

Rev. Esp. de Cir. Ost., 16, 249:263 (1981)

La posición de inmovilización articular y su repercusión en el cartílago articular. Estudio experimental

F. GOMAR SANCHO y V. J. ESTREMS

RESUMEN

Se estudian en el conejo los cambios degenerativos en el cartílago articular de la rodilla tras inmovilizaciones rígidas de 1 a 14 semanas, en posición funcional y en extensión forzada, lo que pone de manifiesto graves lesiones del cartílago, iniciándose con una hiperemia subcondral, sigue el patrón histológico de la artrosis hasta su total destrucción.

Se demuestra una mayor intensidad y precocidad de las lesiones cuando la inmovilización se hace en posición no funcional.

Descriptor: Alteraciones del cartílago por inmovilización. Artrosis experimental por inmovilización. La posición de inmovilización como causa de alteración articular.

SUMMARY

An experimental study in the knee of the rabbit is planned in order analyze the results after fixed immobilisation for a period of 1 to 14 weeks in a functional position (flexion in the rabbit) and the maximum extension. The changes of the articular cartilage begins with a subchondral hyperemiae followed by histological changes in the own cartilage until its whole destruction.

The comparative histological findings show that the lesions appear earlier and are more severe if the immobilisation was in a non-functional position in the rabbit (full extension).

Key words: The position of immobilisation as an experimental osteoarthritis. Cartilage changes after immobilisation. Experimental osteoarthritis.

Motivo del trabajo

Sabemos que las inmovilizaciones prolongadas de una articulación llevan al deterioro progresivo del cartílago articular, junto a otros efectos tan indeseables como la retracción por colagenización de las partes blandas periarticulares. Este efecto indesea-

ble sobre la integridad del cartílago articular se pone de manifiesto en su grado máximo, en aquellas situaciones en las que existe una limitación de la movilidad en la patología articular adquirida y de hecho ésta es una de las causas que se estudian en la etiología de la artrosis secundaria, siendo una prueba evidente de que la inmovilización altera al

cartílago, el hecho de que esta circunstancia se utiliza habitualmente para realizar modelos experimentales de artrosis.

Este aspecto nos ha preocupado porque en algunas de las medidas terapéuticas que habitualmente utilizamos, se realizan unas inmovilizaciones a veces excesivamente prolongadas. Por otra parte esta preocupación se pone actualmente de manifiesto en la difusión de los yesos funcionales, buscando recuperar lo más precozmente posible la movilidad articular.

Parece admitirse que la inmovilización del cartílago daña fundamentalmente a su nutrición al impedir la compresión y expansión del mismo, fallando el efecto de bombeo que facilita la normal imbibición del cartílago por el líquido sinovial y la mejor nutrición por vía vascular subcondral. Problemática que ya discutiremos en el apartado correspondiente.

Por otro lado conocemos que la morfología del cartílago y sus propiedades físico-químicas varían según la localización; existiendo claras diferencias entre el cartílago que soporta la carga y el cartílago de la periferia.

Con estos planteamientos pensamos que el efecto de la inmovilización no puede ser el mismo estando en contacto zonas de cartílago apto para la carga, o si por el contrario, es cartílago no preparado para soportarla el que se encuentra en contacto.

Este es el motivo fundamental de este trabajo; ver esas diferencias si es que existen, con una aplicación práctica para evitar aquellas inmovilizaciones en las posiciones más perjudiciales.

Por otra parte, interesa analizar los posibles mecanismos responsables del deterioro del cartílago articular por inmovilización y ver si sufren variaciones en las situaciones experimentales propuestas.

Se da la circunstancia de que en el conejo las patas posteriores (utilizadas en la experiencia) son unos miembros preparados

para el salto y que su posición de carga al descansar el animal sobre sus cuatro patas es, a diferencia del hombre, en flexión. Por ello, el modelo experimental de inmovilización con contacto del cartílago preparado para la carga, utilizará la postura en flexión, mientras que la inmovilización con contacto del cartílago no preparado para dicha carga, utilizará la postura en extensión.

La patogenia de la artrosis ha sido ampliamente estudiada en relación con situaciones patológicas diversas, trazándose de la misma un esquema o secuencia de aparición de las alteraciones universalmente aceptado. No obstante, en la actualidad diversos estudios ponen en tela de juicio algunos aspectos fisiopatológicos relacionados con esta enfermedad, que inevitablemente nos hacen dudar sobre la total y absoluta certeza de dicho esquema etiopatogénico.

Diversos hallazgos no son explicados convincentemente por los diversos autores, lo que convierte a éste en un tema todavía muy problemático y atractivo. Este ha sido, sin lugar a duda, un factor muy importante para iniciar este trabajo, junto a la tremenda importancia actual de enfermedades que como ésta, constituyen un motivo de grandes gastos y perjuicios para nuestra sociedad.

Alteraciones del cartílago por inmovilización

Las alteraciones y cambios anatomopatológicos observables en el cartílago que recubre los extremos óseos de una articulación sometida a una inmovilización durante un período de tiempo variable, son los mismos que los acontecidos en el proceso degenerativo de las superficies cartilaginosas de articulaciones afectas de un proceso degenerativo artrósico, a consecuencia de factores patológicos cualesquiera que sean, que afecten la normal fisiología articular.

En el estudio de la fisiopatología de la artrosis, el modelo experimental más difundido ha sido la inmovilización de las articulaciones, sometiéndolas o no a un efecto compresivo para provocar fenómenos artrósicos superponibles a los de la clínica humana y establecer las distintas fases de deterioro del cartílago articular para poder determinar la responsabilidad que en ellas juegan los cambios bioquímicos, morfológicos y biofísicos.

Múltiples autores han realizado experiencias en las que pretendían usar dicha inmovilización de los extremos óseos, para provocar en el cartílago que los recubre unas alteraciones artrósicas que les sirviesen de guía frente a la secuencia de alteraciones patológicas relatadas por el enfermo artrósico, intentando mediante este modelo experimental mecánico relacionar el estado clínico de dicho enfermo con una u otra fase anatómopatológica evolutiva de dicha enfermedad.

Así pues, frente a experiencias de carácter más bien químico, en las que con inyección intraarticular de vitamina A; anticuerpos antiextractos del cartílago autólogo, etc., se provocaban alteraciones que inciertamente podrían compararse con las alteraciones propias del enfermo artrósico; surgen estos modelos experimentales que con un carácter puramente mecánico, la inmovilización, provocan una secuencia de alteraciones progresivas en el cartílago, que resulta idéntica a la secuencia o progresión seguida por el cartílago del enfermo artrósico.

Lógicamente, la variabilidad en la aparición de las alteraciones y en el carácter de las mismas, será fruto de múltiples factores, tales como el que la inmovilización sea rígida o no, el tiempo de duración de la misma, la existencia o no de compresión entre los extremos articulares y porción de los mismos en contacto, tipo de articulación y otros muchos factores de variación que han sido objeto de múltiples y muy diferentes trabajos experimentales.

Es aceptado por todos los autores que la nutrición del cartílago depende del normal movimiento articular, que provocaría un juego de presiones que permitiría la imbibición del líquido sinovial y facilitaría la nutrición subcondral en los estratos más profundos.

Esta acción nutritiva se altera, bien por la sobrecarga o por la actividad limitada a un escaso arco de movimiento de la articulación y ambas conducen a la artrosis (GOMAR, 1973).

El primer dato morfológico indicativo de degeneración artrósica del cartílago articular, reside en la pérdida de su normal brillo azulado y de su lisura, tomando un aspecto amarillento-mate y de menor resistencia.

Este primer hallazgo, citado y clasificado por **SALTER (1960)** dentro de su primer grado de lesión, es detectado por **LANGESKIOLD (1979)**, en su experiencia de inmovilización en extensión de la pata del conejo, a partir de la segunda semana.

SALTER incluye también dentro de lo que él llama el primer grado de afectación, la aparición de cierta necrosis celular en la zona más superficial y de transición.

