuación máxima posible del grupo. (% obtenido de dicha relación).



Fig. 3. Aspecto macroscópico del condilo femoral del grupo experimental a las 24 semanas de evolución.

neoformado constituido por cartílago hialino, de forma predominante o exclusiva, lo cual fue más evidente en los especímenes pertenecientes al grupo con mayor seguimiento (Fig. 5). Sólo en 1 de los 17 casos (6%) se observaron signos de fisuración superficial, sin grandes alteraciones estructurales; la continuidad en los bordes de la lesión fue completa en la mayoría de los casos y en todos estuvieron presentes los fenómenos de osificación endocondral. El espesor del regenerado, que comenzó siendo mayor que el del resto del cartílago adyacente, fue disminuyendo progresivamente hasta hacerse similar al cabo de 24 semanas de seguimiento. El cartílago remanente solo mostró alteraciones leves en 4 preparaciones (23%).

Resultados histoquímicos. En la serie control (Tabla 6), la tinción con safranina O presentaba una severa reducción, sin tinción pericelular y en cambio mostraba tinción intracelular (Fig. 6). La microscopía electrónica, mostraba tejido fibroso, sin tinción de safranina O y áreas de diferenciación fibrocartilaginosa, constituidas por células de aspecto irregular con indentaciones y formaciones pseudopódicas, con tinción irregular para proteoglicanos en borde celular y a nivel de la sustancia intercelular, sin la característica estructura multiramificada o "imagen en araña", debido a la tinción de los proteoglicanos y sus ramificaciones por la safranina O. Las organelas celulares, cuyo estado traduce el grado de actividad metabólica de las células, estaban disminuidas.

En la serie experimental (Tabla 6), la tinción con safranina O era normal, tanto en torno a la membrana celular como a nivel de la matriz condroide (Fig. 7). A microscopía electrónica se apreciaba tejido cartilaginoso, con células redondeadas, de superficie regular, con núcleo redondeado u oval, con uno o más nucleolos, con citoplasma bien diferenciado, con gran actividad de las organelas y con intensa tinción para proteoglicanos en forma de halo en la membrana celular y a nivel de la matriz condroide, en forma de material denso con configuración en estructura multiramificada.

En la serie experimental (Tabla 4), 15 animales (38%) presentaban tejido

**Análisis estadístico.** Se llevó a cabo mediante la aplicación del Test de la "U" de Mann-Whitney, a los resultados numéricos obtenidos a partir de la escala de valoración, tanto para los aspectos macroscópicos como para los relacionados con la morfología histológica; no siendo posible su aplicación al estudio histoquímico por insuficiencia de la muestra.

El análisis de los resultados macroscópicos (Tabla 7) mostró diferencia significativa entre los grupos II ( $p < 0,05$ ) y III ( $p < 0,01$ ) de las series control y experimental. Con relación a la morfología histológica (Tabla 8) las diferencias fueron significativas tanto entre los grupos I ( $p < 0,05$ ) como II y III ( $p < 0,01$ ).

**Discusión.** La problemática de la reparación del cartílago articular radica en dos características intrínsecas de éste. Por un lado la alta especialización del tejido conectivo que lo forma y que conlleva una escasa actividad mitótica de sus células (4, 17,18). Por otra parte, su carácter avascular que condiciona, de forma importante, la respuesta ante una agresión. Cuando la lesión afecta al hueso subcondral se forma un hematoma con células de la serie roja, blanca y de la médula ósea, y estas células pueden sufrir metaplasia con formación de tejido similar al cartílago hialino, sobre todo si se trata de lesiones de pequeño tamaño (3,19,20). No obstante, este tejido muestra importantes alteraciones estructurales y bioquímicas, con disminución del contenido en hexosamina, galactosamina y glucosamina y aumento de la proporción de colágeno tipo I (2,6).

