

11245

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

SECRETARÍA DE SALUD

INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN



INR

**EVALUACIÓN MORFOLÓGICA DE LA REPARACIÓN CON
TÉCNICAS DE INGENIERÍA DE TEJIDOS DE DEFECTOS
OSTEOCONDRALES EN UN MODELO PORCINO.**

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:
ORTOPEDIA Y TRAUMATOLOGÍA**

PRESENTA

DR. FÉLIX ENRIQUE VILLALOBOS CÓRDOVA

ASESORES DE TESIS:

M. EN C. MARÍA CRISTINA VELASQUILLO MARTÍNEZ

DR. CLEMENTE IBARRA PONCE DE LEÓN

MÉXICO, D.F.

SEPTIEMBRE 2005

0352012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DR. JOSÉ MANUEL AGUILERA ZEPEDA.

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE RESIDENCIA EN TRAUMATOLOGÍA Y ORTOPEDIA DEL INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN - UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.



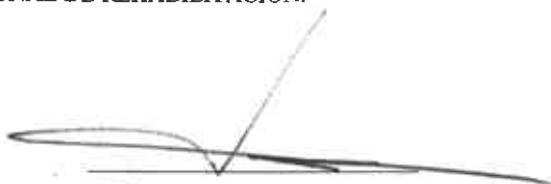
M. EN C. MARÍA CRISTINA VELASQUILLO MARTÍNEZ.

INVESTIGADORA TITULAR DE LA UNIDAD DE INGENIERÍA DE TEJIDOS DEL INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN.



DR. CLEMENTE IBARRA PONCE DE LEÓN.

JEFE DEL SERVICIO DE ORTOPEDIA DEL DEPORTE Y ARTROSCOPIA DEL INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN.



DR. SAUL RENÁN LEÓN.

JEFE DE LA DIVISIÓN DE ENSEÑANZA DEL INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN - ORTOPEDIA.



SUBDIVISIÓN DE ENSEÑANZA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
I. N. A. M.




SECRETARÍA DE SALUD
SUBSECRETARÍA DE SERVICIOS DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN
SUBSECRETARÍA DE ENSEÑANZA

**INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN
DIRECTORIO**

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: DR. FÉLIX ENRIQUE
VILLALOBOS CORDERO

FECHA: 21-09-2005

FIRMA: 

DR. LUIS G. IBARRA I.
DIRECCIÓN GENERAL

DR. JUAN ANTONIO MADINAVEITIA VILLANUEVA.
DIRECCIÓN GENERAL ADJUNTA DE ORTOPEDIA

DRA. MATILDE LORETO ENRÍQUEZ SANDOVAL.
DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA

COLABORADORES

DR. ROLANDO ESPINOSA MORALES.
JEFE DEL SERVICIO DE REUMATOLOGÍA - I.N.R.

BIOL. VALENTÍN MARTÍNEZ LÓPEZ.
UNIDAD DE INGENIERÍA DE TEJIDOS - I.N.R.

M.V.Z. HUGO LECONA BUTRÓN.
RESPONSABLE DEL BIOTERIO Y CIRUGÍA EXPERIMENTAL - I.N.R.

DR. BALTASAR REYES MARÍN.
JEFE DE DIVISIÓN DE RADIOLOGÍA E IMAGEN - I.N.R.

DRA. ERÉNDIRA ESTRADA VILLASEÑOR.
SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA - I.N.R.

DRA. HILDA VILLEGAS CASTREJÓN.
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE MORFOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR - I.N.R.

M. EN C. LILIA SOLÍS ARRIETA.
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR - I.N.R.

DR. ALDO FIDEL IZAGUIRRE HERNÁNDEZ.
RESIDENTE DE ORTOPEDIA - I.N.R.

AGRADECIMIENTOS

Te dedico este esfuerzo a ti mamá, GRACIAS POR TODO.

A mi mejor maestro, el MEJOR ORTOPEDISTA DE MÉXICO, mi papá.

A Pili y Ramón, gracias por su comprensión, apoyo y ejemplo.

A ti Dieguito, gracias por existir.

A mis hermanos Agus y Alex.

A los maestros que marcaron mi forma de ser: Clemente, Iñigo, Fairén.

A ti Tatiana.

CONTENIDO

I	ANTECEDENTES	11
II	GENERALIDADES	13
	• Anatomía.	13
	• Biomecánica.	14
	• Histología del cartilago.	14
	• Tinciones del cartilago.	17
	• Desdiferenciación y rediferenciación durante el cultivo de condrocitos.	18
	• Lesiones condrales aisladas vs. osteoartritis.	18
	• Cuadro clínico.	19
	• Métodos de tratamiento conservadores y quirúrgicos.	23
III	OBJETIVOS.	31
IV	HIPÓTESIS.	31
V	MATERIAL Y MÉTODOS.	32
	• Animales de experimentación.	32
	• Polímeros y células.	32
	• Dispositivos quirúrgicos utilizados.	32
	• Protocolo a seguir y evaluaciones.	33
	• Métodos de cultivo.	37
	• Métodos quirúrgicos.	38
	• Procesamiento de muestras para microscopía electrónica.	44
	• Tipo de estudio y análisis estadístico.	45
VI	RESULTADOS.	46
	• Evaluación de reparación macroscópica con escala de Brittberg.	48

• Evaluación mediante resonancia magnética con escala de Roberts.	51
• Evaluación histológica según Brittberg-Peterson.	54
• Evaluación mediante microscopía electrónica de transmisión, de barrido, y análisis de elementos.	57
• Análisis estadístico.	58
VII DISCUSIÓN	64
• Escala de evaluación de técnicas de reparación de lesiones condrales de Villalobos E. y Villalobos E. Jr.	68
• Comentarios del Dr. Lars Peterson.	71
• Comentarios del Dr. Tom Minas.	72
• Comentarios del Dr. José Couceiro.	72
• Debilidades del presente estudio.	73
VIII CONCLUSIONES	74
IX BIBLIOGRAFÍA	77

PREFACIO

Siendo hoy el 6 de agosto de 2005, a las 10am de una mañana de guardia B, me encuentro en la residencia del séptimo piso del Instituto Nacional de Rehabilitación, festejando mi cumpleaños número veintiocho. Me dispongo para escribir ante una hoja en blanco, quiero aterrizar, analizar y concluir un trabajo hecho por todo un equipo de profesionales, maestros míos y compañeros, en relación con la reparación de lesiones osteocondrales en un modelo experimental usando ingeniería de tejidos.

Tengo que recordar que, fue quizás hace 6 o 7 años, al regresar de una jornada laboral intensa propia de un Médico Interno, descansaba viendo la televisión -pasando de canal en canal-, cuando me detuve un momento en uno de la cadena Discovery. Ahí escuché, por primera vez, hablar de una técnica para reparar lesiones de cartilago de un modo único e innovador mediante el implante de condrocitos. Para mí todo parecía ficción, algo inalcanzable, una realidad propia de un primer mundo. Sin embargo, escuché con atención y de ahí nació una inquietud que nunca iba a poder olvidar. Como un niño delante de un gran misterio, así me encontré. Algo más que una curiosidad enorme acababa de surgir en lo más adentro de mi pensamiento, de mi inteligencia y de mi terca voluntad.

Grata fue mi sorpresa, cuando un año después, durante mi Servicio Social de Medicina, tuve oportunidad de ir a la Jornada Nacional de la Sociedad Mexicana de Ortopedia, celebrada en León, Guanajuato. Ahí también, como por azares del destino, escuché una conferencia, que tampoco he podido olvidar, era el Dr. Clemente Ibarra, reconocido Ortopedista egresado del antiguo Instituto Nacional de Ortopedia, acababa de regresar de una estancia muy fructífera de más de 4 años haciendo la subespecialidad en Artroscopía y Medicina del Deporte, en Harvard y Nueva York. En dicha conferencia, el Dr. Ibarra habló del implante de condrocitos como una realidad compleja pero alcanzable. Fue gracias a mi mejor tutor, mi padre, el Dr. Enrique Villalobos Garduño, actual Presidente de la Sociedad Mexicana de Ortopedia, que pude conocer al Dr. Ibarra. Mi padre me presentó con él y yo aproveché para comentarle mi deseo de estudiar Ortopedia. Cortésmente me dio su tarjeta invitándome a que lo visitara en mis próximas vacaciones para que conociera su lugar de trabajo, el recién estrenado -en ese entonces-, Centro Nacional de Rehabilitación.

Y así fue como lo hice, las siguientes vacaciones que tuve durante el servicio social, una vez que ya había realizado el Examen Nacional de Residencias, acudí al CNR a visitar al Dr. Ibarra. En esta ocasión coincidió que justo el día que lo visité, él se disponía a hacer la primer cirugía experimental que se realizaba en el bioterio de este nuevo hospital, me invitó a que lo acompañara y ahí estuve presente. Estos eran los primeros pasos de un proyecto para reparación de cartilago mediante cirugía experimental en animales.

Después de aproximadamente seis meses, una vez aceptado como Residente de Ortopedia de este magno hospital, comencé este proyecto de tesis. En un principio, inicié siendo encargado solamente de la cuestión quirúrgica del proyecto. Conforme fue pasando el tiempo, quizás en forma sutil o no tanto, me fui sintiendo más integrado como parte de todo el proyecto. Todo esto gracias a la orientación, total apoyo y apertura que tuvieron los Doctores Ibarra y Velasquillo.

Por lo tanto, esta tesis es un proyecto que se ha ido gestando desde hace 4 años, los mismos que dura la Especialidad en Ortopedia. Ha sido un trabajo que se fue perfeccionando, en donde fui aprendiendo, y en el que, en todo momento, busqué tener todas las fuentes a mi alcance para desarrollarlo de la mejor manera: conocer el problema de lesiones condrales, y conocer las opciones de tratamiento ya existentes a nivel mundial y en mi país. Con esto, perseguía el comprender plenamente la propuesta de solución que daba a este problema complejo mi tutor el Dr. Ibarra, para poder entonces ejecutarlo y finalmente analizar los resultados.

Durante esta carrera, con este mismo afán, tuve oportunidad de presentar los avances de este proyecto para asesoría tutorial al Dr. Lars Peterson, creador de la técnica de implante de condrocitos, en el Congreso de la FIFA en Cancún, al Dr. Tom Minas, encargado del estudio multicéntrico de Carticel en Estados Unidos, durante una rotación de 2 meses que realicé en Boston, y con el Dr. Couceiro, Jefe y Fundador del Banco de Tejidos que cultiva los condrocitos que se comercializan en todo España y parte de Europa, durante una visita en Santiago de Compostela. Sus críticas, experimentados consejos y ánimos dados, forman parte de este trabajo también.

Es para mi una señal de certeza de que se va por el camino correcto, el que en este momento que estoy por concluir este proyecto, que en un principio se vislumbraba como una técnica inalcanzable para la realidad de México, ya se cuenta con un cuarto de cultivo para condrocitos de humano en la zona blanca de quirófano de mi hospital, ahora recién reconocido como Instituto Nacional de Rehabilitación. Contamos ya con un protocolo aceptado por CONACYT para empezar el implante de condrocitos en humanos. En mi país, en la ciudad de Monterrey con el Dr. Eduardo Alvarez Lozano, ya se realizó el primer implante de condrocitos en una lesión condral en tobillo, hace 4 meses. Y hace 2 meses, el Dr. Iñigo Pavlovich, de Sonora, realizó el primer implante de condrocitos en una rodilla.

Esta historia es algo que sentí debía escribir, pues es, en resumidas cuentas, lo que me llevó a estar aquí, concluyendo un proyecto que a continuación pongo a su consideración, con el único afán de que sirva como un pequeño paso más en la búsqueda de un tratamiento efectivo y accesible para las lesiones condrales en el paciente mexicano. Además, de poder dar a conocer nuestros resultados en foros internacionales, como se hará en el Congreso de la Tissue Engineering Society International, a celebrarse en Beijing-China en octubre próximo, donde ya fue aceptado este trabajo. Del mismo modo, se buscará hacerlo en el Congreso de la International Cartilage Repair Society, a celebrarse en enero del próximo año, en San Antonio, donde ya fue enviado este trabajo. Con esta labor de difusión se quiere colaborar en el esfuerzo mundialmente realizado para combatir las discapacitantes consecuencias de la lesión del cartilago articular. Todo lo anterior dentro del marco internacional de la declarada Década del Hueso y la Articulación., 2000-2010.

Enrique Villalobos Córdova.
Autor de la Tesis.

I. ANTECEDENTES

El cartílago articular se conoce por tener una pobre capacidad de curación después de una lesión. Desde 1743, fue descrito de la siguiente manera por Sir William Hunter: "...una vez violado...el defecto del cartílago articular...no cura". Se ha documentado que las lesiones traumáticas agudas al cartílago articular predisponen al desarrollo precoz de osteoartritis (OA), también denominada artrosis o enfermedad articular degenerativa[1,2].

Se reporta una incidencia de nuevas lesiones condrales que afectan cerca de 1 millón de individuos anualmente, siendo un estimado del 5 al 10% de todas las hemartrosis [3,4]. Hallazgos de lesiones de alto grado se encuentran en casi dos tercios de todas las artroscopias de rodilla realizadas en pacientes sintomáticos [3]. El cóndilo medial femoral es la localización más común para encontrar una lesión grado IV (32%) [5]. Bittar [6] reporta una incidencia del 23% de lesiones osteocondrales en reconstrucciones de LCA.

La osteoartritis (OA) constituye en la actualidad un grave problema de salud pública con un costo económico y social elevadísimo. Se le considera la segunda causa de discapacidad en los Estados Unidos de América. Se estima además que 68% de los adultos mayores de 55 años de edad presentan evidencias radiográficas de OA y que la población de 65 años o más en los Estados Unidos -el 22% de su población total-, padecen de algún tipo de OA, es decir, que 43 millones de personas o una de cada 6 personas padecen la enfermedad. Se estima que la estadística se incremente a 59.4 millones de personas que para el año 2020 tengan OA. El costo anual de esta enfermedad se estimaba para el año 2000 en 95 billones de dólares[7].

En México, no existen datos epidemiológicos sobre la incidencia e impacto económico y social de lesiones articulares y osteoartritis. Sin embargo, podemos considerar que todos los adultos mayores de 50 años son sujetos de riesgo a padecer algún tipo de enfermedad articular degenerativa.

Las lesiones traumáticas en las articulaciones pueden ocasionar lesiones de diferente tipo y grado en el cartílago articular. El cartílago articular adulto tiene una capacidad muy limitada de reparación espontánea[8-10], por lo que consecuentemente se pierde. Diferentes hipótesis han sido postuladas sobre el por qué las lesiones de espesor parcial del cartílago articular no sanan, y la fisiopatología de la reparación de lesiones osteocondrales, donde se forma tejido

cicatrizante, de una calidad menor denominado fibrocartilago. En el caso de las lesiones condrales de espesor parcial, se podría explicar por qué no se forma este tejido de cicatrización (fibrocartilago), ya que su naturaleza avascular funciona como una barrera natural donde no se activa la angiogénesis, misma que juega un papel fundamental en el proceso de cicatrización. La superficie del cartilago lesionada se encuentra aislada de los elementos provenientes de la médula ósea que en condiciones normales participan en el proceso de reparación de otros tejidos (macrófagos, células endoteliales, células mesenquimatosas, etc) [11-13]. Por otra parte, se ha demostrado que el dermatan sulfato y otros proteoglicanos tienen propiedades antiadhesivas que limitan la capacidad de reparación del cartilago en la superficie de la lesión[14-16]. También se ha demostrado que el líquido sinovial tiene propiedades que inhiben la proliferación de los condrocitos *in vitro*[17,18]. No obstante, aún no está clara la fisiopatogenia que juegan los diversos mecanismos de inhibición de la reparación del cartilago por la presencia de líquido sinovial y algunos de los componentes de la matriz extracelular en la zona de la lesión *in vivo*.

En el caso de las lesiones osteocondrales, donde sí existe una comunicación entre el hueso subcondral con sus nutrientes al defecto cartilaginoso, se forma un tejido cicatrizal del tipo de fibrocartilago, el cual es de menor calidad comparado al cartilago normal, evolucionando finalmente al desgaste articular [19].

La ingeniería de tejidos es un campo multidisciplinario de investigación que combina los conocimientos de diferentes áreas de la ingeniería, la biología celular y molecular [20]. Una de las técnicas empleadas y originalmente descrita por Langer, combina la utilización de materiales sintéticos biocompatibles y biodegradables como estructuras de sostén o transportadores de células aisladas de tejidos específicos, con la finalidad de regenerar tejidos que puedan ser empleados para reparar, reconstruir o remplazar la estructura o función de tejidos y órganos lesionados o ausentes [21,22].

Vacanti y colaboradores describieron la formación de cartilago mediante el empleo de condrocitos inmaduros sembrados en suturas de ácido poliglicólico deshebradas e implantadas en el espacio subcutáneo de ratones atímicos[23]. Más tarde, describieron la reparación de defectos articulares creados experimentalmente en la rodilla de conejos utilizando condrocitos autólogos y estructuras de ácido poliglicólico. Técnicas similares se han utilizado para la generación experimental de diferentes tejidos músculo esqueléticos,

tales como cartilago, hueso y estructuras compuestas de cartilago y hueso, tendones, ligamento y menisco [24,25]. La utilización de bioreactores también se ha descrito para intentar formar por completo el tejido *in vitro* antes de implantarlo con resultados prometedores [21].