Esta irregularidad de la capa superficial del cartílago o velvetización, es más precoz en las zonas sometidas a mayor presión. **THOMPSON (1970)**, indica en su trabajo sobre observaciones histológicas inducidas por degeneración del cartílago articular, que tras las dos primeras semanas de inmovilización únicamente se aprecian cambios en el centro del área comprimida, donde se observa una especie de «compactación» de las células en la zona tangencial y una disposición de las mismas más horizontal que vertical en la zona de transición y radiada.

El centro del área comprimida mostraba una disminución del grosor progresiva; marcados cambios de orientación de la colágena, vistos con microscopio de luz polarizada; pérdida completa de la metacromasia y

un aparente incremento en la densidad del tejido óseo subcondral.

El hueso cercano al área comprimida muestra más tardíamente visibles líneas de cementación y frecuentes osteonas inmaduras. Estos cambios descritos por THOMPSON, son incluidos por SALTER en su clasificación, como segundo grado de lesión, definiéndolo como aquel estadio en el que aparece adelgazamiento del cartílago en las zonas centrales del área de compresión y periféricamente cambios de primer grado; aprecia al microscopio pérdida de la tinción nuclear en todas las capas, con desaparición de la primera y segundas capas y evidente refuerzo subcondral.

Estos hallazgos aparecen en experimentación animal en el conejo mediante inmovilización, aproximadamente entre la novena y la onceava semana.

Siguiendo el mismo esquema evolutivo, tras la velvetización descrita anteriormente, la lesión progresa llegando a zonas más profundas y provocando una fisuración por alteración de las fibras del armazón del cartílago, con pérdida de su resistencia.

Según HALL Y SALTER (1963), los mecanismos de degeneración del cartílago serían debidos a la existencia de un disturbio en la nutrición, debido a la falta de función de bomba que el normal movimiento articular realiza sobre la imbibición del líquido sinovial y la vascularización subcondral y que lógicamente faltaría en una articulación inmovilizada.

La anterior alteración nutricia provocará el deterioro de los elementos constituyentes del cartílago, con lo que el condrocito verá incrementados sus requerimientos nutricios para subvenir a la necesidad de una mayor actividad sintetizadora, creando un círculo vicioso que llevará a la muerte del condrocito y formación de lagunas vacías que incrementarán la fragilidad del cartílago y colaborarán en el proceso de progresiva fisuración que acabará constituyendo verdaderas

zonas de erosión, con pérdida del cartílago más acusada en las zonas de contacto.

En las zonas periféricas libres de carga se introducen brotes vasculoconjuntivos procedentes de la medula, que atravesando la lámina ósea penetran en la capa de fijación del cartílago, alcanzando su superficie.

Alrededor de estos brotes se deposita sustancia osteoide que conformará los osteofitos marginales, excrescencias producidas por pseudohipertrofia ósea, que representan una reactivación de la osificación endondral (BORRACHERO, 1972).

LANGESKIOLD, encuentra estos osteofitos marginales en las patas de sus conejos inmovilizados en extensión, alrededor de la tercera o cuarta semana de experiencia.

El tercer grado de la clasificación de SALTER o de pérdida de todo el espesor del cartílago, que corresponde a la doceava semana de la experiencia de LANGESKIOLD, se denomina fase de eburneación.

Esta última fase se caracteriza por la pérdida de grandes áreas de cartílago, con una reacción ósea subcondral muy evidente, llegando a una verdadera esclerosis subcondral que da mayor fragilidad al tejido.

Es característico también de esta última fase la formación de geodas, que suelen corresponder a las áreas epifisarias de sobrecarga y parecen deberse a la infracción trabecular (LANDELL, 1953), o a una isquemia necrótica circunscrita (TRUETA, 1954). Se interpretan como fracturas trabeculares por fatiga mecánica.

Es necesario indicar que los cambios anteriores darán una gran variabilidad a los resultados, dependiendo no sólo del tiempo de experiencia sino también de la intensidad de la restricción de movimientos y de la diferente susceptibilidad de los distintos cartílagos frente a la misma inmovilización.

La región no calcificada del cartílago tendería a ser más delgada y a incrementar su proporción de células, lo que indica una reducción de la matriz extracelular (SOOD, 1970).

Se aprecia también una intensa disminución de la basofilia del tejido, que corresponde a una disminución de los mucopolisacáridos ácidos en la matriz no calcificada, que puede ser expresión de la disminución de su síntesis por parte del condrocito, o por fallo enzimático del complejo proteínopolisacárido en la sustancia extracelular. (MITCHELL y GRUETT, 1967).

Las observaciones apuntadas por multitud de autores indican que la cantidad de presión y restricción de movimientos a la cual está sometido el cartílago, influyen en la cantidad y probablemente también en la composición química de la sustancia fundamental.

Los cambios provocados y descritos en la inmovilización de las articulaciones podrían ser definidos, por fin, como un reajuste fisiológico con la alteración de los requerimientos mecánicos del tejido.

La morfología del cartílago articular cambia con el *status* biomecánico de la articulación (SOOD, S. C., 1971).

Material y método

Animal de experimentación.— El animal de experimentación elegido para este estudio es el conejo, por ser fácil de conseguir, fácil su mantenimiento y supervivencia y por poseer un cartílago articular de gran semejanza con el del hombre, que ya ha sido muy estudiado en el Laboratorio del Servicio del profesor GOMAR, exponiéndolo a situaciones patológicas experimentales varias.

Trabajamos sobre un grupo de treinta conejos de raza Nueva Zelanda, en edad ya adulta, que se han constituido en los modelos sobre los que apoyamos nuestras conclusiones, excluyendo lógicamente a aquéllos que por defecto de técnica, infección consecuente a la misma o cualquier otra circunstancia adversa, no han podido aprovecharse para no caer en artefactos engañosos que confundiesen nuestros resultados.

Del grupo inicial de treinta conejos, sólo han resultado utilizables veintidós, por las razones arriba expuestas, los cuales han sido distribuidos en diferentes grupos de estudio, de acuerdo con la clasificación que posteriormente exponemos y en la que se evidencian los tiempos de inmovili-

zación, tipo de la misma y demás datos importantes para la comprensión de cada modelo.

Modelo experimental. Técnica.— Un campo de experimentación muy desarrollado es el estudio de la fisiopatología de la artrosis. Se han propuesto varios modelos experimentales entre los que destacan la inyección intraarticular de vitamina A y los anticuerpos antiextractos de cartílago autólogo. Con estos métodos se conseguían lesiones fundamentalmente químicas, que en ningún caso pueden equipararse a aquellos trastornos degenerativos del cartílago sometido al *stress* de la carga y la marcha del animal.

Es por ello que nuestro objetivo consistió en obtener un modelo experimental puramente mecánico, que basándose en la inmovilización completa de la articulación, nos permitiese observar los trastornos degenerativos del cartílago, que irían apareciendo progresivamente a lo largo de la experiencia.

Bajo anestesia con clorhidrato de Ketamina (Ketolar), a dosis de 25 miligramos por kilogramo de peso, intramuscular, se procedía a realizar una inmovilización transesquelética de la pata trasera derecha del conejo, auxiliándose para ello de agujas de Kirschner de 2'5 milímetros de diámetro, que introducíamos mediante un perforador de hueso y previo rasurado y desinfección de la zona, una supracondílea en el fémur (a 1'5 cm aproximadamente de la interlínea articular), y la otra en la tibia, a 1'5 cm por debajo de la interlínea articular.

De esta forma conseguíamos una inmovilización total de la rodilla del conejo, que nos permitía por otra parte, adoptar el grado de flexión por nosotros deseado y mantenerlo invariable el tiempo exacto fijado para cada modelo.

Como es lógico, el elegir este tipo de inmovilización tiene también numerosos inconvenientes que fue necesario superar, ya que además de grandes dificultades en cuanto a la técnica, debido a la escasa consistencia del hueso de la tibia del conejo (en gran medida cortical), frente a la perforación, nos encontramos también con la mayor facilidad para la aparición de complicaciones tales como la infección, que nos obligaría a desechar varios conejos y la necesidad de una mayor y continua vigilancia de nuestros animales, que erigidos de esta manera en modelos de nuestro estudio, debieron ser por tanto preservados de todo riesgo.