Sobre la base de esta posibilidad de reparación extrínseca, autores como Pridie (20) y más tarde Insall (21) propugnaron en la práctica clínica la creación de múltiples perforaciones que afectasen a todo el espesor del cartílago dañado, hasta llegar al hueso subcondral, con el fin de conseguir la reparación extrínseca de la lesión. Pero los trabajos de Convetry (19), O'Driscoll (22) y Salter (5) demostraron que sólo las lesiones de pequeño tamaño (con un diámetro infe-

Tabla 5.

**Resultados histoquímicos y ultraestructurales. Serie A (control)**

Tinción con Safarina 0		Ptos.	Grupo III (24 sem) (n=3)
<b>MICROSCOPIA ÓPTICA</b>			
<b>Tinción positiva</b>			
Normal o casi normal	2		0
Disminuida	1		0
<b>Tinción negativa</b>			
	0		3
<b>MICROSCOPIA ELECTRÓNICA</b>			
<b>Organelas (grado de actividad metabólica):</b>			
Normales	3		0
Dismunidas	2		3
Hipertrofiadas	1		0
Hiperplasiadas	0		0
<b>Matriz</b>			
Tinción positiva. estructura multiramificada	2		0
Tinción negativa. ALteración estructural	0		3
<b>PUNTUACIÓN MÁXIMA</b>	7(*)		6/21 (28%) (**)

n = Número de animales. (\*) Puntuación máxima posible para cada animal. (\*\*) Puntuación total obtenida por los animales integrantes del grupo / puntuación máxima posible del grupo. (% obtenido de dicha relación)

Tabla 6.

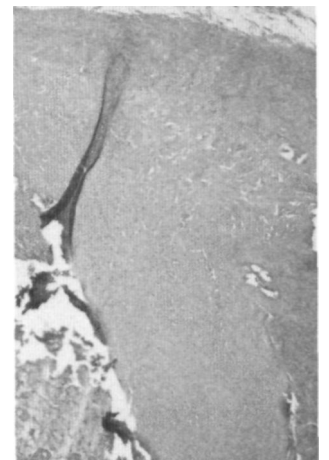
**Resultados histoquímicos y ultraestructurales. Serie B (experimental)**

Tinción con Safarina 0		Ptos.	Grupo III (24 sem) (n=3)
<b>MICROSCOPIA ÓPTICA</b>			
<b>Tinción positiva</b>			
Normal o casi normal	2		3
Disminuida	1		0
<b>Tinción negativa</b>			
	0		0
<b>MICROSCOPIA ELECTRÓNICA</b>			
<b>Organelas (grado de actividad metabólica):</b>			
Normales	3		2
Dismunidas	2		1
Hipertrofiadas	1		0
Hiperplasiadas	0		0
<b>Matriz</b>			
Tinción positiva. estructura multiramificada	2		3
Tinción negativa. ALteración estructural	0		3
<b>PUNTUACIÓN MÁXIMA</b>	7(*)		20/21 (95%) (**)

n = Número de animales. (\*) Puntuación máxima posible para cada animal. (\*\*) Puntuación total obtenida por los animales integrantes del grupo / puntuación máxima posible del grupo. (% obtenido de dicha relación)

rior a 3 mm) pueden tener cierta capacidad de reparación extrínseca.

Por este motivo se han utilizados distintos métodos de reparación con materiales biocompatibles, como fibra de carbono (23,24), goretex (25), hidroxiapatita (26) o dacron (27); injertos osteocondrales (28-30); interposición de tejidos biológicos tales como colágeno (31), fibrocartílago meniscal (32), membrana fetal (33) o piel (34). Así mismo se han empleado tejidos con capacidad condrogénica como la sinovial (1), el pericondrio (1,3,10,11,35), o el periostio (1,9,12-16,30,36); y se han realizado estudios recientes con células de calo óseo autó-



**Fig. 4.** Grupo control a las 24 semanas. Tejido fibrocartilaginoso con irregularidad en su superficie (H-E, 6.3x).

Tabla 7.

