

Rev. Esp. de Cir. Ost., 20, 119-143 (1985)

Histofisiología del cartílago articular

E. GASTALDI ORQUIN

Cartílago

El cartílago es una de las dos clases de tejido conectivo denso especial del organismo. La otra clase es el hueso. Estos tejidos están constituidos por una sustancia intercelular, principalmente, donde se albergan sus células respectivas en pequeñas cavidades individuales denominadas lagunas.

Es característica la variabilidad de los componentes de su matriz intercelular. MERCER (1983), lo diferencia en cuatro tipos: cartílago hialino, cartílago elástico, cartílago endocondral y fibrocartílago. Sin embargo, clásicamente se le diferencia en tres tipos: hialino, elástico y fibroso (HAM, 1974).

Estas formas difieren dependiendo de la densidad de la matriz intercelular y de su contenido en fibras elásticas o fibrosas. Todas las formas se diferencian a partir del tejido mesenquimal embrionario.

En términos generales, el condrocito es una célula grande con un núcleo basófilo. Contiene una gran cantidad de retículo endoplasmático y un aparato de Golgi prominente. Los condroblastos contienen lípidos, colesterol y glucógeno en el interior del citoplasma (el cual decrece con la edad) como precursores de sustancias condroitínicas. El DNA está presente en el núcleo con

la forma de gruesos gránulos que se tornan más finos con la edad.

Se han identificado en los condrocitos enzimas como deshidrogenasas y lipasas. KULTMAN (1960) por medio de técnicas microscópicas en la fase III del cartílago del disco epifisario, demuestra la presencia de enzimas que median el metabolismo de los carbohidratos a través de la vía anaerobia de Emden-Meyerhof, el ciclo del ácido cítrico y la vía oxidativa directa.

La matriz se encuentra formada por condroitín-sulfato del tipo A y C; y por fibras de colágena entre 200-500 Å de grosor (ROBINSON y CAMERON, 1956).

El cartílago es relativamente avascular y cuando es permeabilizado por vasos sanguíneos, se produce calcificación u osificación del mismo, siendo su nutrición por difusión y ósmosis, usualmente.

Cartílago hialino

El cartílago hialino es el más abundante. Su nombre es debido a que a simple vista tiene un aspecto blanco perlado, vidrioso (del griego «hyalos», vidrio) y traslúcido. Este aspecto se debe íntegramente a las características especiales que le otorga su sustancia fundamental.

El cartílago hialino persiste en la vida adulta en numerosos lugares del organismo como el cartílago articular, parte del armazón del pabellón auricular, sostén de la nariz, laringe, tráquea, bronquios y paredes de las vías respiratorias superiores (HAM, 1974).

En la vida prenatal desempeña un papel muy importante formando el esbozo de la mayoría de los futuros huesos que se formarán sustituyendo al cartílago por tejido óseo (osificación endocondral). Algunos de estos cartílagos prenatales persiste en la vida postnatal de los huesos largos formando las placas epifisarias o platillo epifisario hasta la culminación del crecimiento longitudinal de los mismos.

El cartílago hialino está formado por células y matriz intercelular. Las células se denominan condrocitos y se encuentran contenidas en pequeños espacios de la sustancia intercelular denominadas lagunas. En ocasiones, una laguna contiene un sólo condrocito, y en otras, dos o más. Cuando una laguna contiene más de un condrocito se dice que forma un «nido celular». Entre los condrocitos de un «nido celular» se pueden observar porciones muy finas de sustancia intercelular que separan unas células de otras. De esta manera, una laguna primaria de grandes dimensiones que hemos denominado «nido celular», queda dividida en cierto número de lagunas secundarias. Más adelante nos detendremos en el estudio de estos tabiques intercelulares, al referirnos al cartílago articular.

«In vivo» los condrocitos llenan las lagunas que albergan las células. En cortes teñidos el citoplasma se encuentra retraído como un artefacto separado de los bordes de las lagunas.

Cuando son típicos, los condrocitos, presentan un núcleo redondeado con uno o varios nucleolos. Estas células varían considerablemente de forma y dimensiones; las más jóvenes, presentan una morfología

aplanada, en lugar de la forma esférica de los viejos. Estas células cartilaginosas viejas, o mejor dicho, completamente diferenciadas, tienden a ser de gran volumen y redondeadas. Por tanto podemos decir que las dimensiones indican el grado de diferenciación de cada condrocito (HAM y CORMACK, 1979), siendo los condrocitos más pequeños y aplanados los menos diferenciados con respecto a los condrocitos más redondeados e hipertrofiados.

La sustancia intercelular formada por fibras y sustancia fundamental, aparece homogénea, debido a que los índices de refracción de la colágena y del MPS-ácido son idénticos. Esta sustancia fundamental se encuentra formada por mucopolisacáridos ácidos (glucosamínglicos) que pueden ser teñidos metacromáticamente, entre otras, por el azul de toluidina, el cual colorea los mucopolisacáridos de rojo, rosado y púrpura; por el azul de Alcian, un colorante de la ptalocianina de cobre, que se une a los grupos ácidos de los mucopolisacáridos, tomando éstos una coloración azulada. Por el método del hierro coloidal de Hale, a un pH de 2'5, los grupos ácidos de los mucopolisacáridos se unen al hierro coloidal, que entonces puede teñirse con un método específico para el mismo (TUREK, 1982). En los cortes teñidos con hematoxilina-eosina, la sustancia intercelular se colorea de azul, a causa de que los mucopolisacáridos sulfatados se combinan con la hematoxilina.

En cuanto a las fibras de colágena, éstas se tiñen con los métodos de impregnación de plata o por la digestión del tejido con tripsina, la cual no afecta a las fibras.

Debemos referir que el cartílago hialino no posee vasos sanguíneos, salvo de paso, por lo que su nutrición procede del líquido sinovial (como en el caso del cartílago articular), por difusión y ósmosis a través del gel hacia los condrocitos. En el caso de que no haya líquido sinovial, la nutrición se lleva a cabo a partir de estructuras vascula-

res tanto del pericondrio como del hueso subyacente (TUREK, 1982), debiendo conocer que cuando el cartílago es permeabilizado por vasos sanguíneos se produce la calcificación u osificación del mismo (MERCER, 1983).

Cartílago articular

El cartílago articular o de revestimiento de las superficies óseas articuladas es un ejemplo típico de cartílago hialino. Se exceptúa el correspondiente al cóndilo de la mandíbula y a la carilla esternal de la clavícula, que son fibrosos, posiblemente por los residuos de su osificación membranosa (GOMAR, 1973).

Podemos decir que: «Los cartílagos articulares son los que más felizmente contribuyen a todas las propuestas de movimiento en estas partes. Por su superficie uniforme se deslizan uno sobre otro con facilidad; por su blandura, suavidad y superficie deslizante se previene la abrasión mutua; por su flexibilidad, las superficies contiguas se adaptan una a otra y la fricción es difundida cualitativamente contra ambas; por su elasticidad, la violencia de cualquier golpe, que pueda suceder corriendo, saltando, etc., es quebrada y gradualmente consumida, la cual pudiera haber sido extremadamente pernicioso si las duras superficies de los huesos hubieran estado inmediatamente contiguas». Esta descripción viene de un artículo titulado «Of the structure and Disease of Articulating Cartilages», dirigido a la «Royal Society» por William HUNTER el 2 de junio de 1743, y todavía es una lectura de actualidad.

Hoy sabemos que el cartílago hialino articular que cubre el extremo de los huesos y proporciona buena movilidad a las articulaciones, tiene una elevada proporción de la matriz sobre las células, es avascular, aneurral y alinfático y se caracteriza por una escasa capacidad de recuperación.

Su mezcla de fibras de colágeno y de glicoproteínas hidratadas otorgan al cartílago articular sus propiedades.

Estructura general

El cartílago articular en el joven se presenta con un aspecto liso, brillante y con cierta elasticidad a la compresión. En el adulto, y más en el viejo, se amarillea apareciendo más opaco y de consistencia menos elástica.

El cartílago articular se encuentra adosado íntimamente a la superficie ósea que reviste. Se extiende en unas vertientes más que en otras, dependiendo de la amplitud de la movilidad en este sentido. El espesor del cartílago articular varía de una articulación a otra, y dentro de la misma articulación. En las extremidades óseas aplanadas y convexas, el espesor es mayor en la porción central donde la carga es más acentuada, pero en las cóncavas, lo es en la periferia, aumentando la congruencia recíproca de las mismas.

La cualidad principal del cartílago articular es su facultad de recobrar su espesor y forma primitiva después de una deformación por presión. Normalmente la presión suele ser intermitente, pero cuando la presión es continua disminuye este poder de expansión y se alarga el período de recuperación.

El cartílago articular, por carecer de inervación, es insensible tanto a la carga como a la compresión y el trauma.

En cuanto a su irrigación, tan sólo en su capa profunda está dotado de vasos sanguíneos y linfáticos en su vecindad, por lo que únicamente a éste nivel es posible una metaplasia ósea más que una verdadera osificación.

Histológicamente el cartílago articular está constituido por unas células: los condrocitos, asentados en cavidades o lagunas

de tamaño y forma variables, rodeados de una «matriz intercelular» abundante a la que debe principalmente sus características funcionales. Esta matriz observada con microscopía óptica de luz simple ofrece un aspecto homogéneo e hialino, sin embargo con luz polarizada se comprueba que se encuentra formada por fibras de colágena embebida en una sustancia fundamental homogénea, que por su parecido índice de refracción no permite una distinción.

En relación con la dispersión relativa de los condrocitos, fibras y sustancia fundamental, se distinguen en el cartílago articular escalonadamente desde la luz articular hasta la extremidad epifisaria, las siguientes capas (GOMAR, 1973):

- 1.- Capa superficial o tangencial.
- 2.- Capa de cartílago intermediario.
- 3.- Capa de cartílago radiado.
- 4.- Capa de cartílago calcificado.

La superficie del cartílago articular parece lisa si la observamos húmeda y lubricada por el líquido sinovial tras la práctica de una artrotomía. Sin embargo el examen de la misma bajo luz indirecta y con una lente de aumento la muestra irregular y ondulante. Estas ondulaciones, que ya fueran descritas y dibujadas por los microscopistas del siglo XIX, tienen una especial importancia en cuanto hacen referencia a dos aspectos de interés: el papel de estas irregularidades en la mecánica articular, particularmente en la lubricación de las superficies y por otro lado por el advenimiento de los reemplazamientos articulares totales (HELFET, 1982).

Estudios mediante microscopía de luz, fotomicrografía de interferencia, trazadores de superficies y microscopía electrónica de «scanning», realizados sobre una amplia variedad de especies de mamíferos, como recoge WEISS (1982), han permitido descubrir cuatro órdenes de irregularidades de la superficie articular:

- Los contornos articulares primarios.
- Unas irregularidades secundarias de 0'4 a 0'5 mm de diámetro.
- Unos «hoyos» terciarios de 20-45 milimicras de diámetro, con una profundidad de 0'5 a 2 milimicras.
- Unas depresiones cuaternarias de 1 a 4 milimicras de diámetro con 0'1-0'3 milimicras de profundidad.

Bajo condiciones de carga estática y presumiblemente durante períodos de carga simultánea y de movimiento, la elasticidad del cartílago permite alisar las superficies de carga y rellenar las de no-carga. Sin embargo, cuando los contornos articulares primarios se alteran las irregularidades de tercer orden permanecen intactas. Las depresiones cuaternarias parecen ser debidas a la desaparición de sustancia del cartílago que expone grandes asas de fibras (WEISS, 1982).

Para GARDNER y WOODWAD (1969) estas ondulaciones actúan atrapando líquido sinovial lo cual facilita la lubricación de las superficies articulares.

Los condrocitos adultos del cartílago articular semejan a otras células de los tejidos conectivos, tanto a microscopía óptica como electrónica. Estas células, cuya morfología detallada estudiaremos más adelante, presentan una forma redondeada u ovalada dependiendo de la zona, con un diámetro mayor de unas 25 micras; núcleo excéntrico, redondeado y basófilo, de unas 4 ó 6 micras de diámetro. Esta célula se encuentra ocupando una laguna en la matriz del cartílago «in vivo»; pero aparece retraída en preparaciones fijadas.