Esquema de los tiempos de inmovilización

<i>Tipo de inmovilización</i>	<i>Grupo I (Extensión)</i>	<i>Grupo II (Flexión)</i>
<i>Duración de la experiencia:</i>		
Una semana	Un animal	Un animal
Dos semanas	-	Un animal
Tres semanas	Dos animales	Dos animales
Cinco semanas	Un animal	Un animal
Ocho semanas	Dos animales	Un animal
Diez semanas	Un animal	Dos animales
Once semanas	Dos animales	Un animal
Doce semanas	-	Dos animales
Trece semanas	-	Un animal
Catorce semanas	Dos animales	Dos animales
	<u>Total: 11 animales</u>	<u>Total: 14 animales</u>

Una vez perforados ambos huesos, procedíamos a cubrir la zona e inmovilizar con un vendaje de yeso isquiopédico que, tras proteger la pata con papel aislante tipo pinocho y una capa de algodón, tomaba como puntos de fijación los extremos sobresalientes de las agujas, que premeditadamente afloraban varios milímetros en uno y otro lado, con lo que conseguíamos una inmovilización total.

Hemos dividido a nuestros conejos en dos grandes grupos. Un primer grupo o grupo extensión, en el que tras la introducción de las agujas se colocaba el yeso en posición de extensión máxima; y un segundo grupo o grupo flexión, en el que dicha pata era fijada en aproximadamente 130 grados de flexión, buscando la coincidencia de la posición de dicho miembro con la posición en la que se mantiene en la postura de reposo el conejo, cuando éste descansa sobre sus cuatro patas.

Tras la intervención los animales eran introducidos en jaulas lo suficientemente amplias para permitirles una movilidad suficiente y obligarles a desplazarse en su interior para alimentarse. La alimentación ha sido la usual en la granja que nos facilita los animales.

Los animales seleccionados eran sacrificados mediante la inyección IM. de succi-

nil-colina a dosis masiva, siguiendo el esquema que a continuación se expone, en el plazo de una, dos, tres, cinco, ocho, diez, once, trece y catorce semanas tras la intervención, procediéndose posteriormente a la disección minuciosa de la pieza y a la toma de fotografías en distintas proyecciones y macrofotografías de detalle que venían a completar un amplio estudio radiográfico previamente realizado sobre dichas piezas.

Como vemos en el esquema anterior, del total de treinta conejos estudiados, únicamente veinticinco terminaron con vida el período de inmovilización a que se les sometió, siendo rechazados automáticamente todos aquellos conejos que una vez acabado éste, mostraron en su articulación alguna circunstancia indeseable (osteomielitis o fractura en el punto de penetración de las agujas, por ejemplo), que por deformar los resultados habría conducido a falsos razonamientos. Esta circunstancia se dio en otros tres conejos que, por lo tanto, fueron igualmente eliminados, quedando por fin veintidós conejos útiles para plantear nuestra discusión.

El componente articular tibial y femoral de las rodillas, tanto de la pata inmovilizada como de la opuesta, que servía como testigo, eran separados cuidadosamente y procesados para estudio anatomopatológico siguiendo las siguientes pautas:

- Fijación en formaldehído al 10 por 100 durante cinco días.
- Lavado en agua durante 24 horas.
- Decalcificación en ácido nítrico al 5 por 100 durante 3-6 días.
- Lavado en agua durante 24 horas.
- Deshidratación e inclusión en parafina (según el siguiente proceso):
- Alcohol al 50 por 100 2-3 horas.
- Alcohol al 70 por 100 2-3 horas.
- Alcohol al 96 por 100 2-3 horas.
- Alcohol al 100 por 100 2-3 horas.
- Alcohol al 100 por 100 2-3 horas.
- Alcohol al 100 por 100 2-3 horas.
- Benceno durante 2-3 horas.
- Benceno durante 2-3 horas.
- Benceno durante 2-3 horas.
- Parafina.
- Parafina.
- Parafina.
- Corte de la pieza en secciones de cinco micras de espesor mediante el microtomo, a diferentes niveles y se procede a su tinción con las técnicas de hematoxilina-eosina y tricrómico de Masson. Tomamos fotografías de estas preparaciones al microscopio, para su mejor estudio y comprensión.

Resultados de ambas series experimentales

Resultados de la primera serie

«Inmovilización en extensión»

Comparando las superficies articulares de la rodilla inmovilizada en extensión, con las de la rodilla testigo, observamos tanto en el estudio macroscópico como microscópico la aparición de cambios sustanciales degenerativos en la rodilla inmovilizada, frente a la testigo que permanece invariable.

Tras la primera semana de inmovilización el cartílago articular permanece invariable y con una morfología normal en todas sus capas; tanto a la visión macroscópica como microscópica observamos un com-

ponente articular femoral y un componente tibial ambos normales.

No percibimos alteraciones en el tejido óseo subcondral. Únicamente observamos como dato patológico la aparición de una evidente fibrosis de las partes blandas, que incluye al complejo cápsulo-sinovial.

A las tres semanas la fibrosis de las partes blandas periarticulares alcanza un grado importante llegando a borrar los fondos de saco sinoviales. Las superficies articulares tanto femoral como tibial, presentan un cartílago de aspecto normal (figura 1), pero con un tinte vinoso propio del estasis vascular, que no parece afectar a la zona de cartílago que ha permanecido en contacto con la superficie opuesta, circunstancia ésta mucho más evidente en el fémur que en la tibia.

El estudio microscópico del cartílago pone únicamente en evidencia una discreta fibrilación superficial que afecta a focos aislados de la superficie cartilaginosa de la tibia, sobre la zona de contacto.

Como hecho más llamativo cabe resaltar la presencia de colecciones hemáticas en el tejido óseo subcondral, que se insinúan en la capa de cartílago calcificado y que se encuentran rodeadas por tejido óseo morfológicamente normal, sin una evidente actividad osteoblástica (figura 2).

A las cinco semanas de inmovilización la fibrosis periarticular excede sus límites anteriores y alcanza el componente muscular de todo el miembro, intensamente atrofico. El cartílago articular pierde su brillo y su típico color azulado (fundamentalmente en el cóndilo femoral) en la zona de contacto. Dicha zona de contacto presenta una coloración blanco-amarillenta con discreta fibrilación superficial y en su periferia el resto del cartílago presenta una coloración vinoso mucho menos evidente que en los animales precedentes.

Microscópicamente los cambios se limitan a las capas más superficiales del cartílago, afectando por igual al fémur que a la tibia, pese a que en esta última el aspecto

macroscópico es aparentemente normal. Las fibras de la capa superficial tienden a formar gruesos haces deshilachados que tienden a desprenderse. Inmediatamente por debajo de los haces fibrosos que inician su desprendimiento, observamos una proliferación celular, con células de gran tamaño, una gran laguna condrocítica y cierta tendencia a formar clonos (fig. 3). El resto de capas del cartílago son normales.

En el tejido óseo subcondral aparecen también focos hemáticos con osteólisis del tejido óseo limitante y gran invasión hacia la capa de cartílago calcificado. En algunas zonas se observa una verdadera amputación de las capas más superficiales.

A las *ocho semanas* de inmovilización, las lesiones osteocartilaginosas eran muy severas y de distribución irregular, con mayor intensidad en el compartimento medial, donde la superficie articular estaba totalmente desnuda de cartílago en la tibia y el fémur, tanto en la zona de contacto como en la periferia.

Existen zonas de pérdida de sustancia que no se limitan al cartílago, sino que afectan con igual intensidad al tejido óseo epifisario próximo. En la vertiente lateral las lesiones afectan solamente a la zona de contacto del cartílago, fundamentalmente en el cóndilo femoral que muestra una gran úlcera en su cartílago, rodeado por tejido aparentemente conservado.

Al estudio microscópico se aprecian lesiones osteocartilaginosas prácticamente correspondientes a todos los grados de intensidad. Las zonas correspondientes a la gran destrucción macroscópica relativa a la vertiente medial, presentan una cubierta articular que se reduce a una fina lámina de tejido conectivo inmaduro, sobre la que flotan restos de cartílago necrótico que tapiza unas trabéculas óseas en parte reabsorbidas y en parte respetadas por tejido óseo inmaduro.