En estudios previos reportados por Ibarra y Cols., entre otros, se describe la formación de cartilago, meniscos, ligamentos y hueso, empleando técnicas de ingeniería de tejidos[26-29].

El potencial para la aplicación de diferentes técnicas de ingeniería de tejidos en el campo de la Ortopedia es incalculable. Actualmente se realizan estudios clínicos multicéntricos para evaluar la utilidad de estructuras de colágena empleadas para sustitución parcial de meniscos, así como el uso de factores de crecimiento (proteína morfogenética de hueso BMP) para mejorar la consolidación ósea en las fusiones vertebrales de columna [20].

Se han utilizado diferentes modelos experimentales desde ratones atímicos, conejos, cerdos, borregos, cabras, cerdos y caballos, todos ellos con sus respectivas ventajas y desventajas. Nosotros hemos elegido para este estudio el cerdo [30] por diferentes razones. Una es su similitud biológica y anatómica con el ser humano, su facilidad de manejo y debido a que el espesor del cartilago articular en sus articulaciones facilita la toma y el implante quirúrgico de los polimeros y células.

II. GENERALIDADES

Anatomía del Cartilago Articular

El cartilago articular es el tejido especializado que cubre los finales de una articulación diartroidea. Tiene una estructura altamente estable de colágeno que contiene agua a alta presión, que es atraída por el proteoglicano predominante, *agrecan*. Este tejido es aneural.

En la mayoría de las articulaciones, el cartilago es sólo 2 a 3 mm de grueso, en algunas localizaciones soporta 150 a 600 libras por pulgada cuadrada. Puede estar pegado al hueso sin separarse por toda la vida [19].

tales como cartílago, hueso y estructuras compuestas de cartilago y hueso, tendones, ligamento y menisco [24,25]. La utilización de bioreactores también se ha descrito para intentar formar por completo el tejido *in vitro* antes de implantarlo con resultados prometedores [21].

En estudios previos reportados por Ibarra y Cols., entre otros, se describe la formación de cartilago, meniscos, ligamentos y hueso, empleando técnicas de ingeniería de tejidos[26-29].

El potencial para la aplicación de diferentes técnicas de ingeniería de tejidos en el campo de la Ortopedia es incalculable. Actualmente se realizan estudios clínicos multicéntricos para evaluar la utilidad de estructuras de colágena empleadas para sustitución parcial de meniscos, así como el uso de factores de crecimiento (proteína morfogenética de hueso BMP) para mejorar la consolidación ósea en las fusiones vertebrales de columna [20].

Se han utilizado diferentes modelos experimentales desde ratones atímicos, conejos, cerdos, borregos, cabras, cerdos y caballos, todos ellos con sus respectivas ventajas y desventajas. Nosotros hemos elegido para este estudio el cerdo [30] por diferentes razones. Una es su similitud biológica y anatómica con el ser humano, su facilidad de manejo y debido a que el espesor del cartílago articular en sus articulaciones facilita la toma y el implante quirúrgico de los polímeros y células.

II. GENERALIDADES

Anatomía del Cartilago Articular

El cartílago articular es el tejido especializado que cubre los finales de una articulación diartroidea. Tiene una estructura altamente estable de colágeno que contiene agua a alta presión, que es atraída por el proteoglicano predominante, *agrecan*. Este tejido es aneural.

En la mayoría de las articulaciones, el cartilago es sólo 2 a 3 mm de grueso, en algunas localizaciones soporta 150 a 600 libras por pulgada cuadrada. Puede estar pegado al hueso sin separarse por toda la vida [19].

Embriología:

Las células que están destinadas para formar cartilago comienzan su desarrollo 8 semanas antes de la gestación. A las 8 semanas de gestación, el cartilago articular es heterogéneo. Después del desarrollo del centro epifiseal de osificación, hay una placa de crecimiento relativamente pequeña que se desarrolla en la superficie ósea con división de condrocitos. Esta placa permite la expansión en tamaño y forma de la futura arquitectura ósea del adulto [19].

Biomecánica

El cartilago articular adulto en promedio experimenta fuerzas de 2 MPa en la cadera, rodilla y tobillo. La lesión de menisco o cruzado anterior puede incrementar las fuerzas articulares a 8 MPa, y esto puede producir degeneración artrítica al paso de los meses y años. El cartilago articular es viscoelástico, anisotrópico, lo que significa que las propiedades del material intrínseco dependen de la orientación de la matriz y composición, así como la dirección en que el cartilago es apoyado o solicitado [19,31].

Histología del Cartilago

Estructura del cartilago articular normal o cartilago hialino:

El cartilago articular adulto está compuesto por capas: superficial, transicional, profunda o radial y calcificada. Cada una de estas zonas tiene una orientación específica de los condrocitos y una respuesta fisiológica diferente a la fuerza mecánica. La composición de la matriz del cartilago y su orientación estructural permite al cartilago articular convertir las fuerzas de compresión en fuerzas tensiles hacia la superficie ósea.

La zona superficial se compone de condrocitos que están elongados y orientados a través de fibras de colágena delgadas paralelas a la superficie articular. La alta integridad tensil del cartilago articular está producido por las fibras horizontalmente dirigidas así como la estructura de superficie delgada de colágena llamada *lamina splendens*. La hidratación es alta en esta zona y el contenido de proteoglicanos es menor que en otras zonas.

La zona transicional contiene condrocitos que son redondos en apariencia. Las fibras de colágena son más largas y se organizan en un patrón entrecruzado. La concentración de proteoglicanos es la mayor, y corresponde con una disminución en la hidratación de esta zona.

En la zona profunda los condrocitos son también redondos pero están agrupados en un patrón columnar. La colágena está también orientada en un patrón columnar y es perpendicular a la placa inferior inmediata de hueso subcondral.

La zona de cartílago calcificado contiene algunos condrocitos, la matriz tiene sales de *apatita* con una orientación que se une directamente con el hueso inferior. La zona profunda y la calcificada están separadas por la interfase mineralizada, llamada "*tidemark*" o "*zona de marea*"; se cree que ésta actúa como una barrera a la penetración vascular.

La matriz que rodea los altamente espaciados condrocitos está compuesta por 3 zonas. La matriz pericelular, pegada a la célula, es alta en colágena tipo IV, y tiene relativamente, alta actividad metabólica. La matriz territorial inmediatamente adyacente a la matriz pericelular, presenta menor actividad metabólica, sin embargo es la primera en degenerarse en caso de osteoartritis. La matriz interterritorial es más estable y es la última en mostrar una respuesta ante la osteoartritis [19,31-32].

Nutrición del cartílago:

No se sabe exactamente cómo el condrocito obtiene su nutrición para alimentar su metabolismo anaerobio y aerobio. La perfusión de la matriz y los condrocitos ocurre a través del movimiento del líquido sinovial que con la carga acompaña la movilidad de la articulación. Debido al tamaño de poro tan pequeño en la zona superficial (alrededor de 50^o), puede tomar 10 segundos hasta varias horas para la difusión molecular al interior del cartílago, dependiendo de la estructura, tamaño, carga y peso de la molécula. Algunos factores de crecimiento (interleucina-1) parecen moverse libremente a través de la matriz cartilaginosa [31].

Composición de la matriz:

Entre un 65 y 80% del peso húmedo del cartilago articular normal es agua. Más del 70% del peso seco del cartilago es colágena. El colágeno es una macromolécula estructural que se encuentra entre los componentes principales de la matriz extracelular (TABLA 1). Todos los miembros de la familia del colágeno tienen una estructura característica de triple hélice que puede constituir la mayoría de la longitud de la molécula o puede ser interrumpida por uno o más dominios no helicoidales. El colágeno tipo II es más del 95% del contenido total de colágeno del cartilago hialino. Las fibras de colágena crean una malla que atrapa al *agrecan* y provee la fuerza tensil del cartilago. También se encuentra colágena tipo V, VI, IX y XI en la matriz, estando los tipos V, IX y XI asociados con las fibras de colágeno tipo II, mientras que las del tipo VI es una colágena pericelular no fibrilar.

El *agrecan* constituye el 80 a 90% de todos los proteoglicanos en el cartilago articular. Se compone de cadenas extremadamente hidrofílicas de glucosaminoglicanos. Otros 2 importantes proteoglicanos son el *biglicano* y el *decorin* [19,31].

TABLA 1. Tipos de colágeno

Tipo	Tejido	Forma polimérica
Clase 1 (triple hélice de 300nm)		
Tipo I	Fibrocartilago, piel, hueso	Fibrilla con bandas
Tipo II	Cartilago, disco	Fibrilla con bandas
Tipo III	Piel, vasos sanguíneos	Fibrilla con bandas
Tipo V	Con tipo I	Fibrilla con bandas
Tipo IX	Con tipo II	Fibrilla con bandas
Clase 2 (membranas basales)		
Tipo IV	Lámina basal	Red tridimensional
Tipo VII	Membrana basal epitelial	Fibrilla de anclaje
Tipo VIII	Membrana basal endotelial	Desconocida
Clase 3 (cadena corta)		
Tipo VI	Diseminada	Microfilamentos
Tipo IX	Cartilago (con el tipo II)	Enlaces cruzados
Tipo X	Cartilago hipertrófico	Desconocida
Tipo XII	Tendón	Desconocida
Tipo XIII	Células endoteliales	Desconocida

Composición del fibrocartilago:

Cuando la lesión condral llega a estar en comunicación con médula ósea de hueso subcondral, se lleva a cabo una reparación a través de la formación de un tejido de cicatrización, formado por fibrillas de colágeno densamente agrupadas y fibroblastos dispersos, en donde el colágeno tipo I es la macromolécula predominante, llamado fibrocartilago.

Este tejido de reparación no cuenta con la composición, estructura y propiedades únicas de la matriz del cartilago articular. Por tanto, después de producirse la mayoría de las lesiones condrales, las células responsables de la reparación no producen las macromoléculas propias del cartilago hialino en cantidades suficientes para crear una matriz extracelular fuerte y cohesiva, y fallan al organizar las moléculas para crear una estructura de matriz semejante al cartilago articular, lo cual, a largo plazo da un fallo en la reparación de la lesión condral [32].

Tinciones Del Cartilago

Tinción con hematoxilina y eosina (HyE):

La tinción con hematoxilina y eosina se utiliza para evaluar la morfología celular y la estructura de la matriz extracelular. La hematoxilina da un tinte azulado o morado al núcleo, ciertas regiones del citoplasma, y a los glucosamingoglicanos de la matriz. Por otro lado, la eosina tiñe de color rojo-rosado a las fibras de colágena [33].

Tinción tricrómica de Masson:

Da un color azul a la colágena de la matriz extracelular del cartilago articular. En cuanto a los condrocitos, los núcleos se tiñen de color azul oscuro, mientras que el citoplasma lo hace de color rojo.

Tinción con safranina-O:

Es un indicador útil del contenido de proteoglicanos en la matriz extracelular del cartilago articular. Tiñe de color rojo-anaranjado a los mismos [33].

Desdiferenciación y rediferenciación durante el cultivo de condrocitos

La propagación de líneas celulares requiere que el número de células se incremente continuamente, las condiciones de las técnicas de cultivo se han ido seleccionando a través del tiempo para promover una máxima proliferación celular. Lo que se busca con estas condiciones, normalmente, es la desdiferenciación fenotípica de los condrocitos, dado que el condrocito diferenciado tiene una capacidad de crecimiento muy limitada.

La desdiferenciación es el proceso mediante el cual células maduras revierten su estado de diferenciación y adquieren cierta "pluripotencialidad" y alta capacidad de multiplicación [34], pero, por otro lado, en el caso de los condrocitos, pierden o disminuyen su capacidad de producción de colágena tipo II y agregan [35].

La rediferenciación es el proceso mediante el cual, las células que se desdiferenciaron previamente para su multiplicación en el cultivo, vuelven a tomar sus características propias de células maduras con fenotipo de condrocitos. Este proceso puede estar promovido por varios factores como son la alta densidad celular [36], una baja tensión de oxígeno [37], y la colocación de las células cultivadas en un medio tridimensional, como es el caso de la agarosa, el alginato [36], o polímeros sintéticos bioabsorbibles como el ácido poliglicólico y poliláctico que se ha visto promueve la rediferenciación de los condrocitos [35], y el polímero biodegradable de ácido hialurónico HYAFF-11 [38]. Por otro lado, la capacidad de rediferenciación puede afectarse negativamente por un tiempo prolongado del cultivo en monocapa de los condrocitos [26, 39]. A su vez, se cree que el nivel de estabilidad del fenotipo de los condrocitos contribuye al mantenimiento de las capacidades condrogénicas y potencial de rediferenciación del mismo [40].

También se ha visto que los condrocitos tienen una capacidad de transdiferenciarse en otras células mesenquimatosas, como las de tipo celular osteogénico y adipogénico. [41].

Lesiones condrales aisladas vs osteoartritis

Los eventos traumáticos sencillos tienden a producir lesiones limitadas a un área determinada, y se asocian frecuentemente con una lesión o evento específico. Del otro lado, las condiciones que se desarrollan lentamente y no están asociadas con trauma

probablemente afecten una mayor área de la articulación. Estos cambios se asocian con cambios bioquímicos a largo plazo que afectan una cantidad mayor de cartilago alrededor del sitio afectado, evolucionando a osteoartritis. Los condrocitos articulares son generalmente capaces de mantener el cartilago a través de toda la vida reemplazando las pérdidas o matriz dañada con material frescamente sintetizado. La actividad sintética está muy bien regulada y aumenta rápidamente por arriba de sus niveles basales en respuesta a la lesión de cartilago, sugiriendo un mecanismo de control de daños [19].

Cuadro clínico

Las lesiones condrales sintomáticas de la rodilla en el joven atleta siguen siendo uno de los mayores retos en la terapéutica ortopédica. .

La presentación clínica de lesiones condrales pasan de lesiones advertidas accidentalmente a lesiones dramáticas que ocasiona gran discapacidad.

Es importante una buena anamnesis, una historia clínica completa, descartando antecedentes traumáticos, lesiones concomitantes en un pasado (meniscos-ligamentos-luxación de patela) y tratamientos previos utilizados, aclarando si hubo o no mejoría con estos. La hemartrosis se encuentra virtualmente en todas las heridas agudas que crean una lesión condral de espesor total. Otros posibles escenarios son los síntomas de cuerpos libres que se relacionan frecuentemente con una lesión condral de espesor total.

El dolor es frecuentemente empeorado por la actividad, la inflamación es intermitente y relacionada con la actividad en casos crónicos. La presencia de dolor es el resultado de la pérdida de la función del cartilago articular de "colchón", dado que se expone el hueso subcondral al aumento de presión, y las fibras nerviosas en esta región son estimuladas.

A la exploración física, si se detecta un cuerpo libre debemos pensar en lesión condral de primera intención, el dolor puede ser pobremente localizado y puede haber crepitación. Se debe evaluar la alineación de miembros pélvicos clínicamente y radiográficamente [19].

Evaluación radiográfica:

Son de utilidad las radiografías AP con apoyo, lateral, axiales, la proyección Rosenberg [42] o (de túnel), y el eje mecánico bipodálico para detectar problemas de mal alineación.

Mientras que las radiografías son de utilidad para detectar lesiones osteocondrales, la resonancia magnética será necesaria para detectar lesiones condrales, existiendo ya protocolos de secuencias [43] que favorecen la visualización de lesiones condrales pudiendo medir su extensión y profundidad hacia hueso subcondral, para así tener entonces un diagnóstico preoperatorio, así como adecuados controles postoperatorios.








RMN que muestra lesión osteocondral en cóndilo femoral

Evaluación artroscópica:

La evaluación artroscópica está considerada como el "gold standard" o estándar de oro, para el diagnóstico y caracterización de lesiones condrales, pudiendo conocer así su tamaño, profundidad, apariencia de la superficie, consistencia del tejido y su localización precisa [19]. Outerbridge describe la primera clasificación que califica la lesión condral [44]. La ICRS tiene una de las escalas de clasificación aceptadas universalmente con mayor utilidad práctica (FIGURA 1).

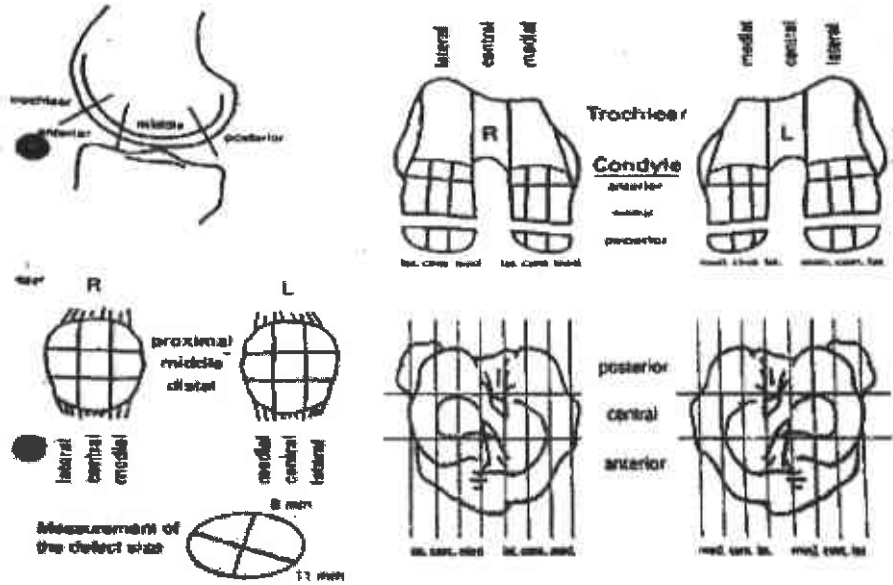


FIGURA 1.