Las fibras de colágena, cuyos estudios preliminares se deben a HUNTER (1743), presentan una orientación oblicua a la superficie del cartílago, disponiéndose en forma de arcadas (BENINGHOF, 1939), partiendo de la profundidad del estrato de cartílago calcificado, llegando a la superficie

donde se hacen paralelas a la misma, y retornando a la profundidad del tejido.

Entre el sistema principal de orientación de las fibras de colágena se encuentra otro secundario, constituido por fibras atípicas que rodean a los condrocitos como las cesti-llas para albergar huevos (GOMAR, 1973).

La distribución de los proteoglicanos que forma la sustancia fundamental de la matriz, varía marcadamente de una articulación a otra, dentro de la misma articulación y con respecto a la edad. Las tinciones más frecuentes con las que se observa la matriz intercelular son la Safranina 0, el azul de Toluidina, el azul de Alcian y el P.A.S. En el adulto los niveles superficiales contienen mucha menos cantidad que los profundos, donde la concentración de colorante alrededor de las células (matriz pericelular) es todavía mayor que entre las mismas (matriz intercelular), mientras que la distribución de los mismos en el niño es mucho más difusa (BULLOUGH, 1980).

Entre las zonas III (estrato radiado) y la IV (estrato calcificado) del cartílago articular se encuentra una fina y ondulante línea basófila denominada por COLLINS (1949) y por FAWS y LANDELLS (1953), «tide-mark», cuya naturaleza exacta es desconocida existiendo teorías que la definen como una compleja asociación entre la superficie expuesta a las sales de calcio y un incremento local en la concentración de mucopolisacáridos, como recoge ARGÜELLES (1976).

A nivel de la «tide-mark» los colorantes histoquímicos para los componentes de los proteoglicanos muestran una pérdida de tinción a nivel pericelular, que se extiende a la zona calcificada. La matriz interterritorial se tiñe de igual forma arriba y abajo de esta línea, no tiñéndose la «tike-mark» debido a algún componente de la misma (FAWS y LANDELLS, 1953). La «tide-mark» parece contener una considerable cantidad de lípidos y enzimas (fosfatasas alcalinas y ATP-asas) las cuales se encuentran implicadas en

el proceso de mineralización. (BULLOUGH, 1980).

Cuidadosos estudios histológicos han llevado a la demostración de la existencia de algunas áreas con más de una «tide-mark». En la cabeza femoral y humeral el «average» es de 1-4, pasando por encima de los sesenta años a ser de 2-3, lo cual indica que la zona calcificada puede extenderse hacia la no calcificada e incrementarse este proceso por encima de los sesenta años (BULLOUGH, 1980).

De este modo la «tide-mark» representa no una mera línea de separación, sino una zona de actividad metabólica encaminada a la calcificación del cartílago (BULLOUGH, 1980).

Por debajo de la zona o estrato de cartílago calcificado hay una capa de tejido óseo compacto de la cortical metadiáfisaria, no existiendo continuidad estructural entre el cartílago calcificado y el platillo de hueso subcondral. El tejido cartilaginoso se mantiene unido a la superficie ondulante del hueso subyacente como un «puzzle» (BULLOUGH, 1980). Debido a que el cartílago adyacente al hueso está calcificado y tiene una rigidez similar a la del hueso, la sustentación es firme (MERCER, 1983).

Para TRUETA y MORGAN (1960) esta capa de hueso subcondral se encuentra perforada por finas foráminas que son atravesadas por delgados capilares que desde la médula ósea alcanzan la capa profunda o calcificada del cartílago articular, terminando estos vasos en forma de asa. Este hueso compacto es el que aparece en las radiografías delimitando el perfil de la línea articular, siendo debido a su pobre vascularización el por qué durante los procesos de osteoporosis mantiene su opacidad. Cuando el cartílago articular degenera, el hueso subcondral aumenta su radiodensidad. Por otra parte estos vasos se han visto involucrados en el proceso de resorción del cartílago calcificado y en el depósito de hueso, encar-

gándose de la osificación endocondral de una forma similar, aunque mucho más lenta, que la que se observa en el platillo fisario para el crecimiento individual. Este ritmo de osificación endocondral de la superficie articular cambia a lo largo de la vida, decreciendo hasta la sexta década e incrementándose a partir de entonces (LANE, VILLACIN y BULLOUGH, 1977).

De las variaciones en el número de «tide-mark», la continua reposición y reemplazamiento óseo, así como las variaciones en el grosor de la zona de cartílago calcificado, se deduce que existe un continuo crecimiento y remodelación del extremo articular del hueso.

Si bien OGSTON (1878) ya había descrito cambios en la morfología de la superficie del cartílago articular, más recientemente se han descrito cambios de la misma relacionados con la edad y la congruencia articular (GOODFELLOW y BULLOUGH, 1967; BULLOUGH, GOODFELLOW y O'CONNOR, 1973). Estos hallazgos combinados con los descritos de la zona de cartílago calcificado, sugieren que durante el desarrollo de la vida pueden ocurrir cambios en la anatomía de las superficies articulares. El que estos cambios tengan lugar en la zona calcificada es de importancia debido a que esta zona ha sido considerada como en reposo en el individuo normal tras el cese del crecimiento longitudinal (BULLOUGH, 1980).

Por último debemos de indicar que el cartílago articular, como tal, se encuentra ya diferenciado en la extremidad epifisaria todavía cartilaginosa, y aún antes que se inicie el proceso de osificación y llegue a alcanzar la totalidad de la extremidad ósea, pues los capilares sanguíneos se detienen a este nivel, sin llegar a penetrar nunca en lo que está destinado a ser cartílago articular. No se debe considerar al cartílago articular como una zona del esqueleto cartilaginosa que permanece sin osificarse sino como una zona bien diferenciada en su destino. RIGAL

(1961) ha demostrado en cultivos celulares usando timidina triptiada, que los condrocitos a nivel de las extremidades en osificación se diferencian en dos capas distintas: una profunda (zona B de MANKIN) que rodea al núcleo de osificación epifisario («anulus mitótico» de HARRIS) el cual se forma por osificación endocondral; y otra zona más superficial (zona A de MANKIN) de la cual proceden los condrocitos del cartílago articular (GOMAR, 1973).

Condrocitos

Los elementos celulares del cartílago articular, condrocitos, sintetizan la matriz intercelular que rodea y alberga dichas células, otorgando al cartílago unas características biológicas y biomecánicas propias.

Los condrocitos varían considerablemente de tamaño, morfología y número por unidad de volumen, dependiendo de la localización anatómica del cartílago, zona, edad y especie estudiada.

Si bien el número de células disminuye de superficie a profundidad, la densidad celular no disminuye con la edad (en el caso de la especie humana) como observaran MEACHIN y COLLINS (1962), STOCKWELL (1967) y recientemente TUREK (1982), en contraposición a la disminución observada en el conejo por MANKIN (1963) y en el ganado vacuno por ROSENTHAL, BOWIE y WAGONER (1941).

La forma que presentan los condrocitos en las preparaciones histológicas «en fresco», dependen de la forma y contorno de la laguna que los aloja. Esta zona alrededor de la célula denominada «halo» es rica en mucopolisacáridos y pobre en colágena (ARGÜELLES, 1976; BULLOUGH, 1980). Sin embargo, aunque no exista una verdadera cápsula de colágena alrededor del condrocito se observa fibrillas aperiódicas consideradas por algunos autores como fragmentos

de tropocolágena (BULLOUGH, 1980) pareciendo que estos fragmentos de tropocolágena llegan a polimerizarse en colágena madura en el exterior de la célula (MERCER, 1983).

Por otra parte, debemos de referir las observaciones de CHESTERMAN y SMITH (1968) que los condrocitos vivos y recientemente aislados muestran un movimiento ameboide cambiando constantemente su forma, emitiendo y retrayendo sus pseudópodos. En este sentido BULLOUGH (1980) afirma que ocasionalmente los condrocitos del cartílago dañado tienen actividad fagocítica no siendo así en el caso del cartílago intacto.

Las observaciones del cartílago articular al microscopio óptico llevaron a determinar cuatro zonas o estratos diferentes en el cartílago articular adulto cuya descripción clásica se iniciara con los trabajos de COLLINS (1949), fuera promulgada por MANKIN (1968) y admitida finalmente por FREEMAN (1973) tal como recogió, haciendo una revisión bibliográfica sobre el tema, ARGÜELLES (1976), en nuestra Cátedra.

En términos generales los condrocitos parecen células del tejido conectivo vistas al microscopio óptico y electrónico, presentándose como células con un diámetro de 30-40 micras, con un citoplasma de aspecto granular fino con algunas vacuolas, y con un retículo endoplásmico muy desarrollado con gran número de ribosomas, un aparato de Golgi acusado y abundantes mitocondrias. La membrana celular se encuentra bien definida apareciendo con un contorno irregular como en el caso de muchas células secretoras. Todas estas observaciones se corresponden a células con evidente capacidad para la síntesis de sustancia intercelular.

El núcleo celular es, a menudo, excéntrico, redondeado y fuertemente basófilo en tinciones con hematoxilina-eosina, midiendo entre 4-6 micras de diámetro (MANKIN y BARON, 1965).

Por lo que se refiere a la histoquímica, los condrocitos presentan depósitos de glucógeno (GOMAR, 1973) que son mayores en las células de las zonas II y III (FREEMAN, 1973). También se encuentran gotitas de lípidos detectadas por LEIDY ya en 1849. Los condrocitos contienen numerosos enzimas como lipasas, fosfatasa alcalina, etc... a los que nos referiremos más adelante.

Si estudiamos las particularidades de las células según los estratos clásicos, observaremos:

En la zona I: (estrato superficial, tangencial o deslizante) las células son alargadas en cortes verticales a la superficie y discoideas en secciones horizontales a la misma, disponiendo su eje mayor paralelo a la superficie articular, siendo más lisas, de mayor tamaño y encontrándose más próximas.

Estas células van perdiendo sus propiedades tintoriales hasta que en la vecindad de la superficie articular sólo se encuentran células que fueron consideradas degeneradas o detritus celulares y que por acción de la usura y fricción del movimiento articular son arrastradas junto con la sustancia intercelular (GOMAR, 1973). La apariencia de estas células hizo pensar que se tratara de condrocitos inmaduros y quiescentes (WEISS y cols., 1968). Sin embargo, se ha demostrado que estas células superficiales mantienen una capacidad de síntesis de sustancia intercelular, pues son capaces de fijar $(SO_4)^{35}$ (GOMAR, 1973) como demostraron COLLINS y McELLIOTH (1960) y MEACHIN y COLLINS (1962) y entre nosotros ARGÜELLES (1977). Para MANKIN y LIPIELLO (1969) la distribución del S^{35} en el cartílago articular y su desaparición está uniformemente repartida por todo el tejido. Así mismo, la microscopía electrónica no ha demostrado alteraciones degenerativas en estas células (GOMAR, 1973; MERCER, 1983). Además estos condrocitos presentan actividad mitótica como demostrara me-

dante técnicas de captación de timidina triptiada y autorradiografía PUIG ROSADO (1971) en nuestra Cátedra.

El estudio ultraestructural de estas células elipsoidales superficiales demuestra la existencia de escasos procesos citoplasmáticos en su superficie y numerosas vesículas de pinocitosis, observándose en la superficie profunda celular numerosos procesos citoplasmáticos. Las vesículas observadas se han asociado con la captación de nutrientes a partir del líquido sinovial. A menudo, las vacuolas secretoras contienen material similar a las fibrillas filamentosas de la matriz extracelular y se observa con frecuencia en el área paranuclear filamentos intracelulares. Estas células parecen no contener lisosomas y presentan un retículo endoplasmático pobremente desarrollado, con escasas mitocondrias y un aparato de Golgi pequeño formado por vesículas y canales rellenos de un material electrodenso (MERCER, 1983).