En la zona correspondiente a la úlcera del cóndilo lateral observamos en su centro la imagen histológica superponible a la des-

cripción anterior. En la zona más periférica de la úlcera la capa superficial ha desaparecido y se observan múltiples fisuraciones. En las capas más profundas la población celular está disminuida y las fibras de colágena tienden a formar gruesos haces verticales.

En el animal sacrificado tras *diez semanas* de inmovilización, el cartílago de la tibia está aparentemente bien conservado, mientras que el cartílago correspondiente a la vertiente femoral muestra una usura sobre el cóndilo medial.

Con el estudio microscópico ponemos en evidencia un hallazgo importante que no había aparecido en otros animales y es que las zonas de contacto aparecen deprimidas dando el aspecto de haber sido comprimidas y mostrando una tinción más densa, pese a que su matriz parecía estar bien respetada y las células mantienen un número y distribución normal, aunque son extraordinariamente pequeñas, (fig. 4).

Tras *once semanas* de inmovilización era muy evidente la usura del cartílago en la zona de contacto; formación de osteofitos y una gran reacción fibrosa sinovial que ocluye casi por completo la cavidad articular y un tinte hemático de todas las estructuras intraarticulares.

Microscópicamente había una erosión de las capas superficiales y observamos en algunas zonas formaciones de gruesos haces de fibras de colágena parcialmente desprendidas.

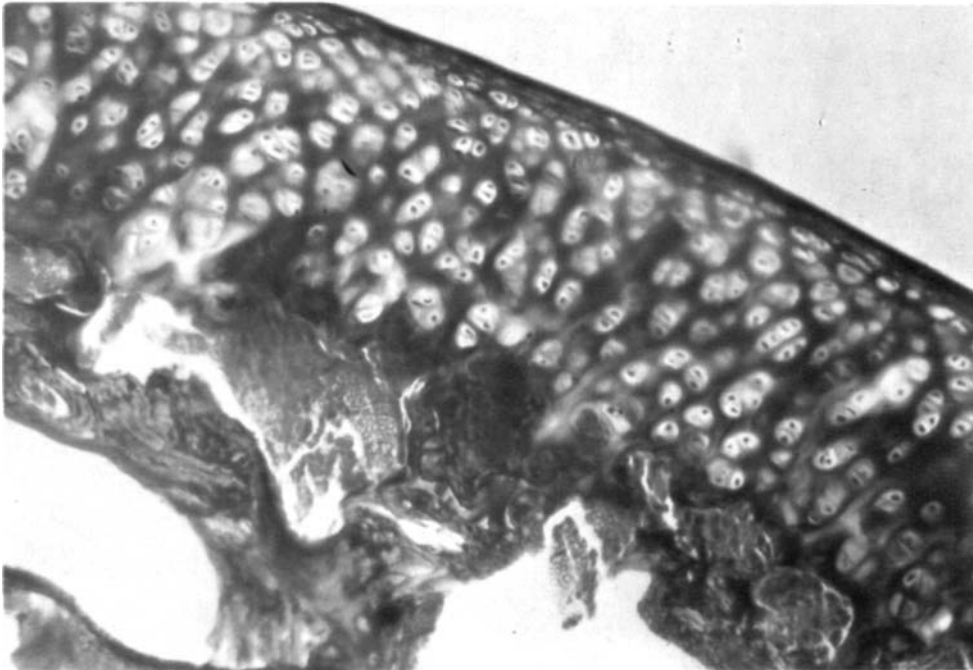
El centro de la zona de contacto muestra su cartílago fisurado y una disminución del número de condrocitos, que tienden a la formación de grupos isogénicos.

Tras *catorce semanas* de inmovilización, la fibrosis sinovial era máxima y el cartílago en la zona de contacto de la vertiente medial había desaparecido totalmente, tanto en el fémur como en la tibia, dejando al descubierto el tejido óseo subcondral (fig. 5).

En el compartimento lateral también había una ulceración importante que se limitaba al tejido cartilaginoso.



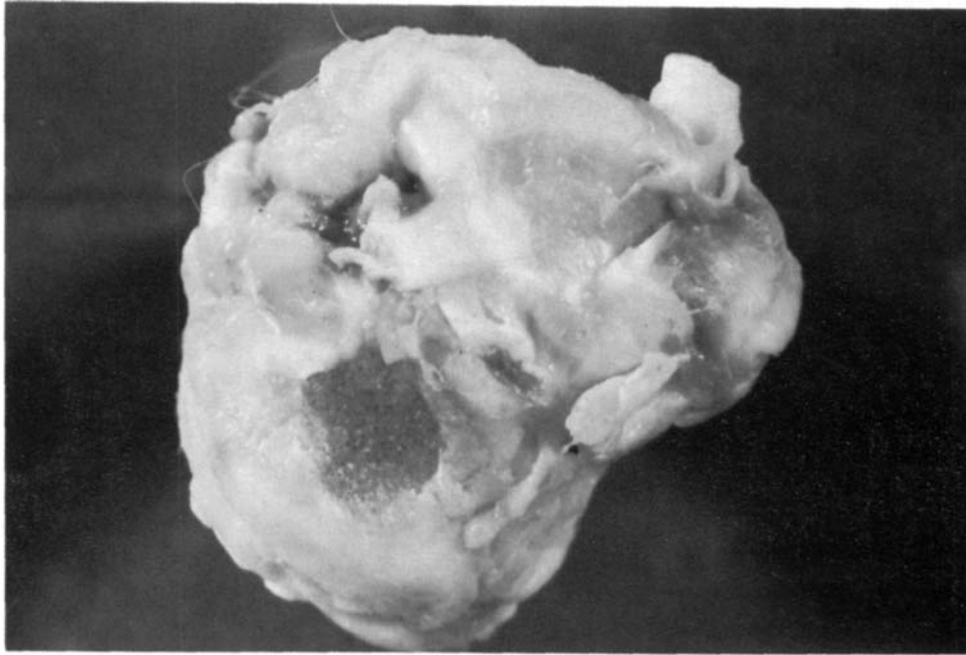
1



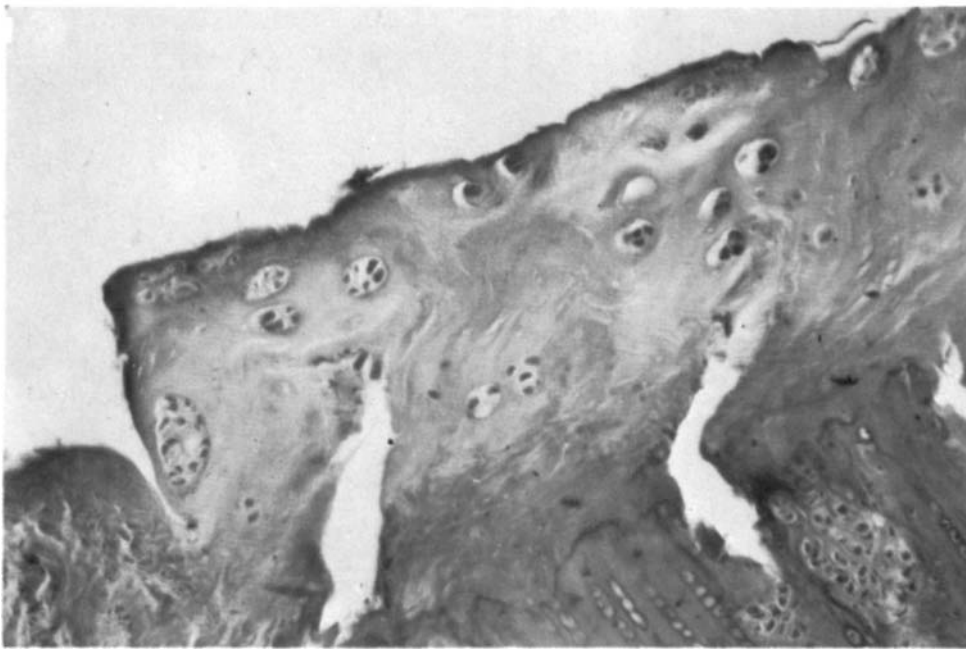
2

FIG. 1.- Inmovilización en extensión durante tres semanas. Platillos tibiales con cartílago aparentemente conservado, sobre el que se transparenta un estasis venoso subcondral. Fibrosis sinovial.