Grado de lesión de cartilago, según la International Cartilage Repair Society	
0= NORMAL	
1= CASI NORMAL Lesiones superficiales A Indentación Suave y/o B Fisuras superficiales y grietas	
2= ANORMAL Lesiones que se extienden hasta <50% de profundidad del cartilago	
3=SEVERAMENTE ANORMAL A >50% de profundidad del cartilago B Capa Calcificada C Llega hasta hueso subcondral sin atravesarlo D Ampollas	
4=GRAVEMENTE ANORMAL A Heridas osteocondrales, lesiones Se extienden justo a través de la placa ósea subcondral B Defectos más profundos que llegan hasta hueso Trabecular	

Además es importante documentar la localización y tamaño de la lesión de cartilago articular, para lo que se sugiere el siguiente esquema (FIGURA 2).

FIGURA 2



Métodos de tratamiento

Los métodos de tratamiento existentes en la actualidad los podemos clasificar de la siguiente manera (TABLA 2).

TABLA 2.

CONSERVADOR (sólo se recomienda en fase I-II)	QUIRÚRGICO
AINES	Lavado y desbridamiento*
Inhibidores COX-2	Fijación *
Glucosamina	Radiofrecuencia*
Acido Hialurónico	Estimulación de las células mesenquimatosas: <ul style="list-style-type: none">• Perforación y/o Microfracturas*
Condroitín Sulfato	Reemplazo o sustitución: <ul style="list-style-type: none">• Aloinjertos frescos• Autoinjertos (mosaicoplastia)*
Bajar de peso	Reconstrucción biológica <ul style="list-style-type: none">• Implante de condrocitos autólogos (ACI)*• Polímeros (MACI)*:<ol style="list-style-type: none">1. Gel de Colágena2. PLA/PGA
Aumentar tono muscular	
Evitar actividad traumática	
Terapia Física (Rehabilitación)	
Gel de colágena intraarticular	

*Se pueden realizar por artroscopía.

Tratamiento conservador:

Ácido Hialurónico

Existe una gran polémica del manejo de la osteoartritis en fases avanzadas de la enfermedad, donde se ve comprometido más del 50% del cartilago articular, siendo controversial el costo-beneficio de los tratamientos no-quirúrgicos. Previamente, se han publicado favorables resultados en el uso de sustancias de viscosuplementación como medidas terapéuticas contra el dolor ya que tienen una cualidad de viscoelasticidad que es capaz de remplazar algunas de las funciones del líquido sinovial. Entre los productos más comunes se encuentra el Hylan G-F 20 (Synvisc®), Na Hialuronato (Hyalgan®, Supartz®) y Ácido Hialurónico de alto peso molecular (Orthonis®). Sin embargo, sigue en debate su eficacia como reparador o regenerador de lesiones condrales. La naturaleza propia de esta entidad se caracteriza por la degeneración del cartilago articular y subsecuente presentación de cambios en el hueso subcondral, por lo que la eficacia de estos métodos tiene que ser de acuerdo a su capacidad de reparar y regenerar el cartilago hialino para poderse considerar como medida terapéutica aceptable. El Colegio Americano de Reumatología recomienda terapia intra-articular de ácido hialurónico para pacientes que no responden a analgésicos simples. En un meta-análisis, publicado recientemente, se concluyó que tiene mínimo efecto. Hasta que existan buenos resultados en el tratamiento de la lesión condral avanzada estos métodos se reservan al manejo preventivo en combinación con disminución de la actividad física, rehabilitación del tono muscular del cuádriceps y manejo de obesidad [45,46].

Glucosamina

Ya que el cartilago tiene en su matriz glicosaminoglicanos-proteoglicanos, se estipula que posiblemente la glucosamina oral detiene la degradación del cartilago articular y no sólo previene la progresión de la osteoartritis. En el análisis de múltiples estudios clínicos de glucosamina oral en pacientes con osteoartritis sólo se ha observado que es un agente modificador de síntomas y que sólo en investigación experimental se puede valorar su efecto como modificador de la estructura del cartilago dañado. Sin embargo, autores argumentan que la razón de esto es gracias a que la glucosamina en América se maneja como suplemento alimenticio y que por esa misma razón la concentración y preparación varía de acuerdo a su

presentación, en comparación a Europa donde se maneja un mismo glucosamino sulfato como medicamento preescrito. Explicando su poca efectividad en nuestra población.

Otros autores argumentan que los modelos experimentales en animales contradicen la efectividad del uso de la glucosamina como remodelador. En estos modelos se seccionaban ambos ligamentos cruzados y retiraban el menisco medial completo, provocando una osteoartritis severa, siendo así, realmente dudable sus resultados por la severidad de la lesión.

Por lo contrario, ya existen múltiples modelos experimentales donde se hacen medidas del contenido de proteoglicanos, una macromolécula de la matriz que juega un papel muy importante en la degradación del colágeno tipo II, donde no se reportan resultados significativos en la remodelación con tratamiento oral de glucosamina. Sin embargo, recientemente se publicaron resultados en los que el uso combinado de hidrocloroquina y glucosamina sinérgicamente, regeneran en un porcentaje mínimo el cartilago hialino lesionado en modelos experimentales. En general todavía no existen suficiente literatura que apoye la eficacia del tratamiento oral de glucosamina en lesiones condrales avanzadas [47-50].

Tratamiento quirúrgico:

Lavado y desbridamiento

Es una técnica que consiste en realizar una limpieza articular con el uso de rasurador. Se realiza artroscópicamente y se indica para defectos grado II-III, menores de 2cm². No forma cartilago hialino, se permite la carga total a las 4 semanas del postoperatorio, con resultados malos a más de 5 años, se relaciona con daño a células sanas, favoreciendo la evolución a OA. La aplicación de esta técnica tiene un costo económico leve [51,52].



Desbridamiento con rasurador

Fijación

Se indica para lesiones condrales agudas, en donde es posible la fijación con implantes del fragmento condral lesionado o desprendido. Existen diversos métodos de fijación como son clavos, tornillos y dardos biodegradables, entre otros [52].



Fijación con dardos biodegradables

Radiofrecuencia

Es una técnica que utiliza dispositivos de radiofrecuencia para tratar lesiones condrales. Se realiza artroscópicamente, está indicada en lesiones condrales grado II-III, menores de 2cm², no forma cartílago hialino, se permite la carga total a las 4 semanas del postoperatorio, con resultados malos a más de 5 años. Se relaciona también con daño a células sanas aledañas y evolución a OA. Tiene un costo económico leve [52, 53].



Uso de radiofrecuencia

Estimulación de células mesenquimatosas

Estas técnicas se basan en establecer una comunicación entre la médula ósea y el defecto condral, permitiendo así la migración de células mesenquimatosas hacia la lesión, las cuales se encargan de reparar el mismo. Dentro de estas técnicas se encuentran las perforaciones y microfracturas. Para está última, se requiere de un microfracturador, es una técnica que se puede realizar artroscópicamente y se indica para lesiones grado IV, de menos de 4cm², forma fibrocartilago en la zona del defecto. Se prohíbe la carga total por 8 semanas en el postoperatorio, se reportan resultados buenos a excelentes a 5 años en un 80% de los casos, puede cursar con inflamación y hemartrosis como complicaciones reversibles, y tiene un costo económico leve [52, 54].



Microfracturador

Reemplazo o sustitución

Estas técnicas utilizan injertos osteocondrales para reparar la lesión, los cuales pueden ser autólogos como en el caso de la mosaicoplastia o de cadáver fresco.

Los injertos osteocondrales frescos, se colocan en forma abierta, se indican para lesiones condrales grado IV, de mas de 2cm² o en defectos mayores unipolares, se prohíbe la carga total en el postoperatorio por un período de 3-4 meses, se presenta cartílago hialino en la zona implantada, con resultados reportados como buenos o excelentes a 5 años en un 75% de los casos, debiendo tener en cuenta como complicaciones los riesgos de infección, mala alineamiento, colapso, artrofibrosis, y además se ha demostrado una viabilidad no mayor a 14 días de los condrocitos en el injerto fresco de cadáver previo a su implantación. El costo económico es mayor, considerándose moderado [52,55,56].



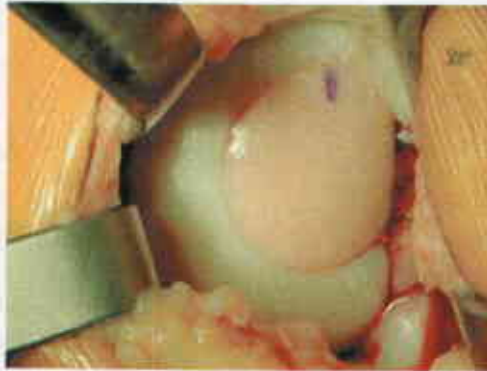
Lesión osteocondral en RMN, caso clínico cortesia de Dr Bugbee



Osteocondritis Dissecans, caso clínico cortesia de Bugbee



Toma de injerto de cadáver fresco, caso clínico cortesía de Dr Bugbee.



Colocación del injerto de cadáver, caso clínico cortesía de Dr Bugbee.

En la mosaicoplastía se utilizan cilindros osteocondrales tomados del mismo paciente (autoinjerto) de zonas consideradas como de no carga, para transportarlos a la zona lesionada, realizando en la misma un defecto osteocondral para colocar los cilindros previamente tomados. Esta técnica puede realizarse en forma abierta o artroscópica, está indicada en defectos grado IV, de 2-4 cm² de diámetro, se prohíbe la carga total en el postoperatorio por 4 semanas, reportándose presencia de cartilago hialino en un 80% del tejido reparado, con resultados buenos a excelentes en un 78 a 92%, teniendo que considerar como complicaciones el riesgo de hemartrosis, el daño que se está haciendo a la zona donadora, y no se recomienda usar en mayores de 50 años dado que sus buenos resultados bajan notablemente. Esta técnica tiene un costo económico moderado dado que requiere de la renta de equipo especializado para su colocación [52, 56-58].

Reconstrucción biológica

Dentro de esta categoría, se encuentran las técnicas de más reciente aparición, como son el Implante de Condrocitos autólogos (ACI) y el Implante de Condrocitos autólogos con uso de matriz (MACI). Son técnicas basadas en el uso de la Ingeniería de Tejidos, para cultivar condrocitos del mismo paciente e implantarlos en la zona del defecto condral [59].

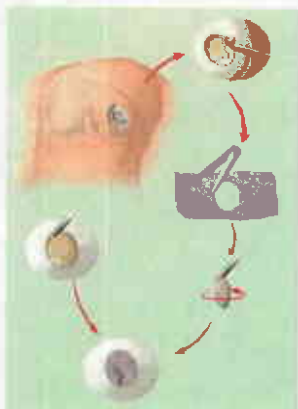
El Implante de condrocitos autólogos (ACI), es una técnica abierta, que utiliza un parche de periostio tomado del mismo paciente, el cual se sutura en la zona del defecto y se vierten, debajo del mismo, células condrales del mismo paciente, que fueron tomadas en una cirugía previa y cultivadas para obtener millones de las mismas y poderlas así implantar. Es una técnica que debe realizarse en forma abierta, está indicada en defectos grado IV de 1 hasta 16 cm² de extensión, prohibiendo el apoyo de carga total por 4 meses en el postoperatorio, logra formar cartílago hialino en el tejido reparado, con resultados buenos a excelentes a más de 5 años en un 90% de los pacientes, y tiene como posibles complicaciones la hipertrofia del parche de periostio, así como la pérdida de las células implantadas, su costo económico la sitúa como una de las técnicas de reparación condral más caras [52, 56, 60-64].



Implante de condrocitos autólogos con parche de periostio

El implante de condrocitos autólogos con uso de matriz (MACI), consiste en el implante de una matriz biodegradable la cual lleva los condrocitos previamente tomados y cultivados, la cual se fija en el defecto condral, esto se puede realizar en forma abierta o artroscópica, está indicado en defectos grado IV, de 1 a 16 cm² de tamaño, y permite el apoyo total a los 4 meses del postoperatorio. Logra formar cartílago hialino, con resultados buenos a excelentes a más de 5 años en un 90% de los casos, teniendo como problemas la fijación del implante,

que en mucho de los casos es inestable, y es, igual que el anterior, de costo económico muy elevado [52, 65].



Pasos para el MACI

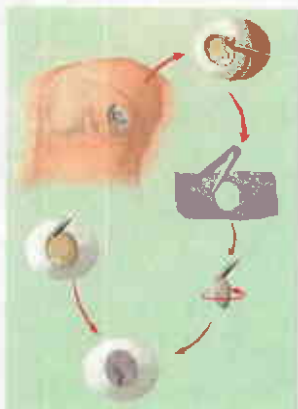
III. OBJETIVOS.

Evaluar morfológica (macroscópica e histológica), por resonancia magnética nuclear y por microscopía electrónica de barrido ambiental, la reparación de lesiones osteocondrales creadas quirúrgicamente en la rodilla de cerdos adultos utilizando el implante de estructuras de polímeros sintéticos biocompatibles y biodegradables sembradas con condrocitos autólogos aislados de una muestra de cartilago articular obtenida quirúrgicamente de la superficie articular del fémur distal de la rodilla contralateral, así como de células de periostio aisladas de una muestra de periostio obtenida del tercio proximal de la tibia del mismo animal.

IV. HIPÓTESIS

Las estructuras de polímeros sintéticos biocompatibles y biodegradables sembradas con condrocitos autólogos y con células de periostio, empleadas para reparar defectos osteocondrales creados quirúrgicamente en el cóndilo medial de la rodilla derecha de cerdos mestizos adultos darán lugar a la formación de cartilago articular con características morfológicas y moleculares similares a las del cartilago articular normal. Además, el tejido de reparación se integrará de forma adecuada al cartilago articular en la periferia del defecto.

que en mucho de los casos es inestable, y es, igual que el anterior, de costo económico muy elevado [52, 65].



Pasos para el MACI

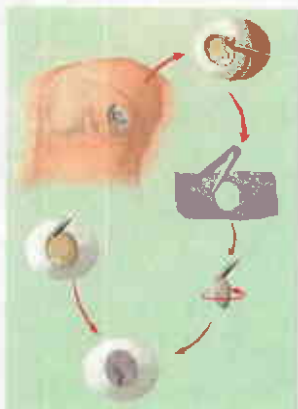
III. OBJETIVOS.

Evaluar morfológica (macroscópica e histológica), por resonancia magnética nuclear y por microscopía electrónica de barrido ambiental, la reparación de lesiones osteocondrales creadas quirúrgicamente en la rodilla de cerdos adultos utilizando el implante de estructuras de polímeros sintéticos biocompatibles y biodegradables sembradas con condrocitos autólogos aislados de una muestra de cartilago articular obtenida quirúrgicamente de la superficie articular del fémur distal de la rodilla contralateral, así como de células de periostio aisladas de una muestra de periostio obtenida del tercio proximal de la tibia del mismo animal.

IV. HIPÓTESIS

Las estructuras de polímeros sintéticos biocompatibles y biodegradables sembradas con condrocitos autólogos y con células de periostio, empleadas para reparar defectos osteocondrales creados quirúrgicamente en el condilo medial de la rodilla derecha de cerdos mestizos adultos darán lugar a la formación de cartilago articular con características morfológicas y moleculares similares a las del cartilago articular normal. Además, el tejido de reparación se integrará de forma adecuada al cartilago articular en la periferia del defecto.

que en mucho de los casos es inestable, y es, igual que el anterior, de costo económico muy elevado [52, 65].



Pasos para el MACI

III. OBJETIVOS.

Evaluar morfológica (macroscópica e histológica), por resonancia magnética nuclear y por microscopía electrónica de barrido ambiental, la reparación de lesiones osteocondrales creadas quirúrgicamente en la rodilla de cerdos adultos utilizando el implante de estructuras de polímeros sintéticos biocompatibles y biodegradables sembradas con condrocitos autólogos aislados de una muestra de cartilago articular obtenida quirúrgicamente de la superficie articular del fémur distal de la rodilla contralateral, así como de células de periostio aisladas de una muestra de periostio obtenida del tercio proximal de la tibia del mismo animal.

IV. HIPÓTESIS

Las estructuras de polímeros sintéticos biocompatibles y biodegradables sembradas con condrocitos autólogos y con células de periostio, empleadas para reparar defectos osteocondrales creados quirúrgicamente en el cóndilo medial de la rodilla derecha de cerdos mestizos adultos darán lugar a la formación de cartilago articular con características morfológicas y moleculares similares a las del cartilago articular normal. Además, el tejido de reparación se integrará de forma adecuada al cartilago articular en la periferia del defecto.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

Animales de experimentación

Se utilizaron 8 cerdos jóvenes hembras de 30 kg de peso, que se obtuvieron del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M., en Jilotepec, Edo. de México. Los animales se mantuvieron en jaulas aisladas de 6 m² durante 3 semanas con alimentación a base de alimento seco comprimido para cerdo y agua a libre demanda. Los animales fueron bañados, desparasitados y una vez concluido el periodo de cuarentena, fueron incluidos en el estudio.