MERCER (1983), concluye que existe una capa de células efectivas superficiales que recuerdan fibrocitos maduros yaciendo bajo un tejido conectivo estable y maduro constituido por una densa capa de fibras de colágena en su superficie la cual presenta una función de protección y transmisión de los diferentes «stress».

En la zona II: (estrato intermedio o de transición) las células comienzan a tomar morfología más redondeada y un tamaño mayor que las del estrato precedente, encontrándose en parejas o en grupos, y siendo más evidente en el cartilago adulto que en el del feto o recién nacido.

Al microscopio electrónico la membrana celular presenta una apariencia festoneada en algunas áreas, sugiriendo que vesículas más grandes y vacuolas han emergido con la membrana celular para descargar su contenido en la superficie. Se observa la presencia de vesículas de micropinocitosis así como un extenso retículo endoplasmático

con ribosomas que usualmente forma numerosas láminas concéntricas. El complejo de Golgi está bien desarrollado con numerosas vesículas y vacuolas y se observan numerosos filamentos intracelulares de 40 Å de diámetro junto con algunos túbulos microcelulares en el interior del citoplasma. También son abundantes las mitocondrias y se observan grandes depósitos de glucógeno y ocasionalmente gotitas de grasa (MERCER, 1983).

En la zona III: (estrato radiado o profundo) las lagunas y condrocitos que en ellas se alojan son más grandes que en la zona II adoptando una morfología casi esférica y disponiéndose en columnas radiadas con dirección perpendicular a la superficie.

Ultraestructuralmente las células de este estrato muestran una apariencia similar al precedente estrato intermedio aunque presentan un retículo endoplasmático, aparato de Golgi y mitocondrias ligeramente menos numerosas. Ocasionalmente se han observado células degenerativas con figuras de mielina y calcificaciones intracelulares, asociándose la presencia de filamentos intracitoplasmáticos de 70 Å de diámetro, que son más numerosos en esta zona, a procesos de degeneración celular (MERCER, 1983).

La apariencia de los condrocitos en las tres zonas referidas sugiere (TUREK, 1982):

1) que la zona I puede ser una zona germinal a partir de la cual ocurre el reemplazamiento de las células profundas lentamente a lo largo de la vida, siendo este estrato el que reemplazaría a algunas células perdidas en la superficie por atricción,

2) que el grado de síntesis de proteínas es paralelo con el desarrollo del retículo endoplasmático rugoso y el aparato de Golgi, siendo los ribosomas los que sintetizan las cadenas proteicas de polipéptidos como veremos más adelante.

3) que las características ultraestructurales de los condrocitos indica que el mayor

grado de actividad metabólica tiene lugar en las zonas II y III, aunque para COLLINS y MEACHIN (1961) la síntesis y degradación de matriz cambian durante la vida adulta.

En la zona IV: (estrato calcificado) se encuentran células de menor tamaño que en los estratos precedentes, irregulares y con núcleos picnóticos, albergadas en espacios lacunares y rodeadas por incrustaciones masivas de calcio (ARGÜELLES, 1976) en forma de hidroxapatita, como describieran en el conejo DAVIES y cols. (1962), encontrándose esta zona separada de las dos anteriores por la «tide-mark».

Para finalizar debemos de referir que ni la microscopía óptica ni la electrónica han podido aportar imágenes que demuestren que los condrocitos del cartílago articular adulto se reproduzcan por división mitótica (GOMAR, 1973). Se observan escasas mitosis que pueden ser detectadas por medio de timidina triptiada en el cartílago articular inmaduro (PUIG ROSADO, 1971), siendo escasamente evidente la captación de este isótopo en el interior del núcleo celular del cartílago articular adulto (TUREK, 1982).

En el curso de la vida cierto número de condrocitos degeneran y se necrosan lo que lleva a una menor celularidad del cartílago con la edad, pudiendo ser ésta la significación de los corpúsculos lipoides que aparecen en la sustancia fundamental del cartílago adulto y senil como expresión de restos de la desintegración involutiva celular. SILBERBERG y cols. (1964) precisaron que los condrocitos que mueren en la sustancia del cartílago y que no son sustituidos de inmediato por hueso, lo son por cicatrices fibrilares.

Matriz intercelular

La matriz intercelular del cartílago articular denominada por Mc CONAILL (1951) «condrocausia» es sintetizada y probablemente degradada y eliminada fisiológica-

mente por los condrocitos (MANKIN y LIPIELLO, 1969), es avascular, alifática y carece de estructuras nerviosas (PAGET, 1853), con una abundante proporción de la misma respecto al número de células (KOLLIKER, 1853 y LEIDY, 1849), presentando una peculiar respuesta a los colorantes ya descrita por HUNTER (1743).

La matriz intercelular es responsable del mantenimiento de la homeostasis del ambiente celular (GERSH y CACHPOLE, 1960) siendo el componente principal que aporta las propiedades biomecánicas del cartílago articular.

Aunque la composición de la matriz no es uniformemente conformada, estudios de analítica clínica muestran que está formada por un 70-80 por 100 de agua, una red de fibras de colágena (10-15 por 100) y una sustancia fundamentalmente formada por hidratos de carbono y proteínas no colágenas (proteoglicanos) que comprenden un 10-15 por 100, y una pequeña cantidad de compuestos lipídicos e inorgánicos (OWEN, GOODFELLOW y BULLOUGH, 1980).

Componentes fibrosos de la matriz intercelular

Las fibras de colágena forman el componente fibroso del cartílago articular, siendo sintetizadas por los condrocitos y estando presentes en una variedad de tipos y tamaños los cuales subvienen las diferentes funciones.

Estas fibras representan más de la mitad del peso en seco del cartílago (BULLOUGH, 1980). Esta colágena del cartílago articular se distingue bioquímicamente por ser del tipo II (MILLER, 1976), caracterizándose por presentar tres cadenas alfa-1 en su triple molécula helicoidal. Estas cadenas del tipo II contienen más residuos de hidroxilisina que las de la colágena del tipo I y muchos de los residuos de hidroxiprolina están glicosilados (STRAWICH y NIMNI, 1971). Estas características químicas son las responsables

del diámetro más fino de las fibras de colágena del cartilago articular, lo cual afecta a las propiedades mecánicas de este tejido (FREEMAN, 1973; MILLER, 1976; OWEN y cols., 1980).

Al microscopio electrónico estas fibras presentan densas bandas con una periodicidad de 640 Å, siendo el diámetro de las mismas variable y aumentando de superficie a profundidad (WEISS, ROSENBERG y HELFET, 1968).

El patrón general de las fibras de colágena se ha descrito como de entrecruzamiento oblicuo desde la zona calcificada hasta una densa zona superficial de fibras denominada «lámina splendens». Debido a que las fibras de colágena presentan variaciones topográficas las estudiaremos siguiendo la distribución clásica en estratos del cartilago articular ya mencionado.

En la superficie del cartilago articular las fibras se disponen anárquicamente paralelas a la luz articular formando agregaciones densas que configuran una densa red denominada «lámina splendens» observada por Mc CONAILL (1951) con un microscopio de contraste de fase. Esta capa presenta un grosor de tres micras presentando sus fibras un diámetro entre 40 y 120 Å, no encontrándose células, siendo deficiente en proteoglicanos y teniendo, para algunos autores, una función de protección (FREEMAN, 1973; MERCER, 1983). HUNTER se refirió a la misma haciendo constatar que era posible «pelar» una estrecha membrana fibrosa de la superficie del cartilago articular. Dado que carece de función germinativa no es correcto denominarla pericondrio. Esta densa banda de colágena se continúa con el periostio de los márgenes articulares (GOMAR, 1973).

En la zona I las fibras se encuentran íntimamente adosadas en asas con escasa sustancia fundamental, siendo estas asas paralelas a la superficie articular (WEISS y cols., 1968) y disponiéndose configurando

ángulos rectos y oblicuos entre sí. En esta capa se encuentra la mayor densidad de fibras de colágena, la cual presenta la típica periodicidad de 640 Å con un diámetro aproximado de 340 Å.

En la zona II por debajo de la precedente, desaparecen bruscamente las asas siendo reemplazadas por fibras de colágena aisladas, individuales, ampliamente espaciadas y con la típica periodicidad. En la periferia se unen con los componentes fibrosos del periostio formando con la cápsula articular la denominada «zona marginal de transición» descrita por FREEMAN (1973). El diámetro de las fibras de colágena de esta zona se incrementa con la profundidad llegando a unos 600 Å y disponiéndose en una enmarañada red abierta.

En la zona III las fibras son progresivamente más gruesas llegando a tener un diámetro entre 700 y 1.000 Å (MUIR, BULLOUGH y MOROUDAS, 1970) y adoptando una disposición más vertical o radiada con respecto a la superficie articular. En profundidades mayores las fibras pueden alcanzar un diámetro de hasta 1.400 Å (MERCER, 1983).

Finalmente estas fibras que han ido incrementando su diámetro en profundidad atraviesan la «tidemark» y son imbibidas en la zona calcificada del cartilago articular donde quedan insertadas (WEISS y cols., 1968; MUIR y cols., 1970) junto con un material interfibrilar granular electrodenso (HOUGHS, 1974), no alcanzando el platillo de hueso subcondral (FREEMAN, 1973; HOUGHS, 1974; MERCER, 1983) siendo todo ello de importancia para mantener la estabilidad del cartilago frente a los diferentes «stress» de tracción, compresión y cizallamiento (MERCER, 1983).

En cuanto a la orientación predominantemente vertical de las fibras de colágena, ésta fue observada por HUNTER (1743) llamándole la atención que cuando se intentaba romper un cartilago, la línea de frac-

ción nunca seguía una orientación oblicua a la superficie. La orientación horizontal de las fibras a nivel de la superficie fue descrita por HULTKRAUNTZ (1898) y por BENNINGHOF (1925), el cual observó que puncionando la superficie del cartílago articular con una aguja mojada en tinta india aparecía un patrón de distribución similar a la orientación de las fibras de colágena en la superficie.

BENNINGHOF (1939) concibió las fibras de colágena dispuestas en arcadas que aparecen arrancando de la profundidad del estrato de cartilago calcificado para seguir hacia la superficie una dirección vertical o radiada y luego, cambiando a una dirección horizontal y tangencial a la superficie durante un cierto trecho, vuelve nuevamente a tomar una dirección radiada o vertical para insertarse finalmente en el cartílago calcificado. Esta distribución fue visualizada en el microscopio de contraste de fase por BROWER y HSU (1969), con lo cual las fibras distribuidas oblicuamente constituyen un sistema de resistencias a la tensión de la carga similar a un colchón de muelles.

Una combinación de microscopía polarizada, microscopía electrónica de transmisión y microscopía electrónica de «scanning», ha demostrado junto al sistema principal de orientación de las fibras de colágena, un sistema secundario de fibras que lo abrazan (BULLOUGH y GOODFELLOW, 1968; MUIR, BULLOUGH y MAROUDAS, 1970). Además alrededor de cada condrocito existe un sistema de fibrillas que rodean a estos grupos de células (condronas) (WEISS, ROSENBERG y HELFET, 1968) y que los protegen de la compresión (BULLOUGH, 1980), contribuyendo a la elasticidad del cartílago al adoptar una distribución que recuerda la trama de las cestillas de mimbre para albergar huevos (GOMAR, 1973).

Esta delicada red de finas fibras más gráciles es predominante a nivel de las zonas II y III del cartílago, presentando la caracterís-

tica de carecer de la periodicidad típica (TUREK, 1982; MERCER, 1983) con un diámetro entre 40-100 Å. Si bien estas microfibrillas son diferentes a las fibras de colágena madura, por ser de textura rugosa y carentes de la periodicidad típica, pueden representar colágena verdadera en un estado físico modificado (LOW, 1962) o en una fase temprana de diferenciación de la misma (TUREK, 1982).