FIG. 2.- Inmovilización en extensión durante tres semanas. Tricrómico de Masson. 10 X: Cartílago conservado. Grandes lagunas en el tejido óseo subcondral y cartílago calcificado, con contenido hemático.



5



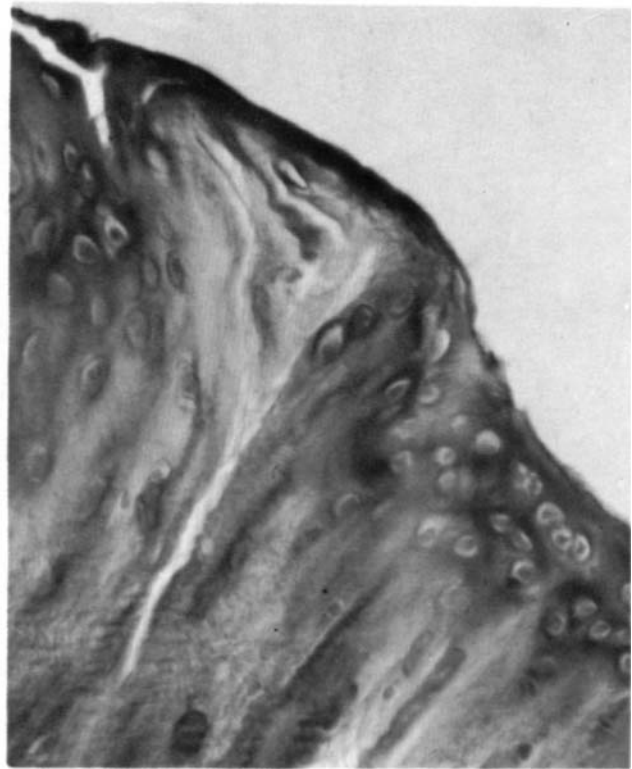
6

FIG. 5.- Inmovilización en extensión durante catorce semanas. Platillo tibial con desaparición completa del cartílago articular en zona de apoyo, quedando expuesto el tejido óseo subcondral. Fibrosis cápsulo-sinovial.

FIG. 6.- Inmovilización en extensión durante catorce semanas. Hematoxilina-Eosina 20 X: Cartilago en fase de fisuración. Cartilago totalmente desorganizado y de superficie irregular con algunos condrocitos muy hipertróficos y otros formando grupos isogénicos. Escasa población celular. Tinción muy irregular y gran desorganización de las fibras de colágena. Llama la atención, en la zona más profunda y separada por una línea de mayor densidad, un cartilago con células dispuestas en pilas de monedas que alterna con núcleos de cartilago embrionario.



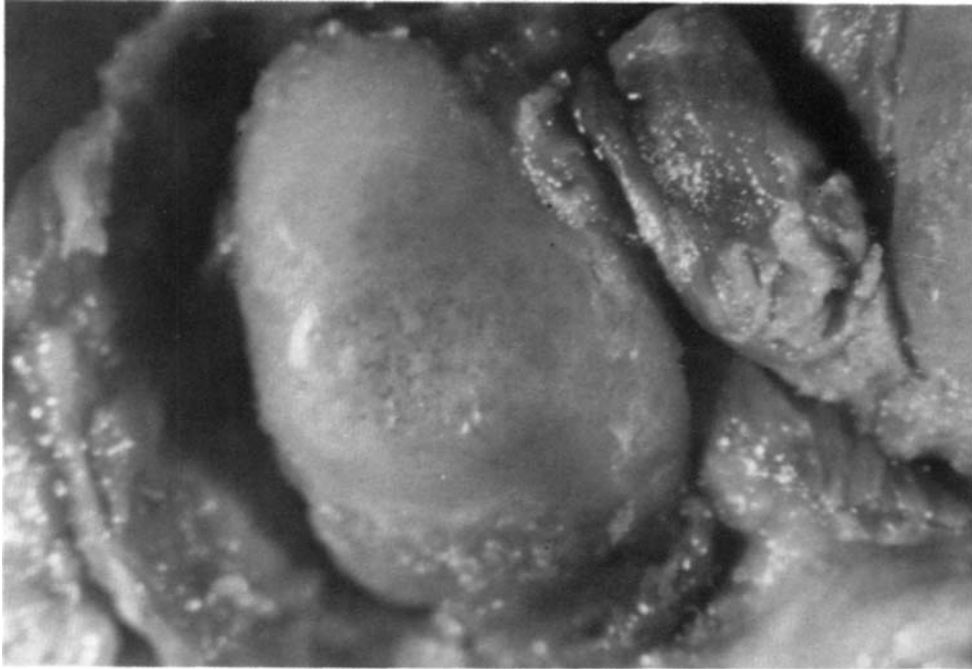
7



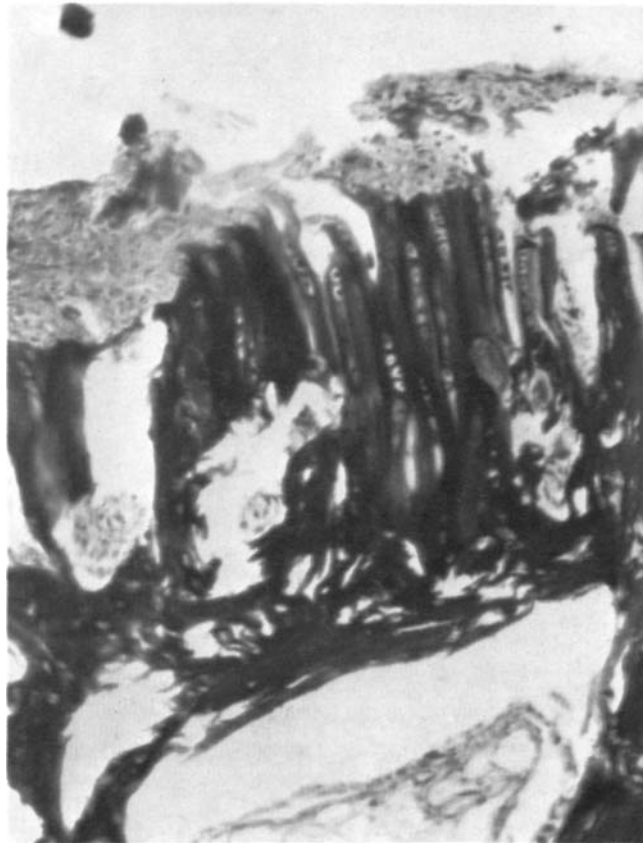
8

FIG. 7.— Inmovilización en flexión durante una semana. Hematoxilina-Eosina. 10 X: Cartílago conservado. Lagunas hemáticas abundantes en el tejido óseo subcondral.

FIG. 8.— Inmovilización en flexión durante ocho semanas. Hematoxilina-Eosina. 40 X: Detalle de un área de fisuración incipiente.



9



10

FIG. 9.- Inmovilización en flexión durante once semanas. Vista del cóndilo femoral que muestra un cartílago muy adelgazado en la zona de contacto y gran fibrosis en la periferia articular.

FIG. 10.- Inmovilización en flexión durante doce semanas. Tricrómico de Masson. 10 X: Cartílago velvético con pérdida de todas las capas superficiales y cubierto por tejido conectivo inmaduro. Focos de necrosis en la capa calcificada. Pequeños coágulos sanguíneos en el seno de la estructura cartilaginosa.

El estudio microscópico mostraba en las zonas en que la alteración era más intensa un tejido óseo subcondral totalmente desnudo, con microfracturas óseas que eran reforzadas por tejido óseo inmaduro. El tejido cartilaginoso situado en la periferia de estas zonas era muy estrecho, lleno de fisuraciones profundas y con fibras de colágena formando haces de distribución anárquica y una pobre población celular tendente a la formación de clonos de muy diverso tamaño (fig. 6). En la vertiente lateral las lesiones eran de distinta morfología, existiendo un verdadero desflecamiento del cartílago que llegaba hasta la capa de cartílago calcificado, confiriendo un aspecto típico en cepillo.