## Análisis estadístico. Resultados macroscópicos

Serie	Grupo	Media	Desv. Estándar	Signif. estadística
A	I	10.250	1.500	
B	I	13.000	3.464	N.S. (*)
A	II	9.800	4.970	
B	II	14.167	2.041	p<0,05
A	III	8.500	2.168	
B	III	15.333	1.211	p<0,01

\* N.S.= No significativo

Tabla 8.

## Análisis estadístico. Resultados hisyotológicos

Serie	Grupo	Media	Desv. Estándar	Signif. estadística
A	I	10.250	1.500	
B	I	13.000	3.464	N.S. (*)
A	II	9.800	4.970	
B	II	14.167	2.041	p<0,05
A	III	8.500	2.168	
B	III	15.333	1.211	p<0,01

\* N.S.= No significativo

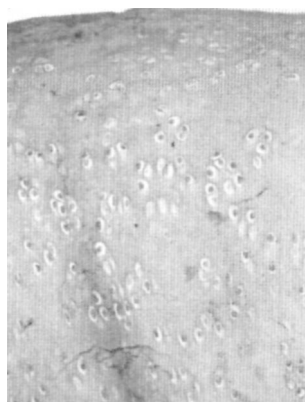


Fig. 5. Grupo experimental a las 24 semanas. Cartílago hialino con superficie articular regular y buena ordenación columnar de los condrocitos, sin grupos isógenos (H-E, 16x).

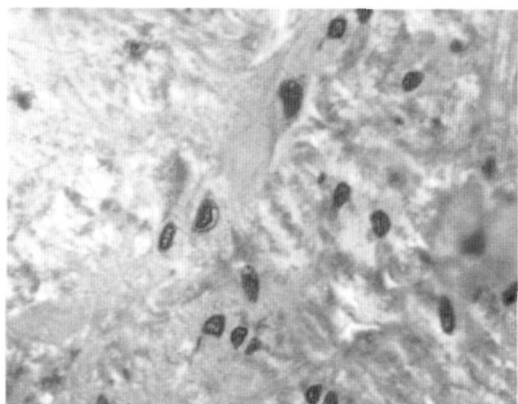


Fig. 6. Grupo control a las 24 semanas. Severa reducción de la tinción con safranina O, sin tinción pericelular y en cambio mostrando tinción intracelular (safranina 40x)

geno (37) y con cultivos de condrocitos autólogos (38,39).

El presente trabajo forma parte de una línea de investigación (1,10-14) que pretende analizar la capacidad condrogénica de diversos tejidos biológicos. En él estudiamos la capacidad de regeneración espontánea de lesiones amplias y profundas del cartílago articular del cóndilo femoral interno en zona de carga y la neoformación de cartílago hialino a partir de injertos libres de periostio tibial.

Coincidiendo con otros estudios, en este trabajo experimental, comprobamos la limitada capacidad de reparación de las

lesiones profundas y amplias del cartílago hialino articular, de tal modo, que a las ocho, doce y veinticuatro semanas de evolución, las úlceras condrales de la serie control se presentaban parcialmente rellenas de tejido fibroso y fibrocartilaginoso, con escasos focos de cartílago hialino (9). Mientras que el regenerado obtenido en la serie experimental estaba constituido de forma predominante o

exclusiva por cartílago hialino (16) y estas características se mantuvieron e incluso mejoraron a medida que el tiempo de seguimiento fue siendo mayor.