Debemos referir que en el recién nacido si bien la superficie articular está formada por fibras de colágena con la periodicidad característica que se agrupan formando asas, el resto del cartílago contiene, por lo general, fibras más pequeñas (250 Å) que carecen de periodicidad y raras veces se agrupan en asas (CAMERON y ROBINSON, 1958). SILBERBERG y cols. (1961) realizando estudios con microscopía electrónica sobre ratón demostraron en el animal recién nacido una mayoría de fibras de unos 100 Å que desaparecen a los seis meses, mientras que en el adulto la mayoría de las fibras presentan un diámetro de 600-700 Å, haciendo su aparición las primeras fibras de este tipo hacia el año de vida.

Los proteoglicanos

La sustancia fundamental (complejos proteína-polisacáridos) se había descrito como un material amorfo, conociendo hoy, mediante estudios de microscopía electrónica que se trata de una red de finos «filamentos» ramificados (ROSENBERG, HELLMAN y KLEINSCHMIDT, 1970).

Los proteoglicanos son combinaciones de proteínas y carbohidratos que forman grandes agregados en el interior de la matriz del cartílago articular llegando a ser así el 50 por 100 del peso en seco del cartilago (WEISS, 1982; HERRING, 1968; MANKIN y LIPIELLO, 1970).

Estos grandes agregados de proteoglica-

nos están formados por la asociación no covalente de subunidades de proteoglicanos a una cadena de ácido hialurónico. Estas subunidades consisten en una base o anillo proteico («protein core») al cual se enlazan numerosas cadenas laterales de glicosaminoglicanos (GG) (GOMAR, 1973; OWEN y cols., 1980; WEISS, 1982; MERCER, 1983). Son polímeros lineales compuestos por dos residuos de azúcares diferentes que se alternan regularmente. Uno de los residuos de azúcar es un amino-azúcar en el cual el carbono «2» de la glucosa o galactosa es reemplazado por un grupo «amino» que es acetilado (WEISS, 1982). El otro residuo de azúcar es, usualmente, ácido glucurónico.

Se han encontrado cuatro tipos de glicosaminoglicanos en el cartilago articular: ácido hialurónico, condroitín-4-sulfato, condroitín-6-sulfato y keratosulfato, cuya proporción varía con la edad y el área de cartilago articular (OWEN, GOODFELLOW y BULLOUGH, 1980).

El ácido hialurónico se forma por alternancia regular de ácido glucurónico con N-acetil-glucosamina, que forman una molécula con cargas negativas espaciadas a intervalos de 10 Å.

Los condroitín sulfatos están formados por unidades regularmente alternas de N-acetil-galactosamina y ácido glucurónico teniendo un peso molecular de 450-500 (WEISS, 1982). La galactosamina lleva un grupo sulfato en el carbono «4» ó «6», así hay dos cargas aniónicas (los grupos sulfato y carboxilato) espaciados a intervalos de 5 Å. Aproximadamente cada cadena de condroitín sulfato contiene 50 a 70 períodos de unidades diméricas (WEISS, 1982). Por sus propiedades ópticas y aislamiento enzimático se pueden distinguir tres tipos de condroitín-sulfato en los tejidos de los mamíferos denominándolos «tipo A», «tipo B» y «tipo C». Sólo los tipos «A» y «C» se encuentran en el cartilago, siendo el condroitín sulfato del tipo «A» peculiar del car-

tilago hialino (GOMAR, 1973). Así mismo, la galactosamina que se encuentra en el cartilago es racémica, mientras que la de los tejidos fibrosos es dextrógira (GOMAR, 1973).

El keratosulfato es la molécula más pequeña, estando formada por 15 a 30 unidades diméricas consistentes en galactosa y N-acetil-glucosamina. El carbono-6 de la N-acetil-glucosamina lleva unido un éster sulfato. En este caso las cargas negativas se encuentran espaciadas a intervalos de 10 Å (WEISS, 1982).

Los glucosaminglicanos se unen covalentemente con la «protein core» mediante el enlace del grupo hidroxilo de la serina (GOMAR, 1973; WEISS, 1982) o de la trionina, a regiones especiales de anclaje de la base proteica. Esta subunidad de los proteinglicanos contiene tres regiones (BURLEIGH, 1975):

- 1) Una región globular con un peso molecular de 60.000 a 70.000, rica en ácido aspártico, cisteína y metionina que se une a la base de ácido hialurónico del agregado de proteinglicano.
- 2) Una región rica en kerato-sulfato, y
- 3) El resto, consistente en la continuación de la «protein core» a la cual se unen las cadenas laterales tanto de condroitín-sulfato como de keratosulfato.

Estas subunidades de proteinglicanos son variables en tamaño y composición (ROSENBERG, 1975; ROSENBERG y cols., 1975). Las moléculas pequeñas consisten en la región globular y la rica en keratosulfato con pequeñas cantidades de condroitín-sulfato, mientras que las moléculas más grandes contienen considerablemente más uniones de condroitín-sulfato.

La proporción de glicosaminglicanos varía con la edad y el área de cartilago. En el cartilago inmaduro existe una relación 1:1 entre condroitín-4 y condroitín-6-sulfato, no apareciendo casi keratosulfato.

Con la edad, la cantidad de condroitín-6-sulfato se incrementa, disminuyendo la de condroitín-4-sulfato, encontrando un marcado aumento de keratosulfato (WEISS, 1982). A edades medianas, el 90 por 100 del contenido de glicosamínglicos del cartílago se encuentra formado por cantidades iguales de condroitín-6-sulfato y de keratosulfato (WEISS, 1982). El keratosulfato se encuentra en mayores proporciones en los sujetos de edad y en las zonas más profundas del cartílago.

La «protein core» que constituye la base de la subunidad de proteoglicanos, tiene un peso molecular de 200.000 con una longitud de 3.000-3.700 Å (OWEN y cols., 1980; WEISS, 1982 y MERCER, 1983) con un diámetro de unos 15 Å (WEISS, 1982). A esta base proteica se unen unas 100 cadenas laterales de condroitín-sulfato con un peso molecular de 20.000 a 30.000 y una longitud de 500 a 600 Å, junto con otras 100 cadenas laterales de keratosulfato con un peso molecular de 5.000 a 10.000 y una longitud de 100 a 200 Å. Todo ello totaliza pesos moleculares de la subunidad de proteoglicanos de unos 3 millones (WEISS, 1982).

En el interior del cartílago articular la mayoría de los proteoglicanos se encuentra en forma de agregados. La base del agregado consiste en una molécula o cadena de ácido hialurónico al cual se unen las subunidades de proteoglicanos por medio de enlaces no covalentes (ROSENBERG, 1975; ROSENBERG y cols., 1975), actuando como medio de unión una proteína de bajo peso molecular denominada «link-protein». De esta forma se constituye una macromolécula de agregados de subunidades de proteoglicanos integrada por más de cien moléculas de subunidades (antes descritas) cada una con un peso molecular entre 2 y 3 millones, las cuales se unen mediante la denominada «link-protein» a una cadena de ácido hialurónico de unos 40.000 Å de longitud, llegando a totalizar pesos moleculares sobre los 200 millones (WEISS, 1982).

Las fuerzas eléctricas repelentes de los miles de cargas negativas, que permitían la

extensión de las subunidades, permite la expansión de esta macromolécula de agregados que ocupa un enorme volumen de solución, siendo retenida y constreñida por la red de fibras de colágena (WEISS, 1982).

Propiedades de los proteoglicanos

Los proteoglicanos son heterogéneos, es decir, si son sometidos a ultracentrifugación se pueden separar en una fracción sedimentada pesada con una elevada concentración de proteína denominada «P.P.H.» y en una fracción soluble y ligera con una baja concentración de proteínas denominada «P.P.L.».

Aproximadamente el 70 por 100 del cartílago articular está compuesto de agua, con la cual la molécula hidrófila de los proteoglicanos se expande para formar un cuerpo con la consistencia de un gel y una configuración análoga a la de un cepillo de limpiar tubos, con lo cual la consistencia elástica del cartílago dependerá del contenido de agua y de glicosamínglicos, dado que estos últimos sostienen a la primera mediante la carga negativa de sus moléculas (OWEN y cols., 1980). El resultado, como antes principiábamos, es que la red de fibras de colágena es tensada por la presión osmótica que ejercen los glicosamínglicos (MERCER, 1983).

Este contenido de agua es mayor junto a la superficie (STOCKWELL, 1970), decreciendo con la edad y en el cartílago artrósico (OWEN y cols., 1980).

Para MAROUDAS y cols. (1968), el tamaño y la consistencia del proteoglicano hidratado es responsable de muchas de las propiedades mecánicas y físico-químicas del cartílago articular:

— La turgencia del cartílago es debida a la presión oncótica ejercida por el proteoglicano, siendo atrapados los cuerpos gelatinosos en la trama de fibras de colágena y alcanzándose el equilibrio cuando la presión oncótica del gel alcanza la resistencia elástica de las fibras de colágena.

— La combinación de moléculas gigantes de proteoglicanos y fibras de colágena hacen actuar al cartílago como un filtro molecular que admite las pequeñas moléculas pero

excluye las grandes, quedando las enzimas más degradativas excluidas del cartílago intacto.

- La carga negativa fija de los polisacáridos sulfatados, afecta la difusión de los electrolitos a través del cartílago, contribuyendo de esta forma a la regulación del metabolismo.

Las propiedades polianiónicas de la matriz es responsable de la tinción metacromática de la misma con colorantes catiónicos como el azul de Alcían, el azul «A», el azul de toluidina o la safranina O, los cuales precipitan los polianiones de los hidratos de carbono (TUREK, 1982), tiñéndose, también con el azul Astra y con la técnica del hierro coloidal de Hale (GOMAR, 1973).

Cuando las preparaciones histológicas se tiñen con colorantes básicos (azul de toluidina, violeta de crepilo, azul de metilo, etc.) no toma la esperada coloración azulada (ortocromática), la cual es debida a que minúsculos cristales de colorante polimerizan en una situación espacial determinada por la distribución de los sulfatos válidos, y con cierta concentración y disposición cambian el espectro de transmisión de la luz desde la normal ortocromasia al color metacromático. Esto significa que con el azul de toluidina la matriz tiñe violeta o rojo (MERCER, 1983).

La basofilia y la metacromasia típicas de los glicosamínglicos teñidos son menos intensas en la zona superficial, presentándose difusa en la zona intermedia y muy intensa en la profunda alrededor de los grupos celulares, a diferencia del cartílago inmaduro que tiñe uniformemente (TUREK, 1982).

En líneas generales la intensidad de la tinción metacromática de las preparaciones histológicas del cartílago orientan en cuanto a la concentración de glicosamínglicos en la sustancia fundamental, habiendo cierta relación entre la metacromasia del cartílago y su apetencia por el ^{35}S como índice de actividad de los condrocitos (TUREK, 1982).

Por último, el método de la inmunofluorescencia para determinar el grado de polimerización, determina que cuanto más poli-

merizado, más efectiva es la exclusión de la proteína del anticuerpo del lugar del antígeno, siendo causa de reducción o de pérdida de la inmunofluorescencia (TUREK, 1982).

Síntesis de los proteoglicanos

Tanto la sustancia fundamental como la colágena son sintetizadas por los condrocitos. El citoplasma en fase hipertrofica se hace intensamente metacromático y la sustancia fundamental inmediata a los condrocitos se tiñe con intensidad y hasta se presenta laminada merced a un depósito sucesivo de la misma. Estas porciones más intensamente teñidas se denominan «cápsulas de condrina» las cuales pueden incluir dos o más células íntimamente adosadas o hasta rodeadas por cápsulas propias para ser a su vez englobadas por otra cápsula común y de mayor tamaño denominada «condrosoma».