Resultados de la segunda serie *«Inmovilización en flexión»*

Una vez completada la serie de animales inmovilizados en extensión, procedíamos a inmovilizar otra tanda similar de animales procurando que sus rodillas quedasen aproximadamente en 130 grados de flexión, es decir, en la posición en que se mantienen al descansar el animal sobre sus cuatro patas.

Con esta nueva inmovilización en flexión, obtuvimos también cambios osteocartilaginosos importantes aunque de menor magnitud que en el caso de conejos inmovilizados en la posición anterior. Comparamos las lesiones obtenidas sobre las rodillas inmovilizadas con el estado de las rodillas testigo, observando que estas últimas no mostraron nunca lesiones visibles a microscopía óptica.

Tras *una semana* de inmovilización el aspecto del cartílago articular era totalmente normal, a excepción de su aspecto hiperémico que coincidía con el aspecto también hiperémico de las estructuras periarticulares. El grado de fibrosis de las partes blandas era mínimo.

El estudio microscópico no logró poner en evidencia la más mínima alteración en la

estructura del cartílago; sin embargo, en todas las secciones estudiadas era constante la presencia de numerosos depósitos hemáticos en el hueso subcondral y cartílago calcificado, pero sin ninguna repercusión sobre el tejido limitante, (fig. 7).

Tras *dos semanas* de inmovilización el cartílago permanecía aparentemente normal, pero hiperémico, con menos intensidad en la zona de contacto. La fibrosis de las partes blandas ya adquiere cierta importancia y limita los últimos grados de extensión.

Al estudio con microscopía óptica tanto el componente femoral como el tibial presentan únicamente una ligera fibrilación superficial, quedando el resto de capas del tejido indemnes.

Los depósitos hemáticos del tejido óseo subcondral son más abundantes y extensos que en el animal anterior, pero aún no hay una repercusión en el tejido óseo limitante.

En el animal sacrificado después de *tres semanas* de inmovilización, observamos en la rodilla derecha un hecho destacable, que debe ser tenido en cuenta a la hora de valorar los resultados; toda la vertiente anterior de la articulación estaba necrosada, afectándose tanto las partes blandas como las estructuras osteocartilaginosas más anteriores. Sin embargo, el cartílago en las zonas de contacto estaba bien conservado aunque había perdido su brillo característico y presentaba coloración amarillenta.

Con el estudio microscópico limitado a las zonas de contacto del cartílago, se observa en la capa superficial una discreta fibrilación.

Tras *cinco semanas* de inmovilización el cartílago sigue teniendo un aspecto bien conservado, llamando la atención solamente una evidente hiperemia.

Al microscopio óptico el cartílago es de morfología normal incluso en las capas más superficiales y en el tejido óseo subcondral aparecen acúmulos hemáticos con las características descritas en los primeros animales de esta serie.

Sometido el animal a *ocho semanas* de inmovilización, el aspecto macroscópico del cartílago sigue siendo normal aunque hiperémico.

Al microscopio óptico en el cartílago correspondiente a las zonas de contacto hay una fibrilación superficial y una fragmentación de la matriz, que llega casi a la capa de cartílago intermedio.

En algunas zonas aparecen imágenes incipientes de fisuración (fig. 8). Vuelven a aparecer los depósitos hemáticos en el tejido óseo subcondral.

A las *diez semanas* de inmovilización ya es posible detectar en el cartílago la huella de apoyo en la zona de contacto. El resto de cartílago con tinción hemática está aparentemente conservado. Llaman la atención una osteolisis en la periferia de la superficie articular, con destrucción de estructuras ligamentosas, fundamentalmente los ligamentos cruzados.

El estudio microscópico revela únicamente lesiones superficiales del cartílago, con un patrón superponible al de las ocho semanas de inmovilización. Son también aparentes los depósitos hemáticos subcondrales.

En el animal sometido a inmovilización durante *once semanas* se produjo el mismo problema que en el inmovilizado durante tres semanas de esta misma serie; una necrosis de toda la vertiente anterior de la rodilla que ha destruido todo el aparato extensor y ha profundizado hasta la vertiente anterior del componente femoral. El cartílago articular en la zona de contacto, más conservado respecto al periférico, tiene un espesor escaso, dejando casi transparentar el tejido óseo subcondral en los cóndilos femorales (fig. 9), mientras que en los platillos tibiales se ve la impronta de los cóndilos, estando el cartílago velvético y deprimido.

Al microscopio óptico se observa grave alteración del cartílago que adquiere su mayor intensidad en la zona central del área de contacto, donde el cartílago ha desapare-

cido en algunos focos de escaso tamaño, existiendo una reacción ósea neoformadora.

En las zonas más periféricas el cartílago queda reducido a una fina capa prácticamente acelular con múltiples fisuraciones y por debajo una respuesta ósea neoformadora.

Tras *doce semanas* de inmovilización la zona de contacto queda bien delimitada al estar a un nivel inferior al resto de cartílago y con un aspecto velvético evidente.

El cartílago del área de contacto está muy alterado en profundidad, pero de forma irregular. En capas más superficiales ha desaparecido y ha sido sustituido por tejido conectivo inmaduro muy celular. Las capas intermedia y radiada están desflecadas y la capa de cartílago calcificado necrótica (fig. 10).

En la rodilla inmovilizada durante *trece semanas* los cambios en el cartílago eran prácticamente insignificantes. Macroscópicamente sólo una ligera hiperemia y microscópicamente cartílago sano y depósitos hemáticos en el tejido óseo subcondral.

Prácticamente los mismos hallazgos que en los primeros animales de esta serie.

Este resultado inicialmente sorprendente tuvo explicación al revisar la ficha del animal donde se reflejaba que la inmovilización había sido destruida parcialmente por el animal, permitiéndole una amplia movilidad durante la cuarta y quinta semanas.

En el animal inmovilizado *catorce semanas* vuelve a ocurrir la aparición de la úlcera en cara anterior de la rodilla inmovilizada, aunque con menos intensidad que en animales anteriores, pero con suficiente profundidad para haber repercutido en las estructuras cartilagosas anteriores del extremo femoral.

Las áreas de contacto están deprimidas en forma de estratos concéntricos a modo de hojas de cebolla.

La imagen microscópica es muy peculiar en cuanto a que las lesiones afectan a las capas más superficiales y a las más profundas, conservándose parcialmente la capa intermedia. La capa superficial prácticamente

está amputada y la capa más profunda necrosada.

En el tejido óseo subcondral hay discreta reacción ósea neoformadora.

Discusión

En ambas series experimentales se pone en evidencia que la inmovilización de una articulación lleva a unos cambios osteocartilaginosos progresivos que, en gran parte, son superponibles a los ocurridos en la artrosis humana, aunque algunos de ellos tienen unas características diferentes que deben hacernos pensar en que las lesiones obtenidas están influenciadas por otros factores que deben ser analizados.

Es evidente por los resultados obtenidos, que la inmovilización en posición de extensión provoca alteraciones más intensas que las provocadas por inmovilización de la rodilla en flexión y sobre todo tienen características diferentes. Las lesiones por inmovilización en la posición de extensión, se inician por una lesión circunscrita a las capas más superficiales, con una respuesta celular proliferativa que podría interpretarse como una respuesta reparadora, pero que debe ser insuficiente en cuanto a que el ambiente intercelular creado es pobre en fibras de colágena y fácilmente debe claudicar ante la más mínima exigencia mecánica.

Tras la pérdida de las capas más superficiales y las fibras de colágena de disposición tangencial a la superficie, las capas de cartílago más profundo rápidamente se alteran y aparece la conocida fase de fisuración de la artrosis; grandes fisuras en profundidad que dislaceran un cartílago con gran disgregación de la sustancia fundamental y población celular patológica con formación de grupos isogénicos. También en este estadio hay una respuesta reparativa del cartílago, que se manifiesta por la aparición de focos de cartílago inmaduro en las zonas más profundas; respuesta que también es insuficiente en cuanto a que las lesiones progresan

hasta la total destrucción del cartílago articular, ante la cual también hay otra respuesta reparativa pero esta vez a nivel del tejido óseo subcondral que sufre un refuerzo a partir de hueso embrionario, al menos en las fases estudiadas por nosotros. Esto mismo fue descrito por MICHELSSON (1977) usando oxitetraciclinas en experimentación también en el conejo.