Polímeros y células

Se utilizaron estructuras de polímeros sintéticos biocompatibles y biodegradables formadas a partir de una malla de fibras de ácido poliglicólico (PGA) de 5 mm de espesor y con una porosidad del 90% y de ácido poliláctico. . Las fibras son de 15 micras de diámetro con una distancia interfibrilar de hasta 150-200 micras. La malla de polímero fue cortada en discos de 10 mm de diámetro.

Dispositivo de toma de biopsia osteocondral

Durante los procedimientos quirúrgicos de toma de biopsia osteocondral, así como en el implante de polímero, los defectos osteocondrales fueron creados con el instrumental para mosaicoplastia de Mytek®, el cual cuenta con un dispositivo para toma de cilindros osteocondrales de 9mm de diámetro y de variable profundidad.



Equipo de mosaicoplastia de Mytek®

Dispositivo de fijación

Para la fijación de los polímeros de condrocitos y de células de periostio en el defecto osteocondral, se utilizó el equipo de reparación meniscal Rapidlock® de J&J. Este dispositivo consta de un sistema de anclaje y fijación para lesiones meniscales. Sin embargo, en este caso se utilizó para el anclaje y fijación de los polímeros en el defecto osteocondral.



Protocolo a seguir y evaluaciones

Se realizaron los siguientes pasos:

1. A cerdas hembras, de 40kg, se les realizó obtención de disco osteocondral de 9mm de diámetro y 1 cm de profundidad en el cóndilo medial, con el dispositivo de toma de cilindros osteocondrales de Mytek®. Además, se realizó toma de rectángulo de periostio en tibia proximal de 2x1cm., todo en su rodilla izquierda. Quedando la lesión de disco osteocondral, como lesión control en la rodilla izquierda.



Toma de biopsia osteocondral

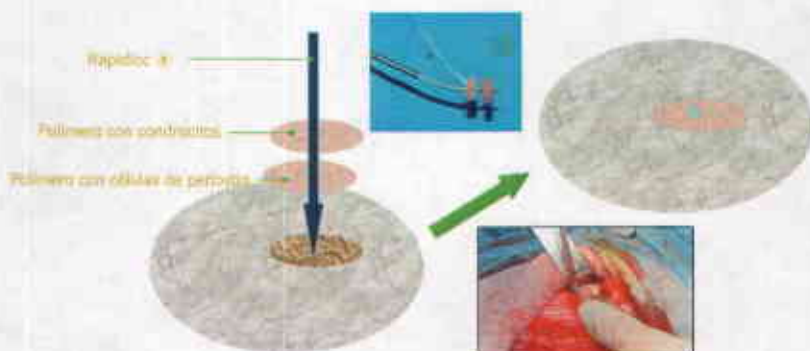
2. De esta muestra se aislaron condrocitos a partir del cartilago obtenido, mediante la digestión en colagenasa del tejido. Se cultivaron y se expandieron *in vitro* en

condiciones convencionales de cultivo celular, hasta obtener el número necesario de células (>10 millones de células en 6-8 semanas aproximadamente) para ser sembradas en estructuras de polímeros sintéticos biocompatibles y biodegradables (3Dimensiones).

3. Se aislaron también células de periostio a partir de la muestra rectangular obtenida, se cultivaron y expandieron in vitro en condiciones convencionales de cultivo celular hasta obtener el número necesario de células (>10 millones de células en 6-8 semanas aproximadamente) para ser sembradas en estructuras de polímeros sintéticos biocompatibles y biodegradables (3 Dimensiones).

Se hizo un seguimiento de los polímeros sembrados y una vez obtenido el número de células de cartílago y periostio se sembraron por separado en polímeros de ácido poliglicólico (PGA) y ácido poliláctico (PLA), y se mantuvieron en cultivo con movimientos rotatorios por 3 días.

4. Posteriormente se implantaron los 2 discos de polímero en un defecto osteocondral creado en el cóndilo medial de la rodilla derecha del cerdo, fijados con Rapidloc®, quedando el disco con células de periostio en contacto con el hueso subcondral y el disco con condrocitos hacia la superficie articular.



5. Se dejó al cerdo con movilidad y apoyo libre a tolerancia desde el postoperatorio inmediato.

6. A los 3 meses se realizó el sacrificio del cerdo, para la evaluación de ambas rodillas.

7. Se evaluó el tejido de reparación mediante resonancia magnética de la articulación, utilizando la escala de evaluación de Roberts [66]. (TABLA 3).

TABLA 3. Escala de Evaluación de la reparación de lesiones condrales por RMN de Roberts.

CARACTERÍSTICAS DEL TEJIDO	CALIFICACIÓN
Integridad de la superficie y contorno	1= normal o cercano a lo normal 0= anormal
Señal de cartilago en la región del injerto	1= normal o cercano a lo normal 0= anormal
Grosor del tejido	1= normal o cercano a lo normal 0= anormal
Cambios en el hueso subcondral	1= normal o cercano a lo normal 0= anormal
Total máximo posible de puntos	4

8. Se evaluó en forma macroscópica bajo visión directa utilizando la escala de evaluación de Brittberg [62]. (TABLA 4).

TABLA 4. Sistema de Evaluación de Brittberg para evaluar la reparación del defecto cartilaginoso. (Evaluación máxima 12 puntos*)

	Criterio	Puntos
Grado de reparación del defecto	En el nivel del cartilago de su alrededor.	4
	75% de reparación en la profundidad del defecto.	3
	50% de reparación en la profundidad del defecto.	2
	25% de reparación en la profundidad del defecto.	1
	0% de reparación en la profundidad del defecto.	0
Integración a la zona del borde	Integración completa con cartilago a su alrededor, con un borde demarcado < a 1 mm.	4
	¾ del injerto integrado, ¼ con un borde notable > 1mm de ancho.	3
	½ del injerto integrado con cartilago a su alrededor, ½ con un borde notable > 1mm.	1
	Sin contacto, hasta ¼ de injerto integrado con cartilago a su alrededor.	0
Apariencia macroscópica	Superficie lisa intacta	4
	Superficie fibrilada	3
	Fisuras pequeñas dispersas o grietas.	2
	Fisuras varias pequeñas o pocas pero largas.	1
	Degeneración total de la zona del injerto.	0

Para una clasificación como una apariencia "biológicamente aceptable" es necesaria una evaluación mínima de 7 puntos, con al menos 3 puntos del primer grupo (grado de reparación del defecto) y 2 puntos en los otros grupos.

9. Se evaluó histológicamente el tejido formado y sus células mediante microscopía de luz con tinciones de hematoxilina y eosina (H&E), Safranina y Mason, así como estudio de microscopía electrónica de transmisión y de barrido. Se describió la apariencia histológica, basada en los criterios de celularidad, apariencia de la matriz, estructura columnar del cartilago y apariencia bajo luz polarizada, clasificando al tejido de reparación de la siguiente manera según Brittberg y Peterson [62]:

- Similar a cartilago hialino.
- Cartilago fibroso.
- Cartilago mixto.

10. Se evaluó también por microscopía electrónica de barrido ambiental.

Métodos de cultivo

Se obtuvieron condrocitos de cartílago articular de cerdo adulto a partir de muestras de tejido obtenidas quirúrgicamente al crear un defecto circular de 9 mm de diámetro en el cóndilo medial de la rodilla izquierda del cerdo. Así como células de periostio obtenidas quirúrgicamente del periostio de la tibia proximal del mismo cerdo.

Los fragmentos de tejido condral se colocaron en tubos cónicos de poliestireno de 50 cc de capacidad con 20 cc de solución de colagenasa al 3% preparada al disolver 30 mg colagenasa clase I en polvo (Sigma, St Louis MO) en 100 cc de medio de cultivo M199 (Gibco, Grand Island, NY) y esterilizarla con filtros de botella. El tejido en los tubos con colagenasa se colocó en un agitador y se mantuvo en 5% de CO₂, a 37 ° C, durante 4 horas. La solución después se filtró a través de una maya de nylon estéril con poros de 0.5 mm de diámetro. La nueva suspensión se centrifugó a 1500 rpm durante 12 minutos, se desechó el sobrante y se resuspendió el botón de células en medio de cultivo M199 con antibióticos al 10%. Las células se lavaron de esta forma 2 veces y finalmente se resuspendieron en medio de cultivo completo (M199 suplementado con 10% de suero fetal bovino (SFB) y una solución de antibióticos/antimicóticos al 1%) para ser sembradas en frascos de cultivo de poliestireno con medio de cultivo completo, en 5% de CO₂, a 37° C. Una vez que los condrocitos en cultivo llegaron a confluencia, las células fueron resuspendidas en medio de cultivo mediante tratamiento con tripsina-EDTA al 0.25% durante 5 minutos. El botón de células obtenido después de lavado y centrifugado en 2 ocasiones con solución salina con amortiguador de fosfatos (PBS) al 10%, fue resuspendido en 10cc de medio de cultivo M199 para contar las células con un hemocitómetro previa preparación con tinción de azul Tripan al 0.4%, para así detectar viabilidad celular.

Una vez obtenido el número necesario de células con viabilidad > 80%, éstas fueron resuspendidas en medio de cultivo completo para ser sembradas a una concentración de 1.5×10^7 células / ml, directamente con una pipeta en las discos de polímero sintético biocompatible y biodegradable.

Las estructuras polímero-células fueron mantenidas en cajas de cultivo de poliestireno de 6 pozos con medio de cultivo M199 completo, suplementado con ácido ascórbico 50 microgramos / ml, durante una semana en 5% de CO₂, a 37° C, para permitir que las células

se adhieran a las fibras de polímero y comiencen a depositar matriz extracelular en las estructuras de polímero. La adhesión de las células al polímero y su producción de matriz extracelular se valoró bajo visión directa con un microscopio invertido con contraste de fases.

Después de una semana en cultivo, las estructuras polímero-células, fueron llevadas en condiciones estériles al quirófano para ser implantadas quirúrgicamente en los animales de experimentación, reparando con ellas los defectos en el cartilago articular creados quirúrgicamente en la zona de carga del cóndilo medial de la rodilla derecha de los cerdos a partir de los cuales se aislaron las células originalmente.

Proceso de cultivo de células de periostio:

Los fragmentos de periostio se colocaron sobre una caja de Petri por 1hr a 37°C. Posteriormente se agregó medio de cultivo hasta cubrir la biopsia. Se cambió el medio de cultivo cada tercer día y se dejaron hasta la confluencia, se retiró el tejido y se procedió a la expansión de las células en medio M199.

Métodos quirúrgicos

Se llevaron a cabo los siguientes procedimientos antes, durante y después de cada uno de los eventos quirúrgicos a los que fueron sometidos los cerdos:

Cuidados preoperatorios, intraoperatorios y medicamentos:

Todo el manejo, cuidados y seguimiento de los cerdos estuvo a cargo de los médicos veterinarios del Instituto Nacional de Rehabilitación.

1. **Ayuno:** Los cerdos se mantuvieron en ayuno durante 12 horas antes de la intervención quirúrgica.
2. **Medicación preanestésica:** Sulfato de Atropina, 0.05 mg/Kg., IM.
3. **Antibióticos profilácticos:** Ampicilina o Amoxicilina, 20 mg/Kg., IM o SC.
4. **Vía intravenosa:** / cefálica / el catéter venoso se colocó en condiciones asépticas y se fijó en posición con cinta adhesiva y vendaje.

5. Inducción anestésica: Hidrocloruro de Ketamina (100 mg/ml) combinado con Diazepam (Valium) (5 mg/ml) a 50:50, IV hasta surtir efecto (aproximadamente 1.0 ml/ 10 Kg., por lo regular).
6. Intubación: Se introdujo el tubo endotraqueal con laringoscopio, se probó su colocación adecuada, se fijó a la cabeza y se infló el manguito.
7. Preparación del campo quirúrgico: Las extremidades distales (cuartos traseros) se cubrieron con un material impermeable y se suspendieron para prevenir contaminación de la región quirúrgica. La región quirúrgica con márgenes amplios (25 cm. o más de ser posible) fue rasurada y lavada dos veces con solución de Isodine espuma y enjuagada con alcohol isopropílico al 70%. (El lavado quirúrgico final se realizó en el quirófano por el cirujano).
8. Conducción anestésica y monitoreo: La conducción anestésica se realizó con Isoflurano o Halotano inhalado. Monitoreo de EGC, pulso, frecuencia respiratoria y profundidad de la anestesia se realizó continuamente por el personal veterinario.
9. Soluciones intravenosas: Se administró solución de Ringer Lactado estéril IV (a través del catéter venoso) a una velocidad de 10-15 ml/Kg./hr, hasta que el animal despertara.
10. Temperatura corporal: Se utilizaron cobertores para cubrir al animal durante el procedimiento quirúrgico y en el postoperatorio, hasta que despertara. La temperatura se monitorizó con un termómetro rectal.

Cuidados postoperatorios y medicamentos:

1. Los cerdos fueron monitorizados por personal veterinario hasta que despertaran.
2. Se administró Oxymorfone (Numorfan) 0.03 mg/kg, o Buprenorfine (Buprenex) 0.01 mg/Kg. dosis única al momento del cierre de la herida quirúrgica, y se administró subsecuentemente a discreción del personal veterinario si presentaban molestias o inquietud excesivas en el animal una vez que estuviera completamente despierto.

3. Si los cerdos presentaban apetito y deambulaci3n normales despu3s de la recuperaci3n completa de la anestesia, generalmente no se consideraba necesaria la analgesia postoperatoria. Los animales fueron mantenidos en reposo en jaula, con actividad limitada durante los primeros 2 d3as de postoperatorio.
4. Se administr3 Amoxicilina 20 mg/Kg. cada 12 hrs., VO (con los alimentos) durante los primeros 7 d3as del postoperatorio.
5. Los cerdos fueron vigilados y valorados para descartar dolor aparente en base a (1) apetito, (2) ambulaci3n, (3) carga de peso en la extremidad operada, (4) dolor a la palpaci3n (evidenciado por defensa o vocalizaci3n) por el personal veterinario, por lo menos dos veces al d3a. Estas 4 valoraciones fueron registradas 2 veces al d3a en el expediente del cerdo durante todo el per3odo postoperatorio.
6. Las suturas fueron retiradas a los 10 d3as del postoperatorio. Los animales que manifestaban cualquier tipo de molestia o enfermedad (anorexia, inflamaci3n excesiva de la regi3n quir3rgica o decaimiento, etc.) fueron examinados por el veterinario y se realizaron los procedimientos diagn3sticos y terap3uticos necesarios. El investigador principal fue informado de cualquier incidente o complicaci3n, as3 como de su manejo terap3utico.

Se realizaron los siguientes procedimientos quir3rgicos:

Procedimiento de lesi3n condral, obtenci3n de tejido condral y periostio para cultivo.

1. Se coloc3 al cerdo en dec3bito dorsal, previa aplicaci3n de anestesia general. Se realiz3 rasurado de rodilla izquierda.
2. Se realiz3 asepsia y antisepsia de rodilla izquierda. Se colocaron campos est3riles.
3. Se realiz3 incisi3n sobre l3nea media a nivel de rodilla izquierda de 12 cm de longitud, se disec3 por planos, tejido celular subcut3neo y fascia muscular.

4. Se realizó abordaje parapatelar medial en capsula articular. Se identificó cóndilo medial.
5. Se realizó la toma de disco osteocondral de 9mm de diámetro y 1 cm de profundidad en zona de carga de cóndilo medial con el uso de extractor de cilindros de mosaicoplastía de Mytek®, quedando esta lesión, como lesión control.
6. Se entregó dicho cilindro osteocondral en forma aséptica a personal de laboratorio para su digestión inmediata y cultivo celular.
7. Para la toma de biopsia de periostio, se prolongó la misma incisión longitudinal sobre línea media.
8. Se disecó por planos, tejido celular subcutáneo y fascia muscular.
9. Se identificó superficie medial de tercio proximal de tibia. Se tomó muestra rectangular de periostio de 1 x 3cm, en el espacio comprendido entre la incisión del tendón patelar y la inserción de la pata de ganso, con el uso de bisturí y desperiostizador fino.



Biopsia de periostio

10. Se cerró cápsula articular con puntos en cruz con vycril del 0. Se cerró fascia muscular con surjete continuo con vycril del 0. Se afrontó tejido celular subcutáneo con puntos simples invertidos con vycril del 0. Se cerró piel con puntos Sarnoff con dermalón del 2-0.

11. Se quitó con agua el exceso de isodine y sangre. Se dejó la herida descubierta. Y se da por terminado el procedimiento.
12. Cuatro a seis semanas después de la primera intervención quirúrgica se realizó la segunda cirugía del estudio en la rodilla derecha de los animales (experimental).

Procedimiento de lesión experimental e implante de polímeros con condrocitos y células de periostio.

1. Se colocó al cerdo en decúbito dorsal, previa aplicación de anestesia general. Se realizó rasurado de rodilla derecha.
2. Se realizó asepsia y antisepsia de la rodilla derecha del cerdo.
3. Se realizó incisión longitudinal sobre línea media de la rodilla derecha del cerdo, se disecó por planos, tejido celular subcutáneo y fascia muscular. Se realizó abordaje de la articulación parapatelar medial.
4. Se identificó el cóndilo medial, zona de carga, y se realizó defecto osteocondral de 9mm de diámetro y 1 cm. de profundidad, con el extractor de cilindros de mosaicoplastia de Mytek®.
5. Se colocó en el Rapidloc®, en forma estéril, el polímero con condrocitos primero y encima el polímero con células de periostio.
6. Se realizó orificio con un clavo delgado en el centro de nuestro defecto, de 2cm de profundidad. Se colocó en dicho orificio la punta del Rapidloc®, con los polímeros montados como una "brocheta", en el orden descrito en el punto anterior, quedando el polímero con células de periostio en contacto con el hueso subcondral y el polímero con condrocitos en contacto con la superficie articular. Se disparó el dispositivo del Rapidloc®, deslizándose posteriormente la sutura con su dispositivo de fijación, dejando este encima de los 2 polímeros, sin que sobresaliera de la superficie articular y se verificó una adecuada estabilidad del implante. Se cortaron los cabos de la sutura de fijación del Rapidloc, dejándolos 5mm de largo.