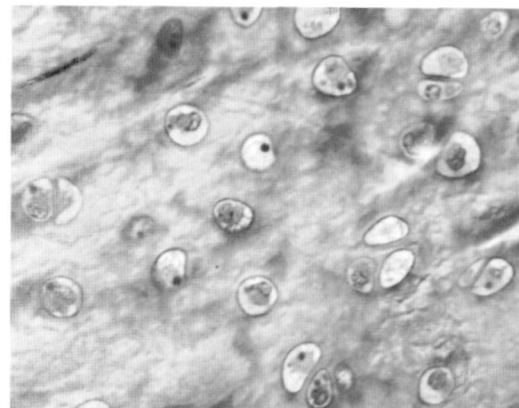
El tamaño de la lesión, su localización en zona de carga, el empleo de un SAF para la fijación de la plastia son factores que consideramos diferenciales y determinantes de los resultados obtenidos en este trabajo, en relación con otros similares. La lesión de un diámetro de 4 mm, excluye la posible influencia beneficiosa que la realización de una lesión profunda y de pequeño tamaño podría tener en su reparación espontánea. Su localización, en zona de carga, lo diferencia de otros trabajos de características similares en cuanto al tipo de lesión y periodo de estudio, pero con una localización en zona de no carga (9,22); lo cual, junto a la corta inmovilización postoperatoria permitió la expresión del efecto beneficioso que la movilidad articular y la carga libre conllevan sobre el cartílago articular (5). El empleo de un SAF ha posibilitado un buen anclaje inicial con una baja incidencia de desprendimientos del injerto que, en algunos estudios, llega a ser de hasta un 40% (7). Además, su acción hemostática, evita la aparición de hematomas bajo el injerto y el efecto negativo que ello conlleva sobre la calidad del tejido de granulación (40).

Por ello, podemos concluir que es posible reparar defectos osteocondrales amplios y profundos en área de carga de la rodilla del conejo mediante neocondrogénesis desde injertos autólogos libres de periostio. Que el tejido neoformado parece cartílago hialino macroscópica, histológica, histoquímicamente y de calidad muy superior al originado espontáneamente en lesiones no injertadas de las mismas características. Que un seguimiento de seis meses no supone deterioro de la calidad del regenerado, sino más bien una adaptación del mismo al grosor del cartílago original por sustitución ósea de su base por osificación endocondral.

Ante estos resultados obtenidos en el animal de experimentación, la benignidad y bajo coste del método, proponemos su aplicación en pacientes afectados de artrosis

localizadas y áreas de osteocondritis de cóndilo femoral y superficie articular de la rótula, frente al tratamiento de estos defectos condrales con factores de crecimiento o células aisladas que requiere una metodología complicada que permita un vehículo que realice temporalmente la

estabilización de estos factores de crecimiento o estas células en el defecto, por esta razón, el éxito de estas técnicas depende del uso de una matriz artificial. ■■■■■



**Fig. 7.** Grupo experimental a las 24 semanas. Tinción normal con safranina O, tanto en torno a la membrana celular como en el ámbito de la matriz condroide (safranina 40x).