Interacción proteoglicanos-colágena

Solamente mediante un tratamiento químico se puede extraer la mayoría de los proteoglicanos, lo cual sugiere su íntima adhesión a la fibra de colágena. El complejo proteína-polisacárido parece estar adosado a la fibra de colágena a nivel de los períodos de 640 Å, encontrándose la proteína arrollada espiralmente y el sulfato de condroitina (SERAFINI-FRASASINI y SMITH, 1966). Los eslabones entre los proteoglicanos y la colágena probablemente ocurren entre las cargas negativas de los grupos sulfatados de los proteoglicanos y las cargas positivas de los residuos de guanidina de la colágena. Así, los proteoglicanos aparecen partiendo regularmente entre las fibras de colágenas y conectados a las bandas de entrecruzamiento de la misma (MITCHELL y SHEPARD; 1976). Algunas de las propiedades especiales de la colágena del cartílago, incluyendo su considerable estabilidad, probablemente son el resultado de la fuerte interacción entre la colágena y los proteoglicanos. La unión química entre la colágena y el condroitín-4-sulfato encontrado en el cartílago joven es más fuerte que entre la colágena y

el condroitín-6-sulfato y el keratosulfato, en los individuos más viejos. Por ello, las fibras de colágena son más gruesas tanto en individuos de mayor edad como en las partes más profundas del cartílago.

Metabolismo del cartílago articular

La ausencia de aporte vascular y la presencia de una matriz intercelular abundante hicieron pensar que el cartílago articular era un tejido relativamente estable y metabólicamente inerte. Así fue concebido como un tejido «braditrófico» dada la escasa presencia de oxígeno. En la actualidad no se puede conceptualizar de esta manera (MANKIN y LIPIELLO, 1969; FISZMAN, 1977) pues en el interior del citoplasma de los condrocitos se dan complejas reacciones enzimáticas y metabólicas propias de los procesos de respiración y glucolisis, metabolismo del glucógeno y de los lípidos, y de la síntesis y degradación de sustancia intercelular.

Así, el ritmo respiratorio y la producción de energía básica por la célula condral es elevado (ROSHENTHAL y cols., 1941); hay «shunts» de la hexosa-monofosfato (tanto aeróbico como anaeróbico); sin embargo, el hecho de la tolerancia del cartílago articular tanto a la cianida potásica como a la disminución de oxígeno, y a su sensibilidad al mono-iodo-acetato junto al hecho de la presencia de concentraciones elevadas de lactato sugieren que tenga una preferencia la vía anaeróbica (MANKIN y ORLIC, 1964). La mayoría de estas reacciones implican una alta coordinación entre las diferentes organelas celulares (WEISS, 1982).

Respiración y glucolisis

BYWATERS (1937) ya observó en los tejidos articulares de animales equinos una baja, pero evidente utilización de oxígeno por el cartílago articular siendo un quinceavo de lo cuantificable para otras células; pero siendo comparable el ritmo de glucolisis. Otros autores han investigado los posibles sistemas enzimáticos, como LUTWAK-MANN (1940) que en la vía de la glucolisis

postula la vía oxidativa directa (ciclo de las pentosas) dado el requerimiento de coenzima-II (NADP) para la oxidación de la glucosa. La glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (enzima clave en el ciclo de las pentosas) ha sido demostrada histoquímicamente en el cartílago articular de la rata mostrando una menor actividad que en el cartílago apofisario.

También se ha demostrado la presencia de succínico-deshidrogenasa en el cartílago articular bovino (ROSHENTHAL y cols., 1942) y otras enzimas del ciclo de Krebs, observándose citocromo-oxidasa en el cartílago invertebrado, como recoge FREEMAN (1973).

Se piensa que la propiedad afecta a la respiración de los condrocitos articulares. En este sentido ROSHENTHAL, BOWIE y WAGONER (1941) encuentran un ritmo constante de glucolisis en relación con la edad del animal y un decrecimiento del consumo de oxígeno que piensan se debe a la disminución de citocromo (componente de activación del oxígeno).

Por otra parte se evidencia que los condrocitos de la zona superficial son menos activos que los de las zonas más profundas, siendo menor su avidez para la incorporación de sulfato (COLLINS y McELLIGOT, 1960). También se ha demostrado una disminución de la actividad reductasa de NAD y NADP en estas células, como recoge FREEMAN (1973).

Metabolismo glucógeno y lipídico

Se han encontrado en el citoplasma del condrocito numerosos enzimas asociados al metabolismo del glucógeno (glucógeno sintetasa, fosforilasa) y al metabolismo de los lípidos (lipasa y lecitinasa).

En el cartílago articular del conejo se ha encontrado una actividad de deshidrogenasa beta-hidroxibutírica que interviene en la beta oxidación de los ácidos grasos, y de deshidrogenasa alfa-glicerofosfato soluble que concierne a la formación de alfa-glicerofosfato catabolizador de la glicolisis sin que se encuentre una variación zonal (FREEMAN, 1973).

En cambio la actividad de esterasa no específica es mínima y se localiza en los condrocitos de las zonas 2 y 3, como contraste con los condrocitos del cartílago hialino no articular (STOCKWELL, 1966).

Fosfatasa alcalina

La fosfatasa alcalina no específica se encuentra en las zonas más profundas del cartílago articular (SHAWN y MARTIN, 1962), siendo persistente su actividad en el cartílago articular de la rata y el conejo de edad (STOCKWELL, 1966), y estando asociada al continuo proceso de remodelamiento de la unión basal condro-ósea.

Un miembro específico del grupo de las fosfatasas alcalinas: la 5-nucleotidasa se encuentra presente en los condrocitos (OTTE, 1958), en todas las capas del cartílago articular adulto.

Síntesis de sustancia intercelular

La síntesis de la base proteica de la macromolécula de proteoglicanos es similar a la síntesis de la molécula de protocólagena, siendo algo más compleja a nivel de la formación de las moléculas de glicosamínglicos y requiriendo un número de enzimas que incluye nucleósido difosfoquinasa, UDP-glucosa fosforilasa, UDP-glucosa deshidrogenasa y un número de transferasas e isomerasas, como recoge WEISS (1982).

La glucosa-1-fosfato y la N-acetil-glucosamina-1-fosfato son convertidas por la UTP en ácido UDP-glucurónico y UDP-N-acetilglucosamina, que son unidas por una «ether link» para la formación de condroitín (WEISS, 1982).

Estos escalones se llevan a cabo en el interior o cerca de los ribosomas, siendo la adición de sulfato a la unidad de glicosamínglicos rápida (D'ABRAMO y LIPMAN, 1957) y ocurriendo en la región del aparato de Golgi (GOODMAN y LANE, 1964) con la adición de ATP al sulfato para formar 3-fosfo-adenosín-5-fosfosulfato o «sulfato

activo», una molécula de alta energía a partir de la cual el sulfato se añade a la porción C-4 ó C-6 de la N-acetil-galactosamina (D'ABRAMO y LIPMAN, 1957).

Hay evidencia de que la molécula completa de glicosamínglico es sintetizada casi simultáneamente por los condrocitos (MANKIN, 1970 y 1978).

Las técnicas de autorradiografía y conteo escintilográfico utilizando aminoácidos marcados como ^3H , ^{14}C , hexosas o $^{35}\text{SO}_4$, se han venido utilizando para estudiar el ritmo y distribución de la síntesis y degradación de la matriz intercelular, como hicieron en nuestra Cátedra MARTÍNEZ, ARGÜELLES, CERVERA y GOMAR SANCHO (1977). En este sentido los estudios sobre el ritmo de incorporación de la glicina- ^3H y del $^{35}\text{SO}_4$ han demostrado que la síntesis de glicosamínglicos es rápida y lineal con el tiempo (MANKIN y ORLIC, 1964), siendo más rápida en animales inmaduros y manteniéndose constante con la edad tras un decline inicial (MANKIN y BARON, 1965; MANKIN y BOYLE, 1967).

Esta síntesis de matriz se ha visto incrementada tras la práctica de laceraciones superficiales del cartílago articular (MANKIN y BOYLE, 1967) y en ciertas fases de la artrosis (COLLINS y MEACHIN, 1961; MANKIN y LIPIELLO, 1970; MANKIN, 1971). Esta síntesis decrece con la cortisona (MANKIN y CONGAR, 1966; GARCÍA PENALVA, 1973) con los antimetabolitos (MANKIN, 1978) y con la mostaza nitrógena (MANKIN, 1978).

Hemos de hacer mención que las células superficiales (zona-1) presentan una menor afinidad por la captación de sulfato (COLLINS y McELLIGOT, 1960) y que en ausencia de fibrilación no parece existir una variación considerable de incorporación del sulfato con la edad en el cartílago humano (STOCKWELL y MEACHIN, 1973).

Metabolismo de la colágena

Las unidades moleculares de las fibras de

colágena: la tropocolágena, son sintetizadas, como en el caso de otras proteínas en el interior de los condrocitos, siendo el proceso mediado por los ribosomas.

El gen estructural del DNA del condrocito proporciona el molde para la síntesis del RNA-mensajero que transmite a los ribosomas la orden y la secuencia de producción de los aminoácidos en el polipéptido, siendo transportados estos aminoácidos por el RNA de transporte. Experiencias cualitativas y cuantitativas empleando citidina marcada han demostrado como el RNA es metabolizado rápidamente en el condrocito (FISZMAN, 1977).

Las moléculas de tropocolágena se producen en el interior del condrocito y las fibras de colágena elaborada a partir de ella se encuentran extracelularmente.

Cuando se detiene la hidroxilación de la tropocolágena el polipéptido se acumula en el interior de la célula pensando que si se hidroxila pasaría directamente al exterior de la misma (FREEMAN, 1973). Para ROSS y BENDITT (1965) la tropocolágena pasaría a la matriz por el camino del retículo endoplasmático.

GHADIALLY y ROY (1969) se cuestionan el lugar donde la tropocolágena se agrega para formar fibras de colágena, puntualizando lo siguiente: a) que las fibras se formen extracelularmente, b) que las fibras se formen tanto en la superficie ectoplásmica como en la superficie celular y sean agregadas en la matriz, y c) que las fibras se formen intracelularmente.

Para FISZMAN (1977) existe evidencia de que la síntesis tropocolágena tiene lugar en los grupos ribosómicos del retículo endoplasmático del condrocito, pero la distribución de estas unidades básicas en macromoléculas características de las fibras de colágena tienen lugar fuera de los límites celulares por acción de una enzima polimerizadora.

La mayor parte de la bibliografía sobre el metabolismo de la colágena se ha reali-

zado a través de estudios de cartílago embrionario de pollo (FREEMAN, 1973) siendo pocos los trabajos que como el de REPO y MITCHELL (1971) muestran evidencia de formación de fibras de colágena en el cartílago articular adulto, como el del conejo en este caso. En el cartílago articular del hombre adulto el «turn over» de la colágena es mucho menor que en el cartílago inmaduro (FREEMAN, 1973; WEISS, 1982).

Síntesis proteica

La síntesis de proteínas en el cartílago se estudia por medio de la incorporación de glicina pues refleja la síntesis de proteína no colágena de la matriz intercelular (MANKIN y LIPIELLO, 1970).

La incorporación de la glicina en el cartílago articular del conejo sugiere que la síntesis de proteína por unidad de DNA disminuye en el adulto (MANKIN y BARON, 1965). En el cartílago articular fibrilado la situación no es clara: mientras que en el cartílago articular de la cabeza femoral del perro decrece la síntesis (MANKIN y LAING, 1967), en la cadera del hombre parece haber un aumento de incorporación por unidad de DNA (MANKIN y LIPIELLO, 1970).

Enzimas degradativas

Las técnicas descritas con isótopos marcadores utilizadas en el estudio de la degradación de la matriz intercelular han demostrado que aunque la colágena es relativamente estable una gran proporción de proteoglicanos es bastante lábil (MANKIN y LIPIELLO, 1970). A este ritmo de degradación se añade la atricción normal del cartílago, lo cual lleva a sugerir que además de este proceso degradativo existe una intensa remodelación interna enzimáticodependiente (WEISS, 1982).

Para STOCKWELL y MEACHIN (1973) todas las enzimas degradativas parecen ser de origen lisosomal. Estos sistemas enzimá-

ticos son capaces de degradar los proteoglicanos y se piensa que intervienen en el rápido «turn-over» fisiológico de la sustancia fundamental del cartílago articular adulto (MANKIN y LIPIELLO, 1970).