7. Se cerró cápsula articular con puntos en cruz con vycril del 0. Se cerró fascia muscular con surjete continuo con vycril del 0. Se afrontó tejido celular subcutáneo con puntos simples invertidos con vycril del 0. Se cerró piel con puntos Samoff con dermalón del 2-0.
8. Se quitó con agua el exceso de isodine y sangre. Se dejó la herida descubierta. Y se dio por terminado el procedimiento.

Procedimiento de sacrificio y toma de explante para su evaluación.

1. Se realizó sacrificio de animales con pistola de sacrificio, por parte de los médicos veterinarios del servicio de Bioterio de nuestro hospital. Además se realizó desarticulación de ambas extremidades inferiores, a nivel de la ingle.
2. Se colocaron ambas extremidades en tinas con hielos, y se llevaron de inmediato a toma de Resonancia Magnética, en donde se realizó estudio empleando pulsos de frecuencia específicos para valorar cartílago articular.
3. Posteriormente, se realizó incisión longitudinal media extensa a nivel de la rodilla.
4. Se disecó por planos, tejido celular subcutáneo y fascia muscular. Se realizó abordaje de la articulación parapatelar medial, previo corte transversal de tendón patelar y subsecuente luxación de patela.
5. Se expuso la articulación completa, sin dañar cartílago, meniscos o ligamentos. Se procedió a tomar fotografías macroscópicas de la articulación de la rodilla que incluyeran la rodilla en su totalidad, la zona en estudio en cóndilo medial, meniscos, ligamentos y plataforma articular tibial ipsilateral a la región, para documentar la presencia o no de lesiones asociadas.
6. Posteriormente se cortaron ligamentos cruzados y colaterales, se luxó rodilla para su mejor exposición y con el uso de mini sierra para toma de injerto de hueso-tendón-

hueso, se cortó en cóndilo medial, un fragmento osteocondral de forma rectangular, de 2x3cm y 1.5cm de profundidad, que incluyera la zona de reparación y tejido sano adyacente.

7. Dicho fragmento se dividió con la mini sierra en 2 fragmentos similares, que incluyeran tejido de reparación, tejido sano a la periferia y zona de transición. Se le tomaron fotografías macroscópicas a esos fragmentos. Posteriormente se entregaron dichos fragmentos a personal del Laboratorio de Ingeniería de Tejidos, que los recibieron dentro del quirófano de bioterio y se realizó la evaluación de los mismos. De una de las mitades se tomó una muestra en la zona de transición entre el tejido normal y el tejido nuevo que se procesó para estudio de microscopía electrónica de transmisión y de barrido. La otra mitad fue procesada para realizar estudio histológico empleando tinciones de hematoxilina y eosina (H&E), safranina-O, tricrómica de mason y azul alciano.
8. Se colocaron las piezas y resto del cerdo, en bolsas amarillas, y personal de bioterio se encargaron de su eliminación.

Procesamiento de las muestras para microscopía electrónica de transmisión y barrido

1. Las células de los implantes se fijaron en glutaraldehído al 2.5% (Merck) en buffer de cacodilatos (0.2 M) (Merck) y se mantuvieron en el fijador durante 1 hora a temperatura ambiente.
2. Se realizaron dos lavados con buffer de cacodilatos cada uno de 5 minutos.
3. Se postfijaron en tetraóxido de osmio (OsO_4) (Merck) al 1% en buffer de cacodilatos, durante 1 hora a temperatura ambiente.
4. Se decantó el postfijador y se realizaron 4 lavados con buffer de cacodilatos, de 5 minutos cada uno.
5. Todas las muestras fueron deshidratadas gradualmente con alcoholes al 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 96% y 100%, realizando cambios de 10 minutos cada uno.

6. Se infiltraron con óxido de propileno (Merck) y resina Embed 812 (2:1) (Electron Microscopy Science) durante una hora a temperatura ambiente. Después se realizó un cambio de óxido de propileno y resina Embed 812 (1:1), los cuales se dejaron durante 24 horas a temperatura ambiente.
7. Se incluyeron las muestras en resina Embed 812 dejando polimerizar dentro de una estufa a 60°C durante 24 horas.
8. Se cortaron con el ultramicrotomo Leica Ultracut UCT, cortes semifinos de 300 nm, los cuales se tiñeron con azul de toluidina al 0.5% (Merck).
9. Se realizaron cortes finos, en el mismo equipo, con cuchilla de diamante Diatome de 45° (Electron Microscopy Science) y se recogieron en rejillas de cobre de 200 o 300 malla (Electron Microscopy Science), se contrastaron con acetato de uranilo al 2% y citrato de plomo al 0.4% (Electron Microscopy Science) durante 10 minutos en cada contrastante (Reynolds, 1963).
10. Las observaciones de los cortes finos se realizaron en el microscopio electrónico de transmisión Tecnai 10 PHILIPS.

Tipo de estudio y análisis estadístico

El presente es un estudio experimental, prospectivo, transversal.

Con los resultados obtenidos se realizó una estadística descriptiva, las 3 variables que se compararon fueron la evaluación macroscópica según la escala de Brittberg [62], evaluación histológica de Brittberg-Peterson [62] y evaluación por resonancia magnética nuclear con la escala de Roberts [66]. Por tener los resultados una distribución no normal, se utilizaron pruebas no paramétricas. Para comparar las proporciones entre el grupo de casos y controles y las medidas de desenlace evaluadas se utilizó la Prueba de Fisher's exacta.

VI. RESULTADOS.

Se operaron 8 cerdos hembras, de ambas extremidades posteriores, dando un total de 16 rodillas operadas, 8 rodillas izquierdas de control y 8 rodillas derechas experimentales. Fueron operados conforme se indica en material y métodos, sacrificados a los 4 meses. Se describen a continuación los resultados obtenidos al momento del sacrificio, valorando la reparación macroscópica de acuerdo a la escala de Brittberg [62], por resonancia magnética de acuerdo a la evaluación de Roberts[66], evaluación histológica por Brittberg-Peterson [62], y en casos específicos se realizó la evaluación por Microscopia Electrónica y análisis de elementos. (TABLA 5)

TABLA 5.

Cerdo	Rodilla	Evaluación de Reparación de acuerdo Britberg(*)	Resonancia Magnética de acuerdo Roberts 2002(*)	Histológico *	Microscopio electrónico	Análisis de elementos
1	CONTROL	2	0	B	-----	-----
	EXPERIM.	0++	0	B	-----	-----
2	CONTROL	5	0	B	-----	-----
	EXPERIM.	8	2	A	-----	-----
3	CONTROL	0	0	B	-----	-----
	EXPERIM.	11+	3	A	Condrocitos con abundante RER.	Composición de elementos similar a cartilago hialino.
4	CONTROL	6	0	B	-----	-----
	EXPERIM.	8	2	A	-----	-----
5	CONTROL	6	2	B	-----	-----
	EXPERIM.	8+	2	A	-----	-----
6	CONTROL	6	0	B	-----	-----
	EXPERIM.	8	3	A	-----	-----
7	CONTROL	6	2	B	-----	-----
	EXPERIM.	8+	3	A	Condrocitos con abundante RER.	-----
8	CONTROL	4	1	B	-----	-----
	EXPERIM.	9+	3	A	Condrocitos con abundante RER.	-----

* Evaluación Histológica: A-Hialino, B-Fibroso, C-Mixto.

+ "biológicamente aceptable" es necesaria una evaluación mínima de 7 puntos, con al menos 3 puntos del primer grupo (grado de reparación del defecto) y 2 puntos en los otros grupos.

++ Se le colocó solo polímero con condrocitos, no se coloca polímero con células de periostio -- sufrió fractura osteocondral.

Evaluación de reparación macroscópica con Escala de Brittberg

Cerdo 1. Se le colocó solamente polímero con condrocitos, no se colocó polímero con células de periostio. Se encontró en la rodilla control 25% de reparación en la profundidad del defecto, sin integración del injerto, con apariencia macroscópica con fisuras varias pequeñas, dando un total de 2 puntos. En la rodilla experimental se encontró 0% de reparación en la profundidad del defecto, sin integración del injerto y con degeneración total de la zona del injerto, con fractura osteocondral en la zona del injerto, dando un total de 0 puntos.



Fractura osteocondral en rodilla experimental

Cerdo 2. En su rodilla control se encontró un 25% de reparación en la profundidad del defecto, $\frac{3}{4}$ del injerto integrado y con fisuras varias pequeñas, dando un total de 5 puntos. En la rodilla experimental se encontró 75% de reparación en la profundidad del defecto, $\frac{3}{4}$ del injerto integrado y con fisuras pequeñas dispersas, dando un total de 8 puntos.



Rodilla experimental

Cerdo 3. En su rodilla control se encontró 0% de reparación en la profundidad del defecto, sin integración del injerto y degeneración total de la zona del injerto, dando un total de 0 puntos. En la rodilla experimental se encontró 100% de reparación en la profundidad del defecto, integración completa con el cartílago de su alrededor, con superficie fibrilada, dando un total de 11 puntos, considerándose “biológicamente aceptable”.



Zona reparada de rodilla experimental.



Corte macroscópico de rodilla experimental.

Cerdo 4. En su rodilla control se encontró 50% de reparación en la profundidad del defecto, $\frac{3}{4}$ de integración del injerto y pocas fisuras pero largas, dando un total de 6 puntos. En la rodilla experimental se encontró 50% de reparación en la profundidad del defecto, $\frac{3}{4}$ del injerto integrado y superficie fibrilada, dando un total de 8 puntos.

Cerdo 5. En su rodilla control se encontró 50% de reparación en la profundidad del defecto, $\frac{3}{4}$ del injerto integrado y pocas fisuras pero largas, dando un total de 6 puntos. En la rodilla experimental se encontró 75% de reparación en la profundidad del defecto, $\frac{3}{4}$ del injerto integrado y fisuras pequeñas dispersas, dando un total de 8 puntos, considerándose “biológicamente aceptable”.



Vista macroscópica rodilla experimental

Cerdo 6. En su rodilla control se encontró 50% de reparación en la profundidad del defecto, $\frac{3}{4}$ del injerto integrado y fisuras pocas pero largas, dando un total de 6 puntos. En la rodilla experimental se encontró 50% de reparación en la profundidad del defecto, $\frac{3}{4}$ del injerto integrado, superficie fibrilada, dando un total de 8 puntos.

Cerdo 7. En su rodilla control se encontró 50% de reparación en la profundidad del defecto, $\frac{3}{4}$ del injerto integrado y fisuras varias pequeñas, dando un total de 6 puntos. En la rodilla experimental se encontró 75% de reparación en la profundidad del defecto, con $\frac{3}{4}$ del injerto integrado, con fisuras pequeñas dispersas, dando un total de 8 puntos, considerándose “biológicamente aceptable”.



Reparación de lesión control, con tejido reblandecido.

Cerdo 8. En su rodilla control se encontró 50% de reparación en la profundidad del defecto, $\frac{1}{2}$ del injerto integrado con fisuras varias pequeñas, dando un total de 4 puntos. En la rodilla experimental se encontró 75% de reparación en la profundidad del defecto, con $\frac{3}{4}$ del injerto integrado, con superficie fibrilada, dando un total de 9 puntos, considerándose “biológicamente aceptable”.



Rodilla experimental, con tejido cartilaginoso duro

Evaluación de resonancia magnética con Escala de Roberts.

Cerdo 1. En la rodilla control se encontró integridad anormal de la superficie y contorno, señal de cartílago en la región del defecto anormal, grosor del tejido anormal, con cambios anormales en el hueso subcondral, con un total de 0 puntos. En la rodilla experimental se encontró integridad anormal de la superficie y contorno, anormal señal de cartílago en la región del defecto, grosor del tejido anormal, con cambios anormales en el hueso subcondral, con un total de 0 puntos.

Cerdo 2. En la rodilla control se encontró integridad cercana a lo normal de la superficie y contorno, señal de cartílago en la región del defecto anormal, grosor del tejido anormal, con cambios anormales en el hueso subcondral, con un total de 1 punto. En la rodilla experimental se encontró integridad cercano a lo normal de la superficie y contorno, señal de cartílago cercano a lo normal en la región del cartílago, con grosor del tejido anormal y cambios anormales en el hueso subcondral, con un total de 2 puntos.

Cerdo 3. En la rodilla control se encontró integridad anormal de la superficie y contorno, señal de cartílago en la región del defecto anormal, grosor del tejido anormal, con cambios anormales en el hueso subcondral, con un total de 0 puntos. En la rodilla experimental se encontró integridad normal de la superficie y contorno, señal de cartílago normal en la región

del injerto, grosor normal del tejido y cambios anormales en el hueso subcondral, con un total de 3 puntos.



Corte axial de rodilla experimental



Corte coronal de rodilla experimental

Cerdo 4. En la rodilla control se encontró integridad anormal de la superficie y contorno, señal de cartílago en la región del defecto anormal, grosor del tejido anormal, con cambios anormales en el hueso subcondral, con un total de 0 puntos. En la rodilla experimental se encontró integridad anormal de la superficie y contorno, señal de cartílago normal en la región del injerto, con grosor cercano a lo normal del tejido, con cambios anormales en el hueso subcondral, con un total de 2 puntos.



Cerdo 4 experimental

Cerdo 5. En la rodilla control se encontró con integridad cercano a lo normal de la superficie y contorno, con señal de cartilago anormal en la región del injerto, grosor normal del tejido, con cambios anormales en el hueso subcondral, con un total de 2 puntos. En la rodilla experimental se encontró con integridad cercano a lo normal de la superficie y contorno, con señal de cartilago casi normal en la región del injerto, grosor anormal del tejido, con cambios anormales en el hueso subcondral, con un total de 2 puntos.



Rodilla control, corte sagital



Rodilla experimental, corte sagital

Cerdo 6. En la rodilla control se encontró integridad anormal de la superficie y contorno, señal de cartilago en la región del defecto anormal, grosor del tejido anormal, con cambios anormales en el hueso subcondral, con un total de 0 puntos. En la rodilla experimental se encontró con integridad cercano a lo normal de la superficie y contorno, con señal de cartilago casi normal en la región del injerto, grosor cercano a lo normal del tejido, con cambios anormales en el hueso subcondral, con un total de 3 puntos.

Cerdo 7. En la rodilla control se encontró integridad cercano a lo normal de la superficie y contorno, con señal de cartilago casi normal en la región del injerto, grosor anormal del tejido, con cambios anormales en el hueso subcondral, con un total de 2 puntos. En la rodilla experimental se encontró integridad normal de la superficie y contorno, señal de cartilago normal en la región del injerto, grosor normal del tejido y cambios anormales en el hueso subcondral, con un total de 3 puntos.

Cerdo 8. En la rodilla control se encontró integridad anormal de la superficie y contorno, señal de cartilago en la región del defecto anormal, grosor del tejido anormal, con cambios anormales en el hueso subcondral, con un total de 0 puntos. En la rodilla experimental se encontró integridad normal de la superficie y contorno, señal de cartilago normal en la región del injerto, grosor normal del tejido y cambios anormales en el hueso subcondral, con un total de 3 puntos.

Evaluación histológica según Brittberg-Peterson.

Cerdo 1. En la rodilla control se encontró tejido fibroso. En la rodilla experimental se encontró tejido fibroso.

Cerdo 2. En la rodilla control se encontró tejido fibroso. En la rodilla experimental se encontraron zonas de cartilago hialino mezclado con zonas de fibrocartilago.

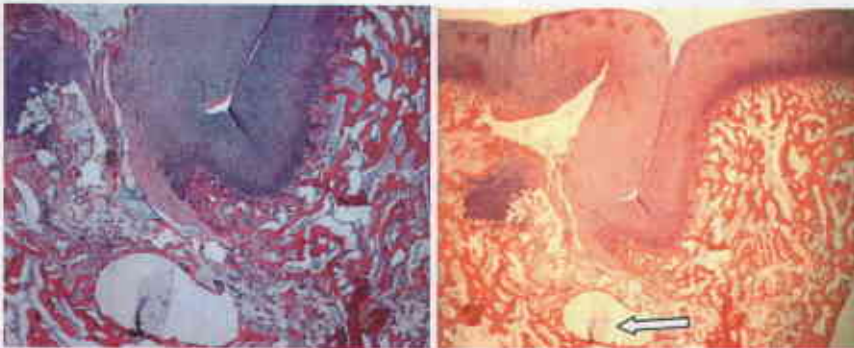


Biopsia de control con abundante tejido fibroso

Cerdo 3. En la rodilla control se encontró tejido fibroso. En la rodilla experimental se encontró tejido similar a cartilago hialino, además se encontró presencia de método de fijación del polímero, rapidlock® en hueso subcondral, el cual produjo una zona de pliegue en el tejido cartilaginoso neoformado.