## Bibliografía

- 1. Carranza Bencano A, Armas Padrón JR, Jiménez Fernández A, Ballesteros Vázquez P, Flores Gallego FJ.** Capacidad condrogénica de injertos libres de periostio y pericondrio e injertos pediculados de sinovial. Estudio experimental en conejos. *Rev S And Traum Ortop* 1989; 9:19-25.
- 2. Furukawa T, Eyre DR, Koide S, Glimcher MJ.** Biochemical studies on repair cartilage resurfacing experimental defects in the rabbit knee. *J Bone Joint Surg* 1980; 62A:79-89.
- 3. Meachim G, Roberts C.** Repair of the joint surface from sub-articular tissue in the rabbit knee. *J Anat* 1971; 109:317-27.
- 4. Mankin HJ.** Current concepts review. The reponse of articular cartilage to mechanical injury. *J Bone Joint Surg* 1982; 64A:460-6.
- 5. Salter RB, Simmonds DF, Malcom BW, Rumble DJ, McMichael D, Clements ND.** The biological effect of continuous passive motion on the healing of full thickness defects in articular cartilage. An experimental investigation in the rabbit. *J Bone Joint Surg* 1980; 62A:1232-51.
- 6. Cheung HS, Cotrel WH, Stephenson K, Nimni M.** In vitro collagen byosynthesis in healing and normal rabbit articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1978; 60A:1076-81.
- 7. Heikki JJ, Ritsilä VA.** Reconstruction of patellar cartilage defects with free periosteal grafts: an experimental study. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1987; 21:175-81.
- 8. Mitchell N, Shepard N.** The deterious effects of drying on articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1989; 71 A: 89.
- 9. Rubak JM.** Reconstruction of articular cartilage defects with free periosteal grafts. An experimental study. *Acta Orthop Scand* 1982;53:175-80.
- 10. Ballesteros Vázquez P.** Injertos libres autólogos de pericondrio costal en la reparación de defectos del cartilago articular. Estudio experimental en conejos. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla. 1990.
- 11. Ballesteros Vázquez P, Carranza Bencano A, Armas Padrón JR, Saenz López de Rueda F.** Reparación del cartilago articular con injerto libre de pericondrio: estudio experimental. *Rev Esp Cir. Osteoart* 1994; 29:57-65.
- 12. Carranza Bencano A, Armas Padrón JR, Pérez-Tinao Gómez de Salazar M, Ballesteros Vázquez R Jiménez Fernández A y cols.** Injertos de periostio tibial en la reconstrucción de defectos parciales y totales del cartilago articular rotuliano. Estudio experimental en conejos. *Mem. Ac. Real Academia de Medicina y Cirugía de Sevilla* 1989; 61-5.
- 13. Pérez-Tinao Gómez de Salazar M.** Capacidad condrogénica de injertos libres de periostio en la reparación de defectos de cartilago articular: Estudio experimental en conejos. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla, 1992.
- 14. Carranza Bencano A, Pérez Tinao Gomez de Salazar M, Armas Padrón JR, Hevia Alonso A, Martos Crespo F.** Reparación de lesiones del cartilago articular de la rótula de conejos con injertos libres de pericondrio costal y periostio tibial. Estudio histológico comparativo. *Rev Esp Cir Osteoart* 1998;33:97-102.
- 15. Moran ME, Kim HKW, Salter RB.** Biological resurfacing of full-thickness defects in patellar articular cartilage of the rabbit. *J Bone Joint Surg* 1992; 74B:659-67.
- 16. O'Driscoll SW, Salter RB.** The chondrogenic potential of free autogenous periosteal grafts for biological resurfacing of major full-thickness defects in joint surfaces under the influence of continuous passive motion: an experimental investigation in the rabbit. *J Bone Joint Surg* 1986; 68A:1017-35.
- 17. Mankin HJ.** Localization of tritiated thymidine in articular cartilage of rabbits (III). Repair mature articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1963; 45A:529-40.
- 18. Sadakida K, Inoue S, Maki Y.** An experimental study of injured articular cartilage using H3 Thymidine autoradiography. *Int Orthop* 1982; 2:3-7.
- 19. Convery FR, Akeson WH, Keown GH.** The repair of large osteochondral defects. An experimental study in horses. *Clin Orthop* 1972; 82:253-62.
- 20. Pridie KH.** A method of resurfacing osteo-arthritis knee joint. *J Bone Joint Surg* 1959; 41A:618-9.
- 21. Insall J, Falvo KA, Wise DW.** Chondromalacia patellae: a prospective study. *J Bone Joint Surg* 1976; 58A:1-8.
- 22. O'Driscoll SW, Keeley FW, Salter RB.** Durability of regenerated articular cartilage produced by free autogenous periosteal grafts in major full-thickness defects in Joint Surfaces under the influence of continuous passive motion. A follow-up report at one year. *J Bone Joint Surg* 1988; 70A:595-606.
- 23. Minns R J, Muckie AS, Donkin JE.** The repair of osteochondral defects in osteoarthritic rabbit knees by use of carbon fibre. *Biomat* 1982;3:81-6.