Un número de enzimas son capaces de romper las moléculas de proteoglicanos: papaína, hialuronidasa y ciertas enzimas intracelulares (FREEMAN, 1973; WEISS, 1982). Sin embargo, no hay evidencia de hialuronidasa o de colagenasa en el cartílago articular, aunque se piensa que los enzimas proteolíticos pueden romper la colágena desnaturalizada (WEISS, 1982).

Se ha encontrado una familia de proteasas ácidas lisosomiales (catepsina-D) que puede actuar degradando la matriz y los proteoglicanos del cartílago articular. Esta enzima puede ser activada en los procesos degenerativos articulares (artrosis) tanto como en la normal remodelación del cartílago articular (WEISS, 1982).

Nutrición del cartílago articular

El cartílago articular es un tejido avascular excepto embrionariamente y durante un corto período de tiempo postnatal, cuando canales vasculares se extienden desde la metafisis y el periostio hasta la epifisis y porciones basales del cartílago articular (LEVENE, 1964 y LUFTI, 1970).

Un estudio de la nutrición del cartílago articular requiere conocer sus requerimientos nutricios, los factores que intervienen en la ruta de estos elementos y su suplencia, y finalmente a los mecanismos por los cuales estos nutrientes alcanzan su destino histológico.

Requerimientos nutricios

Los requerimientos nutricios del condrocito han sido estudiados con detenimiento en el capítulo anterior al detenernos en el metabolismo del cartílago articular.

De todas formas debemos de recordar que el cartílago articular fue estudiado por BYWATERS (1937), siendo el primero en cuantificar el consumo de oxígeno y estableciendo que los condrocitos presentan requerimientos de glucosa. Esta metabolización de la glucosa por el condrocito requiere la intervención de complejos sistemas enzimáticos ya estudiados.

Más adelante se estudió la captación de azufre inorgánico y su proceso en la sulfatación de las proteínas sintetizadas por las células del cartílago.

En otro apartado vimos que el condrocito también sintetiza las fibrillas de tropocolágena que luego formarán el armazón de fibras del tejido, constituyendo las fibras de colágena definitivas. Esta síntesis de colágena necesita de la presencia de aminoácidos, hierro o ion ferroso y ácido ascórbico, cuyos mecanismos de transporte, sobre todo de los dos últimos, es desconocido.

Finalmente debemos de referir que el estudio del líquido sinovial no aporta conocimientos definitivos sobre las necesidades metabólicas del condrocito. Sabemos que el líquido sinovial es similar al plasma, con una proporción menor de proteínas de elevado peso molecular (globulinas), pero cuyo significado nutricional es desconocido.

Ruta de los nutrientes

La ruta y mecanismo a través de la cual los nutrientes alcanzan los condrocitos ha ocupado los estudios de numerosos investigadores durante casi dos siglos. Este devenir se inicia con los estudios mediante microscopía de inyección que realizara WILLIAM HUNTER (1743), centrándose en dos aspectos:

- a) La vecindad de la profundidad del cartílago articular con el hueso vascularizado, y
- b) el hecho de que la superficie articular se encuentre bañada por el líquido sinovial.

Si bien en el siglo XIX los autores pensaban que la nutrición se realizaba principalmente por difusión a partir de la vascularización subyacente (TOYNBEE, 1841), algunos autores eran de la opinión que el líquido sinovial también podría jugar un papel en este sentido (LEIDY, 1849 y REDFERN, 1850).

En 1920 STRANGWAYS, sugirió que la nutrición se realizaba principalmente a través de la difusión del líquido sinovial. Estudios posteriores de COLLINS (1949), BROWER y cols. (1962) y MAROUDAS y cols. (1968) han soportado esta teoría, o bien sugerido que tanto el líquido sinovial como la vascularización subcondral proveen nutrición al cartílago articular (EKHOLM, 1951; INGELMARK y SAAF, 1948; McKIBBEN y HOLS-WORTH, 1966).

1.— Nutrición por la vía subcondral

HUNTER (1743) pensaba que debido a dificultades de índole técnico no podía encontrar vasos: «... los vasos sanguíneos son tan estrechos que no admiten los glóbulos rojos de la sangre».

TOYNBEE (1841) era de la opinión de que si bien ciertamente había una barrera debería de existir algún proceso de difusión vascular.

Un siglo después TRUETA y HARRISON (1953), mediante la realización de técnicas de inyección en la interfase hueso-cartílago encuentran vasos precapilares que partiendo de la esponjosa del hueso epifisario atraviesan por canales el hueso subcondral y forman lo que los autores denominan «simple capillary loops» en la superficie de la profundidad del cartílago calcificado. De ello deducen que es necesario postular un proceso de difusión entre estos «loops» y el cartílago.

Se ha postulado la intervención del cartílago calcificado como una barrera que actúa impidiendo la entrada de vasos y quizás el proceso de difusión. En este sentido,

COLLINS (1949) es de la opinión que la existencia de esta barrera es necesaria por cuanto la existencia de placa subcondral preserva de cambios metabólicos y otorga estabilidad al cartílago.

Por otro lado es de destacar que nadie ha observado o descrito la existencia de canales en el hueso subcondral. Aunque HOLMDAHL e INGELMARK (1950) describen conexiones directas de la médula con el cartílago y detallan una descripción arteroide como lo hiciera PETERSON (1930), el modelo experimental en el que se realiza el trabajo no es comparable con el cartílago articular del adulto en el hombre, dada además, la diferencia del cartílago adulto con el inmaduro.

Esto viene rubricado por los trabajos de GREENWALD y HAYNES (1969) que en el conejo adulto no encuentran comunicación entre el hueso subcondral y el cartílago. Por ello los trabajos sobre nutrición del cartílago inmaduro no son relevantes en cuanto se trata del cartílago adulto (FREEMAN, 1973).

La existencia de defectos en la interfase osteocondral en el adulto humano normal ha sido descrita en el microscopio óptico por WOODS, GREENWALD y HAYNES (1970) y confirmada en estudios con microscopía electrónica realizados por MITAL y MILLINGTON (1970). Para los autores, estos defectos no penetran el grosor total de la zona calcificada y tienen otros propósitos que los nutricios.

Estudios con trazadores radioactivos han confirmado la opinión que en el animal inmaduro con los platillos epifisarios abiertos, una porción significativa del cartílago articular recibe soporte nutricional de la vascularización subyacente epifisaria. Sin embargo, con la maduración, la cual es asociada con el cierre del platillo epifisario, la formación del platillo de hueso subcondral, el establecimiento de la zona de calcificación y la «tide-mark», casi toda la nutrición se deriva por difusión a partir del líquido sinovial (HONNER y THOMSON, 1971).

En esta línea se han realizado estudios mediante la inyección en el hueso subcondral de solutos y suspensiones identificables como: nitrato de plata (ISHIDO, 1923); «rice grains» (INGELMARK y SAAF, 1948), carmines y gelatinas.

La inyección de isótopos radioactivos y realización de técnicas autorradiográficas (EKHOLM, 1951 y 1955) y de fluorescencia (BRODIN, 1955) vienen a resumir las conclusiones de HODGE y McKIBBIN (1969): en los animales inmaduros se puede demostrar la existencia de tales defectos del hueso subcondral, mientras que en los animales maduros tal hecho no es demostrado.

Estudios «in vitro» sobre cartílago articular adulto del hombre han resultado contradictorios. Para MAROUDAS, BULLOUGH, SWANSON y FREEMAN (1968) no se encuentra transferencia o difusión de azul de metileno o de glucosa en el cartílago articular adulto de hombre; sí se encuentra en el cartílago inmaduro humano.

Sin embargo, los estudios de GREENWAL y HAYNES (1969), empleando la técnica de difusión de un colorante fluorescente colocado mediante fresado de una cavidad en cabeza femoral hasta tres milímetros de la zona subcondral, apreciando una difusión del colorante al cartílago y demostrando, en su opinión, la existencia de canales vasculares que penetran a través de la placa calcificada subcondral, a modo de «puentes» entre el tejido medular y el hueso subcondral y el cartílago articular, es contrapuesto a la opinión de FREEMAN (1973) quien se pregunta si no existió citolisis previamente a la penetración del contraste.

Para finalizar debemos de referir las observaciones de HAM y LEESON (1961) que si se produce un infarto de hueso subcondral, esto supondría una imposibilidad para la nutrición por la ruta del hueso subcondral; y sin embargo, CATTO (1965) observó que el grosor del cartílago articular permanece constante durante meses o años a pesar

de la existencia de necrosis avasculares o tras fracturas del cuello femoral. En esta línea McKIBBIN y HOLDSWORTH (1969) realizan experimentalmente, infartos en el tejido óseo subcondral, encontrando un cartílago articular sin cambios aparentes.

2.- *Nutrición por vía del líquido sinovial*

La idea de que el líquido sinovial podía nutrir el cartílago articular fue señalada por LEIDY (1849) quien describió la capacidad de la superficie articular para imbibir ciertos líquidos, aunque pensara que sólo tendría lugar en las capas más superficiales.

VIRCHOW (1863) describió que los cuerpos libres intraarticulares presentaban un cartílago articular sano, acuñando el concepto de «vida mínima», puesto que el líquido sinovial no cubriría todas las necesidades del cartílago articular normal.

Para STRANGWAYS (1920) el concepto de «vida mínima» era más amplio puesto que el líquido sinovial aportaba la casi totalidad de la nutrición celular.

BYWATERS (1937), que demostrara el consumo de oxígeno y de glucosa por el condrocito, desarrolla un modelo experimental «in vitro» para el estudio del consumo de oxígeno y de glucosa, afirmando que el líquido sinovial cubre las necesidades nutricias del cartílago articular excepto de las capas más profundas. Estas capas más profundas se nutrirían por el líquido sinovial cuando el cartílago articular se ve sometido a movimiento, siguiendo el concepto desarrollado por MAROUDAS y cols. (1968).

Esta ruta de nutrición del cartílago articular ha sido estudiada con diversas técnicas tanto «in vivo» como «in vitro», mediante el uso de citidina triptiada (MANKIN, 1963), azul de metileno, glucosa y alizarín rojo (MAROUDAS y cols., 1968), sulfato marcado con ³⁵S (HODGE y McKIBBIN, 1969; HONNER y THOMPSON, 1961), etc...

Por otra parte el efecto de retirada del

líquido sinovial del contacto con el cartílago articular produce un deterioro del mismo, si bien no siempre sigue una base nutricional (FISHER, 1922).

3.— *Comprobación de las «rutas» de aporte nutricional*

La evidencia de la existencia de estas dos vías se demuestra por tres aspectos: morfológico (en cuanto a función y estructura se refiere), fisiológico (por demostración directa de la transferencia de nutrientes), y patológico (mediante el estudio del efecto de la supresión de una o ambas vías).

En el caso del líquido sinovial no se encuentran barreras anatómicas, los solutos pueden pasar fácilmente de la articulación al cartílago y el cartílago articular no sobrevive a la exclusión del líquido sinovial.

En el caso de la ruta subcondral el problema se centra en su existencia (FREEMAN, 1973). Si bien existe un plexo subcondral de vasos y de canales la presencia de los mismos es sólo «sugestiva» de esta existencia, amén de la verdadera existencia de un proceso constante de remodelación a este nivel (FREEMAN, 1973).

En palabras de FREEMAN, es difícil escapar a pensar que la ruta sinovial es la más importante. El cartílago articular que sobrevive sin la presencia de circulación subcondral muestra una disminución del número de condrocitos (CATTO, 1965) pudiendo sugerir la falta de un aporte nutricional total. Los estudios de MAROUDAS (1968) y los ya anteriores de BYWATERS (1937) hacían referencia a una penetración inadecuada de los nutrientes en los estratos más profundos del cartílago articular, mejorando esta penetración con el movimiento articular.