El porqué de esta lesión del cartílago cabría buscarlo simplemente en una mala nutrición del mismo al faltarle el mecanismo de esponja por compresión y descompresión, que facilita la penetración del líquido sinovial en la intimidad del cartílago durante la actividad articular (SALTER, 1960). Esta es una de las posibilidades fisiopatológicas más manejadas; pero si lo anterior fuera así de simple, no deberían existir diferencias tan evidentes entre las alteraciones correspondientes a ambos modelos experimentales. THAXTER (1965) demuestra utilizando S^{35} , que cuando la rodilla de la rata se inmoviliza y no carga, el S^{35} llega al cartílago igual que lo hace en la rodilla testigo; por lo tanto, no se altera la difusión desde el líquido sinovial.

Cabría pensar que las lesiones en extensión son más importantes por afectar a una estructura cartilaginosa que está menos preparada en cuanto a su morfología para soportar la carga (posición no habitual), pero comoquiera que el hecho de soportar la carga constituye al fin y al cabo la razón y base del mecanismo de esponja, la nutrición de estas zonas de cartílago deben depender en menor proporción de la movilidad articular. Por tanto hay que buscar otras razones para que estas lesiones se hayan producido.

Es destacable que al menos en dos de los animales se observa la lesión típica por compresión que ya fue descrita por THOMPSON (1970); ello nos hace intuir que en nuestro modelo experimental existía un efecto de compresión entre las carillas articulares que no pensamos sea debido a la propia inmovilización por el método em-

pleado, sino a la tensión a la que se someterían las partes blandas periarticulares al colocar a esta articulación en una posición forzada, o bien sería debido a una contractura muscular. THAXTER (1965) demuestra en la rata que la inmovilización de una pata denervada producía lesiones significativamente menos importantes que cuando dicha pata inmovilizada conserva su inervación. En este sentido habría resultado interesante medir la presión a la que estaban sometidas las carillas articulares, pero lo consideramos imposible de llevar a cabo sin alterar el modelo experimental.

Como ya hemos indicado, las lesiones obtenidas por inmovilización de la rodilla en flexión (posición «habitual»), son de menor intensidad, de aparición mucho más tardía (no se evidencian hasta la quinta semana), y aparecen tan sólo en forma de una ligera fibrilación al principio de las capas más superficiales y que se mantiene hasta las doce semanas de experiencia; tiempo en el que las lesiones alcanzan la profundidad y llegan hasta la capa intermedia, a la vez que en la capa de cartílago calcificado aparecen focos de necrosis osteocartilaginosa. Es decir, que no era una lesión progresiva de la superficie a la profundidad, sino que llegado un momento habría una destrucción de la conjunción osteocartilaginosa. El hallazgo más destacable, independientemente de las lesiones del cartílago, son las colecciones hemáticas que aparecieron de modo constante en el tejido óseo subcondral, al igual que ocurría en los animales inmovilizados en extensión durante las primeras semanas. No obstante, en este modelo de inmovilización en posición de flexión, se mantenía este hallazgo de modo constante hasta la doceava semana. Pensamos que debe existir una relación entre estos focos o colecciones hemáticas y las lesiones que aparecían en la profundidad en las fases más tardías. Sin embargo, no hemos podido recoger con el estudio histológico estadios intermedios entre estas dos situaciones patoló-

gicas, por lo que difícilmente podemos aventurarnos a establecer su patogenia. Pese a ello, todo parece indicar que hasta las diez primeras semanas habría una situación de estasis venoso tal y como ha sido descrita en la artrosis humana y en otros trabajos experimentales. Quizá este estasis venoso conlleve una hipoxia del tejido óseo subcondral y de las capas del cartílago más profundas adyacentes al mismo.

Otro hecho importante accidental, pero que se ha repetido en varios de nuestros animales, fue la necrosis de todo el aparato extensor, formando una gran úlcera, que podría atribuirse a un decúbito provocado por el yeso; pero ello nos parece poco probable pues el yeso estaba bien algodónado en el momento de su colocación y en el momento del sacrificio se confirmó el buen estado de este vendaje algodónado protector entre la pata del animal y el yeso.

Posiblemente sean lesiones isquémicas cuya patogenia no nos atrevemos a aventurar por falta de datos.

Son muchos los puntos oscuros en la patogenia de las lesiones obtenidas en ambos modelos experimentales, que deberían ser objeto de estudio más dirigido; pero hemos puesto bien en evidencia que en el conejo la inmovilización en una posición forzada origina lesiones muy superiores a las que aparecen cuando dicha inmovilización se realiza en la posición habitual, lo que debe ser tenido muy en cuenta en la práctica médica.

Considerando que en cualquiera de los casos se producen lesiones, aunque en posición habitual sean mínimas, la pronta recuperación de la movilidad articular debe ser siempre objetivo primordial en nuestra clínica.

Conclusiones

1) La inmovilización de la rodilla del conejo produce una precoz e intensa fibrosis de las partes blandas periarticulares.

II) La inmovilización en extensión de la rodilla del conejo produce alteraciones degenerativas del cartílago articular a partir de la primera semana de experiencia; dichas lesiones siguen un patrón superponible a las del cartílago articular alterado en las áreas de carga de la articulación afectada de artrosis.

III) Las lesiones obtenidas tras inmovilización de la rodilla en extensión tienen puntos en común con las descritas en las superficies articulares de los modelos experimentales de artrosis por compresión.

IV) Las lesiones obtenidas en el cartílago articular por inmovilización de la rodilla en flexión, postura habitual de la misma en el conejo, se limitan a las capas más superficiales; no aparecen hasta las cinco semanas de experiencia y progresan muy lentamente sin llegar a alterar gravemente el cartílago hasta no alcanzar períodos de inmovilización muy largos.

V) La intensidad de las lesiones obtenidas en el cartílago en ambos modelos experimentales, están en relación directa con el tiempo de inmovilización.

VI) En ambos modelos experimentales existe un estasis vascular, más intenso y prolongado en el tiempo en la inmovilización en flexión.

VII) Las lesiones obtenidas por inmovilización en la posición forzada de extensión, no sólo son mucho más severas que las obtenidas en la posición habitual de flexión, sino también mucho más precoces.

VIII) Ante la necesidad de inmovilizar una articulación, debe procurarse siempre lo sea en la posición habitual de la misma.

IX) En consecuencia; el conseguir la pronta rehabilitación de las articulaciones inmovilizadas, debe ser objetivo muy a tener en cuenta en la práctica médica.

BIBLIOGRAFÍA

ANDERSON, C. E.; LUDOWIEG, J.; and cols. (1964): The composition of the organic component of human articular cartilage. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 46-A, 1176.