Biopsia de control con H&E



Biopsia de experimental con presencia de rapidlock en hueso subcondral



Biopsia de experimental, cartilago hialino con zona de pliegue

Cerdo 4. En la rodilla control se encontró tejido fibroso. En la rodilla experimental se encontraron zonas de cartílago hialino mezclado con zonas de fibrocartílago.

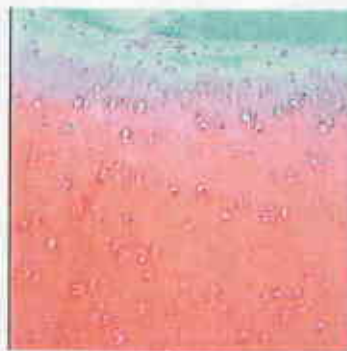
Cerdo 5. En la rodilla control se encontró tejido fibroso. En la rodilla experimental se encontraron zonas de cartílago hialino mezclado con zonas de fibrocartílago.



Biopsia de experimental con tejido mixto

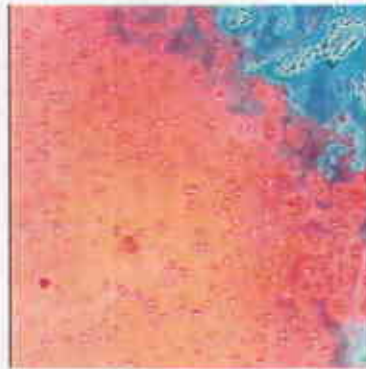
Cerdo 6. En la rodilla control se encontró tejido fibroso. En la rodilla experimental se encontraron zonas de cartílago hialino mezclado con zonas de fibrocartílago.

Cerdo 7. En la rodilla control se encontró tejido fibroso. En la rodilla experimental se encontró tejido similar a cartílago hialino.



Biopsia de experimental con tejido similar a cartílago hialino con tinción de Safranina.

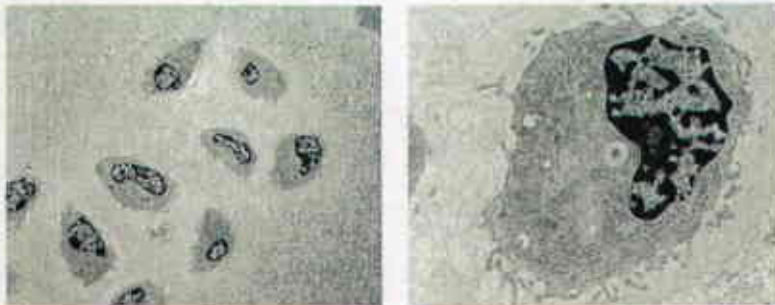
Cerdo 8. En la rodilla control se encontró tejido fibroso. En la rodilla experimental se encontró tejido similar a cartilago hialino.



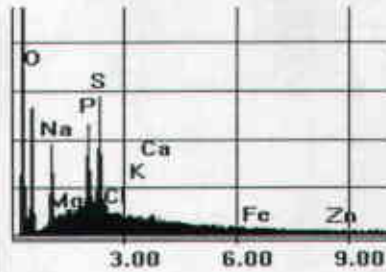
Biopsia de experimental con tejido similar a cartilago hialino con tinción de Masson.

Evaluación por microscopía electrónica de transmisión y barrido.

El Cerdo 3, 7 y 8, rodilla experimental, fueron evaluados por microscopía electrónica, encontrándose presencia de condrocitos con abundante retículo endoplásmico.



El Cerdo 3, rodilla experimental, fue evaluado mediante análisis de elementos, encontrándose una composición alta en fósforo y azufre, lo que nos habla de presencia de glucosaminoglicanos propios del cartilago hialino.

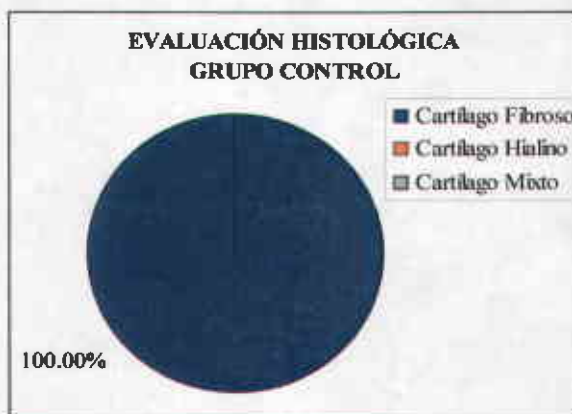


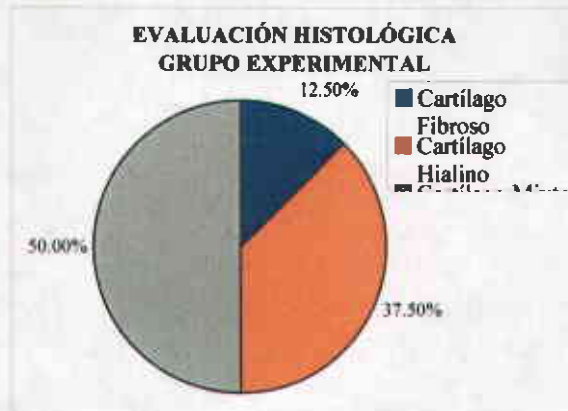
• Presencia de niveles altos de P y S = glucosaminoglicanos.

Análisis estadístico

En cuanto a la evaluación histológica según Brittberg-Peterson [62], tomando en cuenta toda la muestra, controles y experimentales, se formó cartílago hialino en un 18.75%, cartílago fibroso en un 56.25% y cartílago mixto en un 25%. El 100% de los que formaron cartílago hialino pertenecieron al grupo experimental. El 88.89% de los que formaron cartílago fibroso pertenecieron al grupo control, y el 11.11% al grupo experimental. El 50% de los que formaron cartílago mixto pertenecieron al grupo control y el otro 50% al grupo experimental.

De los controles, el 100% formó cartílago fibroso. Mientras que de los experimentales, el 37.50% formó cartílago hialino, 12.50% cartílago fibroso y en un 50% cartílago mixto.

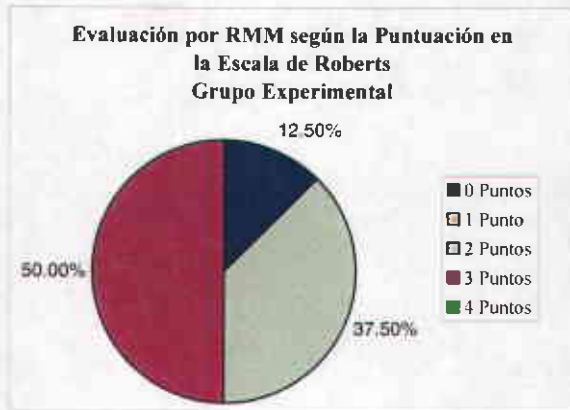
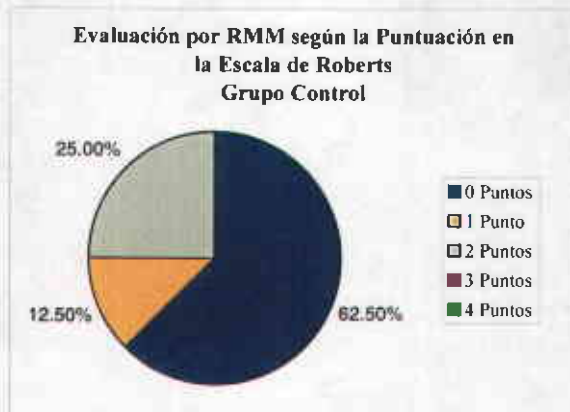




Se obtuvo una $p=0.001$, por lo que las diferencias en el tejido formado por cada grupo es estadísticamente significativa. Existe una tendencia marcada del grupo control a formar cartilago fibroso. Por otro lado, el grupo experimental presenta una tendencia a formar cartilago mixto principalmente y cartilago hialino.

En cuanto a la evaluación por RMN, tomando en cuenta la puntuación de Roberts [66], y la muestra completa de controles y experimentales, el 37.50% obtuvo una evaluación de 0 puntos, el 6.25% obtuvo 1 punto, el 31.25% obtuvo 2 puntos, el 25% obtuvo 3 puntos, y el 0% obtuvo los 4 puntos. Del total de los que obtuvieron 0 puntos, el 83.33% pertenecieron al grupo control y el 16.67% pertenecieron al grupo experimental. De los que obtuvieron 1 punto, el 100% pertenecieron al grupo control. De los que obtuvieron 2 puntos, el 40% pertenecieron al grupo control y el 60% al grupo experimental. De los que obtuvieron 3 puntos, el 0% pertenecieron al grupo control y el 100% pertenecieron al grupo experimental.

De los controles, el 62.50% obtuvieron 0 puntos, el 12.50% obtuvieron 1 punto, el 25% obtuvieron 2 puntos. De los experimentales, el 12.50% obtuvieron 0 puntos, el 37.50% obtuvieron 2 puntos, y el 50% obtuvieron 3 puntos.

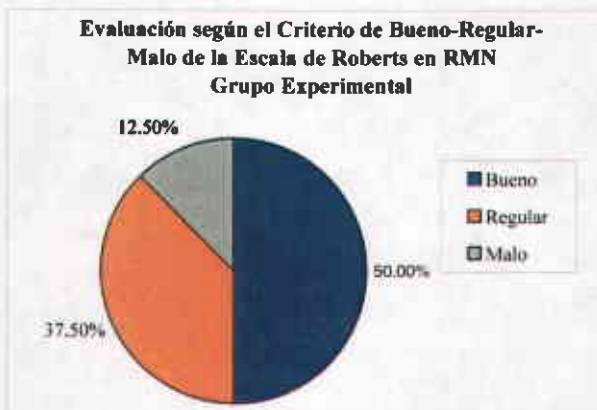
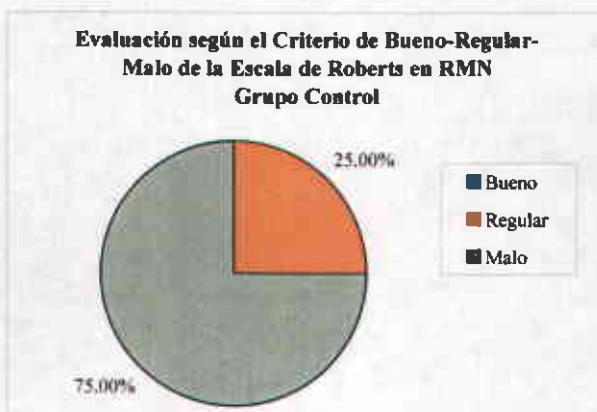


Se obtuvo una $p=0.050$, lo que nos dice que existe una diferencia estadísticamente significativa en el resultado por puntos de la evaluación de RMN de Roberts entre los controles y los experimentales.

En cuanto a la evaluación por RMN, tomando en cuenta los criterios de bueno, regular o mal resultado. Se dio el valor de mal resultado a los que obtuvieron 0-1 punto en la escala de Roberts [66], regular resultado a los que obtuvieron 2 puntos, y buen resultado a los que obtuvieron 3-4 puntos. Tomando en cuenta toda la muestra de controles y experimentales, tuvieron un mal resultado el 43.75%, un resultado regular el 31.25%, y un resultado bueno el 25%. De los que obtuvieron un resultado malo, el 85.71% pertenecieron al grupo control, y el 14.29% al grupo experimental. De los que obtuvieron un resultado regular, el 40%

pertenecieron al grupo control, y el 60% al grupo experimental. De los que obtuvieron un resultado bueno, el 100% pertenecieron al grupo experimental.

De los controles, el 75% obtuvo un resultado malo, y el 25% un resultado regular, 0% un resultado bueno. De los experimentales, el 12.50% obtuvo un resultado malo, el 37.50% obtuvo un resultado regular y el 50% un resultado bueno.



Se obtuvo una $p=0.024$, lo que nos dice que existe una diferencia estadísticamente significativa en el resultado de RMN con los criterios de bueno-regular-malo entre ambos grupos.

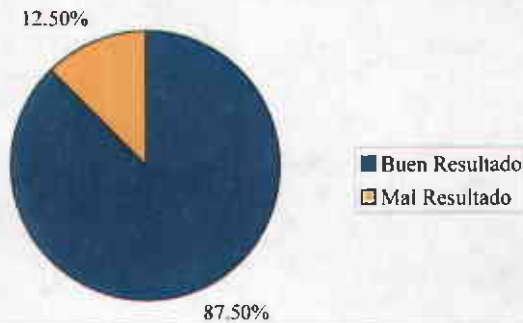
Se obtuvo una $p=0.077$ lo que nos habla de que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos en el estándar de resultado biológicamente aceptable.

En cuanto a la evaluación por la escala de Brittberg [62], clasificando los resultados como buenos o malos. Se consideró buen resultado cuando se obtuvo una puntuación mayor o igual a 7 en la escala de evaluación macroscópica de Brittberg, y mal resultado cuando se obtuvo una puntuación menor de 7. Tomando en cuenta toda la muestra, se obtuvo un buen resultado en un 43.75%, y se obtuvo un mal resultado en un 56.25%. De los que obtuvieron un buen resultado el 100% pertenecieron al grupo experimental. De los que obtuvieron un mal resultado el 88.89% pertenecieron al grupo control, y el 11.11% pertenecieron al grupo experimental.

De los controles, el 100% obtuvo un mal resultado. De los experimentales, el 87.50% obtuvieron un buen resultado, y el 12.50% obtuvieron un mal resultado.



**Evaluación Macroscópica según la Escala de Brittberg
en el Criterio de Buen-Mal Resultado
Grupo Experimental**

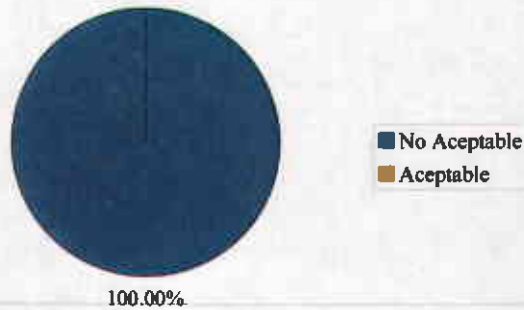


Se obtuvo una $p=0.001$, lo que nos habla de que existe una diferencia estadísticamente significativa en el resultado bueno/malo basándonos en la escala de evaluación de Brittberg, entre ambos grupos.

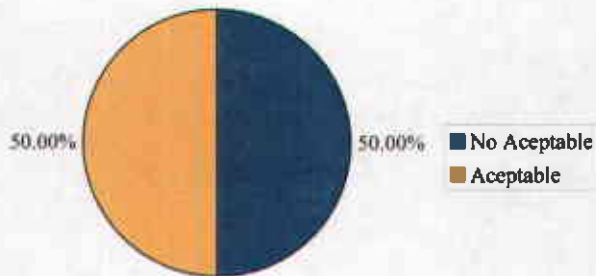
En cuanto a la evaluación por la escala de Brittberg [62], clasificando los resultados macroscópicos como biológicamente aceptables o inaceptables. Tomando en cuenta toda la muestra, se obtuvo un resultado biológicamente aceptable en un 25%, y biológicamente no aceptable en un 75%. De los que obtuvieron un resultado biológicamente aceptable, el 100% pertenecieron al grupo experimental, 0% al grupo control. De los que obtuvieron un resultado biológicamente no aceptable, el 66.67% pertenecieron al grupo control y el 33.33% pertenecieron al grupo experimental.

De los controles, el 100% obtuvieron un resultado biológicamente no aceptable. De los experimentales, el 50% obtuvieron un resultado biológicamente aceptable, y el otro 50% un resultado biológicamente no aceptable.

**Evaluación Macroscópica según la Escala de Brittberg
en el Criterio de Biológicamente Aceptable
Grupo Control**



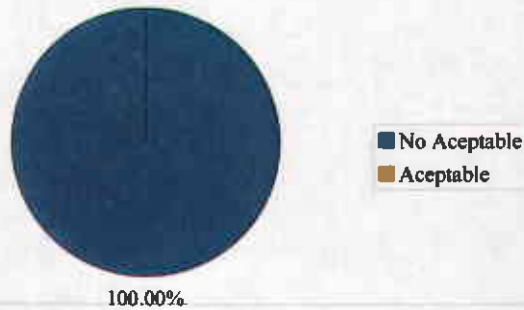
**Evaluación Macroscópica según la Escala de Brittberg
en el Criterio de Biológicamente Aceptable
Grupo Experimental**



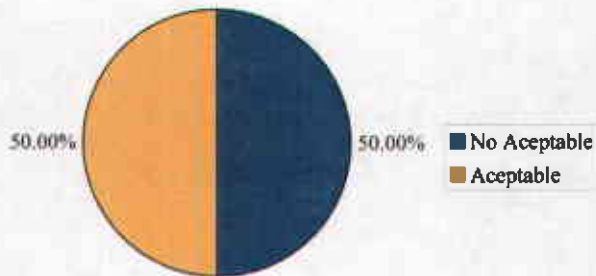
VII. DISCUSIÓN.