Transferencia de nutrientes a través de la matriz del cartílago articular

Estudios tempranos revelaron que el cartílago es completamente permeable a los

colorantes catiónicos, menos permeables a los neutros y apenas, a los colorantes aniónicos (BROWERS y cols., 1962). Sin embargo, existen factores físicos y químicos que influyen el tipo, tamaño y ritmo de difusión de diversas sustancias en este tejido.

MAROUDAS ha desarrollado el concepto de que el cartílago articular actúa como una membrana, con un tamaño de poro de 62 Å (McCUTCHEN, 1962) y que las teorías de DONNAN sobre el equilibrio e intercambio de iones son aplicables en el caso del cartílago articular (MAROUDAS, 1968; MAROUDAS y BULLOUGH, 1968; MAROUDAS y cols., 1969; MAROUDAS, 1970).

La densidad de carga fija de la matriz, debida a los glicosamínglicos polianiónicos, controla las características de difusión del cartílago, en gran medida. Como la densidad de la carga fija se incrementa con la profundidad del cartílago, la permeabilidad decrece (MAROUDAS, 1968).

Se ha demostrado que el coeficiente de difusión para el CINA, K y SO, es aproximadamente el 40 por 100 de su valor en soluciones acuosas y que para la glucosa es del 30 por 100 (MAROUDAS, 1970).

El agua en el cartílago, que aparece como agua solvente, llega a ser, en parte inaccesible, para las grandes moléculas debido a los efectos de exclusión estérica ejercidos por los proteoglicanos. La hemoglobina es la molécula más grande capaz de penetrar en el cartílago (WEISS, 1982). La agitación del soluto debida al movimiento articular parece incrementar el ritmo de difusión de algunas pequeñas moléculas (MAROUDAS y cols., 1968).

Aunque la mayoría de los autores han pensado que no existe un sistema de transporte celular activo en el cartílago articular dada la elevada relación matriz/células, recientes estudios han demostrado que la difusión de nutrientes (aminoácidos, azúcares y sulfato) es extraordinariamente rápida

y dependiente de la presencia de células viables (WEISS y cols., 1973).

Con el fin de sumarizar, la superficie articular actúa como una membrana con una superficie de poro de 62 Å siendo la difusión de las moléculas en el interior del cartilago articular dependiente de la agitación, tamaño molecular, configuración estérica y de la carga del soluto, por un lado; y de la tortuosidad de poro, densidad de las cargas fijas y posiblemente de la composición celular de la matriz, por otro.

BIBLIOGRAFIA

- ARGÜELLES SANGINES, F. (1976): «Estructura y metabolismo del cartilago articular». *Rev. Esp. Cir. Ost.*, 10, 63-88.
- BENNINGHOFF, A. (1925): «Form und Bau der Gelenkknorpel in ihren Beziehungen zur Funktion». *Z. M. Kr. Anat. Forsch.*, 2, 783-867. (Citado por OWEN y cols., 1980).
- BRODIN, H. (1955): «Path of nutrition in articular cartilage and intervertebral disc». *Acta Orthop. Scand.*, 24, 177.
- BROWERS, T. D.; AKAHOSHI, Y. y ORLIC, P. (1962): «The diffusion of dyes through articular cartilage in vivo». *J. Bone Jt. Surg.*, 44/A, 456-463.
- BROWERS, T. D. y HSU, W. Y. (1969): «Normal articular cartilage». *Clin. Orthop.*, 64, 9.
- BULLOUGH, P. G. y GOODFELLOW, J. (1968): «The Significance of the Fine Structure of the Articular Cartilage». *J. Bone Jt. Surg.*, 50/B, 852-857.
- BULLOUGH, P. G.; GOODFELLOW, J. y O'CONNOR, J. J. (1973): «The relationship between degenerative changes and loadbearing in Human Hip». *J. Bone Jt. Surg.*, 55/B, 746-758.
- BULLOUGH, P. G. (1980): «Cartilage», in Robert Owen, John Goodfellow and Peter Bullough, «Scientific Foundations of Orthopaedics and Traumatology». 1.ª ed., Londres, W. Heinemann Medical Books Ltd., pp. 11-17.
- BURLEIGH (1975): Citado por Ch. WEISS (1982).
- BYWATERS, E. G. L. (1937): «The metabolism of tissues». *J. Path. Bact.*, 44, 247.
- CAMERON, D. A. y ROBINSON, R. A. (1958): «Electron-microscopy of epiphyseal and articular cartilage matrix in the femur of the newborn infant». *J. Bone Jt. Surg.*, 40/A, 163-170.
- CATTO, M. (1965): «A histological study of avascular necrosis of the femoral head after trans-cervical fracture». *J. Bone Jt. Surg.*, 47/B, 749-776.
- CHESTERMAN, P. J. y SMITH, A. U. (1968): «Homotransplantation of articular cartilage and isolated condrocytes». *J. Bone Jt. Surg.*, 50/B, 184-197.
- COLLINS, D. H. (1949): «*The Pathology of Articular Cartilage and Spinal Disease*» 1.ª ed. Londres, Arnold and Company.
- COLLINS, D. H. y McELLIGOTT, T. F. (1960): «Sulphate ³⁵(SO)₄ uptake by condrocytes in relation to histological changes in osteoarthritic human articular cartilage». *Ann. Rheum. Dis.*, 19, 318.
- COLLINS, D. H. y MEACHIN, C. (1961): «Sulphate ³⁵(SO)₄ fixation by human articular cartilage compared in the knee and shoulder joints». *Ann. Rheum. Dis.*, 20, 117.
- D'ABRAMO, F. y LIPMANN, F. (1957): «The formulation of adenosine 3' phosphate-5' phosphosulfate in extracts of chick embryo cartilage and its conversion to chondroitin sulfate». *Biochem. Biophys. Acta.*, 25, 211. (Citados por WEISS, 1982).
- DAVIES, D. V.; BARNET, C. H.; COCHRANE, W. y PALFREY, A. J. (1962): «Electron microscopy of articular cartilage in the young adult rabbit». *Ann. Rheum. Dis.*, 21, 11.
- EKHOLM, R. (1951): «Articular cartilage nutrition». *Acta Anat.*, Suppl. 15.
- EKHOLM, R. (1955): «Nutrition of articular cartilage». *Acta Anat.*, 24, 177.
- FAWNS, H. y LANDELLS, J. W. (1953): «Histochemical Studies of Rheumatic Conditions. I. Observations on the fine structures of the matrix of normal bone and cartilage». *Ann. Rheum. Dis.*, 12, 105-113. (Citados por OWEN y cols., 1980).
- FISHER, A. G. T. (1922): «A contribution to the pathology and etiology of osteoarthritis: with observations upon the principles underlying its surgical treatment». *Brit. J. Surg.*, 10, 37-52.
- FISZMAN, P. (1977): «*Histofisiología del tejido cartilaginoso y membrana sinovial*». «Rho-dia».
- FREEMAN, M. A. R. (1973): «*Adult Articular Cartilage*». 1.ª ed., Oxford, Pitman Medical.
- GARCÍA PENALVA, A. (1973): «Artropatía cortisónica experimental. Estudio de la acción de la cortisona sobre el cartilago articular». *Rev. Esp. Cir. Ost.*, 8, 299-347.
- GARDNER, D. L. y WOODWARD, D. (1969): «Scanning Electron Microscopy and replica studies of Articular Surfaces of Guinea Pig Synovial Joints». *Ann. Rheum. Dis.*, 28, 379-381. (Citados por OWEN y cols., 1980).
- GERSH, I. y CATCHPOLE, M. R. (1960): «The nature of ground substance of connective tissue».

- Perspect. Biol. Med.*, 3, 282. (Citados por S. L. TUREK, 1982).
- GHADIALLY, F. N. y ROY, S. (1969): «*Ultrastructure of Synovial Joints in Health and Disease*». Londres. Butterworths.
- GOMAR, F. (1973): «*Patología quirúrgica osteoarticular*». 1.ª ed. Valencia. Saber.
- GOODFELLOW, J. W. y BULLOUGH, P. G. (1967): «The pattern of ageing of the Articular Cartilage of the Elbow Joint». *J. Bone Jt. Surg.*, 49/B, 175-181.
- GREENWALD, A. D. y HAYNES, D. W. (1969): «A pathway for nutrients from the medullary cavity to the articular cartilage of the femoral head». *J. Bone Jt. Surg.*, 51/B, 747-753.
- HAM, A. W. y LEESON, T. S. (1961): «*Histology*». Londres. Pitman Medical, pág. 298. (Citado por McKIBBIN, 1973).
- HAM, A. W. (1975): «*Tratado de Histología*». 6.ª ed. Madrid. Editorial Interamericana.
- HAM, A. W. y CORMACK, D. H. (1979): «Histophysiology of Cartilage, Bone and Joints» in A. W. Ham. «*Histology*». 8.ª ed. Philadelphia. J. B. Lippincott Company. 367-483.
- HELFFET, A. J. (1982): «*Disorders of the Knee*». 2.ª ed. Filadelfia. J. B. Lippincott Company.
- HERRING, G. M. (1968): «The chemical structure of tendon, cartilage, dentin and bone matrix». *Clin. Orthop.*, 60, 261.
- HODGE, J. y McKIBBIN, B. (1969): «The nutrition of mature and immature joint cartilage in rabbits». *J. Bone Jt. Surg.*, 51/B, 140.
- HOLMDAHL, P. E. e INGELMARK, B. E. (1950): «The contact between the articular cartilage and the medullary cavities of bone». *Acta Orthop. Scand.*, 20, 1156.
- HONNER, R. y THOMPSON, R. C. (1971): «The nutritional pathway of articular cartilage». *J. Bone Jt. Surg.*, 53/A, 742-748.
- HOUGH, A. J.; BANFIELD, W. G.; MOTTRAM, F. C. y SOKOLOFF, L. (1974): «The osteochondral junction of mammalian joints». *Lab. Invest.*, 31, 685-695. (Citados por MERCER y cols., 1983).
- HUNTER, W. (1743): «Of the Structure and Diseases of Articulating Cartilages». *Phil. Trans.* 267-271.
- INGELMARK, B. E. y SAAF, J. (1948): «Über die Ernährung des Gelenkknorpels». *Acta Orthop. Scand.*, 17, 303.
- ISHIDO, B. (1923): «Gelenkuntersuchungen». *Virchows Arch.*, 244, 424.
- KOLLIKER, A. (1853): «*A Manual Of Human Study Histology*». Londres, Sydenham Society. (Citado por F. ARGÜELLES SANGINES, 1976).
- KUHLMAN, R. E. (1960): «A microchemical study of the developing apiphyseal plate». *J. Bone Jt. Surg.*, 42/A, 457-466.
- LANE, L. B.; VILLACIN, A. y BULLOUGH, P. G. (1977): «The vascularity and remodelling of subchondral bone and calcified cartilage in adult human femoral and humeral heads. An age—and stress—related phenomenon». *J. Bone Jt. Surg.*, 59/B, 272-278.
- LEIDY, J. (1849): «Article I: On the intimate structure and history of the articular cartilages». *Amer. J. Med. Sci. (New Series)*, 17, 277.
- LEVENE, C. (1964): «The patterns of cartilage canals». *J. Anat.*, 98, 515.
- LOW, F. N. (1962): «Microfibrils: fine filamentous components of the tissue space». *Anat. Rec.*, 142, 131. (Citado por S. L. TUREK, 1982).
- LUTFI, A. M. (1975): «Morphological changes in the articular cartilage after meniscectomy». *J. Bone Jt. Surg.*, 57/B, 525-529.
- LUTWAK-MAN, C. (1940): «Enzymes in articular cartilage». *Biochem. J.*, 34, 517. (Citado por WEISS, 1982).
- MANKIN, H. J. (1963): «Localisation of tritiated cytidine of immature and adult rabbits, after intra-articular injection». *J. Lab. Invest.*, 12, 543. (Citado por McKIBBIN, 1973).
- MANKIN, H. J. (1963): «Localisation of tritiated Thymidine in articular cartilage of rabbits. III: Mature articular cartilage». *J. Bone Jt. Surg.*, 45/A, 529-540.
- MANKIN, H. J. y ORLIC, P. A. (1964): «A method of stimulating the «health» of rabbit articular cartilage by assays of ribonucleic acid and protein synthesis». *Lab. Invest.*, 13, 465.
- MANKIN, H. J. y BARON, P. A. (1965): «The effect of ageing on protein synthesis in articular cartilage of rabbits». *Lab. Invest.*, 14, 658.
- MANKIN, H. J. y CONGAR, K. A. (1966): «The acute effects of intra-articular hydrocortisone on articular cartilage in rabbits». *J. Bone Jt. Surg.*, 48/A, 1383-1388.
- MANKIN, H. J. y BOYLE, C. J. (1967): «The acute effects of lacerative injury on DNA and protein synthesis in articular cartilage». *National Research Council*. Washington DC. National Academy of Sciences, p. 185.
- MANKIN, H. J. y LAING, P. G. (1967): «Protein and ribonucleic acid synthesis in articular cartilage of osteoarthritic dogs». *Arthritis Rheum.*, 10, 444.
- MANKIN, H. J. y LIPPIELLO, L. (1969): «The turnover of adult rabbit articular cartilage». *J. Bone Jt. Surg.*, 51/A, 1591-1600.
- MANKIN, H. J. y LIPPIELLO, L. (1970): «Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritis human hips». *J. Bone Jt. Surg.*, 52/A, 424-34.
- MANKIN, H. J. (1970): «The articular cartilages. A review» in *AAOS Instructional Course Lectures*, XIX, 204.