- ANNO, K.; et al. (1962): *Biochimica et Biophysica acta*. 58, 87.
- ARGÜELLES, F. (1976): Estructura y metabolismo del cartílago articular. *Revista Española de Cirugía Osteoarticular*. 10, 63-88.
- ARGÜELLES, F.; GARCÍA, A.; GOMAR SANCHO, F.; GASCO, J. (1976): Studio experimental degli effetti delle radiazioni gamma sulla cartilagine articolare del coniglio. *Minerva ortopédica*, 27, 1.
- ARGÜELLES, F.; GOMAR SANCHO, F.; GARCÍA, A.; ESQUERDO, J. (1977): Irradiation lesions of the growth plate in rabbits. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. (Brit.) vol. 59, 85.
- BARNET, C.H.; et al. (1963): Age changes in articular cartilage of rabbits. *Ann. Rheum. Dis.*, 22, 389.
- BENNINGHOFF, A. (1925): Form und ban der gelenknorpel in ihren beziehungen zur funktion. *Z. Anat. Entwicklungsgech*, 76, 43.
- BENTLEY, G. (1974): Experimental osteoarthritis. Normal and osteoarthrotic articular cartilage. Ed. Ali. S. Y. Elves, M. W. Leaback, D. H. pp. 259-284. *Kingswood Press*, England.
- BOLLET, A. J. and NANCE, J. L. (1966): Biochemical findings in normal and osteoarthritic articular cartilage. II: Chondroitin sulfate concentration and chain length, water, and ash content. *J. Clin. Invest.* 45, 1170.
- BORRACHERO, J. (1980): Patogenia de la Artrosis. *Reumatología Práctica*, vol. IV, num. 2, Madrid.
- BULLOUGH, P. G. and GOODFELLOW, J. (1968): The significance of the fine structure of articular cartilage. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 50-B (4), 852.
- BYWATERS, E. C. L. (1937): The metabolism of joint tissues. *J. Path. Bact.* 44, 247.
- COLLINS, D. H. and Mc. ELLIGOTT, T. F. (1960): Sulphate ($^{35}\text{SO}_4$) uptake by chondrocytes in relation to histological changes in osteoarthritic human articular cartilage. *Ann. Rheum. Dis.* 19, 318.
- CLARK, W. E. Le G. (1958): The tissues of the body. Oxford: *Clarendon Press*.
- EKHOLM, R. (1955): Nutrition of articular cartilage. *Acta Anat.* 24, 177.
- ELMORE, S. M. et al. (1963): The nature of imperfect elasticity of articular cartilage. *Journal of applied Physiology*. 18, 393.
- ELY, L. W. and MENSOR, M. C. (1973): Studies on the immobilization of normal joints. *Surg. Gynec. Obstet.* 57, 212.
- ERONEN, I.; VIDEMAN, T.; FRIMAN, C. E.; MICHELSON, J. E. (1978): Glycosaminoglycan metabolism in experimental osteoarthritis caused by immobilization. *Acta Orthopédica Scand.* 49, 329.
- EVANS, E. B.; EGGERS, G. W. N.; BUTLER, J.; BLUMEL, J. (1960): Experimental immobiliza-

- tion and remobilization of rat knee joints. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 42-A, 737.
- FIELD, P. L. and HUESTON, J. T. (1970): Articular cartilage loss in longstanding immobilization of interphalangeal joints. *Brit. J. Plast. Surg.* 23, 186.
- FINSTERBUSH, A. and FRIEDMANN, B. (1973): Early changes in immobilized rabbits knee joints: A light and electron microscopic study. *Clin. Orthop.* 92, 305.
- FINSTERBUSCH, A. and FRIEMANN, B. (1975): Reversibility of joint changes produced by immobilization in rabbits. *Clin. Orthop.* 111, 290.
- FREEMAN, M. A. R. and cols. (1972): Adult articular cartilage. Oxford Edit. Pitman Medical.
- GOMAR, F. (1973): Patología Quirúrgica Osteoarticular. Valencia. Edit. Saber, pags. 442-458.
- HALL, M. C. (1964): Articular changes in the knee of the adult rat after prolonged immobilization. *Clin. Orthop.* 111, 290.
- HALL, M. C. (1963): Cartilage changes after experimental immobilization of the knee joint of the young rat. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 45-A, 36.
- HOLMDAHL, D. E. and INGLERMARK, B. E. (1951) *Acta Anatomica* 12, 341.
- HUNTER, W. (1943): On the structure and diseases of articulating cartilages. *Philosophical transactions*. 42, 514.
- LANDELLS, J. W. (1953): The bone cyst of osteoarthritis. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 35-B, 643.
- LANGENSKIÖLD, A. (1979): Osteoarthritis of the knee in the rabbit produced by immobilization. *Acta Orthopedica Scandinava*, 50, 1.
- LITTLE, K.; PIMM, L. H.; TRUETA, J. (1958): Osteoarthritis of the hip. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 40-B, 123.
- LLOYD-ROBERTS, G. C. (1953): The role of capsular changes in osteoarthritis of the joint. *J. Bone and Joints Surg.* 35-B, n.º 4, 627-642.
- MAROUDAS, A.; BULLOGH, P.; FREEMAN, R.; SAWANSON, S. (1967): Permeability of cartilage. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 49-B-1, 185.
- MAROUDAS, A. and MUIR, H. (1970): In Chemistry and molecular biology of the intracellular matrix. Vol. 3, 1, 381. Edit. Balazs. E. A. London: Academic Press.
- MARTINEZ, A.; ARGÜELLES, F.; CERVERA, J.; GOMAR, F. (1977). Sites of sulfatation in the chondrocytes of the articular cartilage of the rabbit. *Virchows Arch. B. Cell. Path.* 23, 53-64.
- Mc CALL, J. G. (1969). *Journal of Anatomy*. 105, 212.
- Mc CONNAILL, M. A. (1951): The movements of bone and joints. The mechanical structure of articulating cartilage. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 33-B, 251.
- Mc KIBBIN, B. and HOLDSWORTH, W. (1967): The dual nature of epiphyseal cartilage. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 49-B, 351.
- MICHELSON, J. E.; VIDEMAN, T. and LANGESKIÖLD, A. (1977): Changes in bone formation during immobilization and development of experimental osteoarthritis. A study using oxytetracycline in rabbits. *Acta Orthopedica Scandinava*, 48, 443.
- MOSKOWITZ, R. W. (1972): Experimental models of degenerative joint disease. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 1, 95-116.
- PALFREY, A. J.; DAVIES, O. V. (1966): Studies on the anatomy and function of bones and joints. Ed. Gaybor Evans, Berlin.
- PETERS, T. J. and SMILLIE, J. S. (1971): *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 64, 261.
- PUIG ROSADO, A. (1971): Estudio de la condrogénesis articular por autorradiografía con Timidina H³. *Tesis Doctoral, Valencia*.
- RIGAL, W. M. (1961): A study of Bone developments using tissue culture. *Tesis Doctoral. Oxford*.
- RODNAN, G. P. and cols. (1973): Primer on Rheumatic Diseases. New York. Rodnan, G.P. Edits.
- ROY, S. (1970): Ultrastructure of articular cartilage in experimental immobilization. *Ann. Rheum. Dis.* 29, 634.
- SALTER, B. B. and FIELD, P. (1960): The effects of continuous compression on living articular cartilage. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 42-A, 31.
- SELTZER, C. C.: Cit. por *Textbook of rheumatic diseases*. Copeman, Edit. Livingstone. (1969), 4.ª Ed.
- SERAFINI-FRACASSINI, A.; SMITH, J. W. (1974): The Structure and Biochemistry of cartilage. Edimburg and London. Edit. Churchill Livingstone.
- SILBERBERG, R. et al. (1961): Ultrastructure of articular cartilage of mice of various age. *Amer. J. Anat.* 109, 251.
- SOFOLOFF, L. (1959): Cit. por *Textbook of Rheumatic Diseases*. Copeman, Edit. Livingstone, 1969. 4.ª ed.
- SOOD, S. C. (1971): A study of the effects of experimental immobilization on rabbit articular cartilage. *Journal Anat.* 108, 497.
- STOCKWELL, R. A. and SCOTT, J. E. (1967): Distribution of acid glycosaminoglycans in human articular cartilage. *Nature*, 215, 1376.
- STRANGWAYS, T. S. (1920): Observations on the nutrition of articular cartilage. *Brit. Med. J.*, 1, 661.
- THAXTER, T. H.; MANN, R. A.; ANDERSON, C. F. (1965): Degeneration of immobilized knee

- joints in rats; Histological and autoradiographic study. *Journal of Bone and Joint Surgery*. 42-A, 567.
- THOMPSON, R. C. and BASSET, C. A. L. (1970): Histological observations on experimentally induced degeneration of articular cartilage. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 52-A, 435-443.
- TRIAS, A. (1961): Effect of persistent pressure on the articular cartilage: An experimental study. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 43-B, 376.
- TRUETA, J. Osteoarthritis of the hip and its pathology. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 36-B, 692.
- TRUETA, J. y AMATO, V. P. (1960). *Journal of Bone and Joint Surg.* 42-B, pag. 571.
- TRUETA, J. y HARRISON. Normal vascular anatomy of the femoral head in adult man. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 35-B, 442.
- WEIS, CH.; ROSENBERG, L.; HELFET, A. (1968): An ultrastructural study of normal young adult human articular cartilage. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 50-A, 663.
- WOODS, C. G.; GREENWALD, A. S.; HAYNES, D. W. (1970). Subchondral vascularity in the human femoral head. *Ann. Rheum. Dis.* 29, 138.