Las lesiones condrales pueden presentarse en sujetos jóvenes, económicamente activos en comparación con la osteoartritis que se presenta principalmente en adultos mayores. La lesión osteocondral es frecuentemente el resultado de trauma o necrosis avascular, como en el caso de la osteocondritis disecante; se caracteriza por ser una lesión aguda que normalmente no es diagnosticada por falta de agudeza clínica, falta de un conocimiento de signos clínicos diagnósticos de lesión condral, así como la carencia que se tiene en nuestro medio de estudios de gabinete de alta definición, como es el caso de la resonancia magnética

**Evaluación Macroscópica según la Escala de Brittberg
en el Criterio de Biológicamente Aceptable
Grupo Control**



**Evaluación Macroscópica según la Escala de Brittberg
en el Criterio de Biológicamente Aceptable
Grupo Experimental**



VII. DISCUSIÓN.

Las lesiones condrales pueden presentarse en sujetos jóvenes, económicamente activos en comparación con la osteoartritis que se presenta principalmente en adultos mayores. La lesión osteocondral es frecuentemente el resultado de trauma o necrosis avascular, como en el caso de la osteocondritis disecante; se caracteriza por ser una lesión aguda que normalmente no es diagnosticada por falta de agudeza clínica, falta de un conocimiento de signos clínicos diagnósticos de lesión condral, así como la carencia que se tiene en nuestro medio de estudios de gabinete de alta definición, como es el caso de la resonancia magnética

con secuencias específicas para la visualización del cartílago de predominio en articulaciones de carga como son la rodilla y el tobillo. Por lo anterior inferimos que existe en nuestro medio un gran número de pacientes que sufren una lesión condral, la cual puede no ser diagnosticada oportunamente en la etapa aguda. Por tanto, según la historia natural de la enfermedad, una vez violada la integridad del tejido cartilaginoso, la lesión condral evolucionará al aumento del área de lesión tanto en diámetro como profundidad, hasta llegar a la exposición de hueso subcondral. Posteriormente se presentará daño a las estructuras adyacentes como son meniscos, ligamentos y la superficie articular opuesta produciendo las llamadas lesiones en espejo, evolucionando finalmente con la aparición y progresión de la osteoartritis.

Después de haber hecho una búsqueda de las diferentes formas de tratar este tipo de lesiones, se ofrece en este trabajo, una nueva alternativa, original, sencilla y reproducible para tratar las lesiones condrales. Sin embargo, debemos recordar que no se tiene claro aun cual es la mejor técnica para tratar las lesiones condrales.

Stein [51], publicó un estudio en donde se comparó el uso de la condroplastía por rasurador y el uso de la radiofrecuencia, sus resultados muestran que el electrocauterio como un adyuvante de la condroplastía, ofrece poco beneficio en el tratamiento de las lesiones condrales, y puede, de hecho, limitar un resultado exitoso.

Hunziker [67], encontró que la remoción quirúrgica de tejido de cartílago articular mediante el uso de la condroplastía con rasurador, no solo falla en dar un efecto benéfico, también deteriora el microambiente biológico de los condrocitos.

Bentley [68], comparó en un estudio aleatorizado la Mosaicoplastía Vs. el Implante de Condrocitos Autólogos, con 100 pacientes, con los siguientes valores promedio: lesiones postraumáticas de 4.66cm² de tamaño, 7 años de sintomatología, 1.5 procedimientos previos, se les dio un tratamiento randomizado entre Mosaicoplastía y el Implante de Condrocitos Autólogos, con un seguimiento de 19 meses, encontrando a la evaluación clínica resultados buenos o excelentes en un 88% en los pacientes con Implante de Condrocitos Autólogos, contra un 69% con el uso de la Mosaicoplastía. En una segunda vista artroscópica al año, encontró reparaciones buenas o excelentes en un 82% de los pacientes con Implante de Condrocitos Autólogos, contra un 34% en pacientes con Mosaicoplastía. En nuestro trabajo,

obtuvimos en las rodillas experimentales a los 4 meses, reparaciones buenas en un 87.50% de los casos, lo cual supera a la reparación alcanzada con las técnicas de Implante de Condrocitos Autólogos (82%) y Mosaicoplastia (34%) reportada en este artículo.

Brittberg y Peterson [63] describieron que la primera generación de las técnicas de transplante de condrocitos autólogos requerían de la combinación de 2 factores condrogénicos: la suspensión implantada de condrocitos y las células de periostio. Este procedimiento tiene ciertas desventajas, incluyendo la potencial migración de las células de los defectos, las desdiferenciación del fenotipo celular dado que las células han crecido en monocapa antes de la implantación, la desigual distribución de las células, y el riesgo substancial de hipertrofia periosteal. La tecnología del transplante de condrocitos autólogos necesita mejorar, y hay ahora una investigación sobre nuevos biomateriales que puedan fijar las células al defecto y promover su proliferación y diferenciación, entre los que destacan:

- Chondro-Gide (una membrana de colágena tipo I / tipo III; Geistlich Biomaterials, Pharma AG, Wolhausen Switzerland).
- Hyaluronan-based biodegradable polymer scaffold HYAFF-11 (Fida Advanced Biopolymers, Abano Terme, Italy).
- Polyhydroxybutyrate (un parche usado para cirugía cardíaca).
- Ethisorb (Ethicon, Norderstedt, Germany), un polímero con polyglactin 910/poly-p-dioxanone, usado en borregos con defectos trocleaes.

En nuestro trabajo, coincidimos con lo dicho en este artículo por Brittberg y Peterson, en el sentido de que decidimos implementar una técnica de transplante de condrocitos autólogos de segunda generación o con uso de polímero, en este caso con un polímero de ácido poliglicólico y ácido poliláctico. Consideramos que el implante de condrocitos autólogos de primera generación o con parche de periostio quedará pronto en desuso, por la potencial migración de las células del defecto.

Chiang [69] recientemente publicó el uso de condrocitos en una matriz de colágena con parche de periostio en cerdos pequeños con buenos resultados a la valoración inicial. Sin embargo, las imágenes que presenta en sus resultados muestran una reparación macroscópica que alcanzaría una puntuación menor a la obtenida en nuestras muestras de rodillas

experimentales, según la escala de Brittberg; esto quizás debido a que no utiliza a diferencia de nosotros, un doble polímero, con células de periostio en uno de ellos, lo cual consideramos fue determinante para la obtención de nuestros buenos resultados, y característico de nuestra técnica.

Rudert [70] utilizó polímeros diferentes con condrocitos para reparar defectos osteocondrales creados en el cóndilo femoral de conejos. Encontraron una mejoría significativa en los defectos osteocondrales a los cuales se les aplicó el polímero con condrocitos en comparación a los defectos a los que no se les colocó ningún polímero. En nuestro estudio también encontramos una diferencia significativa en la calidad de la reparación osteocondral según la escala de Brittberg, siendo buena la reparación en un 87.50% de los casos cuando se colocaron los polímeros con las células (rodillas experimentales), y un 0% de buena reparación, cuando no se colocó nada en el defecto osteocondral (rodillas control).

Solchaga [71] utilizó polímeros sintéticos y biodegradables, que sembrados con condrocitos, fueron utilizados para reparar defectos osteocondrales en conejos. Concluyeron que el grado de degradación del polímero es crítico para la reparación; los polímeros que se disolvieron lentamente formaron cartílago mas grueso, pero con fisuras y retardaron la formación de hueso endocondral. En cambio los polímeros biológicos se degradaron mas rápido permitiendo una rápida formación de tejido. En nuestro estudio utilizamos un polímero sintético biodegradable, el cual en algunos casos provocó una mínima reacción inflamatoria a su alrededor, quedando vestigios del mismo encontrados en la evaluación histológica a los 4 meses. En todos los casos, la reparación de hueso subcondral se encontraba aún en proceso, caracterizado por la presencia de tejido fibroso con calcificaciones.

Schek [72], publicó recientemente el uso de dos polímeros; uno sembrado con condrocitos y otro con fibroblastos, los cuales fueron implantados en ratones. Obtuvieron como resultado la formación de un tejido complejo osteocondral. En nuestro estudio tuvimos un resultado en donde encontramos la formación de un complejo osteocondral de características semejantes a las de tejido osteocondral sano, esto en el cerdo 3 experimental. Este tejido neoformado presentó inclusive una interfase mineralizada o *tide-mark* entre el tejido cartilaginoso y óseo.

Escala de Evaluación de Técnicas de Reparación de Lesiones Condrales de Villalobos E. y Villalobos E. Jr.

Para evaluar las diversas técnicas existentes en la actualidad decidimos utilizar la escala de evaluación de técnicas de reparación de lesiones condrales de Villalobos (Tablas 6 y 6 bis), encontrando los siguientes resultados (Tabla 7).

TABLA 6. Escala de Evaluación de Técnicas de Reparación de Lesión Condral
 Villalobos E.; Villalobos E. Jr.

Crterios a Evaluar	Puntos
Formación de cartilago	
Hialino	2
Fibrocartilago	1
Tejido fibroso	0
Resultados buenos o excelentes a largo plazo 5-7a.	
80-100%	3*
60-80%	2*
<60%	0
Uso de injerto	
No	3
Autólogo	2
Heterólogo	1
Técnica	
No invasiva	3
Artroscopia	2
Abierta	1
Tamaño de defecto para reparar	
>4cm ²	3
2-4cm ²	2
<2cm ²	1
Grado de lesión Outerbridge que repara	
III-IV	2
I-II	1
Carga Total	
<1 meses	3
2-3 meses	2
>3 meses	1
Fallas	
Ninguna	0
Reversible	-1
Irreversible	-2
Costo	
1-2 Procedimiento Estándar (evaluación artroscópica)	3
3-4 Procedimiento Estándar	2
>5 Procedimiento Estándar	1
Total	25

* Se multiplica puntaje x 2

TABLA 6 bis.

Suma de puntos	Conclusión
Puntaje Máximo 25ptos	Gold Standard
21-24	Muy buena
15-20	Aceptable, con indicación precisa
<15	Técnica no aceptable

TABLA 7. Resultados de Evaluación de Técnicas de Reparación de Lesiones Condrales

Puntaje	Técnica	Conclusión
20	Microfractura	Aceptable con indicación precisa
19	Mosaicoplastia	Aceptable con indicación precisa
17	ACI	Aceptable con indicación precisa
17	MACI	Aceptable con indicación precisa
15	IOF	Aceptable con indicación precisa
14	Desbridamiento	No aceptable
14	Radiofrecuencia	No aceptable

A manera de ensayo, decidimos someter nuestra técnica a esta misma escala de valoración. Cabe mencionar que nuestra técnica es experimental, realizada en animales, y nuestros resultados son a 4 meses, sin embargo consideramos que los resultados obtenidos con esta escala de valoración, pueden ser orientadores para el futuro éxito o no de esta técnica, una vez que se utilice en estudios clínicos controlados. La técnica de reparación osteocondral descrita en esta tesis, alcanzó la siguiente puntuación (tabla 8):

**TABLA 8. Resultados de Evaluación de Técnicas de Reparación de Lesiones
Condrales para esta nueva técnica.**

	CRITERIOS	RESULTADO	PUNTOS
1	Formación de cartilago hialino	Hialino	2
2	Resultados buenos a largo plazo	100% (a 4 meses)	3 p x 2= 6
3	Uso de Injerto	Autólogo	2
4	Técnica Abierta o Cerrada	Abierta	1
5	Tamaño del defecto que repara:	1cm ²	1
6	Grado de lesión de Outerbridge que repara	III-IV	2
7	Tiempo para permitir carga total	< 1 mes	3
8	Fallas del procedimiento	Reversible	-1
9	Costo	3 -4 procedimiento estándar	2
Total			18

En esta evaluación de nuestra técnica, podemos ver como alcanza 18 puntos, pudiéndose considerar una técnica aceptable con indicación precisa. Esta evaluación sitúa a nuestra técnica por arriba de la puntuación alcanzada por técnicas de reparación condral ya reportadas previamente en la literatura como son el Implante de Condrocitos Autólogos con parche de periostio y con uso de matriz. Además nuestro procedimiento cuenta con la posibilidad de realizarse en forma artroscópica, lo cual le daría aun una mayor puntuación.

Este protocolo fue sometido también a la evaluación de expertos en el tema a nivel mundial, dando las siguientes observaciones:

Comentarios del Dr. Lars Peterson, Creador de la Técnica de Implante de Condrocitos Autólogos, Suecia.

Cuando se realiza cirugía experimental con técnicas de implante de condrocitos autólogos, es importante no reportar las primeras 10 cirugías realizadas, ya que este procedimiento requiere de una curva de aprendizaje, y sería un sesgo tomar en cuenta estos primeros resultados.

Comentarios del Dr. Tom Minas, Jefe del Cartilage Repair Center, Harvard Mass., E.U.A.

- Los cerdos inmaduros se encuentran en crecimiento, y un defecto condral en ellos, el mismo crecimiento lo puede hacer mayor o por el contrario, repararse con mayor facilidad. Es mejor tener cerdos pequeños maduros, aunque el costo de cada uno sea mayor.
- Es importante no tener tantas variantes: ¿Para qué poner condrocitos con células de periostio? Considera que las células de periostio no son necesarias en este estudio.
- Igualmente en cuanto a la fijación considera que es una variable más que no es necesaria, nos recomienda el uso de press-fit, con polímeros que sean 1-2mm más grandes en su diámetro, que el diámetro del defecto creado.
- Nuestro mejor resultado, lo considera muy interesante, dado que no había antes visto la formación de cartilago en zona de hueso subcondral. Sin embargo el no lo consideraría tan buen resultado, en el sentido que la superficie articular es una unidad osteocondral, que incluye cartilago y hueso subcondral; en cambio en nuestro resultado, se observa cartilago en la superficie, pero también en la zona de hueso subcondral.

Comentarios del Dr. José Couceiro, Director del Instituto de Ortopedia y Banco de Tejidos Musculoesqueléticos de la Universidad de Santiago de Compostela, España

- Le parece buena idea el uso de polímero con condrocitos en animales, como un paso previo a utilizar la misma técnica en humanos.
- Pensaba que donde había estado el polímero, a los 3 meses que se absorbe, se iba a absorber o perder también el tejido formado, por lo cual, le sorprende que en la histología de los cerdos experimentales, a 4 meses, no se halla perdido el tejido neoformado.

Debilidades del Presente Estudio

En cuanto a las debilidades del presente estudio, considero que algo importante es que a los cerdos se les permitió una carga inmediata de peso después de las cirugías, lo cual pone en alto riesgo la estabilidad del implante y su buena evolución, pero por otra parte, esto hace a su vez mas valioso los buenos resultados obtenidos, dado que se demostró así la capacidad de fijación de nuestro dispositivo y la capacidad de condrogénesis de nuestras células implantadas.

También es importante hacer notar, que existe un sesgo de tiempo de evolución entre las lesiones consideradas como "controles" y las experimentales. Como pueden recordar, las lesiones controles se realizaron en la primer cirugía de toma de biopsia condral, y no se implantó en ellas ni siquiera polímero sin células, en cambio, las lesiones experimentales se realizaron 2 meses después en la cirugía de implante de polímero con células en la rodilla contralateral a la control. Esto implica que al momento del sacrificio, la lesión control llevaba 2 meses más de evolución, que la lesión experimental, lo cual pudo afectar positiva o negativamente los resultados obtenidos y la comparación de resultados entre ambos grupos.

En base a los resultados consideramos que el tiempo de evolución para el sacrificio, que fue de 4 meses, debería ser mayor en tiempo, y que muy probablemente en los siguientes meses podrían haber cambios importantes en la evolución de las lesiones controles y sobre todo experimentales. Aunque cabe mencionar, que una lesión control, que a los 4 meses ya es fibrocartilago, seguramente no va a evolucionar a cartilago hialino en los meses posteriores.

VIII. CONCLUSIONES.

- Es importante identificar los factores de riesgo para este tipo de lesiones: biomecánicos, hormonales, de medio ambiente y dependientes de la actividad laboral o deportiva, sobre todo deportes de contacto; y así tomar mayor conciencia en la prevención. Conductas preventivas de mayor importancia (fisiológicas, quirúrgicas, terapia física a la recién aparición y ortésicas) deberán ser abordadas desde el inicio de la aparición de los síntomas para mejorar el pronóstico.
- En cuanto a las técnicas de reparación condral existentes en la actualidad para uso en humanos, podemos concluir lo siguiente: Las microfracturas es en la actualidad la técnica accesible y con mejores resultados, para lesiones condrales de primera intención. La mosaicoplastia es una buena opción para la reparación condral de segunda intención. El uso de injerto osteocondral fresco heterólogo es cada vez mas limitado y será superado en un futuro por la reparación biológica celular. El implante de condrocitos autólogos y el implante de condrocitos autólogos con uso de matriz, que se realiza en el extranjero, continúan siendo de muy alto costo para nuestro medio, lo que los hace inaccesibles para muchos pacientes. El desbridamiento y radiofrecuencia, son en la actualidad, técnicas por sí solas, no aceptables en el manejo de las lesiones condrales. No se cuenta aún con una técnica ideal o gold-standard, para la reparación de lesiones condrales. Es primordial trabajar en el desarrollo, perfeccionamiento y accesibilidad de nuevas técnicas, que es lo que en este trabajo se realizó.
- La técnica de reparación condral presentada en este trabajo, es original, sencilla de realizar, accesible y reproducible en nuestro medio.
- El modelo porcino resultó ser un modelo excelente para reparación condral, dado que cuenta con un fácil abordaje a la zona de la rodilla, y con un ancho espesor de cartílago que permite trabajar con el mismo.