- MANKIN, H. J. (1978): «The water of articular cartilage», in W. H. Simon (ed.), «*The human joint in health and disease*». Filadelfia. University Press, pp. 37-42. (Citado por WEISS, 1982).
- MAROUDAS, A. (1968): «Physiochemical properties of cartilage in the light of ion exchange theory». *Biophys. J.*, 8, 575.
- MAROUDAS, A. y BULLOUGH, P. (1968): «Permeability of articular cartilage». *Nature*, 219, 1260.
- MAROUDAS, A.; BULLOUGH, P. G.; SWANSON, S. A. V. y FREEMAN, M. A. R. (1968): «The permeability of Articular Cartilage». *J. Bone Jt. Surg.*, 50/B, 166.
- MAROUDAS, A.; MUIR, H. y WINGHAM, J. (1969): «The correlation of fixed negativa charges with glycosaminoglycan content of human articular cartilage». *Biochem. Biophys. Acta.*, 177, 492. (Citados por WEISS, 1982).
- MAROUDAS, A. (1970): «Distribution and diffusion of solutes in articular cartilage». *Biophys. J.*, 10, 365.
- MARTÍNEZ, A.; ARGÜELLES, F.; CERVERA, J. y GOMAR, F. (Jr.) (1977): «Sites of sulfatation in the chondrocytes of the articular cartilage of the rabbits». *Virchows Arch. B. Cell. Path.*, 23, 53-64.
- McCONNAILL, M. A. (1951): «The movements of bone and joints. IV. The mechanical structure of articulating cartilage». *J. Bone Jt. Surg.*, 33/B, 251.
- McCUTCHEN, C. W. (1962): «The frictional properties of animal joints». *Wear*, 5, 1. (Citado por WEISS, 1982).
- McKIBBIN, B. y HOLDSWORTH, F. W. (1966): «The nutrition of immature joint cartilage in the lamb». *J. Bone Jt. Surg.*, 48/B, 793-803.
- McKIBBIN, B. (1973): «Nutrition», in M. A. R. Freeman, «*Adult Articular Cartilage*». 1.ª ed. Oxford. Pitman Medical, pp. 277-286.
- MEACHIN, G. y COLEÏNS, D. H. (1962): «Cell counts of normal and osteo-arthritic articular cartilage in relation to the uptake of sulphate $^{35}\text{(SO)}_4$ «in vitro». *Ann. Rheum. Dis.*, 21, 45.
- MERCER, W.; DUTHIE, R. B. y BENTLEY, G. (1983): «*Mercer's Orthopaedic Surgery*». 8.ª ed. Londres. Edward Arnold (Publisher) Ltd.
- MILLER, J. (1976): «Biochemical characteristics and biological significances of the genetically distinct collagens». *Mol. and Cell. Bioch.*, 13, 165. (Citado por MERCER y cols. 1983).
- MITAL, M. A. y MILLINGTON, P. F. (1970): «Osseus pathway of nutrition to articular cartilage of the human femoral head». *Lancet*, 1, 842. (Citado por McKIBBIN, 1973).
- MITCHELL, N. y SHEPARD, N. (1976): «The localization of articular cartilage proteoglycan by electron microscopy». *Trans of the 22nd Annual Meeting, Orthopaedic Research Society*, 1, 100. (Citado por OWEN y cols., 1980).
- MUIR, H.; BULLOUGH, P. G. y MAROUDAS, A. (1970): «The distribution of collagen in human articular cartilage with some of its physiological implications». *J. Bone Jt. Surg.*, 52/B, 554-563.
- OGSTON, A. (1878): «On the growth and maintenance of the articular ends of adult bones». *J. Anat. Physiol.*, XII, 503. (Citado por OWEN y cols., 1980).
- OTTE, P. (1958): «Histochemischer Nachweis einer spezifischen 5-Nucleotidase in Gelenknorpeln». *Z. Physiol. Chem.*, 310, 103. (Citado por STOCKWELL y MEACHIN, 1973).
- OWEN, R.; GOODFELLOW, J. y BULLOUGH, P. G. (1980): «*Scientific Foundations of Orthopaedics and Traumatology*». 1.ª ed. Londres. W. Heineman Medical Books Ltd.
- PAGET, J. (1853): «Healing of injuries in various tissues». In *Lectures on Surgical Pathology*, Vol., 1. Londres.
- PETERSON, H. (1930): «Die Organs des Skeletsystems», in W. von Möllendorff. «*Handbuch der mikrosk. Anat. des Menschen*». (Citado por HOLMDAHL e INGELMARK, 1950).
- PUIG ROSADO, A. (1971): «*Estudio de la condrogénesis articular por autorradiografía con timidina $-H^3-$* ». Valencia, Tesis doctoral.
- REDFERN, P. (1850): «*A Normal Nutrition in the Articular Cartilage*». Edinburgo. Sutherland & Knox. (Citado por WEISS, 1982).
- REPO, R. U. y MITCHELL, N. (1971): «Collagen synthesis in mature articular cartilage of the rabbit». *J. Bone Jt. Surg.*, 53/B, 541-548.
- RIGAL, W. M. (1961): «*A Study of Bone Developments using tissue culture*». Oxford, Thesis University. (Citado por GOMAR, 1973).
- ROBINSON, R. A. y CAMERON, D. A. (1956): *J. Biophys. and Bioche. Cyt.*, 2, 253. (Citados por MERCER y cols., 1983).
- ROSENBERG, L.; HELLMAN, W. y KLEINSCHMIDT, A. K. (1970): «Macromolecular models of protein polysaccharides from bovine nasal cartilage». *J. Biol. Chem.*, 245, 4123. (Citados por S. L. TUREK, 1982).
- ROSENBERG, L. (1975): «Structure of cartilage proteoglycans», in P.M.C. Burleigh, Poole A.R. (eds.): «*Dynamics of Connective Tissue Macromolecules*». New York. American Elsevier, pp. 105-124. (Citado por A. J. HELFET, 1982).
- ROSENBERG, L.; HELLMAN, W. y KLEINSCHMIDT, A. K. (1975): «Electron microscopic studies of proteoglycan aggregates from bovine articular cartilage». *J. Biol. Chem.*, 250, 1877-1883.
- ROSENTHAL, O.; BOWIE, M. A. y WAGONER, G. (1941): «Studies on the metabolism of articu-

- lar cartilage. I: Respiration and glycolisis in relation to its age». *J. Cell. Comp. Physiol.*, 17, 221. (Citados por FREEMAN, 1973).
- ROS, R. y BENDITT, E. P. (1965): «Wound healing and collagen formation. V. Quantitative electron microscopy radioautographic observations of proline- H^3 utilisation by fibroblast». *J. Cell. Biol.*, 27, 83. (Citados por STOCKWELL y MEACHIN, 1973).
- SERAFINI-FRACASINI, A. y SMITH, J. W. (1966): «Observations on the morfology of the protein-polysaccharide complex of bovine nasal cartilage and its relationship to collagen». *Proc. Roy. Soc. Lond. B.*, 165, 440. (Citados por GOMAR, 1973 y FREEMAN, 1973).
- SHAWN, N. E. y MARTIN, B. F. (1962): «Histological and histochemical studies an mammalian knee joint tissues». *J. Anat.*, 96, 359.
- SILBERBERG, R.; SILBERBERG, M.; VOGEL, A. et al. (1961): «Ultrastructure of articular cartilage of mice of various ages». *Am. J. Anat.*, 109, 251. (Citados por WEISS, 1982).
- SILBERBERG, R.; SILBERBERG, M. y FREIR, D. (1964): «Life cycle of articular cartilage cells: An electron microscope study of the hip joint of the mouse». *Am. J. Anat.*, 114, 17. (Citados por HAM, 1974).
- STOCKWELL, R. A. (1966): «*The ageing of cartilage*». Londres. Thesis. (Citado por FREEMAN, 1973).
- STOCKWELL, R. A. (1967): «The cell density of human articular and costal cartilage». *J. Anat.*, 101, 753.
- STOCKWELL, R. A. (1970): «Changes in the acid glycosaminoglycan content of the matrix of the aging human articular cartilage». *Ann. Rheum. Dis.*, 29, 509. (Citado por S. L. TUREK, 1982).
- STOCKWELL, R. A. y MEACHIN, G. (1973): «The condrocytes», in M. A. R. FREEMAN, «Adult Articular Cartilage». 1.^a ed. Oxford. Pitman Medical, pp. 51-99.
- STRANGEWAYS, T. S. P. (1920): «The nutrition of articular cartilage». *Brit. Med.*, 1, 661. (Citado por McKIBBIN, 1973).
- STRAWICH, E. y NIMNI, E. M. (1971): «Properties of a collagen molecule containing three identical components extracted from bovine articular cartilage». *Biochemistry*, 10, 3905.
- TOYNEBEE, J. (1841): «The non-vascularity of certain animal tissues». *Phil. Trans.*, 131, 159. (Citado por FREEMAN, 1973).
- TRUETA, J. y HARRISON, M. H. M. (1953): «Osteoarthritis of the hip: A study of the nature and evolution of the disease». *J. Bone Jt. Surg.*, 35/B, 442-61.
- TRUETA, J. y MORGAN, J. D. (1960): «The Vascular Contribution to Osteogenesis. I. Studies with the Injection Method». *J. Bone Jt. Surg.*, 42/B, 97-109.
- TUREK, S. L. (1982): «*Ortopedia: Principios y aplicaciones*». 1.^a ed., Barcelona, Salvat, S. A.
- VIRCHOW, R. (1863): «Die krankhaften Geswulate I». Berlín. (Citado por EKHOLM, 1951).
- WEISS, C.; ROSENBERG, L. y HELFET, A. J. (1968): «An ultrastructural study of normal young adult human articular cartilage». *J. Bone Jt. Surg.*, 50/A, 663.
- WEISS, C.; MANKIN, H. J. y TREADWELL, B. V. (1973): «Diffusion rates in articular cartilage: Evidence for an active transport system» (abstr.). *J. Bone Jt. Surg.*, 55/A, 657.
- WEISS, Ch. (1982): «Microstructure and Biochemistry of Joints», in Arthur J. Helfet, «*Disorders of the Knee*». 2.^a ed., Filadelfia, J. B. Lippincott Company, 37-60.
- WOODS, C. G.; GREENWALD, A. J. y HAYNES, D. W. (1970): «Subchondral vascularity in the human femoral head». *Ann. Rheum. Dis.*, 29, 138.