- 24. Carranza Bencao A, Armas Padrón JR, Lozano MA.** Fibra de carbono en lesiones articulares de rótula de conejos. *Rev Esp Cir Osteoart* 1998; 33:55-8.
- 25. Hanff G, Sollerman C, Abrahamsson SO, Lundborg G.** Repair of osteochondral defects in the rabbit knee with Gore-Tex (expanded polytetrafluoroethylene). *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 1990; 24:217-23.
- 26. Suominen E, Aho AJ, Vesel E, Kangasniemi I, Uusipaikka E.** Suchondral bone and cartilage repair with bioactive glasses, hydroxyapatite and hydroxyapatite-glass composite. *J Biomed Mater Res* 1996; 32:543-51.
- 27. Messner K.** Hydroxylapatite supported Dacron plugs for repair of isolated full-thickness osteochondral defects of the rabbit femoral condyle: mechanical and histological evaluations from 6-48 weeks. *J Biomed Mater Res* 1993; 27:1527-32.
- 28. Marco F, López Oliva F, Furio V, De Pedro JA, León C, Fernández Fernández Arroyo JM, López Durán L.** Reparación de lesiones articulares: Capacidad intrínseca, autoinjertos y aloinjertos osteocondrales inmediatos. *Rev Ortop Traum* 1992; 36:110-5.
- 29. Garret JC.** Fresh osteochondral allografts for treatment of articular defects in osteochondritis dissecans of the lateral femoral condyle in adults. *Clin Orthop* 1994; 303:33-7.
- 30. Solchaga L, Forriol F, Cañadell J.** Reparation du cartilage articular par matériaux biologiques. Etude expérimentale sur le mouton. *Rev Chir Orthop* 1996; 82: 101-7.
- 31. Speer DP, Chavpilo M, Volz RG.** Enhancement healing in osteochondral defects by collagen sponge implants. *Clin Orthop* 1979; 144:326-35.
- 32. Heatley FW, Revell WJ.** The use of meniscal fibrocartilage as a surface arthroplasty to effect to repair of osteochondral defects. An experimental study. *Biomaterials* 1985; 6:161-8.
- 33. Krishnan R, Chen ZP.** Biological resurfacing arthroplasty using fetal membranes. An experimental study. *Int Orthop* 1994;2:285-95.
- 34. Froimson AI, Silva JE, Richey DG.** Cutis arthroplasty of the elbow joint. *J Bone Joint Surg* 1976; 58-A:863-7.
- 35. Ruuskanen MM, Virtanen MK, Tuominen H, Törmälä P, Waris T.** Generation of cartilage from auricular and rib free peri-chondrial grafts around a self-reinforced polyglycolic acid mould in rabbits. *Scand J Plast Reconstr Hand Surg* 1994; 28:81-6.
- 36. Kreder HJ, Moran M, Keeley FW, Salter RB.** Biologic resurfacing of a major joint defect with cryopreserved allogeneic periosteum under the influence of continuous passive motion in a rabbit model. *Clin Orthop* 1994; 300:288-96.
- 37. Takahashi S, Oka M, Kotoura Y, Amamuro T.** Autogenous callo-osseous graft for the repair of osteochondral defects. *J Bone Joint Surg* 1995; 77B:194-204.
- 38. Britberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O, Peterson L.** Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte implantation. *N Engl J Med* 1994; 331:889-95.
- 39. Shortkroff S, Barone L, Hsu HP, Wrenn C, Gagne T.** Osteochondral defects in a canine model: The role of cultured chondrocytes in regeneration of articular cartilage. *Biomaterials* 1996; 17:147-54.
- 40. Meyers MH, Herron M.** A fibrin adhesive seal for the repair of osteochondral fracture fragments. *Clin Orthop* 1984; 182:258-63.