- El dispositivo de fijación aquí propuesto, llamado rapidlock®, es un excelente método de fijación, que en todos los casos mantuvo al polímero fijado al defecto condral, esto a pesar de que los cerdos tuvieron apoyo libre desde el postoperatorio inmediato.
- Consideramos a la Resonancia Magnética Nuclear como una excelente técnica no invasiva de evaluación de la reparación de lesiones condrales, especialmente cuando se utilizan parámetros definidos como es la escala de valoración de Roberts [66].
- La evaluación histológica realizada nos permitió diferenciar claramente entre la formación de fibrocartilago, cartilago hialino y cartilago mixto.
- Observamos que las lesiones controles, en donde no se colocó ningún polímero ni células, solamente se dejó el defecto osteocondral, tuvieron una reparación del defecto con tejido fibrocartilaginoso en todos los casos. Esto comprueba lo que dice la literatura mundial, de que una lesión osteocondral se reparará siempre con tejido fibrocartilaginoso y sabemos ya que nunca esperaremos la formación de cartilago hialino en estos casos.
- Sin embargo, en estas mismas lesiones control, se observa que el defecto osteocondral de 9mm de diámetro y de 1 cm de profundidad, al momento de la evaluación final, aproximadamente a los 6 meses de la lesión, se encontró reparado en mas de un 75% en todos los casos controles, por este tejido fibrocartilaginoso. Lo cual nos hace considerar que las técnicas de reparación condral que realizan una comunicación entre la lesión y el hueso subcondral lograrán una reparación casi completa de la lesión, aunque con tejido tipo fibrocartilago. Esto coloca a estas técnicas por encima de otras como son el desbridamiento y la radiofrecuencia, en donde nunca se logrará una neoformación de tejido cartilaginoso, sea hialino o fibrocartilago.
- La microscopía electrónica de transmisión y barrido, nos permite visualizar la microestructura de las células neoformadas, en este caso los condrocitos, y

logramos gracias a esta evaluación un alto nivel de evidencia de nuestros resultados. El siguiente paso será realizar una evaluación molecular de estos mismos resultados.

- Revisando la literatura, y las imágenes reportadas en los artículos que hablan de neoformación de cartilago hialino en sus resultados experimentales. No encontramos imagen tan demostrativa y similar a cartilago hialino, como la que estamos reportando nosotros en este estudio, la cual fue obtenida de la evaluación histológica de la lesión experimental del cerdo no. 3.
- Será necesario perfeccionar la técnica aquí presentada en todos sus niveles, toma de biopsia, cultivo celular, implante del polímero y evaluaciones de la misma, para así poder aspirar a tener mejores resultados y mas consistencia en los mismos para poder realizar este mismo procedimiento en humanos.
- A su vez, consideramos que está técnica de reparación condral, realizada 100% en nuestro hospital, por Médicos e Investigadores mexicanos, la convierten en una técnica accesible en todos aspectos, para ser utilizada en un futuro en el paciente mexicano promedio.
- Además este tipo de técnicas de implante de condrocitos, que en este momento se utilizan para la reparación de lesiones condrales agudas, básicamente traumáticas, se están ya empezando a realizar estudios experimentales para su uso en pacientes con desgaste articular crónico [73], como es en el caso de la Osteoartritis. Contribuyendo de esta manera en la búsqueda de nuevas opciones para combatir las discapacitantes consecuencias del desgaste articular, todo esto dentro del marco de la mundialmente declarada Década del Hueso y la Articulación, 2000-2010.

IX. BIBLIOGRAFÍA.

1. Farmer, J.M., Boles C.A., Chondral and osteochondral injuries. Diagnosis and management. *Clin Sports Med*, 2001. 20(2): p. 299-319.
2. Maiotti, M., Coletta M., Correlation between osteoarthritic cartilage damage and levels of proteinases and proteinase inhibitors in synovial fluid from the knee joint. *Arthroscopy*, 2000. 16(5): p. 522-6.
3. Cole B.J., Frederick R., Levy A., Management of a 37 year old man with recurrent knee pain. *J Clin Outcomes Management*, 2002; 6: p. 46-57.
4. Noyes F.R., Bassett R.W., Grood E.S., Butler D.L., Arthroscopy in acute traumatic hemarthrosis of the knee. Incidence of anterior cruciate tears and other injuries. *J Bone Joint Surg Am*, 1980; 62: p.687-695.
5. Curl W.W., Krome J., Gordon E.S., Rushing J., Smith B.P., Poehling C.G., Cartilage injuries: a review of 31,516 knee arthroscopies. *Arthroscopy*, 1997; 13: p. 456-460.
6. Indelicato P.A., Bittar E.S., A perspective of lesions associated with ACL insufficiency of the knee. A review of 100 cases. *Clin Orthop*, 1985; 198: p. 77-80.
7. Elders, M.J., The increasing impact of arthritis on public health. *J Rheumatol Suppl*, 2000. 60: p. 6-8.
8. De Palma A.F., Subin D.K., Process of repair of articular cartilage demonstrated by histology and autoradiography with tritiated thymidine. *Clin Orthop*, 1996. 48: p. 229-42
9. Mankin, H., The reaction of articular cartilage to injury and osteoarthritis. *N Engl J Med*, 1974. 291 (24): p. 1285-92.
10. Mankin, H., The reaction of articular cartilage to injury and osteoarthritis. *N Engl J Med*, 1974. 291 (25): p. 1335-40.

11. Pridie K.H., A method of resurfacing osteoarthritic knee joints. *J Bone Joint Surg Br*, 1959. 41B: p.618.
12. Shapiro F, K.S., Glimcher M.J., Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am*, 1993. 75 (4): p. 532-53.
13. Harada K, O.S., Sasaki S., Chondrogenesis and Osteogenesis of bone marrow-derived cells by bone-inductive factor. *Bone*, 1988. 9 (3): p. 177-83.
14. Lewadonska K, Culp L.A., Fibronectin-mediated adhesion of fibroblasts. *J Cell Biol*, 1987. 105(3): p. 1444-54.
15. Hunziker, E. B., Rosenberg L.C., Repair of partial-thickness defects in articular cartilage: cell recruitment from the synovial membrane. *J Bone Joint Surg Am*, 1996. 78 (5): p721-33.
16. Hunziker, E.B., Kapfinger E., Removal of proteoglycans from the surface of defects in articular cartilage transiently enhances coverage by repair cells. *J Bone Joint Surg Br*, 1998. 80(1): p.144-50.
17. Rosenberg, L.C., Culp L.A., Biologicals roles of dermatan sulphate proteoglycans. *Ciba Found Symp*, 1986. 124 (47-68).
18. Schmitz M., AAOS, Atlanta GA, 1996.
19. Cole B.J., Malek M.M., *Articular Cartilage Lesions – A Practical Guide to Assessment and Treatment*. Ed. Springer-Verlag. China, 2004.
20. Sandell L.J., Grodzinsky A.J., *Tissue Engineering in Musculoskeletal Clinical Practice*. Ed. American Academy of Orthopaedic Surgeons. Estados Unidos de América, 2003.

21. Freed, L.E., Langer R., Cultivation of cell-polymer cartilage implants in bioreactors. *J Cell Biochem*, 1993. 51 (3): p. 257-64.
22. Freed, L.E., Vunjak-Novakovic G., *Frontiers in tissue engineering. In vitro modulation of chondrogenesis. Clin Orthop*, 1999 (367 Suppl):p. S46-58.
23. Cao, Y., A. Rodriguez, M. Vacanti, C. Ibarra, C. Arevalo, C.A. Vacanti, Comparative study of the use of poly (glycolic acid), calcium alginate and pluronics in the engineering of autologous porcine cartilage. *J Biomater Sci Polym Ed*, 1998. 9 (5): p. 475-87.
24. Ibarra, C., c. Janneta, C.A. Vacanti, Y. Cao, T.H. Kim, J. Upton, J.P. Vacanti, Tissue engineered meniscus: a potential new alternative to allogeneic meniscus transplantation. *Transplant Proc*, 1997. 29(1-2): p.986-8.
25. Koski, J.A., Ibarra C., Rodeo S.A., Warren R.F., Meniscal injury and repair: clinical status. *Orthop Clin North Am*, 2000. 31 (3): p. 419-36.
26. Rodriguez, A., Cao Y.L., Ibarra C., Pap S., Vacanti M., Eavey R.D., Vacanti C.A., Characteristics of cartilage engineered from human pediatric auricular cartilage. *Plast Reconstr Surg*, 1999. 103 (4): p. 1111-9.
27. Cao, Y., Vacanti C.A., Transplantation of chondrocytes utilizing a polymer-cell construct to produce tissue-engineered cartilage in the shape of a human ear. *Plast Reconstr Surg*, 1997. 100(2): p. 297-302.
28. Hidaka C., Ibarra C., Hannafin J., Torzilli P., Quitoriano M., Jen S.S., Warren R., Crystal R., Formation of Vascularized Meniscal Tissue by Combining Gene Therapy with Tissue Engineering. *Tissue Engineering*, 2002; 8 (1): p. 93-105.
29. Caplan A., Principles of Tissue Engineered Regeneration of Skeletal Tissues. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1999; 367S: p. 12-16.
30. Chiang H., Repair of porcine articular cartilage defect with autologous chondrocyte transplantation. *Journal of Orthopaedic Research*, 2005; 23: p.584-593.

31. Simon S.R., *Ciencias Básicas en Ortopedia*. Ed. American Academy of Orthopaedic Surgeons. España, 1997.
32. Cormack D.H., *Histología de Ham*. Ed. Harla. Estados Unidos de América, 1988.
33. Prophet E.B., *Laboratory methods in histotechnology*. 4th ed. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1991.
34. Grafi G., How cells dedifferentiate: a lesson from plants. *Dev Biol*, 2004 Apr 1; 268(1): p. 1-6.
35. Chen G., Redifferentiation of dedifferentiated bovine chondrocytes when cultured in vitro in a PLGA-collagen hybrid mesh. *FEBS Lett*, 2003 May; 542(1-3):p. 95-9.
36. Schulze-Tanzil G., Villegas H., Redifferentiation of dedifferentiated human chondrocytes in high-density cultures. *Cell Tissue Res*, 2002 Jun; 308 (3): p. 371-9.
37. Domm C., Redifferentiation of dedifferentiated bovine articular chondrocytes in alginate culture under low oxygen tension. *Osteoarthritis Cartilage*, 2002 Jan;10(1): p. 13-22.
38. Grigolo B., Evidence for redifferentiation of human chondrocytes grown on a hyaluronan-based biomaterial (HYAff 11): molecular, immunohistochemical and ultrastructural analysis. *Biomaterials*, 2002 Feb; 23(4): p. 1187-95.
39. Schulze-Tanzil G., Loss of chondrogenic potential in dedifferentiated chondrocytes correlates with deficient Shc-Erk interaction and apoptosis. *Osteoarthritis Cartilage*, 2004 Jun; 12(6): p. 448-58.
40. Giannoni P., Species variability in the differentiation potential of in vitro-expanded articular chondrocytes restricts predictive studies on cartilage repair using animal models. *Tissue Eng*, 2005 Jan-Feb;11(1-2): p. 237-48.

41. Hegert C., Differentiation plasticity of chondrocytes derived from mouse embryonic stem cells. *J Cell Sci*, 2002 Dec; 115 (Pt23): p. 4617-28.
42. Rosenberg T.D., Scott S.M., The forty-five degree posteroanterior flexion weight-bearing radiograph of the knee. *J Bone and Joint Surg Am*, 1998; 70: p. 1479-83.
43. Burstein D., New MRI Techniques for Imaging Cartilage. *J Bone Joint Surg*, 2003; 85-A-Supplement 2: p. 70-77.
44. Outerbridge R.E., The etiology of chondromalacia patella. *J Bone Joint Surg Br*, 1961 ; 43 : p. 752-57.
45. Raynauld J.P., Effectiveness and safety of repeat courses of hylan G-F 20 in patients with knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 2005 Feb;13(2): p. 111-9.
46. Bellamy N., Evaluation of WOMAC 20,50, 70 response criteria in patients treated with hylan G-F 20 for knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*, 2005 Jun;64 (6): p. 881-5.
47. Brief A.A., Use of glucosamine and chondroitin Sulfate in the Management of Osteoarthritis. *J Am Acad Orthop Surg*, 2001; 9: p. 71-78.
48. Tiraloche G. Lavery S., Effect of Oral Glucosamine on Cartilage Degradation in a Rabbit Model of Osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 2005 Abr; 52 (4): p. 1118-28.
49. Cibere J. Esdaile J.M., Randomized, double-blind, placebo-controlled glucosamine discontinuation trial in knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 2004 Oct; 51 (5): p. 738-45.
50. McAlindon T., Kabbara K., Effectiveness of glucosamine for symptoms of knee osteoarthritis: results from an internet-based randomized double-blind controlled trial. *Am J Med*, 2004 Nov; 117 (9): p. 643-9.
51. Stein D.T., The Effectiveness of the Use of Electrocautery with Chondroplasty in Treating Chondromalacic Lesions: A Randomized Prospective Study. *Arthroscopy*, 2002 Feb; 18 (2): p. 190-193.

52. Fu F.H., Cole B.J., Management of Chondral Injury: Perspectives in the Millennium. Operative Techniques in Orthopaedics, 2001 Abr; 11 (2): p. 69-154.
53. Caffey S., Effects of Radiofrequency Energy on Human Articular Cartilage. The American Journal of Sports Medicine, 2005; 33 (7): p. 1035-1039.
54. Steadman J.R., Briggs K.K., Outcomes of microfracture for traumatic chondral defects of the knee: average 11-year follow-up. Arthroscopy, 2003 May-Jun; 19 (5): p. 477-84.
55. Williams S.K., Bugbee W.D., Prolonged Storage Effects on the Articular Cartilage of Fresh Human Osteochondral Allografts. J Bone Joint Surg, 2003 Nov; 85-A (11): p. 2111-2120.
56. International Cartilage Repair Society, Updates in Cartilage Repair. J Bone Joint Surg, 2003; 85-A, Suplemento 2: p. 1-141.
57. Hangody, L., Fules, P., Autologous Osteochondral Mosaicplasty for the Treatment of Full-Thickness Defects of Weight-Bearing Joints: Ten Years of Experimental and Clinical Experience. J Bone Joint Surg, 2003; 85: p. 25-32.
58. Hangody L., Modis L., Autologous Osteochondral Mosaicplasty – Surgical Technique. J Bone Joint Surg, 2004 Mar; 86-A, Suplemento 1: p. 65-72.
59. Hendrich C., Cartilage Surgery and Future Perspectives. Ed. Springer Verlag. Alemania, 2003.
60. Drez D., DeLee J.C., Cartilage Transplantation. Operative Techniques in Sports Medicine, 2002 Jul; 10 (3): p. 113-174.
61. Brittberg M., Peterson L., Treatment of Deep Cartilage Defects in the Knee with Autologous Chondrocyte Transplantation. The New England Journal of Medicine, 1994 Oct; 331 (14): p. 889-895.

62. Peterson L., Minas T., Brittberg M., Lindahl A., Two-to 9- Year Outcome After Autologous Chondrocyte Transplantation of the Knee. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 2000; 374: p. 212-234.
63. Brittberg M., Articular Cartilage Engineering with Autologous Chondrocyte Transplantation – A review of Recent Development. *J Bone Joint Surg*, 2003; 85-A: p. 109-115.
64. Gillogly S.D., Autologous Chondrocyte Implantation. *Sports Medicine and Arthroscopy Review*, 2003 Dic; 11 (4): p. 272-284.
65. Ochi M., Uchio Y., Transplantation of cartilage-like tissue made by tissue engineering in the treatment of cartilage defects of the knee. *J Bone Joint Surg*. 2002 May; 84-B (4): p. 571-578.
66. Roberts S., Richardson J.B., Autologous chondrocyte implantation for cartilage repair: monitoring its success by magnetic resonance imaging and histology. *Arthritis Res Ther* 2003; 5 (1): p. 60-73.
67. Hunziker E.B., Quinn T.M., Surgical removal of articular cartilage leads to loss of chondrocytes from cartilage bordering the wound edge. *J Bone Joint Surg Am*, 2003; 85-A Suplemento 2: p. 85-92.
68. Bentley G, A prospective, randomised comparison of autologous chondrocyte implantation versus mosaicplasty for osteochondral defects in the knee. *J Bone Joint Surg Br*, 2003; 85: 223-30.
69. Chiang H., Jiang Ch., Repair of porcine articular cartilage defect with autologous chondrocyte transplantation. *Journal of Orthopaedic Research*, 2005; 23: p. 584-593.
70. Rudert M., Wirth C.J., Cell-based treatment of osteochondral defects in the rabbit knee with natural and synthetic matrices: cellular seeding determines the outcome. *Arch Orthop Trauma Surg*, 2005 Aug 2;: p. 1-11.

71. Solchaga L.A., Goldberg V.M., Repair of osteochondral defects with hyaluronan – and polyester – based scaffolds. *Osteoarthritis Cartilage*, 2005 Apr;13 (4): p. 297-309.
72. Schek R.M., Krebsbach P.H., Engineered osteochondral grafts using biphasic composite solid free-form fabricated scaffolds. *Tissue Eng*, 2004 Sep-Oct;10 (9-10): p. 1376-85.
73. Tallheden T., Peterson L., Brittberg M., Lindahl A., Proliferation and differentiation potential of chondrocytes from osteoarthritic patients. *Arthritis Res Ther*, 2005 Mar; 7 (3): p. R560-8.